

**Universidade de Brasília - UnB
Faculdade UnB Gama - FGA
Curso de Engenharia de Energia**

**APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL
PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL**

**Autor: Douglas Porto Vaz
Orientador: Prof.^a Dra. Roseany V. V. Lopes**

**Brasília, DF
2019**



DOUGLAS PORTO VAZ

**APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL
PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL**

Monografia submetida ao curso de graduação em Engenharia de Energia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Energia.

Orientador: Prof.^a Dra. Roseany de V. V. Lopes

**Brasília, DF
2019**

CIP – Catalogação Internacional da Publicação*

Vaz Porto, Douglas.

Título da Monografia: Aplicação de Planejamento Experimental na produção de etanol/ Douglas Porto Vaz. Brasília: UnB, 2019. 103 p : il. ; 29,5 cm.

Monografia (Graduação) – Universidade de Brasília
Faculdade do Gama, Brasília, 2019. Orientação: Roseany de V.
V. Lopes

1. Etanol. 2. Planejamento Experimental. 3. Caqui
I. Lopes, Roseany de Vasconcelos Viera. II. Doutora.

CDU Classificação

APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL

Douglas Porto Vaz

Monografia submetida como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em (Engenharia de Energia) da Faculdade UnB Gama - FGA, da Universidade de Brasília, em (08/07/2019) apresentada e aprovada pela banca examinadora abaixo assinada:

Prof. Dra Roseany V. Vieira Lopes, UnB/ FGA
Orientadora

Prof. Dra Nizamara Simerenmis Pereira, IFB/Gama
Membro Convidado

Prof. Dra Tallita Karolline Nunes Rocha, UnB/ FGA
Membro Convidado

Brasília, DF
2019

Esse trabalho é dedicado a todos que me ajudaram na graduação, especialmente à minha mãe Miralva e à Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por todas as bênçãos durante esta jornada.

À minha mãe Miralva, que sempre me deu todo suporte, não somente durante esta caminhada, mas por toda a minha vida, para que eu pudesse concluir todos os meus objetivos.

À minha namorada Gerciany, que foi sempre minha companheira nessa fase, me dando todo o apoio e incentivo.

À minha orientadora Profa. Dra Roseany V. Vieira Lopes, por sempre se mostrar solícita, pelos ensinamentos, compreensão, paciência, dedicação e confiança durante a realização deste trabalho.

À técnica do laboratório de química, Paula, por todos os ensinamentos e paciência durante os experimentos.

Agradeço aos colegas de graduação que contribuíram de forma direta e indireta na minha fase acadêmica.

*“Não podemos ter todo o conhecimento de uma vez, precisamos começar acreditando. Depois podemos ser levados a conhecer provas, por nós mesmos.
(Tomas Aquinas, Teólogo.)*

RESUMO

O consumo de energia obtida por combustíveis fósseis tem como consequência diversos tipos de impactos ambientais, principalmente a emissão de dióxido de carbono. O Brasil é um país que tem grande variedade de recursos energéticos e a biomassa é uma matéria-prima encontrada em grande quantidade, que tem a capacidade de produzir combustíveis limpos e que não causam impactos ao meio ambiente quando comparados aos combustíveis petroquímicos. O etanol pode ser produzido por meio de biomassa vegetal e é obtido pelo processo de fermentação alcoólica, pela ação das leveduras sobre os açúcares da biomassa. Neste trabalho, os mostos para realização das reações de fermentação foram obtidos a partir dos frutos do caqui (*Diospyros Kaki L.*). Foi utilizado um planejamento experimental $2^2 + 3$ experimentos para melhor interpretação dos resultados e verificação da influência das variáveis de entrada, que foram a concentração de levedura e concentração de °Brix. A variável de saída estudada foi a concentração de etanol. Foi realizada a análise da cinética fermentativa das reações, com e medição de parâmetros como: pH, temperatura e °Brix e análise do rendimento, eficiência e conversão. A maior concentração de etanol teórica encontrada foi de $72,774 \text{ g.L}^{-1}$, quando foi utilizada levedura com concentração de 15 g.L^{-1} e 20 °Brix inicial. Os menores valores teóricos de concentração de etanol encontrados foram de $33,58 \text{ g.L}^{-1}$, quando foram utilizadas leveduras com concentração de 10 g.L^{-1} . Com relação à produtividade, a amostra com 25 °Brix inicial e levedura com 20 g.L^{-1} foi a que apresentou o melhor resultado, com $51,84 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. O experimento com 15 °Brix inicial e levedura 20 g.L^{-1} foi o que apresentou melhores valores de conversão de etanol e de eficiência, sendo respectivamente 76% e 77,8%. Também foi realizada a análise por infravermelho (IR) dos etanóis produzidos para a validação e comparação com a literatura.

Palavras-chave: Etanol, biomassa, planejamento experimental, caqui.

ABSTRACT

The consumption of energy obtained by fossil fuels results in different types of environmental impacts, mainly the emission of carbon dioxide. Brazil is a country with a wide variety of energy resources and biomass is a raw material found in large quantities, which has the capacity to produce clean fuels that do not cause impacts to the environment when compared to petrochemical fuels. Ethanol can be produced by means of vegetal biomass and is obtained by the process of alcoholic fermentation, by the action of the yeasts on the sugars of the biomass. In this work, the musts for fermentation reactions were obtained from persimmon fruits (*Diospyros Kaki L.*). An experimental design was used $2^2 + 3$ experiments to better interpret the results and verify the influence of the input variables, which were the concentration of yeast and °Brix concentration. The output variable studied was the concentration of ethanol. It was carried out the analysis of the kinetic fermentation of the reactions, with and measurement of parameters such as: pH, temperature and °Brix and analysis of yield, efficiency and conversion. The highest concentration of ethanol was 72.774 g.L^{-1} , when yeast with a concentration of 15 g.L^{-1} and 20 °Brix initial. The lowest values of ethanol concentration were 33.58 g.L^{-1} , when 10 g.L^{-1} yeasts were used. With respect to productivity, the sample with 25 °Brix initial and yeast with 20 g.L^{-1} was the one that presented the best result, with $51.84 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. The experiment with 15 °Brix initial and yeast 20 g.L^{-1} showed the best values of ethanol conversion and efficiency, being 76% and 77.8%, respectively. Infrared (IR) analysis of the ethanol produced for validation and comparison with the literature was also performed.

Keywords: Ethanol, biomass, experimental planning, persimmon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação de biomassa com base na biomassa de origem. Adaptado de (LI <i>et al.</i> , 2017).	5
Figura 2 - Caqui (GOMES, 2015).	8
Figura 3 - Evolução da matriz energética brasileira 1970-2030. (TOLMASQUIM <i>et al.</i> , 2007).	14
Figura 4 - Matriz energética brasileira em 2016. (EPE, 2017).	15
Figura 5 - Matriz energética mundial em 2015. (EPE, 2017).	15
Figura 6 - Produção de energia entre 2006 e 2015. (SILVA <i>et al.</i> , 2018 apud EPE, 2015).	16
Figura 7 – Sequência das reações enzimáticas envolvidas na fermentação alcoólica da glicose. (VOLPE, 1997; FURLAN, 2012).	20
Figura 8 - Curva de crescimento de levedura (CINELLI, 2012; RUSSEL, 2003).	22
Figura 9 - Fluxograma do processo de produção de etanol.	28
Figura 10 - Mistura da polpa de caqui com gelatina para a floculação da pectina. ...	30
Figura 11 - Levedura utilizada nas fermentações.	31
Figura 12 - Caqui fermentando.	32
Figura 13 - Ebuliômetro.	33
Figura 14 - Destilação do fermentado de caqui.	34
Figura 15 – Espectrofotômetro Spectrum Two.	37
Figura 16 – Etanóis obtidos pelos experimentos.	37
Figura 17 - Cinética fermentativa da reação 1.	39
Figura 18 - Cinética fermentativa da reação 2.	40
Figura 19 - Cinética fermentativa da reação 3.	40
Figura 20 - Cinética fermentativa da reação 4.	41
Figura 21 - Cinética fermentativa da reação 5.	42
Figura 22 - Cinética fermentativa da reação 6.	43
Figura 23 - Cinética fermentativa da reação 7.	43
Figura 24 - Comparação entre todas as cinéticas fermentativas das reações.	44
Figura 25 - Superfície de resposta linear do experimento 1: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	48
Figura 26 - Superfície de resposta linear do experimento 1: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	48

Figura 27 - Superfície de resposta linear do experimento 2: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	49
Figura 28 - Superfície de resposta linear do experimento 2: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	50
Figura 29 - Superfície de resposta linear do experimento 3: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	51
Figura 30 - Superfície de resposta linear do experimento 3: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	51
Figura 31 - Superfície de resposta linear do experimento 4: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	52
Figura 32 - Superfície de resposta linear do experimento 4: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	53
Figura 33 - Superfície de resposta linear do experimento 5: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	54
Figura 34 - Superfície de resposta linear do experimento 5: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	54
Figura 35 - Superfície de resposta linear do experimento 6: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	55
Figura 36 - Superfície de resposta linear do experimento 6: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	55
Figura 37 - Superfície de resposta linear do experimento 7: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.	56
Figura 38 - Superfície de resposta linear do experimento 7: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.	56
Figura 39 - Espectro infravermelho do etanol padrão.	57
Figura 40 - Espectro infravermelho dos etanóis do planejamento.	58

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Potencialidade de matérias-primas açucaradas em carboidratos e etanol. Adaptada de (MACHADO e ABREU, 2006).	6
Tabela 2 – Sólidos solúveis totais (°Brix). Adaptado de (GURGEL, 2017).....	8
Tabela 3 - Propriedades da gasolina e do bioetanol. Adaptado de BNDES, 2008....	10
Tabela 4 - Propriedades físicas e químicas do etanol. Adaptado de PETROBRAS, 2018.	11
Tabela 5 - Composição Setorial do Consumo Final de Biomassa. Adaptado de (MME, 2017)	17
Tabela 6 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial.	36
Tabela 7 - Matriz de planejamento fatorial $2^2 + 3$ experimentos no ponto central para a produção de etanol a partir do fruto do caqui	36
Tabela 8 – Dados referentes aos parâmetros: °GL, concentração teórica, experimental e conversão de etanol.	45
Tabela 9 – Dados referentes aos parâmetros: produtividade, rendimento experimental e teórico e eficiência.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2G - Etanol de Segunda Geração

ADP - Adenosina Difosfato

ATP - Adenosina Trifosfato

BNDES - Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social

BRIX^o - Sólidos Solúveis Totais

CEASA - Central de Abastecimento do Distrito Federal

EPE - Empresa de Pesquisa Energética

IAA - Instituto do Açúcar e do Alcool

IEA - International Energy Agency

IR - Espectroscopia na região do infravermelho

MME - Ministério de Minas e Energia

PDE - Plano Decenal de Expansão de Energia

PRÓALCOOL - Programa Nacional do Alcool

TEP - Tonelada Equivalente de Petróleo

UV-vis - Espectroscopia na região do visível

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE QUADROS E TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. JUSTIFICATIVA	2
1.2. OBJETIVOS.....	3
1.2.1. Objetivo Geral.....	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Biomassa.....	4
2.2.1. Matérias-primas açucaradas.....	5
2.3. Caqui (<i>Diospyros Kaki L.</i>).....	7
2.4. Levedura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	8
2.5 Etanol.....	9
2.5.1 Breve Histórico.....	12
2.6. Matriz Energética Brasileira.....	13
2.7. Fermentação Alcoólica.....	17
2.8 Graduação Alcoólica.....	22
2.9 Determinação do °Brix.....	23
2.10 Planejamento Experimental e Análise Estatística.....	23
2.11 Espectroscopia na região do Infravermelho (IR).....	25
2.12 Estudos realizados para a obtenção de etanol.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1. Produção de etanol do fruto caqui.....	27
3.2. Recepção e seleção dos frutos.....	28
3.3. Lavagem dos frutos.....	29
3.4. Pesagem dos frutos.....	29
3.5. Extração da polpa e armazenamento.....	29

3.6. Clarificação e filtração.....	29
3.7 Preparo do mosto	30
3.8 Fermentação.....	31
3.9. Decantação.....	32
3.10 Graduação Alcoólica.....	32
3.11 Destilação	34
3.12 Produtividade volumétrica do etanol.....	34
3.13 Fator de Rendimento	34
3.14 Eficiência do Processo.....	35
3.15 Planejamento experimental	35
3.16 Espectroscopia na região do Infravermelho (IR).....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
4.1. Cinética Fermentativa.....	37
4.1.1 Análises de graduação alcoólica	44
4.2 Análise estatística	47
4.3 Análise Infravermelho (IR)	57
5. CONCLUSÃO	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

1. INTRODUÇÃO

Há um interesse mundial em substituir as fontes de energia de origem petroquímica pelas renováveis de energia. Com isso, a tendência é que a demanda por energia sustentável seja cada vez maior. A produção e distribuição de energia estão no centro da pauta de desenvolvimento econômico ao longo da história da humanidade (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

Como o Brasil é um país rico em recursos energéticos naturais, a biomassa é uma matéria-prima orgânica em abundância, tem grande destaque na obtenção de biocombustíveis, proveniente de plantas e animais, que são reservas temporárias de energia química (MIURA *et al.*, 2011).

A indústria química atual tem um papel econômico significativo nas atividades industriais, com uma crescente importância na implantação de biorrefinarias (JÚNIOR e SOARES, 2014). Por volta da década de 1970, devido à crise do petróleo mundial, houve uma necessidade de investimento e incentivo a outros tipos de combustíveis. O Brasil foi o pioneiro na produção de bioenergia em grande escala, com o Programa Nacional do Alcool pelo decreto nº 76.596/75 do Governo Federal (SOUZA, 2009). O Próalcool teve o objetivo de incentivar a produção de álcool planejando as necessidades de mercado interno e externo e também a troca de combustível de origem fóssil por biocombustível, dessa maneira, a agroindústria da cana-de-açúcar iria produzir etanol (CARVALHO, 2012).

O bioetanol pode ser produzido a partir de diversos tipos de biomassa. É obtido principalmente pelo processo fermentação alcoólica, que é caracterizado como um caminho catabólico onde acontece a degradação de moléculas de açúcar no interior da célula de microrganismos até a obtenção etanol e dióxido de carbono (ERNANDES, 2009).

A ciência tem como característica a aquisição e interpretação de resultados, que na maior parte são obtidos de forma experimental. Os experimentos permitem uma perspectiva de mundo mais desenvolvida e menos fragmentada, além de formar um pensamento crítico. Para a obtenção de informações experimentais de forma sistemática é usado o planejamento experimental que contempla o planejamento de ensaios e análise de resultados, diminuindo tempo e gerenciando recursos (SILVA e ALBUQUERQUE, 2011).

Este trabalho tem por finalidade a aplicação de um planejamento fatorial para a obtenção de etanol utilizando o caqui por meio da avaliação das superfícies de resposta.

1.1. JUSTIFICATIVA

Com a necessidade mundial de promoção do desenvolvimento sustentável, a demanda por energia limpa torna-se cada vez maior. A tendência é que a biomassa como fonte de energia adquira, cada vez mais, maior espaço na matriz energética mundial e, principalmente, no Brasil. A biomassa como fonte de energia pode possibilitar a ampliação, descentralização e distribuição da energia (MIURA *et al.*, 2011).

A produção e distribuição de biocombustíveis tem vantagens consideráveis em relação aos combustíveis fósseis. A principal é o fato de ser um combustível limpo, que minimiza danos ambientais. A produção e consumo de energia de combustíveis fósseis gera uma gama de impactos ambientais, como a emissão de poluentes locais e gases de efeito estufa, criando um risco para a sustentabilidade do planeta (NASCI-MENTO, 2012).

Em geral, no mundo, as matrizes energéticas são enfatizadas pelo uso de combustíveis fósseis e minerais como o petróleo, carvão, gás natural e urânio (NASCI-MENTO *et al.*, 2012; BARBIERI, 2007). Atualmente, a matriz energética brasileira é classificada como a matriz energética mais sustentável do mundo, onde as fontes renováveis de energia têm a tendência de ocupar um espaço cada vez maior. Segundo o PDE de 2020, Plano decenal de Expansão de Energia, feito pela Empresa de Pesquisa Energética (EPE), as fontes renováveis de energia no Brasil terão uma participação de cerca de 46,3% na matriz energética em 2020 (TOLMASQUIN, 2012).

Por motivos geopolíticos, econômicos e ambientais, as atenções do mundo são voltadas para fontes alternativas de energia, principalmente os biocombustíveis, como o etanol (CINELLI, 2012). No Brasil, a principal fonte de obtenção de etanol é a partir da cana-de-açúcar. São necessárias pesquisas para diversificar e analisar as fontes de biomassa na produção e caracterização de etanol. O Brasil apresenta uma riqueza de biomas com diversos frutos que tem um grande potencial para ser explorado pela indústria do etanol e que podem diminuir a competição com a indústria alimentícia. No cerrado, bioma local, o cajuí (*Anacardium humile*) pode ser explorado na indústria de etanol, assim como o caqui (*Diospyros Kaki L.*) cultivado principalmente nas regiões

sul e sudeste. Outro fruto com potencial de exploração é o *caju* (*Anacardium occidentale L.*), cultivado no Nordeste e que é largamente desperdiçado, visto que a castanha é o principal objeto de comercialização, tendo em vista seu valor agregado.

O caqui tem uma grande capacidade de produção por safra, ou seja, é estacional, e além disso, apresenta processo de maturação acelerado. Com isso, é importante que seu consumo seja feito rapidamente para que não haja desperdício do fruto. O caqui apresenta uma boa aceitação no mercado e sua oferta é maior que a demanda, e uma consequência é a diminuição do preço e na elevada quantidade que é descartada (HERAS *et al.*, 2016; GURGEL, 2017).

Dessa maneira, este trabalho busca uma nova perspectiva para a destinação do caqui, principalmente devido à quantidade que é produzida todos os anos e ao seu potencial de retorno econômico. Além disso, o fruto apresenta características que são indispensáveis para obtenção de etanol, e, dessa forma, é uma alternativa viável para diversificar ainda mais a matriz energética brasileira.

A tecnologia para produzir etanol é relativamente madura e envolve a fermentação de açúcares, como a sacarose e frutose, obtidas de matéria-prima açucarada, pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CINELLI, 2012). Para um melhor entendimento do comportamento das reações de fermentação utilizando o caqui é importante a caracterização do etanol utilizando técnicas como infravermelho (IR). Além disso, a análise estatística utilizando o planejamento experimental, traz novas perspectivas de interpretação de resultados.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é a aplicação de planejamento experimental para a obtenção de etanol a partir do caqui.

1.2.2. Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- Obter, higienizar e despolar o caqui;
- Preparar o mosto a partir do fruto do caqui, realizar as reações de fermentação e realizar as medições de parâmetros como pH, °Brix, temperatura e graduação alcoólica.

- Calcular a concentração teórica de etanol e determinação da graduação alcoólica dos etanóis obtidos;
- Análise dos dados utilizando o software *Statistica*.
- Análise dos etanóis utilizando espectroscopia no infravermelho (IR);

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biomassa

A biomassa é uma das mais antigas matérias-primas para obtenção de energia. Os povos antigos usavam biomassa vegetal de madeira e folhas como recurso energético essencial, como fonte de aquecimento, alimento dentre outros. No século XX a energia obtida, principalmente, do petróleo, teve um grande crescimento, mas, atualmente a biomassa vem se tornando uma opção atraente novamente na indústria energética (LI *et al.*, 2017).

Biomassa é definida como toda a matéria orgânica, incluindo culturas, alimentos, plantas e resíduos agrícolas e florestais que podem ser utilizados como fonte de energia (HAN *et al.*, 2018). A produção de biomassa está associada à reação de fotossíntese, uma vez que o processo é dependente de energia solar, água e dióxido de carbono (CINELLI, 2012).

Há um interesse mundial em ascensão para utilização de biomassa para geração de energia. É um fato que o consumo de biocombustíveis aumentou em todo o planeta. Biocombustíveis são formas de energia oriundas diretamente de biomassa, que é colhida de materiais orgânicos (GHANI *et al.*, 2018). A Figura 1 mostra a classificação da biomassa de acordo com sua origem.

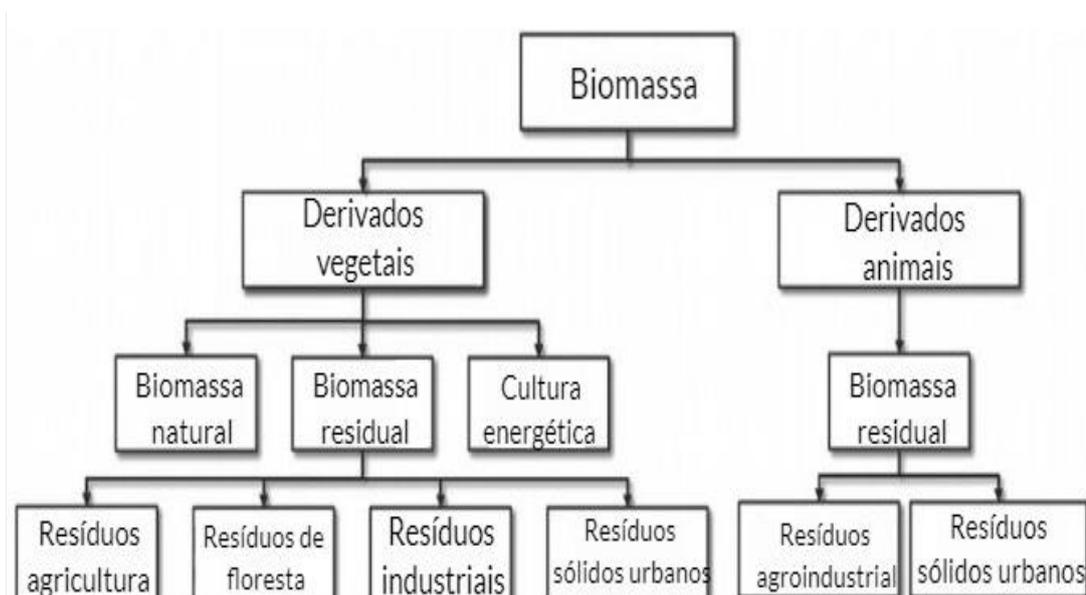


Figura 1 - Classificação de biomassa com base na biomassa de origem. Adaptado de (LI *et al.*, 2017).

Basicamente, energia química é a conversão de reagentes em produtos com a liberação de calor e é encontrada em alimentos e combustíveis. Um caso especial de energia química, é a denominada bioenergia, que é a associação de energia a formas de energia química acumulada de processos de fotossíntese. Outra definição importante de biomassa é que são recursos que possuem bioenergia e que podem ser utilizados para gerar energia mais apropriada ao uso final (BNDES, 2008). Um dos objetivos da bioenergia é a colaboração para as mudanças climáticas, substituindo os combustíveis fósseis e conseqüentemente gerando menos emissões de gases de efeito estufa (KOPONEN, 2017; SCHLAMADINGER *et al.*, 1997).

2.2.1. Matérias-primas açucaradas

Por meio da fermentação, o etanol pode ser produzido utilizando alguns tipos de matérias-primas e uma das principais é a açucarada, que é o produto onde o carboidrato está presente em sua forma simples, ou seja, que apresenta substâncias diretamente fermentáveis (SILVA *et al.*, 2007).

Todo material que tem a presença considerável de açúcar pode ser uma potencial fonte de produção de álcool. Porém, é necessária uma análise de viabilidade que envolve fatores como custo, rendimento industrial e volume de fabricação. Geralmente, este tipo de matéria-prima não necessita de nenhum tipo de tratamento e tem um processo de fermentação relativamente fácil. Materiais açucarados apresentam

carboidratos com seis monossacarídeos ou doze átomos de carbono, que são dissacarídeos, como glicose, frutose e maltose. Os monossacarídeos são limitados aos sucos de frutas e podem ser fermentados diretamente (MACHADO e ABREU, 2006).

O bioetanol é gerado principalmente por meio de culturas a base do açúcar oriundo de amido, cana-de-açúcar, beterraba, milho e mandioca. A cana-de-açúcar é a matéria-prima que tem mais potencial e rendimento para a produção de etanol. A Tabela 1 a seguir mostra a quantidade de carboidratos e o potencial para produção de etanol de algumas matérias-primas açucaradas, sendo a cana-de-açúcar a matéria-prima que mais produz etanol. O inhame e a batata-doce apesar de apresentarem elevada quantidade de carboidratos, não tem um grande potencial de produção de etanol, indicando que pouco carboidrato é transformado em etanol.

Tabela 1 - Potencialidade de matérias-primas açucaradas em carboidratos e etanol. Adaptada de (MACHADO e ABREU, 2006).

Matéria-prima	Carboidratos totais (%)	Potencialidade em etanol (m³/ha)
Batata	12	1,6
Batata-doce	26,1	3,2
Beterraba	15	1,6
Cana-de-açúcar	12-17	6-9
Inhame	26,8	4,8
Mandioca	34	4,9

Há vários combustíveis possíveis de serem obtidos a partir dos derivados de biomassa. De acordo com Leite e Cortez (2007), são três categorias importantes:

- lignocelulósicas, que com o processamento é possível obter etanol, metanol e outros álcoois ou, alternativamente, um gás dito pobre, de poder calorífico intermediário, obtido por meio de um processo térmico;
- Plantas oleoginosas, que, além de produzir materiais ligno-celulósicos, também processam óleos;
- Muitas plantas que produzem açúcar ou amido podem ser facilmente transformadas em etanol, ou outro combustível, por ação de microrganismos.

Os energéticos adquiridos a partir de biomassas são os únicos capazes de substituir parcialmente os derivados de petróleo, de acordo com Leite e Cortez (2007). A razão é que a biomassa seca tem, aproximadamente, a metade da quantidade de energia que a mesma massa de petróleo contém.

2.3. Caqui (*Diaspyros Kaki L.*)

O caquizeiro, nome científico *Diaspyros Kaki L.*, é uma planta de porte arbóreo, com copa arredondada e ramificada. Sua altura pode chegar até 12 metros de altura. De acordo com PIO *et al.*, (2003) os caquis apresentam formatos esféricos, levemente achatados, podendo ser de coloração amarelo-claro, amarelo-escuro, laranja, vermelho, roxo-claro ou roxo-escuro. A polpa é viscosa de coloração vermelho alaranjada. As sementes, quando existentes, são achatadas e de coloração castanha.

Proveniente da Ásia, o caquizeiro, no momento atual, é produzido em quase todos os países que tem um clima subtropical e temperado, afirma Gonçalves *et al.*, (2006; KITAGAWA e GLUCINA, 1984). No Brasil, segundo Pio *et al.*, (2003), o cultivo ocorre principalmente nas regiões Sul e Sudeste, com destaque para os Estados de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e nas regiões Sul de Minas Gerais.

O caqui é um fruto delicado e de aparência gelatinosa. O consumo é principalmente *in natura*, concentrando boas quantidades de vitamina A, B e C. O teor de açúcar, que varia entre 14 e 18%, supera o da maioria das frutas. Além do consumo como fruta fresca, o caqui pode ser processado industrialmente para obtenção de vinagre e caqui-passas (PIO *et al.*, 2003, p. 7). A Figura 2 mostra o caqui.



Figura 2 - Caqui (GOMES, 2015).

O rendimento da fermentação está ligado diretamente ao teor de açúcar do caqui. O teor de sólidos solúveis é um parâmetro imprescindível na fermentação alcoólica (GURGEL, 2017; RIBEIRO, 2016). A média do teor de sólidos solúveis do caqui é cerca de 14,2 °Brix, o que torna o caqui um potencial produtor de etanol. Mas para o fruto se tornar viável para produção de etanol, é necessário a correção do °Brix para atingir cerca de 18 °Brix para ter um rendimento superior. A Tabela 2 mostra o teor de sólidos solúveis totais do caqui.

Tabela 2 – Sólidos solúveis totais (°Brix). Adaptado de (GURGEL, 2017)

Propriedade	Elias et al., (2006)	Pinto (2010)
Sólidos Solúveis Totais	14	14,4

O período de frutificação do caquizeiro acontece de fevereiro a junho. Porém, em março e abril há picos de produção. Pio et al., (2003) ressaltam que há relatos de que a árvore pode frutificar por até 40 anos, isso dependendo dos corretos tratamentos culturais e fitossanitários.

2.4. Levedura *Saccharomyces Cerevisiae*

A *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais usada em processos de fermentação para produção de etanol. Em nível industrial, é a levedura mais apropriada e com maior potencial para a fermentação. Isso acontece porque é uma levedura com

um custo baixo, de fácil manuseio, não necessita de altos valores de nutrição e pode produzir altas concentrações de etanol (AZHAR e ABDULLA, 2018).

Em comparação com outros microrganismos a utilização da *Saccharomyces cerevisiae* apresenta muitas vantagens, principalmente na relação de concentração de etanol com outros subprodutos, ou seja, exibe alta concentração de etanol e baixo nível de subprodutos (SULIEMAN *et al.*, 2018). Este tipo de levedura é eucarionte e tem múltiplas organelas apropriada para diversos ambientes e seções para a biossíntese. Também possui grande tolerância para situações industriais adversas (LIAN *et al.*, 2018)

A grande biodiversidade de leveduras usadas em biorrefinarias é uma importante fonte de cepas. Isso se deve porque a pressão sobre as células que acontece no decorrer do processo de reciclagem de levedura produz cepas com maior tolerância a situações de grande esgotamento na fermentação, como altas concentrações de etanol, açúcar e dióxido de carbono (MURUAGA *et al.*, 2015).

Este tipo de levedura cresce em temperaturas medianas, entre 20-40°C. Essa característica é importante, pois dessa maneira, a levedura tem a capacidade de desenvolvimento e fermentação em diferentes climas, reduzindo possíveis custos com meios de refrigeração (SOUZA, 2009).

2.5 Etanol

O etanol é conhecido desde os tempos mais antigos. Seu uso era voltado principalmente na produção de vinhos e cervejas. O álcool ocupou um espaço com muita evidência nas mais diferentes culturas. Era o produto gerado da fermentação de cereais na China e do milho dos povos incas. Atualmente, existem muitas tecnologias consolidadas no setor alcoólico, mas, na antiguidade, a sua forma de produção era um grande segredo. Isso acontecia por causa da sua importância na medicina, com a produção de remédios, principalmente na preservação de plantas medicinais (SOUZA, 2009).

O combustível etanol pode ser obtido a partir de biomassa ou por processos petroquímicos. A principal diferença do etanol para combustíveis de origem petroquímica, é o alto teor de oxigênio, aproximadamente 35% em massa do etanol. As características do etanol podem possibilitar uma combustão mais limpa e um melhor comportamento dos motores (BNDES, 2008). O etanol é o biocombustível mais usado no

mundo e sua utilização é cada vez mais propagada, além de apresentar grandes perspectivas de expansão do consumo e produção mundialmente (SOUZA, 2009; BASTOS, 2007).

Álcool etílico é uma matéria com forma molecular C_2H_6O , que tem como principal aplicação o uso como combustível em motores de combustão interna com ignição por centelha (ciclo Otto) de duas formas. A primeira é a mistura com gasolina e etanol anidro. A segunda é como etanol puro hidratado. De acordo com a legislação brasileira, levando em consideração o teor em massa, o etanol anidro tem que apresentar menos 0,6% água e para o etanol hidratado, esse teor tem que estar entre 6,2-7,4%. Expressando esses teores para uma proporção em volume de 20°C esses valores mudam. Um teor máximo de 0,48% para o etanol anidro e entre 4,02-4,87% para o etanol hidratado (BNDES, 2008). A Tabela 3 mostra algumas propriedades da gasolina e do bioetanol.

Tabela 3 - Propriedades da gasolina e do bioetanol. Adaptado de BNDES, 2008

Parâmetro	Gasolina	Etanol
Densidade (Kg/L)	0,72-0,78	0,792
Calor Latente de Vaporização (KJ/Kg)	330-400	842-930
Relação ar/combustível estequiométrica	14,5	9
Pressão de vapor (Kpa)	40-65	15-17
Temperatura de ignição (°C)	220	420
Solubilidade em água (% em volume)	0	100

O poder calorífico do etanol combustível comum, conhecido como etanol hidratado, que é aplicado diretamente em motores de combustão interna, é 5,380 kcal. Esse valor corresponde a aproximadamente a 70% do poder calorífico da gasolina, que é 8,325 kcal. Por essa razão, que o etanol como combustível faz em média 70% da distância que o litro de gasolina, pois a energia da gasolina é 30% maior (NOVA CANA, 2019).

Outro parâmetro importante para a análise do etanol como combustível é sua octanagem, que, segundo CHIAPINOTTO (2017) é 110, enquanto que para gasolina comum e aditivada esse valor é 87.

No geral, o etanol é uma substância sem cor e volátil, com cheiro ardente e distinto. Sua pureza é medida por graus Gay-Lussac. Na forma desidratada é misturável com substâncias orgânicas ou minerais como ésteres, carburantes, entre outros (VÁZQUEZ, 2007).

A temperatura de ebulição é a característica com maior evidência para o etanol, pois é muito importante para a análise de combustíveis (SANTOS, 2016). A Tabela 4 mostra as propriedades do etanol.

Tabela 4 - Propriedades físicas e químicas do etanol. Adaptado de PETROBRAS, 2018.

Aspecto (estado físico, forma e cor)	Líquido, límpido e incolor
Limite de odor	180 ppm
pH	6,0 - 8,0
Ponto de fusão/Ponto de congelamento	-117°C
Temperatura de Ebulição	77°C
Pressão de Vapor	5,8 kPa a 20°C
Densidade Relativa	0,8 (água a 4°C = 1)
Temperatura de autoignição	363°C
Viscosidade	1,20 cP à 20°C
Massa Molar	46 g/mol

O etanol de primeira geração é produzido pela fermentação direta dos açúcares provenientes da biomassa. O processo é relativamente simples, pois os açúcares encontrados estão na forma de sacarose. Basicamente, o processo é dividido em: limpeza da biomassa, moagem para a extração dos açúcares, preparação do mosto, fermentação e destilação para obter no etanol (SENNA, 2016).

Para não acontecer uma disputa entre a agroindústria e a geração de energia, são necessários investimentos e incentivos para a produção de etanol de segunda geração (2G), levando em consideração o aumento pela demanda de etanol no mundo. O etanol 2G é uma possibilidade para o uso da biomassa, com benefícios econômicos e ambientais, por ser produzido por meio de resíduos agrícolas (PACHECO, 2011).

2.5.1 Breve Histórico

O etanol, fabricado a partir da cana-de-açúcar se deu pela necessidade de amenizar as sucessivas crises do setor açucareiro e a tentativa de reduzir a dependência do petróleo importado (LEITE e CORTEZ, 2007).

Dessa forma, no começo do século XX, ocorreram os primeiros passos para a inclusão do etanol na matriz energética do Brasil. Leite e Cortez (2007) mostram que: em 1925, surgiu a primeira experiência brasileira com etanol combustível. Em 1933, o governo de Getúlio Vargas criou o Instituto do Açúcar e do Alcool – IAA e, pela Lei no 737, tornou obrigatória a mistura de etanol à gasolina. Em 1975, foi lançado o Programa Nacional do Alcool (Proálcool), cujo objetivo maior era a redução da dependência nacional em relação ao petróleo importado. Na época, era importado em torno de 80% do petróleo usado. Na balança comercial, isso representava cerca de 50%.

Com o Proálcool houve um grande crescimento do interesse pela produção de bioetanol, visando a substituição da gasolina pelo álcool. O álcool seria a alternativa mais viável na época, pois os preços dos derivados do petróleo estavam em alta, devido à crise do petróleo de 1973. Outro objetivo secundário do Proálcool era a diminuição do preço mundial do açúcar (BRAGION e SANTOS, 2012).

O Brasil foi líder do mercado de produção de etanol por dez anos após a criação do Proálcool, dessa forma controlando a crise do petróleo. Porém, nos anos seguintes o preço do barril do petróleo teve uma queda considerável, ou seja, a produção de etanol não era vista como vantajosa. Com isso, o programa brasileiro entrou em crise.

Na década de 80, posterior a crise, surgiu uma nova necessidade por fontes alternativas de energia menos poluentes, principalmente pelo grande crescimento da indústria automotiva com os motores movidos por etanol hidratado, surgindo a necessidade de produção de etanol (SILVA e SILVA. 2017).

O Proálcool teve basicamente três fases. A primeira foi a expansão contida, entre 1975 e 1979, que houve financiamento da estruturação e ampliação das destilarias e usinas que já existiam, aumentando de forma significativa as áreas de produção de cana-de-açúcar e a destilação de álcool anidro, que constitui parte da gasolina. A segunda fase foi a expansão rápida, entre 1980-1985, onde houve um aumento acelerado da produção de etanol hidratado, para motores a combustão, visto que a indústria automobilística se adaptou e desenvolveu motores que usavam somente ál-

cool hidratado. Essa aceleração foi baseada na montagem de destilarias independentes com localização nas novas culturas de cana. A terceira fase foi a desaceleração e a crise, entre 1986-1990 (CARVALHO, 2012).

Entre os anos de 1975 e 1979 é importante destacar que a crise do petróleo afetou de forma positiva o Proálcool, mas não foi o único fator decisivo. A crise do petróleo criou um limite no processo de produção no mundo. Com isso, o cenário tornou-se desfavorável para incentivos de produção de energia de forma alternativa e sustentável. A crise da agroindústria açucareira favoreceu a harmonização de interesses que fez com o que o Brasil optasse pelo Proálcool (PAULILLO *et al.*, 2007).

Com a criação do Proálcool, a produção de cana-de-açúcar cresceu aproximadamente 200% no período de 10 anos. Nos anos 90, o ingresso ao mercado internacional de açúcar alavancou um aumento de 40% da produção. Com a chegada dos motores *flex*, a produção de etanol no Brasil teve um aumento de 100% em 10 anos. Com relação ao preço, o etanol anidro em 2016 teve um valor três vezes menor comparado ao ano de 1975, na criação do Proálcool (FARINA e RODRIGUES, 2018).

2.6. Matriz Energética Brasileira

Desde a revolução industrial, a competição econômica dos países e a qualidade de vida da população sofrem influência direta da energia. Com o aumento das preocupações ambientais em âmbito global, essa influência é crescente e cada vez mais importante. Os países que tem um melhor posicionamento em relação ao uso de recursos energéticos de baixo custo e pouco impacto ambiental tem maiores benefícios. Ao longo dos anos, o Brasil tem mostrado um cenário de diversificação da matriz energética, principalmente, porque tem disponibilidade de recursos energéticos renováveis e tecnologia para a produção de energia (TOLMASQUIM *et al.*, 2007).

A evolução da matriz energética brasileira pode ser vista na Figura 3. Em 1970, petróleo e lenha eram responsáveis por 78% da oferta de energia. Em 2000, a oferta de petróleo aumentou ainda mais, chegando a 46%, o que mostrava a clara dependência dos combustíveis fósseis. É importante ressaltar o aumento dos derivados de cana-de-açúcar, chegando a 11% em 2000. Em 2030, a tendência é que o petróleo seja responsável por apenas 30% da oferta de energia no Brasil, enquanto que os derivados de cana-de-açúcar chegarão a ocupar 18% da matriz energética brasileira.

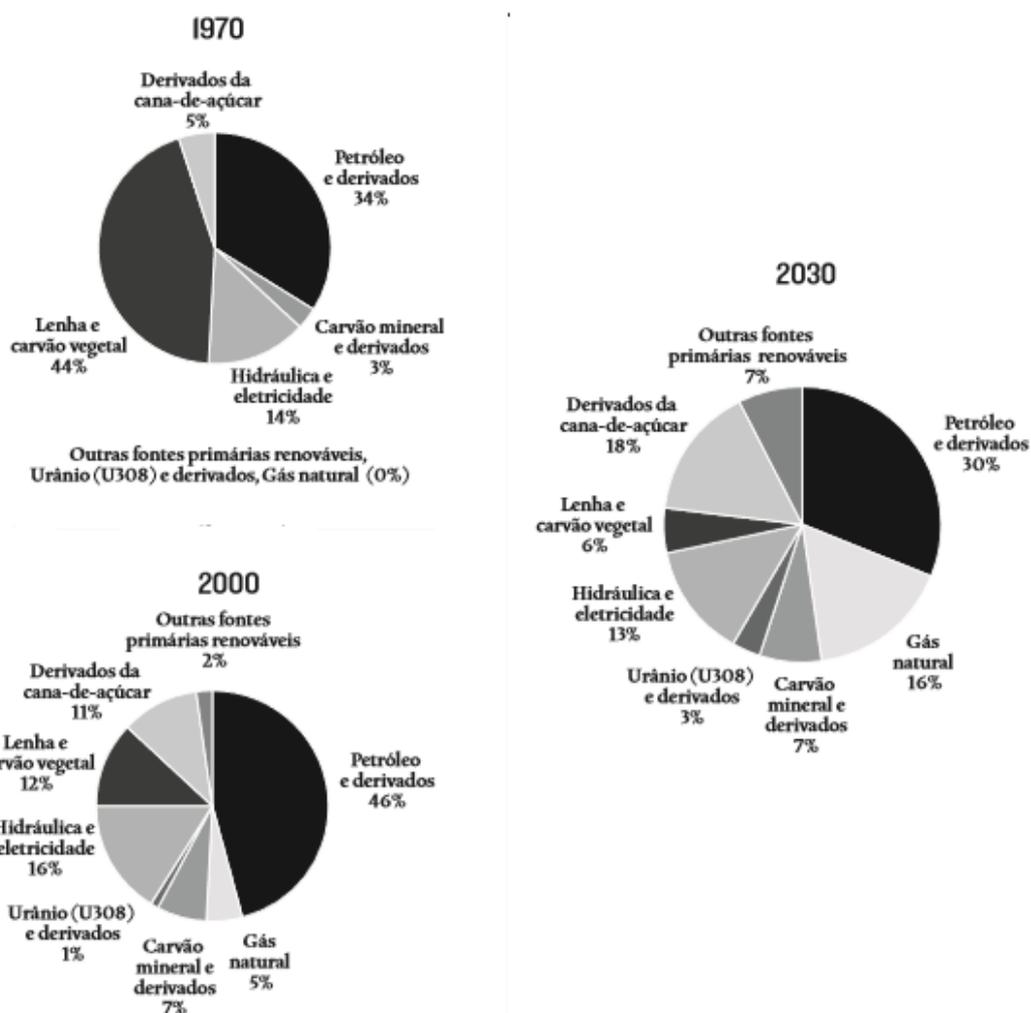


Figura 3 - Evolução da matriz energética brasileira 1970-2030. (TOLMASQUIM *et al.*, 2007).

As mudanças que aconteceram no cenário energético brasileiro têm aumentado o crescimento de fontes renováveis de energia no Brasil. De acordo com o Ministério de Minas e Energia (MME), em 2015, as fontes renováveis de energia ocuparam cerca de 41,2% da matriz energética brasileira. Enquanto que no mundo ocupam, em média, apenas 13,8%.

As Figuras 4 e 5 mostram gráficos da matriz energética brasileira e mundial. É importante ressaltar que no mundo, as fontes de energia solar, eólica e geotérmica ocupam apenas 1,5% da matriz, enquanto que no Brasil essas fontes ocupam 5,4%.

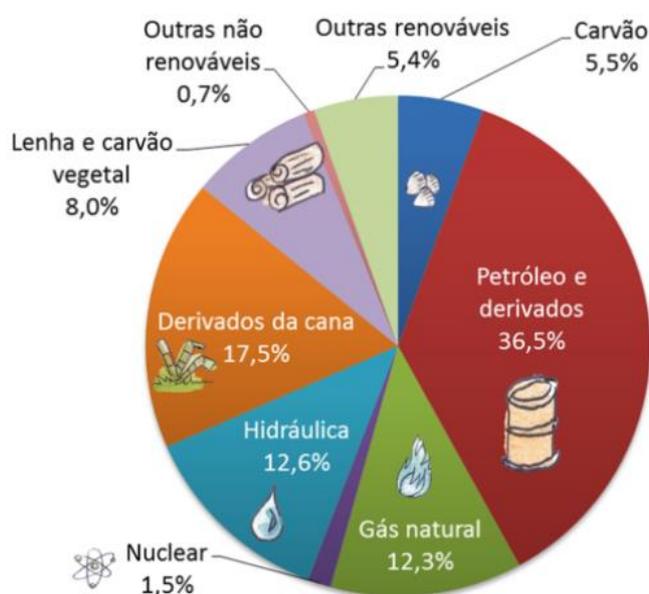


Figura 4 - Matriz energética brasileira em 2016. (EPE, 2017).

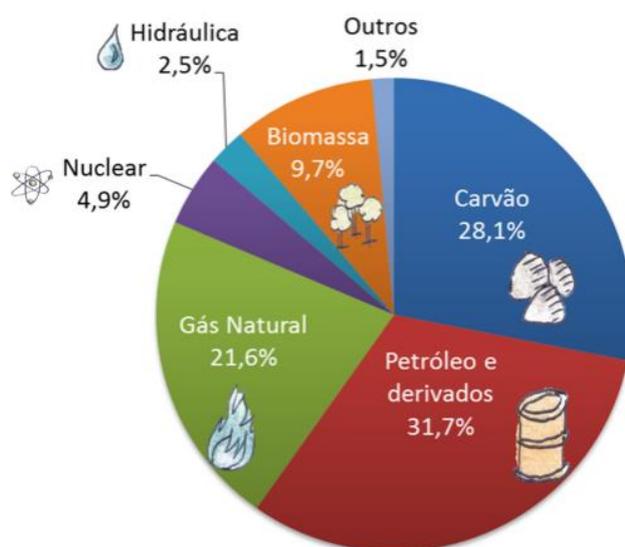


Figura 5 - Matriz energética mundial em 2015. (EPE, 2017).

As principais formas de produção de energia primária de fontes renováveis no Brasil são a hidroelétrica, ocupando 12,6% e biomassa, com produtos como cana-de-açúcar 17,5% além da lenha com 8%. O Brasil é o país que mais utiliza biomassa para produção de energia, com 16% do consumo mundial. Seguido por Estados Unidos e Alemanha (IEA, 2013). A Figura 6 mostra a produção de energia no Brasil entre 2006 e 2015.

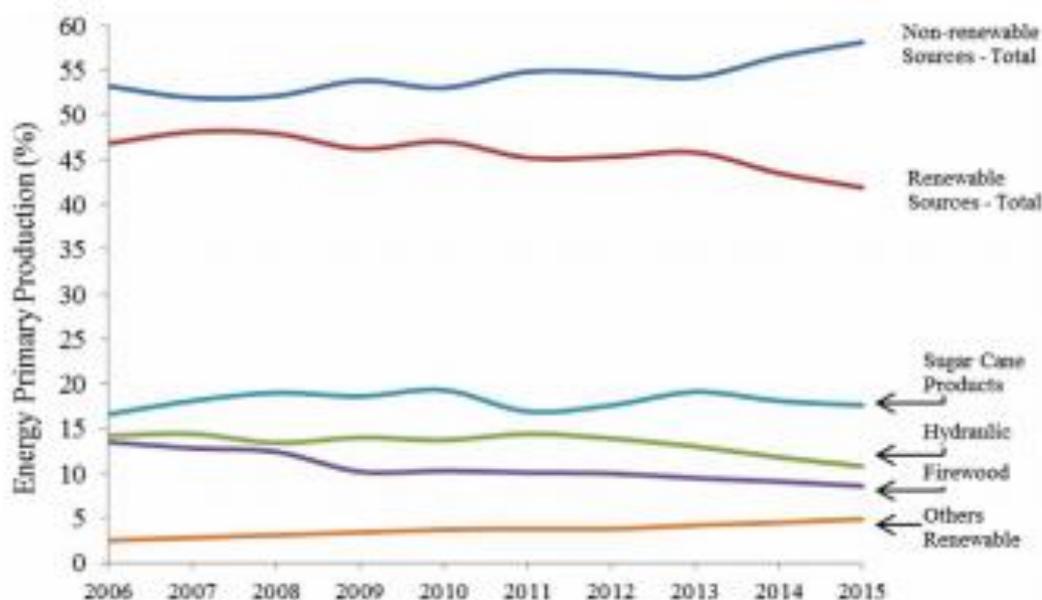


Figura 6 - Produção de energia entre 2006 e 2015. (SILVA et al., 2018 apud EPE, 2015).

A biomassa é uma fonte imprescindível na matriz energética brasileira e a cana-de-açúcar, principal matéria-prima do setor sucroalcooleiro, não tem todo o potencial explorado. Em 2013, a cogeração de biomassa tinha o total 8 GW, sendo que 6,3 GW são da cana-de-açúcar e seus derivados. Estima-se que o setor canavieiro poderia gerar 39,5 GW se tivessem caldeiras mais eficientes. No Brasil, são utilizadas cerca de 220 milhões de cana-de-açúcar para a produção de etanol (Pottmaier *et al.*, 2013).

Com o crescimento da produtividade agrícola no Brasil, a produção de etanol de primeira geração aumentou de 10,6 hm³ em 2000 para 30,12 hm³ em 2016 (UNICA, 2016). Outro aspecto importante é a consolidação do mercado de motores *flex* que fornece ao consumidor a possibilidade de abastecer o carro com etanol em qualquer proporção. Em 2016, a energia obtida por biomassa foi responsável por 17,5% da oferta de energia interna e o etanol foi responsável por 5,6% do consumo final de energia (MME, 2017).

O consumo final energético de biomassa em 2016 foi de 70.359 (103 tep). Este consumo foi em diversos setores, sendo os principais: setor energético, residencial, transportes, industrial, alimentos e papel. O setor industrial e o de alimentos e bebidas são os que mais consomem biomassa. A Tabela 5 mostra o consumo final de biomassa por setor entre os anos de 2010 e 2016.

Tabela 5 - Composição Setorial do Consumo Final de Biomassa. Adaptado de (MME, 2017)

Setores	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Consumo final energético (10³tep)	69.563	65.047	64.984	67.752	68.749	71.603	70.359
Setor Energético (%)	18,4	16,0	16,2	18,1	18,1	18,4	17,4
Residencial (%)	11,2	10,7	10,7	9,1	9,6	9,5	9,2
Transportes (%)	17,3	16,5	15,2	17,5	18,9	21,5	19,7
Industrial (%)	49,2	52,7	53,9	51,1	49,2	46,4	49,7
Alimentos e Bebidas (%)	28,1	29,5	31,0	28,8	26,7	24,7	28,0
Papel e Celulose (%)	10,3	11,0	10,7	11,0	11,4	11,7	12,7

2.7. Fermentação Alcoólica

O processo mais utilizado na produção de etanol é a fermentação alcoólica, sendo definida como a ação de leveduras sobre açúcares fermentáveis em uma solução ou suspensão. Os açúcares podem ser divididos em fermentescíveis (monossacarídeos) e os não diretamente fermentescíveis (dissacarídeos). Os dissacarídeos podem ser fermentados após uma reação de hidrólise para obtenção de monossacarídeos (SOUZA, 2011).

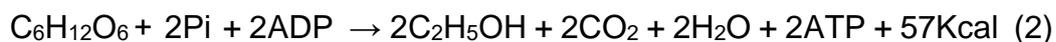
A fermentação alcoólica acontece no interior de microrganismos que tem a capacidade de conversão de açúcares assimiláveis (substrato oxidado) em etanol (substrato reduzido), por meio de uma série de reações bioquímicas, reguladas enzimaticamente. A oxidação parcial do substrato, gera um composto orgânico reduzido, garantindo um mínimo necessário de produção de energia para o equilíbrio celular e oxidativo (CINELLI, 2012).

A levedura efetua a fermentação do açúcar com o objetivo de obter energia química suficiente para sobreviver. O etanol é apenas um subproduto desse processo. É necessário produzir álcool e saber as condições necessárias para produção de etanol com maior eficiência pelas leveduras. O etanol somente é produzido pelas leveduras por meio de monossacarídeos. Então, existe a necessidade de decompor a sacarose $C_{12}H_{22}O_{11}$ em glicose $C_6H_{12}O_6$ e frutose $C_6H_{12}O_6$. Na fermentação alcoólica acontece a hidrólise da sacarose, por meio dos microrganismos que oferecem a enzima invertase (SOUZA, 2009). A reação de inversão é apresentada na equação química a seguir:



A mais importante via metabólica envolvida na produção de etanol em leveduras é a glicolítica. Uma série de reações que são catalisadas por enzimas, onde cada molécula de glicose metabolizada, duas moléculas de piruvato são produzidas no citoplasma da célula (CINELLI, 2012).

O processo de conversão de açúcares solúveis em moléculas de menor tamanho pela levedura pode ser definido em duas etapas. O primeiro ocorre na mitocôndria, que é a glicólise, que tem o objetivo de fraturar a glicose até virar ácido pirúvico, por meio de uma sequência de reações catalisadas por enzimas especiais que ficam na parede celular e dentro da célula. Na falta de oxigênio existe uma propensão à atuação das enzimas descarboxilase e álcool-desidrogenase, formando etanol e água por meio de ácido pirúvico no citoplasma (SOUZA, 2009). A equação de Gay-Lussac representa essa etapa.



Basicamente, o processo de fermentação alcoólica é dividido em três etapas: a primeira é a fase de adaptação da cultura ao meio. A segunda etapa é a de agitação e a terceira etapa é o fim da fermentação. O processo começa com a ativação da glicose que recebe em reações consecutivas dois fosfatos energéticos de ATP (adenosina trifosfato) que se modifica para ADP (adenosina difosfato). A glicose se transforma em gliceraldeído 1,3-difosfato. No final, cada gliceraldeído é transformado em ácido pirúvico. O rendimento da reação é de duas moléculas de ATP para uma de glicose usada (CORAZZA *et al.*, 2001).

A reação que foi descrita na equação da Figura 7 é envolvida por várias reações enzimáticas intermediárias que acontecem no interior da levedura (FURLAN, 2012). A primeira reação é a formação da glicose 6-fosfato, por meio da passagem enzimática de um ATP para uma molécula orgânica. A reação seguinte é a formação da frutose 6-fosfato, de maneira que nesta etapa é formado cetona pela mudança de um aldeído. Logo depois, uma molécula de ATP é novamente consumida, juntamente com a fosforilação do carbono da frutose, fase na qual é dispensada uma parte da energia para ter mais energia para a etapa seguinte, onde acontece a conversão da frutose fosfo-

rilida em duas moléculas de três carbonos, com a formação de um antecessor metabólico que terá grande influência para as reações enzimáticas seguintes. Com o precursor metabólico, o gliceraldeído 3-fosfato é oxidado e concomitantemente fosforilado, tendo como resultado uma molécula de grande energia e com isso, acontece a liberação de elétrons que tem como objetivo reduzir o NAD^+ a NADH (Dinucleótido de nicotinamida e adenina. Com isso, o ATP é possível produzir ATP por meio de outra fosforilação, produzindo novamente um antecessor metabólico. Desta maneira, acontece a última fosforilação do antecessor metabólico, onde a clivagem oxidativa da molécula de glicose tem como resultado duas moléculas de piruvato, que tem grande importância na reação. A conversão é possível pela produção de piruvato com as reações enzimáticas anteriores. Na conversão, o piruvato é descarboxilado em acetaldeído, que é útil para oxidar o NADH, produzindo dessa maneira, o etanol (BROOKS *et al.*, 2014; apud SANTOS, 2016).

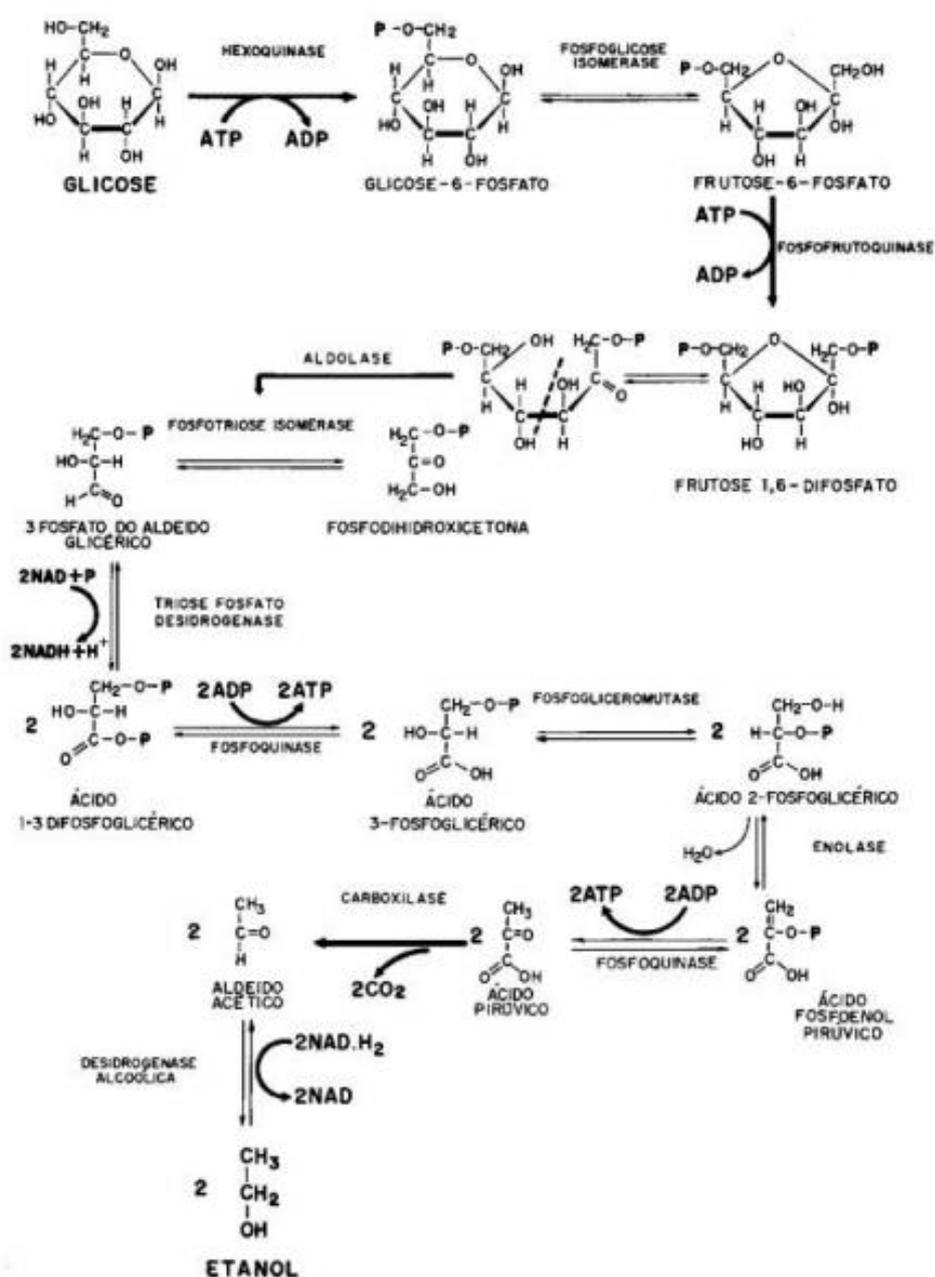


Figura 7 – Sequência das reações enzimáticas envolvidas na fermentação alcoólica da glicose. (VOLPE, 1997; FURLAN, 2012).

A equação de Gay-Lussac mostra que a glicose é capaz de produzir partes aproximadamente iguais de dióxido de carbono, etanol e com liberação de energia. A energia é usada para o metabolismo das células e parte é perdida na forma de calor. Glicerol, ácidos orgânicos e álcoois superiores são produzidos em menor quantidade em relação ao etanol (CINELLI, 2012).

Quando tem a presença de oxigênio, acontece uma movimentação de parte do ácido pirúvico para o ciclo de Krebs, onde acontece a oxidação enzimática a dióxido

de carbono e água, como pode ser visto na equação do Ciclo de Krebs (SOUZA, 2009).



As leveduras têm a capacidade de reprodução com ou sem oxigênio. Quando a quantidade de oxigênio é o bastante e a concentração de substrato é baixa, o etanol não é produzido e a levedura acompanha a fosforilação oxidativa, que é a respiração aeróbia e o oxigênio é o acceptor final de elétrons. Os açúcares são usados para produzir energia e crescimento celular. Quando há anaerobiose ou grande quantidade de glicose, o etanol é o principal produto final (CINELLI, 2012).

A produção de álcool no Brasil acontece principalmente pela fermentação de mosto. É necessário a utilização de nutrientes com o objetivo de suplementar as deficiências do meio (SILVA *et al.*, 2008).

Com um grande número de reações catalisadas por enzimas no metabolismo celular, fatores como pH, temperatura, concentração de reagentes e micronutrientes alteram princípios cinéticos que determinam as taxas de reprodução celular, consumo de substrato e produção de etanol (SOUZA, 2009).

O rendimento da reação de fermentação está diretamente ligado a reprodução da levedura em meio reacional. O principal parâmetro de controle para reprodução da levedura é o pH e a temperatura. O melhor cenário para a fermentação tem temperatura entre 26 e 35 °C e pH entre 4,5 e 5,5 (SANTOS, 2016).

Outro aspecto importante para a reprodução eficiente da levedura é a nutrição. Fósforo, potássio, enxofre e magnésio são os minerais mais abundantes na composição de microrganismos. Estes minerais presentes em quantidades consideráveis são os que devem suplementar o meio de cultura (MALTA, 2006).

Com todos os parâmetros alinhados e ajustados, a levedura tem a capacidade de crescimento eficiente. A Figura 8 mostra a curva das fases de crescimento da levedura.

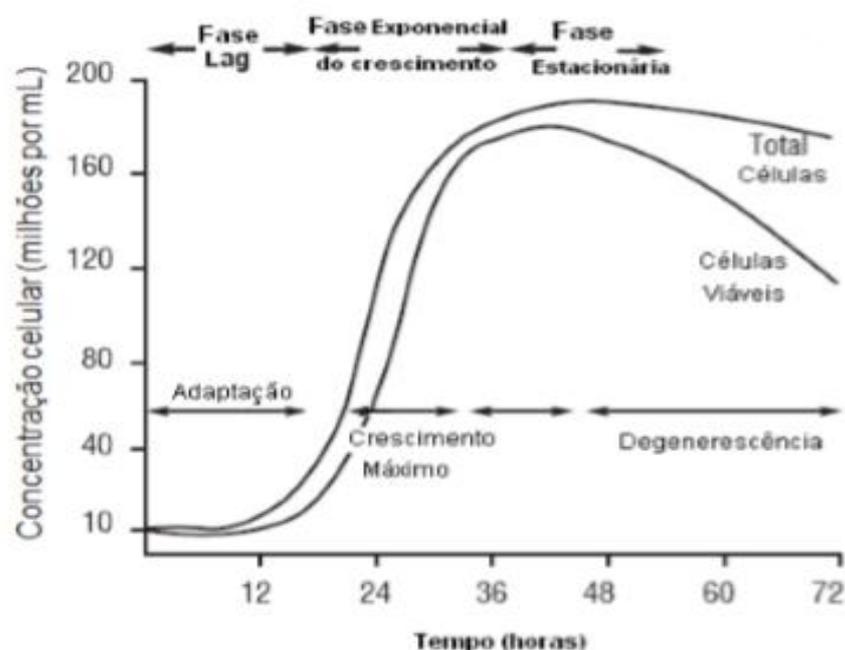


Figura 8 - Curva de crescimento de levedura (CINELLI, 2012; RUSSEL, 2003).

A primeira etapa é chamada de fase lag, que é a fase de adaptação, onde tem um aumento do tamanho dos microrganismos. Nesta fase não existe a multiplicação das células, é onde acontece a aglomeração das leveduras e a síntese de novas enzimas.

A segunda etapa é a fase exponencial do crescimento das leveduras, onde tem máximo crescimento. É importante o controle dos parâmetros nessa fase, para fornecer as condições necessárias para a completa multiplicação e desenvolvimento das leveduras, tendo influência direta na velocidade de crescimento. A terceira etapa é a fase estacionária, onde não acontece mais a reprodução e o crescimento celular da levedura se mantém constante. Acontece o consumo total dos nutrientes. A última etapa acontece o declínio das leveduras, ou seja, elas morrem e é definido o final do crescimento microbiano. É a perda irreversível da capacidade de divisão celular.

2.8 Graduação Alcolica

Em um composto com álcool é plausível definir a porcentagem de etanol em volume e massa, podendo ser descrito pela sigla % v/v, constituindo a medida na faixa de temperatura de 15 a 20 °C. No Brasil a representação mais utilizada é o grau Gay Lussac (°GL), quando referenciado a volume (FERNANDES, 2011; SILVA, 2018).

A graduação alcóolica em volume a 20 °C pode ser determinada por meio da conversão do valor da densidade relativa a 20°C/20°C em porcentagem de teor alcoólico em volume, usando uma tabela de conversão (CARUSO *et al.*, 2008).

2.9 Determinação do °Brix

A polpa do caqui contém sólidos solúveis, principalmente açúcares. O °Brix apresenta em porcentagem a quantidade de sólidos solúveis em uma solução pura de sacarose (DAL BEM *et al.*, 2003; SILVA, 2018).

O °Brix é determinado por um método físico para realizar a medição da quantidade de sólidos solúveis que uma amostra apresenta. O método é baseado em um sistema de graduação de equipamentos, utilizado amplamente na indústria do açúcar, com ênfase na análise de açúcares que estejam em solução (SILVA *et al.*, 2003).

2.10 Planejamento Experimental e Análise Estatística

O método de planejamento experimental por análise de superfície de resposta possui como princípio a técnica de planejamento fatorial, onde os experimentos são programados através de um planejamento fatorial (Box e Hunter, 1978), sendo possível a realização de diversos experimentos ao mesmo tempo.

De acordo com VILANI *et al.*, 2006, planejamento experimental possui diversas propriedades:

- orientar a pesquisa;
- designar o tamanho da amostra;
- possibilita diferentes comparações e;
- estimar parâmetros.

O principal objetivo do planejamento fatorial é relacionar empiricamente as variáveis dependentes (respostas) com as variáveis independentes (variáveis de entrada), além de ser possível determinar estatisticamente o efeito de cada variável na(s) resposta(s) desejada(s).

Segundo Barros Neto *et al.* (2002) para a utilização do planejamento experimental é necessário primeiramente determinar quais as variáveis controladas (variáveis de entrada) e as respostas que se quer estudar. Posteriormente, é necessário definir claramente qual objetivo que se pretende atingir através dos experimentos, para se determinar que tipo de planejamento fatorial deva ser utilizado. Definidas as

variáveis de entrada e as respostas desejadas pode-se utilizar um planejamento fatorial.

No planejamento experimental especificou-se em dois os níveis das variáveis de entrada, que foram: concentração inicial de °Brix e a concentração de levedura, os experimentos foram executados para todas as combinações possíveis dos níveis dos fatores, para que o objetivo do planejamento pudesse ser alcançado de forma eficaz, permitindo verificar se houve ou não ajuste do modelo linear. Foram realizadas replicatas do ponto central para a verificação de como se apresentou a curvatura da superfície de resposta.

De acordo com Box e Hunter (1978) a técnica de planejamento experimental por análise de superfície de resposta pode ser empregada para responder as seguintes perguntas:

- como um conjunto de variáveis de entrada pode ter efeito, numa faixa de interesse, sobre as variáveis dependentes?
- Quais conjuntos de variáveis de entrada produzirão um produto dentro das especificações desejadas?
- Quais valores ou faixas das variáveis de entrada produzirão valor ótimo para uma resposta específica e como se comporta a superfície de resposta próxima deste ponto?

Os fatores, ou seja, as variáveis controladas pelo experimentador, tanto podem ser qualitativos como quantitativos. Dependendo do problema pode haver mais de uma resposta de interesse (Barros Neto *et al.*, 1995).

Tendo o objetivo de realizar o mínimo de experimentos e determinar preliminarmente os fatores (variáveis de entrada) que tenham ou não influência significativa sobre a resposta, fez-se um planejamento fatorial com dois níveis (nível -1 e nível +1) para cada fator. Se n fatores estão contidos no estudo, o planejamento fatorial necessitará da realização de $2k$ ensaios diferentes, cobrindo todas as combinações possíveis. Para a obtenção do erro experimental é necessário a realização de pelo menos 2 ensaios no ponto central (nível 0), correspondendo a média aritmética dos níveis -1 e +1.

O uso do método do planejamento experimental, em estudos que apresentam mais de uma variável, como na produção de etanol por meio de fermentação alcoólica é de fundamental importância, pois torna viável o planejamento e a prática de maneira

organizada de uma quantidade n de experimentos, tendo como um dos objetivos a otimização de recursos financeiros e economizar tempo (SILVA *et al.*, 2008).

No uso dessa ferramenta experimental, como em qualquer outra, deve-se reconhecer o problema, escolher as variáveis experimentais, níveis e o domínio experimental e escolher as respostas de interesse, levando em consideração as etapas finais e a realização dos experimentos, análise estatística dos dados e as inferências (SILVA e ALBUQUERQUE, 2011).

Entre os vários tipos de planejamento experimental, o sistema de planejamento fatorial tem maior destaque, pois avaliam de forma simultânea o efeito de um determinado conjunto de variáveis, por meio de um número pequeno de ensaios experimentais (CUNICO *et al.*, 2008).

Para uma melhor compreensão do planejamento experimental é importante o conhecimento de alguns conceitos básicos (ANDRADE, *et al.*, 2007):

- Fator: Cada variável do sistema em estudo;
- Nível: Condições de operação dos fatores de controle investigados nos experimentos. Geralmente são identificados por nível baixo (-) e nível alto (+).
- Efeito: mudança ocorrida na resposta quando se muda do nível baixo (-) para o nível alto (+).

2.11 Espectroscopia na região do Infravermelho (IR)

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica de grande importância na análise qualitativa orgânica. É bastante utilizada na química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. É um dos principais métodos para identificação e comprovação estrutural de substâncias orgânicas e também no controle e acompanhamento de reações e processos de separação (LOPES e FASCIO, 2004).

Em função da variedade de fenômenos físicos e químicos, as energias envolvidas têm relação com comprimentos de onda e, induziu o desenvolvimento de técnicas com a capacidade de analisar essa região do espectro. A técnica é baseada em processos de interação entre radiação e matéria com fundamentos assentados em efeitos de absorção da radiação (GALZERANI e RODRIGUES, 2012).

A espectroscopia de infravermelho é muito utilizada nas análises de sólidos amorfos, líquidos e gases. É bastante usada no estudo dos modos vibracionais típicos das moléculas que compõem as substâncias (GALZERANI e RODRIGUES, 2012).

2.12 Estudos realizados para a obtenção de etanol

Uma revisão sobre a produção de bioetanol sustentável foi realizada no trabalho de AZHAR *et al.* (2017) por meio de diferentes cepas da levedura *Saccharomyces Cerevisiae*. De acordo com esse trabalho, o tipo de levedura que produz maior concentração de etanol é a *Saccharomyces Cerevisiae* KL17 que utiliza a galactose e a glicose de forma simultânea e atingiu os valores de 96,9 g.L⁻¹ para a concentração e de 3,46 g.L⁻¹h⁻¹ para a produtividade. A fermentação com a matéria-prima derivada da cana-de-açúcar e utilizando a *Saccharomyces Cerevisiae* comum, os valores de concentração foram 39,4 g.L⁻¹ e de produtividade foram 0,66 g.L⁻¹h⁻¹. Com matéria-prima derivada de tulipeiros, *Liriodendron tulipifera*, a fermentação obteve o etanol com 29,9 g.L⁻¹ de concentração e 0,42 g.L⁻¹h⁻¹ de produtividade.

No trabalho de GUPTA *et al.* (2009), foi realizada a fermentação utilizando a levedura *Saccharomyces Cerevisiae* e a algaroba, *Prosopis Juliflora*, como matéria-prima do tipo leguminosa. A fermentação obteve 14,90 g.L⁻¹ de concentração de etanol e 0,62 g.L⁻¹h⁻¹ de produtividade após 24 horas de fermentação.

SEWSYNKER-SUKAI e KANA (2018) fizeram em seu trabalho um estudo de obtenção de etanol a partir da espiga de milho e obtiveram valores de concentração de etanol de 35,04 g.L⁻¹ e 58,13% de conversão, para a fermentação sem hidrólise. Com hidrólise, os valores de concentração de etanol e conversão foram respectivamente 36,92 g.L⁻¹ e 62,36%.

O estudo realizado por GAWANDE e PATIL (2016) sobre a produção de etanol a partir de grãos de milho danificados utilizando a levedura *Saccharomyces Cerevisiae* mostrou como resultado o etanol com concentração de 42,4 g.L⁻¹ e produtividade de 0,88 g.L⁻¹.h⁻¹.

No trabalho de ZHENG *et al.* (2012), foi proposto um aumento da produção de etanol a partir do melaço de açúcar utilizando levedura *Saccharomyces Cerevisiae*. Quando não é utilizada nenhuma carga orgânica, o estudo teve como resultado o etanol com concentração de 70,4 g.L⁻¹ e conversão de 79%. A fermentação durou cerca de 42 horas e concentração inicial de sacarose igual a 172 g.L⁻¹.

ZHANG *et al.* (2011) realizaram um estudo com o objetivo de pesquisar um bioprocesso para a produção de etanol utilizando a batata-doce e a levedura *Saccharomyces Cerevisiae* em escala laboratorial e industrial. Para a escala laboratorial, os

melhores valores de concentração de etanol foram de 128,51 g.L⁻¹ e de produtividade foram 4,76 g.L⁻¹.h⁻¹. Em escala industrial, os valores de concentração e produtividade foram respectivamente 97,94 g.L⁻¹ e 4,19 g.L⁻¹.h⁻¹.

GURGEL (2017) realizou um estudo sobre a obtenção de etanol a partir do caqui utilizando o microrganismo *Saccharomyces Cerevisiae*. Em um dos experimentos realizados, utilizando concentração de levedura de 15 g.L⁻¹ e 15°Brix, obteve concentração teórica de etanol de 40,71 g.L⁻¹ com a reação durando aproximadamente 30 horas e valor de eficiência de 77,87%. Quando foi utilizado um valor de concentração de levedura de 20,4 g.L⁻¹ e 18,2°Brix, foi encontrado um valor de concentração teórica de etanol de 73,38 g.L⁻¹ com eficiência de 78%.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química da FGA, em biorreatores em batelada descontínuo de polietileno com capacidade variável de 1 litro.

3.1. Produção de etanol do fruto caqui

A produção de etanol do fruto caqui segue as seguintes etapas: recepção e seleção dos frutos, lavagem, pesagem, extração da polpa, armazenamento da polpa, clarificação, filtração, preparo do mosto, fermentação, destilação e para finalizar a caracterização do etanol. O fluxograma do processo de etanol está descrito na Figura 9.

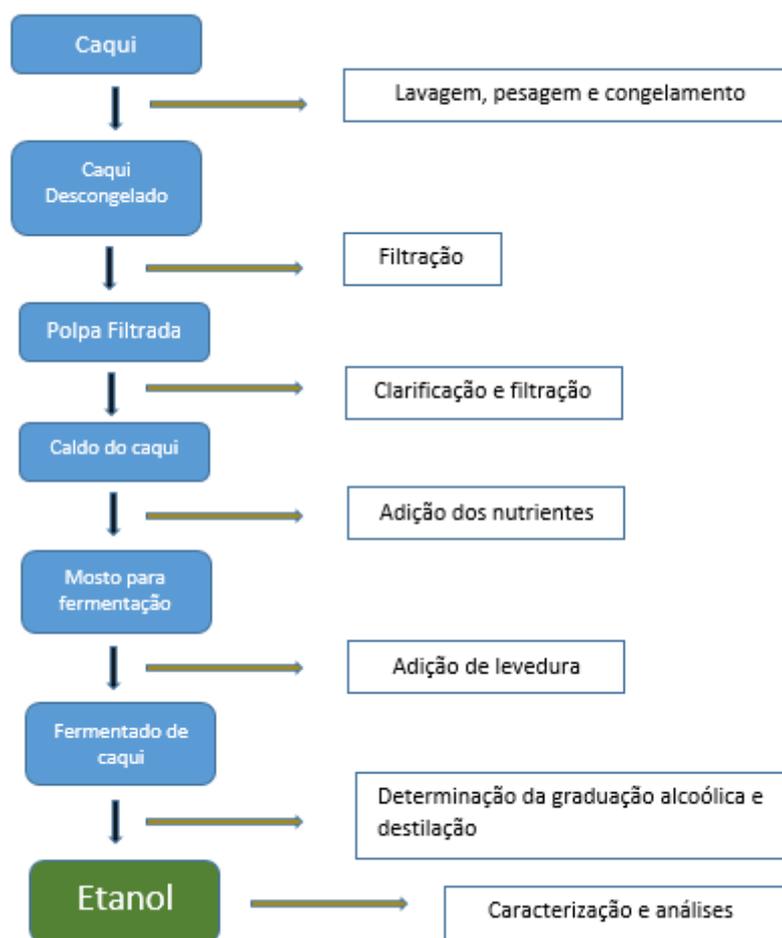


Figura 9 - Fluxograma do processo de produção de etanol.

3.2. Recepção e seleção dos frutos

Os frutos em estudo são os caquis do tipo Rama Forte e foram adquiridos em mercados e na Central de Abastecimento do Distrito Federal (Ceasa). Após esta etapa, estes foram lavados e escolhidos, mediante o descarte daqueles que apresentaram características indesejáveis, como por exemplo, tempo de maturação avançado. Os frutos passaram por uma seleção para eliminar os que estavam machucados, verdes ou muito maduros. A seleção é um ponto importante para garantir um produto de boa qualidade, visto que os frutos machucados, verdes e muito maduros apresentam fermentação indesejável, comprometendo a qualidade do etanol.

3.3. Lavagem dos frutos

A lavagem dos frutos foi feita em uma solução de hipoclorito de sódio de concentração de 2,5% (p/p) visando eliminar os microrganismos e as sujeiras mais grosseiras aderidas aos frutos. A matéria-prima foi colocada em imersão na água durante 15 minutos. Em seguida foi realizada uma nova lavagem em água corrente objetivando a retirada das sujeiras finas e, principalmente, para eliminar o resíduo de cloro remanescente da lavagem anterior.

3.4. Pesagem dos frutos

As pesagens dos frutos foram realizadas em uma balança analítica, com o objetivo, ao fim do processo, de verificar o rendimento da produção. As pesagens foram realizadas no fruto inteiro, da polpa e dos resíduos-bagaço. Após a realização das pesagens, os frutos foram cortados para serem liquidificados.

3.5. Extração da polpa e armazenamento

A extração da polpa do caqui foi realizada a partir do congelamento do fruto e foi utilizado o líquido obtido pelo descongelamento que apresentou elevado teor de sólidos solúveis.

3.6. Clarificação e filtração

A clarificação e filtração das polpas de caqui foram realizadas utilizando uma solução de gelatina a 10%, numa proporção de 6 mL/litro de suco, deixando em seguida o mosto por até 96 horas na geladeira para promover uma melhor floculação da gelatina com a pectina. Logo em seguida, foi feita uma filtração através de tecidos de algodão previamente limpos e esterilizados em estufa, fazendo-se torções para a direita e para a esquerda. Dessa forma, os mostos apresentaram um aspecto mais límpido do que antes desta etapa, separando a pectina que floculou com a gelatina do suco clarificado. A clarificação foi realizada com o objetivo de remover a pectina que é um polissacarídeo encontrado em nível mais elevado em frutos de origem tropical, como pode ser visto na Figura 10. Sua presença no mosto pode ocasionar a fermentação de metanol que é uma substância altamente tóxica. Após a clarificação, o resultado final foi uma mistura bifásica com fração líquida decantada na parte inferior. A separação foi realizada com auxílio de uma concha e pipeta com intuito de aumentar o rendimento do líquido.



Figura 10 - Mistura da polpa de caqui com gelatina para a floculação da pectina.

3.7 Preparo do mosto

Inicialmente foi realizada a sulfitação dos mostos das polpas dos frutos em estudo com a finalidade de promover a desinfecção das polpas, prevenindo a ocorrência de situações indesejáveis durante a fermentação. O uso de agentes antioxidantes é frequentemente utilizado para evitar reações oxidativas como, degradação de vitaminas, degradação de carotenoides, reações de escurecimento com compostos fenólicos e proliferação de microrganismos. Então, o metabissulfito de potássio $K_2S_2O_5$ foi adicionado ao mosto numa concentração de 3 gramas para cada 10 litros de suco clarificado. A adição dos nutrientes, fósforo e nitrogênio foi realizada visando suplementar, satisfatoriamente, as necessidades do microrganismo. Esses dois nutrientes foram adicionados à polpa nas formas de fosfato monopotássico KH_2PO_4 e sulfato de amônio $[(NH_4)_2]$, nas concentrações de 0,6 e 0,2 gramas para cada litro de polpa, respectivamente.

Alguns mostos tiveram a necessidade da correção do pH dos mostos, a mesma foi feita com solução de NaOH 0,5 mol/L.

3.8 Fermentação

A fermentação é a etapa de inoculação do microrganismo ao mosto, para que ele consuma o substrato e produza álcool. O microrganismo utilizado foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 11). A fermentação das polpas dos frutos foi conduzida em reator batelada, agitado com agitadores magnéticos, com capacidade de 1 litro (Figura 12). As análises da fermentação, quais sejam: pH, temperatura e decaimento de substrato ($^{\circ}$ Brix) foram realizadas em intervalos de duas horas, o término das fermentações se deu quando não houve mais alterações das concentrações de $^{\circ}$ Brix.

O teor de sólido solúveis $^{\circ}$ Brix foi medido utilizando um refratômetro portátil do modelo Q767, com precisão de 0,2 $^{\circ}$ Brix. Para medir o pH, foi utilizado um pHmetro digital de bolso, do tipo MH-1072 e para a temperatura foi utilizado um termômetro experimental digital simples.



Figura 11 - Levedura utilizada nas fermentações.

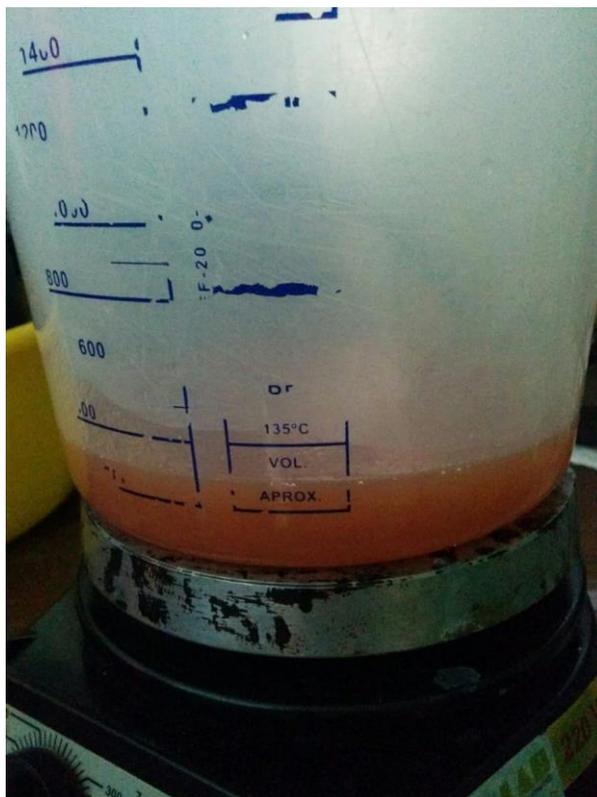


Figura 12 - Caqui fermentando.

3.9. Decantação

Finalizada a fermentação dos mostos, o vinho foi levado à geladeira por 24h para facilitar a decantação da levedura, pelo fato da levedura ser menos solúvel a baixas temperaturas. Dessa forma, após 24h foi feita à primeira separação do vinho e a levedura. Essa etapa foi repetida outras vezes, até que pudesse ser eliminada a maior quantidade de levedura possível.

3.10 Graduação Alcoólica

A graduação alcoólica em °GL foi medida utilizando um ebulliômetro de aço inoxidável. A medição foi realizada usando 50 mL de fermentado de todos os experimentos.

Para medir a graduação alcoólica, primeiro foi necessário calibrar o ebulliômetro com água, para determinar a temperatura de ebulição e com isso comparar com a temperatura de ebulição do fermentado de etanol, que é menor que a da água. Então,

a lamparina foi acesa e foi possível medir a temperatura de ebulição do fermentado e o teor alcoólico foi determinado pela conversão da régua, que foi calibrada com a temperatura de ebulição da água. A Figura 13 a seguir mostra o aparato utilizado para determinar a graduação alcoólica.



Figura 13 - Ebulliômetro.

3.11 Destilação

A destilação dos fermentados dos caquis ocorreu em um aparato de destilação simples com refluxo (Figura 14), sob a temperatura de 80°C e entre 3 e 4h, até que o vinho pudesse ser destilado e essa etapa finalizada.



Figura 14 - Destilação do fermentado de caqui.

3.12 Produtividade volumétrica do etanol

Esse parâmetro é calculado a partir da relação entre a concentração de etanol formado (ΔP) experimental em g.L^{-1} e o tempo total da reação (t) em segundos. A seguinte equação representa a produtividade volumétrica do etanol

$$Q_p = \Delta P / t \quad (4)$$

3.13 Fator de Rendimento

O rendimento pode ser calculado pela relação de teor alcoólico final em g.L^{-1} e a quantidade de substrato em g.L^{-1} que foi consumido durante a reação de fermentação. Esse valor apresenta o rendimento em conversão de sacarose consumida na reação em etanol.

$$Y_{P/S} = \frac{Y_p}{\Delta S} \quad (5)$$

Onde:

$Y_{P/S}$ = fator de rendimento;

Y_p = rendimento experimental ($g \cdot L^{-1}$);

ΔS = variação de substrato (sacarose) ($g \cdot L^{-1}$).

3.14 Eficiência do Processo

A eficiência do processo foi calculada utilizando da Equação 6, usando a relação entre o rendimento teórico e o rendimento experimental obtido pelo ebulliômetro.

$$\eta = \frac{Y_P}{S}(\text{experimental})}{Y_P}{S}(\text{teórico})} \times 100 \quad (6)$$

Onde:

η = eficiência do processo (%);

$Y(P/S(\text{experimental}))$ = rendimento experimental ($g \cdot L^{-1}$);

$Y(P/S(\text{teórico}))$ = rendimento teórico ($g \cdot L^{-1}$).

3.15 Planejamento experimental

Um dos objetivos do planejamento experimental fatorial, e posterior análise de superfície de resposta, foi realizar o menor número de experimentos, reduzindo custos e tempo, além de determinar a influência significativa ou não das variáveis de entrada sobre a(s) resposta(s), quantificando os efeitos destas variáveis para a otimização do processo. Neste trabalho, na análise da regressão dos dados experimentais dos planejamentos fatoriais foi utilizado o programa *Statística*, versão 10.

O planejamento experimental desse trabalho foi elaborado especificando os níveis das variáveis de entrada em dois, conforme a Tabela 6 que foram: concentração inicial de °Brix e a concentração inicial de levedura. Realizou-se sete experimentos, sendo 4 experimentos distintos e 3 no ponto central, como mostrado na Tabela 7 da matriz de planejamento.

O tempo de realização dos experimentos variou não sendo possível finalizá-los em tempos regulares.

Tabela 6 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial.

Variáveis	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (1)
Concentração de °Brix	15	20	25
Concentração de levedura (g.L ⁻¹)	10	15	20

Tabela 7 - Matriz de planejamento fatorial 2² + 3 experimentos no ponto central para a produção de etanol a partir do fruto do caqui

Experimentos	Concentração de °Brix	Concentração de levedura
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

3.16 Espectroscopia na região do Infravermelho (IR)

Os espectros de infravermelho foram realizados em um espectrofotômetro Spectrum Two da marca Perkin Elmer, operando em modo transmitância, na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹, a temperatura ambiente, em resolução de 4 cm e 4 varreduras, com os dados armazenados no computador por meio do software Spectrum versão 5.0.1. A Figura 16 apresenta o equipamento utilizado.



Figura 15 – Espectrofotômetro Spectrum Two.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Cinética Fermentativa

Com a grande importância do setor sucroalcooleiro, estudos relacionados à fermentação e seu rendimento tem sido cada vez mais realizados, bem como a avaliação cinética da fermentação alcoólica. Essa técnica tem como objetivo principal determinar a taxa de formação de produto (TSCHOEKE *et al.*, 2017). A Figura 16 a seguir mostra os etanóis obtidos pelos experimentos.



Figura 16 – Etanóis obtidos pelos experimentos.

A concentração final de etanol do fermentado, foi calculado estequiometricamente. Para calcular a concentração final de etanol em g.L⁻¹ foi utilizada primeiramente a concentração de sacarose em g.L⁻¹, calculada pela equação abaixo (LOPES e SILVA, 2010; NETO *et al.*, 2006;)

$$\text{Concentração de sacarose (g/L)} = {}^{\circ}\text{Brix} * (10,13) + 1,445 \quad (7)$$

Com a concentração de sacarose é possível calcular a concentração teórica de etanol em g.L⁻¹ isso é necessário utilizar a reação de produção de etanol abaixo:



A concentração final de etanol de cada fermentado foi calculada de forma estequiométrica entre a sacarose e o etanol e suas respectivas massas molares.

O primeiro experimento foi realizado com concentração de levedura de 10 g.L⁻¹ e teor de sólidos solúveis iniciais de 15 °Brix. Com essa concentração foi iniciada a fermentação de forma considerável, ponto em que foi verificado o primeiro consumo de substrato da primeira batelada, com aproximadamente 20 horas, o que era esperado, visto que o valor da concentração de levedura é relativamente baixo. Como pode ser visto na Figura 17, a obtenção de etanol ocorreu com o consumo de sólidos solúveis, onde concentração teórica final de etanol da reação foi de 33,538 g.L⁻¹ e o término da reação com aproximadamente 52 horas, tempo em que não aconteceu mais a variação do Brix.

Com relação aos outros parâmetros, a temperatura se manteve entre 27 e 31°C, região que favorece o crescimento da levedura. O pH se manteve entre 4,6 e 4,9, além da faixa de pH que também favoreceu o crescimento da levedura.

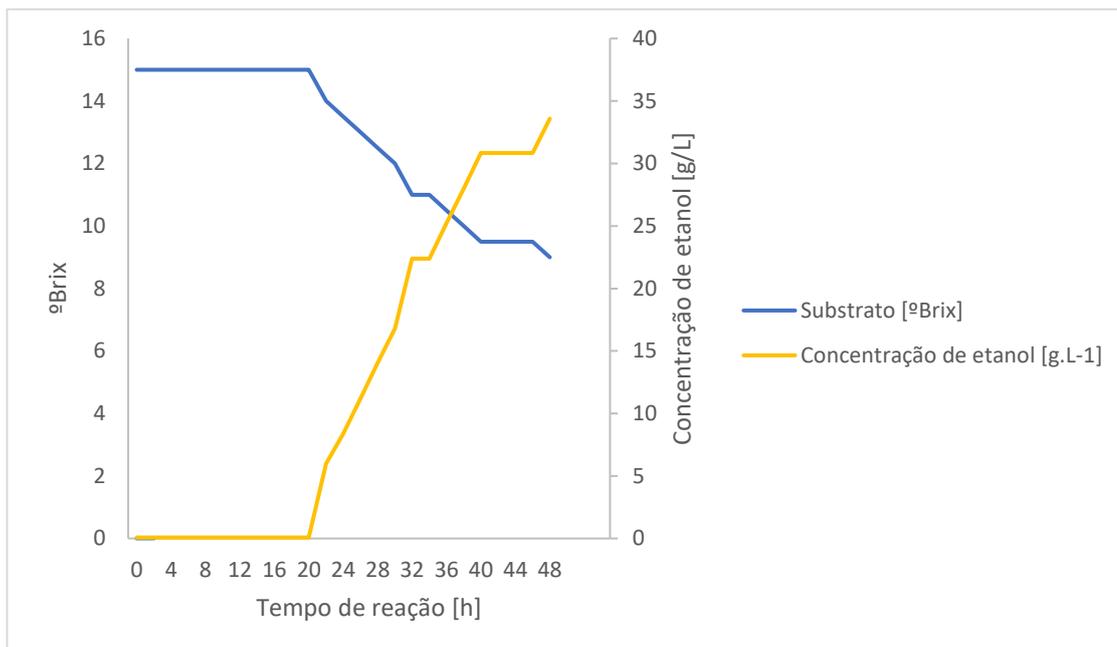


Figura 17 - Cinética fermentativa da reação 1.

O segundo experimento foi realizado com concentração de levedura de 10 g.L^{-1} e teor de sólidos solúveis iniciais de $25 \text{ }^\circ\text{Brix}$. Com essa concentração foi iniciada a fermentação de forma considerável da segunda batelada com aproximadamente 12 horas. A Figura 18 mostra a cinética da segunda fermentação. À medida que o $^\circ\text{Brix}$ diminui, a concentração de etanol aumentou, apresentando o valor de $33,58 \text{ g.L}^{-1}$. A fermentação terminou com aproximadamente 72 horas, marco onde não houve mais obtenção de etanol e o teor de sólido solúveis final foi de $19 \text{ }^\circ\text{Brix}$. Esse valor de $^\circ\text{Brix}$ é considerado alto para o fim da fermentação, mas como a concentração de levedura é pequena e o $^\circ\text{Brix}$ inicial é alto, é esperado que apenas uma pequena quantidade de substrato fosse consumido. A concentração final de etanol foi de $33,538 \text{ g.L}^{-1}$, valor semelhante ao do experimento 1, o que mostra que a concentração de levedura em 10 g.L^{-1} tem mais influência na concentração final de etanol do que quando comparado ao Brix inicial dos experimentos, visto que a quantidade de substrato consumido foi semelhante nos experimentos 1 e 2.

A temperatura se manteve em uma faixa entre 27 e $31 \text{ }^\circ\text{C}$ e o pH entre $4,4$ e $4,9$. Esses valores permitiram que a levedura pudesse realizar a síntese de maneira satisfatória, visto que as condições foram propícias.

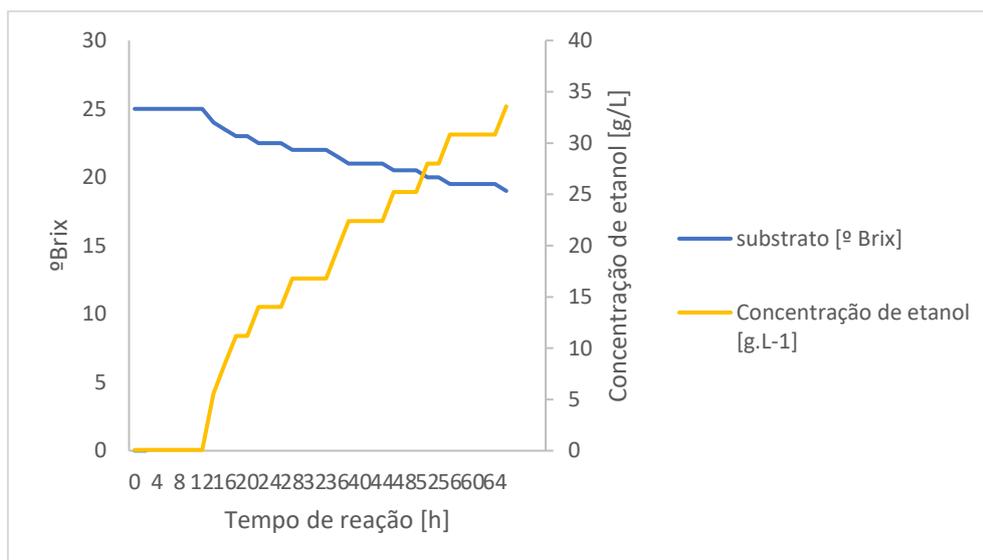


Figura 18 - Cinética fermentativa da reação 2.

O terceiro experimento foi realizado com concentração de levedura de 20 g.L^{-1} e teor de sólidos solúveis iniciais de 15 °Brix . Com essa concentração de levedura, a fermentação foi iniciada rapidamente, de forma considerável, em aproximadamente 2 horas. A Figura 19 mostra a cinética da fermentação 3. Como é possível ver no gráfico, o consumo de substrato acontece de forma acelerada e conseqüentemente a obtenção de etanol também. A fermentação durou aproximadamente 24 horas e o teor de sólido solúveis final foi de $6,5 \text{ °Brix}$. A concentração final de etanol foi de $47,622 \text{ g.L}^{-1}$.

A temperatura se manteve em uma faixa entre 25 e 33 °C e o pH entre $4,6$ e $4,9$. Esses valores permitiram que a fermentação ocorresse de forma eficiente.

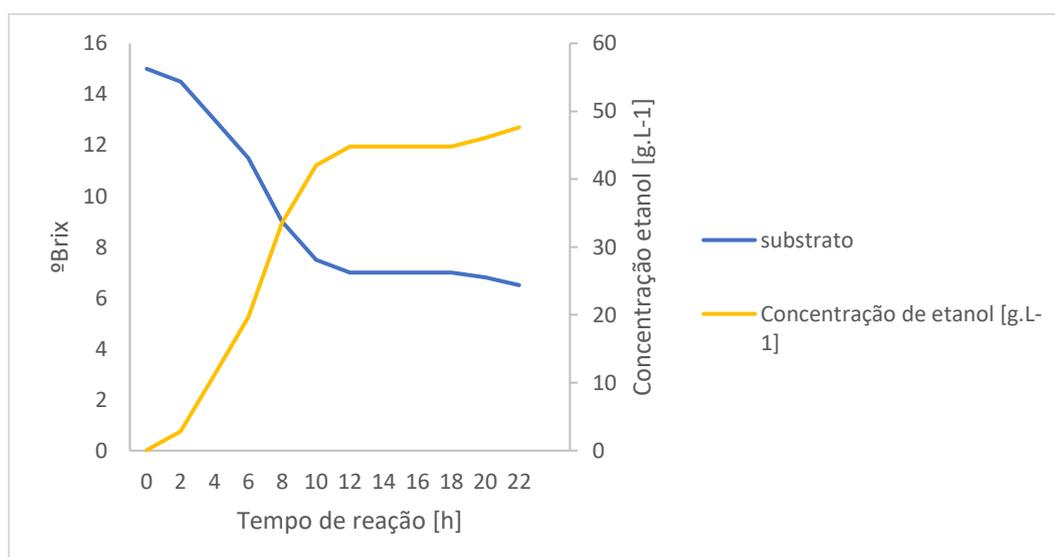


Figura 19 - Cinética fermentativa da reação 3.

O quarto experimento foi realizado com concentração de levedura de 20 g.L^{-1} e teor de sólidos solúveis iniciais de $25 \text{ }^\circ\text{Brix}$. A Figura 20 mostra a cinética fermentativa da fermentação 4. Como é possível ver no gráfico, a obtenção de etanol aconteceu rapidamente, assim como na reação 3, visto que ambas têm concentração de levedura relativamente alta. A fermentação começou com aproximadamente 2 horas e o teor de sólido solúveis final foi de $12,5 \text{ }^\circ\text{Brix}$. Aproximadamente metade do substrato foi consumido, o que permitiu elevada obtenção do produto. A concentração final de etanol foi de $70,014 \text{ g.L}^{-1}$. A alta concentração de levedura mostrou importante influência no consumo de substrato e quando o $^\circ\text{Brix}$ inicial foi maior e com a mesma concentração de levedura, produziu etanol com maior concentração, motivo pelo qual o experimento 4 produziu maior concentração que o 3, visto que ambos têm a mesma concentração de levedura, porém com $^\circ\text{Brix}$ inicial diferentes.

A temperatura se manteve em uma faixa entre 26 e 33°C e o pH entre $4,4$ e $4,9$. Com esses valores o processo metabólico da levedura, provavelmente aconteceu de maneira eficiente.

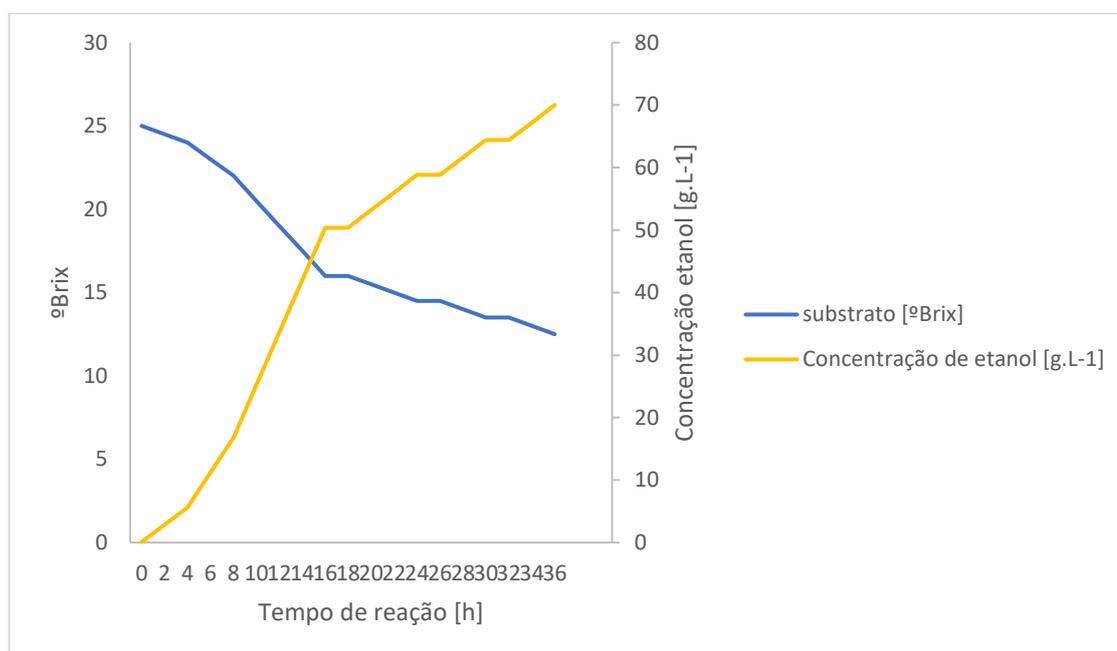


Figura 20 - Cinética fermentativa da reação 4.

Os experimentos 5,6 e 7 foram realizados com concentração de levedura de 15 g.L⁻¹ e teor de sólidos solúveis iniciais de 20 °Brix. Todas as reações tiveram comportamento semelhante, iniciando a fermentação, de forma considerável, onde foi verificado o primeiro decaimento de substrato, com aproximadamente 2 horas e com teor de sólidos solúveis final de 7 °Brix. A concentração final de etanol foi de 72,754 g.L⁻¹ nos experimentos 5 e 6 e de 67,176 g.L⁻¹ no experimento 7. As Figuras 21, 22 e 23 abaixo mostram a cinética fermentativa das reações 5, 6 e 7.

As fermentações 5 e 6 foram as que tiveram maior concentração final de etanol, ou seja, foram as que apresentaram maior obtenção de etanol entre os três experimentos. A temperatura e o pH se mantiveram na faixa adequada para a fermentação.

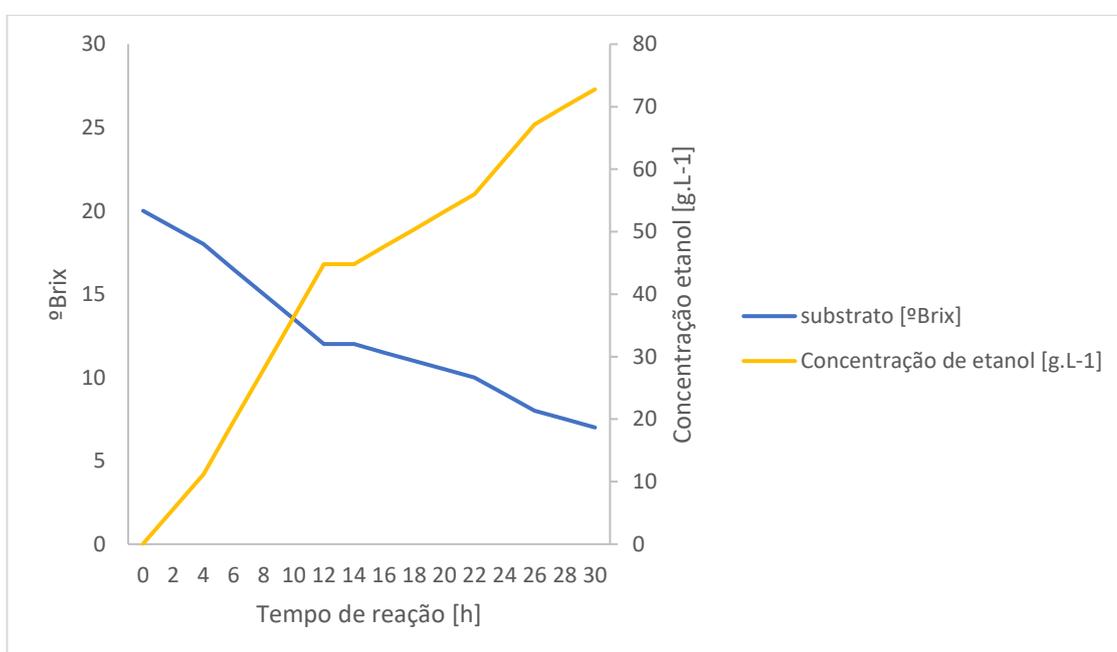


Figura 21 - Cinética fermentativa da reação 5.

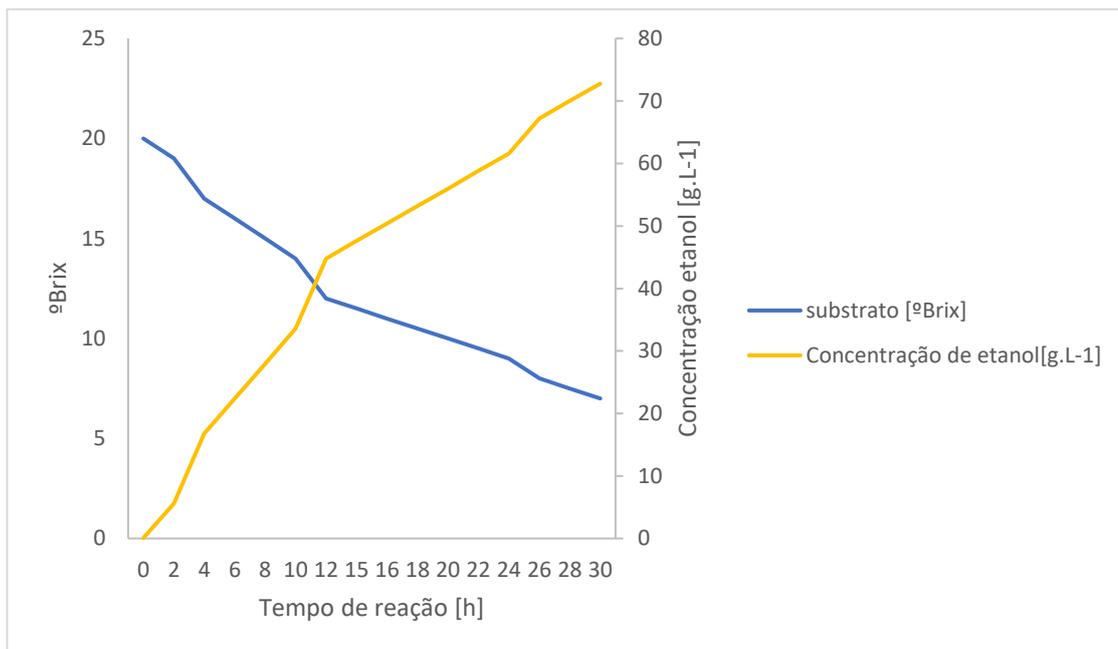


Figura 22 - Cinética fermentativa da reação 6.

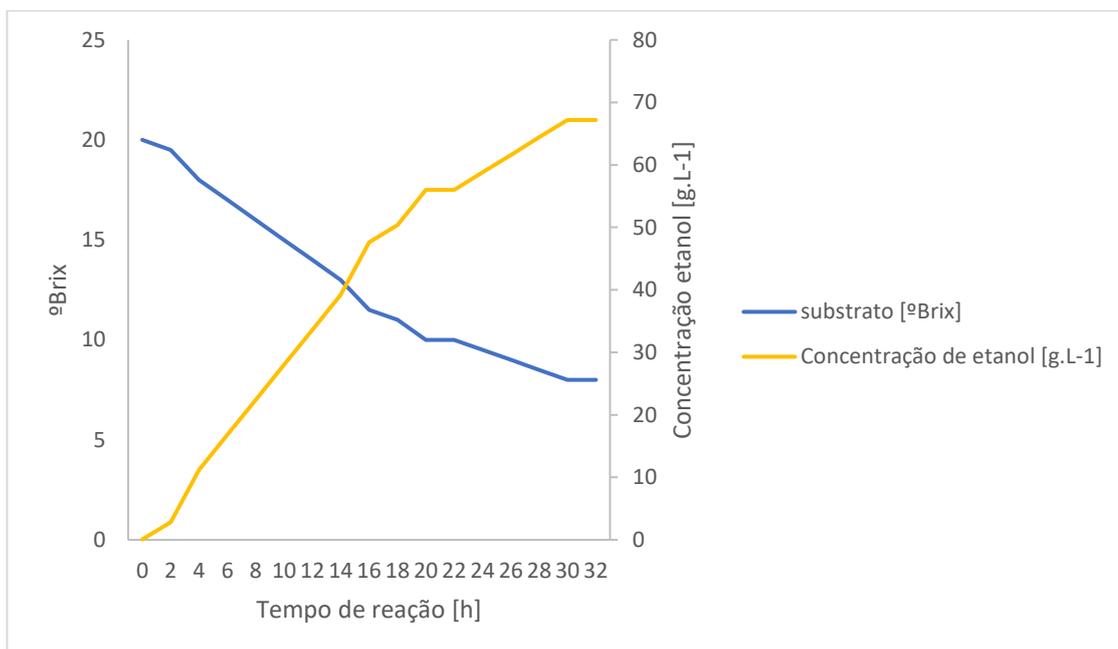


Figura 23 - Cinética fermentativa da reação 7.

Para melhor verificação do resultado das cinéticas, foi realizada uma comparação das curvas de concentração etanol de todos os experimentos, conforme apresentado na Figura 24 abaixo. Por meio da figura é possível observar claramente que os experimentos 4,5 e 6 foram os que produziram etanol com maior concentração, com

destaque para o experimento 6, que foi o experimento que consumiu a maior quantidade de substrato e com isso teve a maior quantidade teórica de concentração de etanol.

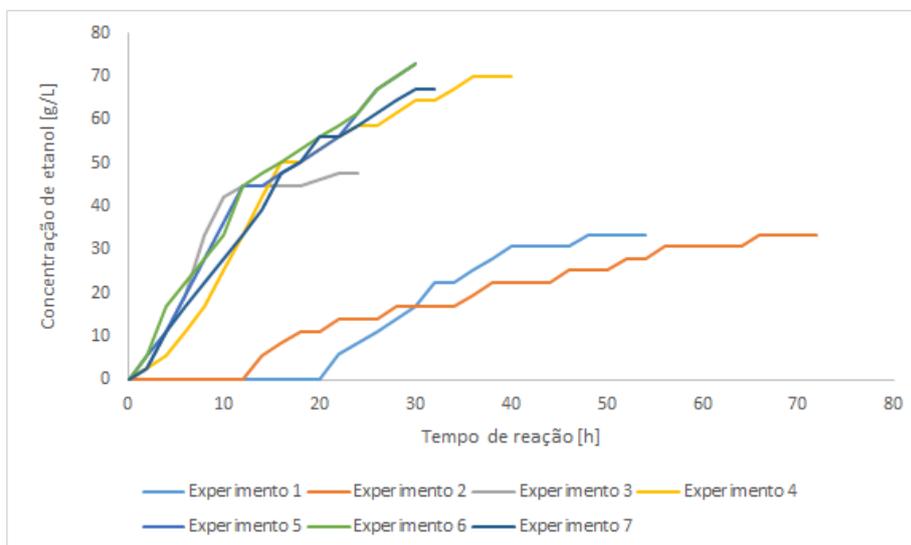


Figura 24 - Comparação entre todas as cinéticas fermentativas das reações.

4.1.1 Análises de graduação alcoólica

Com o ebuliômetro foi possível determinar a graduação alcoólica em °GL e com esses dados determinar a concentração final de etanol em g.L⁻¹ do fermentado a partir da seguinte equação:

$$P(g/L) = \rho_{alcoól}(g/mL) * °GL/100 * 1(L/L) \quad (9)$$

Onde:

P- Concentração de etanol em g.L⁻¹

$\rho_{alcoól}$ – Densidade específica do álcool

Para os cálculos foi utilizada a densidade específica do álcool 0,7895 g.L⁻¹. A Tabela 8 mostra a concentração final do etanol de todos os experimentos.

Tabela 8 – Dados referentes aos parâmetros: °GL, concentração teórica, experimental e conversão de etanol.

Experimento	°GL	Concentração de etanol experimental (g.L ⁻¹)	Concentração de etanol teórica (g.L ⁻¹)	Conversão de etanol (%)
1	2,5	19,8	33,58	59
2	2,8	22,10	33,58	65
3	4,6	36,31	47,62	76
4	6,5	51,4	70,014	73,4
5	4	31,6	72,774	43,5
6	4,2	33,2	72,774	45,6
7	4,1	32,4	67,176	48,2

Como é possível observar na Tabela, a concentração experimental de etanol foi maior para o experimento 4, o que tem maior °Brix inicial e maior concentração de levedura, mostrando a influência dessas variáveis no produto final. E o que apresentou menor concentração de etanol experimental foi o experimento 1, o qual teve o menor valor de concentração de levedura e de °Brix inicial do planejamento.

O experimento que apresentou a menor concentração experimental de etanol foi o 1, ponto onde a concentração de levedura e o °Brix inicial são os menores do planejamento.

Com relação a porcentagem de conversão de etanol, o experimento 3, com °Brix inicial 15 e levedura 20 g.L⁻¹ foi o que apresentou melhor valor. Isso aconteceu porque o valor da concentração teórica de etanol foi o que mais se aproximou da concentração experimental, apresentando uma conversão de aproximadamente 76%.

É notável que a concentração teórica de etanol foi maior para os experimentos 5 e 6, visto que consumiram teoricamente maior quantidade de substrato. Porém, o melhor valor de conversão, que relaciona a concentração experimental com a concentração teórica de etanol, foram para os experimentos 3 e 4. Este valor de conversão é muito importante, pois mostra a quantidade real do experimento que foi convertida em etanol, visto que para efeito de comparação usa a concentração experimental, que foi a que foi medida ao final do experimento.

Outro parâmetro importante é a produtividade volumétrica do etanol, que é a relação entre a concentração final de etanol e o tempo que durou a reação. O rendimento teórico e experimental também foi calculado, esses valores são importantes para calcular a eficiência da fermentação. A Tabela 9 mostra os valores de produtividade, rendimento experimental, rendimento teórico e eficiência para todos os experimentos realizados.

Tabela 9 – Dados referentes aos parâmetros: produtividade, rendimento experimental e teórico e eficiência.

Experimento	Produtividade (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Rendimento Experimental	Rendimento teórico	Eficiência (%)
1	0,4122	0,32	0,54	60
2	0,34	0,35	0,54	64
3	1,656	0,42	0,54	77,8
4	1,44	0,40	0,54	74
5	1,08	0,23	0,54	42,6
6	1,08	0,25	0,54	47
7	1,009	0,26	0,54	48,2

O experimento 3 foi o que apresentou melhor valor de produtividade, ou seja, foi o que produziu mais etanol por cada fração de hora da fermentação e consequentemente, foi o experimento que apresentou melhor eficiência, com aproximadamente 77,8%, seguido pelo experimento 4, com aproximadamente 74%. Esses valores maiores são explicados principalmente pela alta concentração de levedura, que para ambos os experimentos foram as maiores do planejamento, com 20 g.L⁻¹.

Os experimentos 1 e 2 foram os que apresentaram menor valor de produtividade, com aproximadamente 0,4122 e 0,34 g.L⁻¹.h⁻¹ respectivamente. Isso é explicado devido os valores baixos de concentração levedura, 10 g.L⁻¹ para ambos os experimentos. Porém, apresentaram valores de eficiência razoáveis, visto que foram os valores intermediários do planejamento, o que mostra que o rendimento teórico e o experimental estão próximos.

Os experimentos 5, 6 e 7 apresentaram valores de produtividade intermediários, visto que apresentam valores de concentração de levedura e °Brix inicial intermediários no planejamento. Porém, apresentaram valores de eficiência do planejamento pouco satisfatórios, o que mostra que o valor do rendimento teórico não está próximo do rendimento experimental dos experimentos.

Como o cálculo da concentração teórica de etanol depende da concentração teórica de sacarose, os valores de rendimento teórico foram iguais para todos os experimentos. Isso aconteceu porque ambos os cálculos dependem da variação do substrato.

4.2 Análise estatística

Planejamento experimental é uma ferramenta na qual se compara todas as possíveis combinações dos fatores de cada ensaio experimental. O efeito de um determinado fator pode ser considerado uma mudança que a variável de resposta sofreu, quando passa do nível mais baixo para o nível mais alto (VILANI *et al.*, 2006).

Para a análise estatística foi utilizado o planejamento fatorial $2^2 + 3$ experimentos no ponto central, com o total de 7 experimentos. As variáveis de entrada utilizadas foram: Concentração inicial de °Brix e a concentração de levedura. A variável de resposta foi a concentração final de etanol do fermentado.

Com a variável de saída concentração de etanol, foi possível plotar gráficos em 3D no software *Statística* para uma melhor análise dos resultados. Para todos os experimentos foi considerado um tipo de superfície de resposta: linear. Foram plotados dois tipos de gráficos. Um mostrando os valores de concentração de etanol (eixo z), produtividade (eixo y) e °Brix (eixo x). O outro mostra a conversão de etanol (eixo z), tempo de reação (eixo y) e °Brix (eixo x). As Figuras 25 e 26 mostram a superfície de resposta linear do experimento 1. Na Figura 25 é possível aferir que com o abaixamento do °Brix, o valor da concentração de etanol e produtividade aumentam, chegando ao máximo de 33,558 g.L⁻¹ e 19,68 g.L⁻¹.h⁻¹ respectivamente no experimento 1. Esse experimento é o que combina os pontos negativos (menores) do planejamento, sendo o ponto (-1) de concentração de levedura igual a 10 g.L⁻¹ e °Brix inicial com ponto (-1) igual a 15. Com esses valores, era esperado que o etanol tivesse baixo valor de concentração e produtividade entre todos os experimentos. Com relação a conversão de etanol, como pode ser visto na Figura 26 o valor máximo atingindo foi de 59%, com o °Brix operando aproximadamente em 9 com o tempo de reação de aproximadamente 58 horas. O tempo de reação foi relativamente alto, pois a concentração de levedura foi baixa.

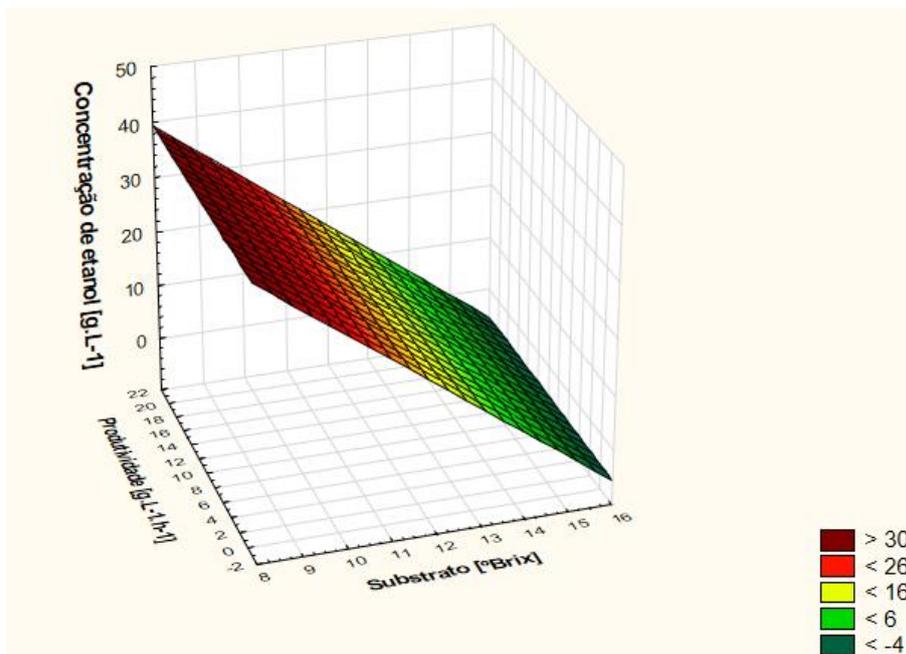


Figura 25 - Superfície de resposta linear do experimento 1: variação da concentração de etanol em função da produtividade e $^{\circ}\text{Brix}$.

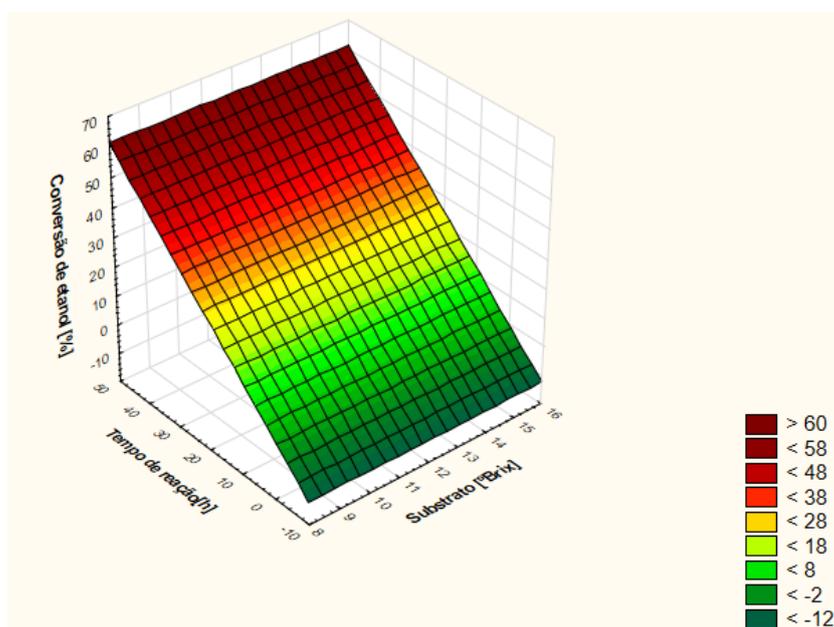


Figura 26 - Superfície de resposta linear do experimento 1: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e $^{\circ}\text{Brix}$.

As Figuras 27 e 28 mostram a superfície de resposta linear do experimento 2. Observa-se que com a diminuição do $^{\circ}\text{Brix}$, a concentração de etanol aumenta. Com o $^{\circ}\text{Brix}$ fixado em 19 e concentração de levedura 10 g.L^{-1} ponto (-1) é onde tem a maior concentração de etanol, com o valor de $33,558 \text{ g.L}^{-1}$. Valor parecido com o experi-

mento 1, ou seja, a influência do °Brix inicial e consumido nas fermentações são parecidas, com valores iguais para a concentração de etanol. O valor máximo de produtividade foi 22,44 g.L⁻¹.h⁻¹. Com relação a conversão, o valor máximo atingido foi de 65% e o tempo de reação foi de 66 horas, o maior do planejamento. A combinação do experimento 2 com concentração de levedura 10 g.L⁻¹ (ponto -1) e °Brix inicial 25 (ponto +1) produziu baixos valores de concentração e produtividade e com um grande tempo de reação, o que pode ser explicado que com baixa concentração de levedura não é possível sintetizar grandes quantidades de substrato.

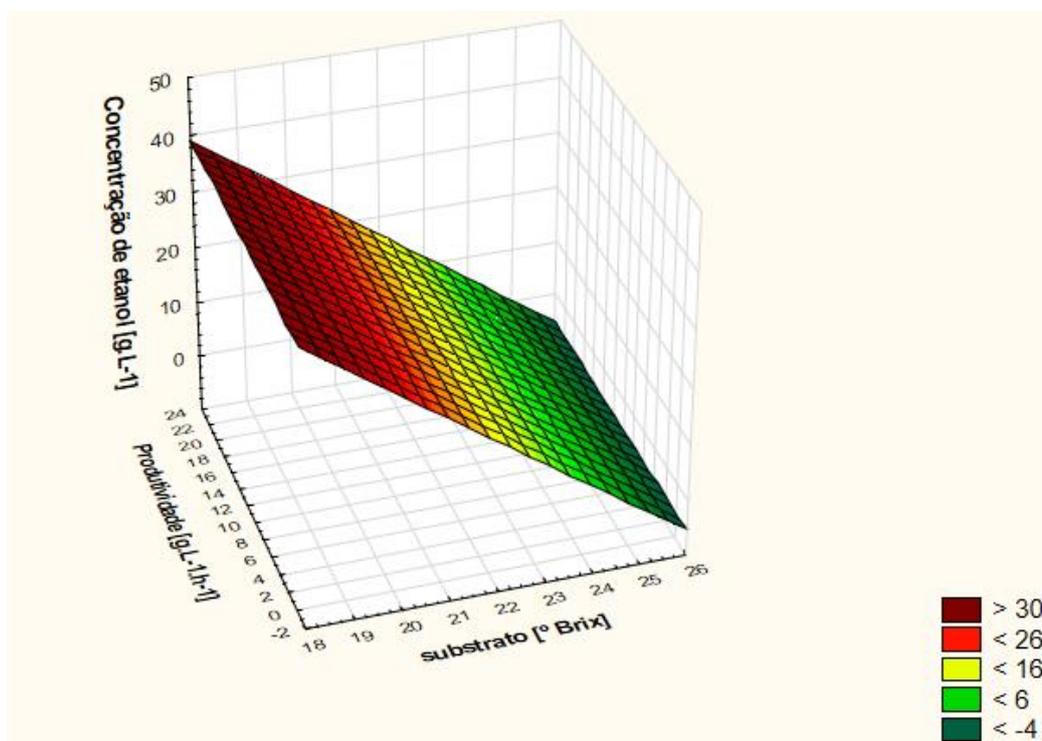


Figura 27 - Superfície de resposta linear do experimento 2: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

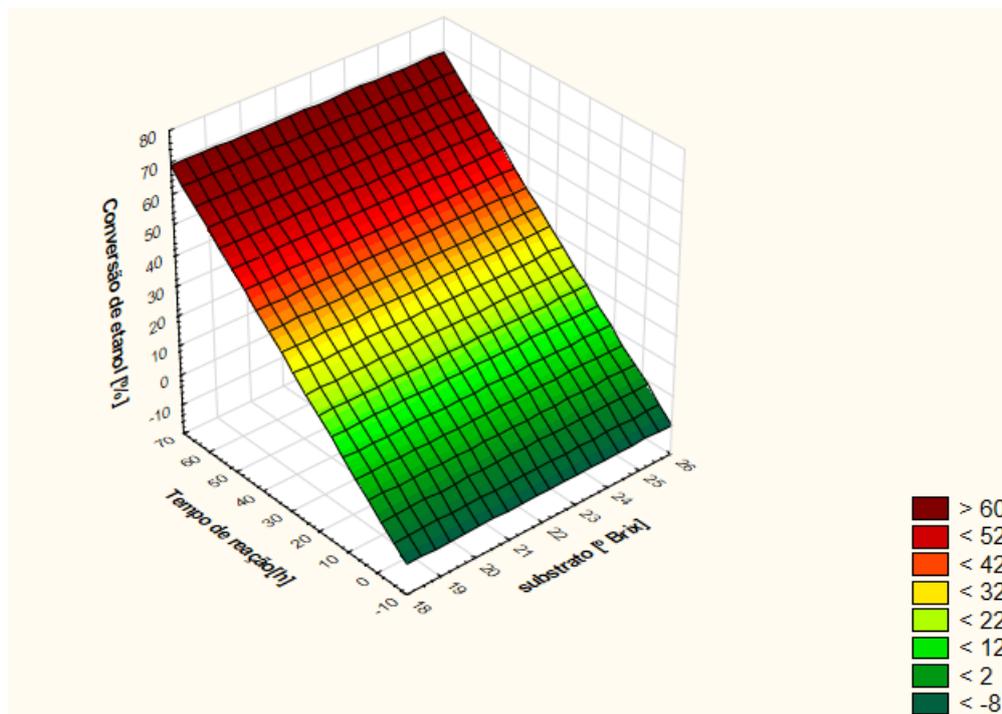


Figura 28 - Superfície de resposta linear do experimento 2: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

As Figuras 29 e 30 mostram a superfície de resposta linear do experimento 3. É possível observar que com a diminuição do °Brix, a concentração de etanol aumenta, assim como a produtividade. Com o °Brix fixado em 6,5 e a concentração de levedura inicial de 20 g.L^{-1} ponto (+1) é onde se tem a maior concentração de etanol, com o valor de $47,622 \text{ g.L}^{-1}$ e produtividade máxima com $36,432 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. A conversão de etanol foi de aproximadamente 76% com tempo de reação de 22 horas. Com isso é possível aferir que com a combinação do ponto de levedura (+1) e °Brix (-1) a produção de etanol foi eficiente e rápida, apresentando valores de concentração e conversão altos. Isso aconteceu principalmente pela elevada concentração de levedura, que foi capaz de sintetizar grande parte do substrato, que teve seu valor mínimo inicial. O experimento 3 foi o que apresentou melhores valores de conversão, produtividade, rendimento, tempo de reação e eficiência.

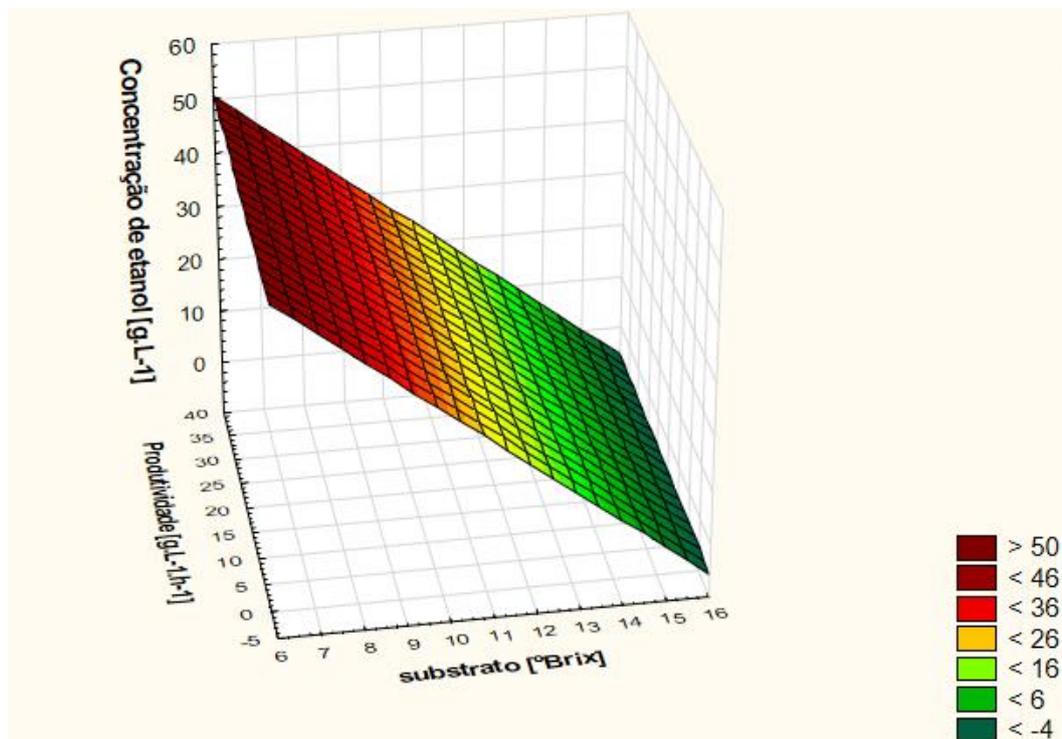


Figura 29 - Superfície de resposta linear do experimento 3: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

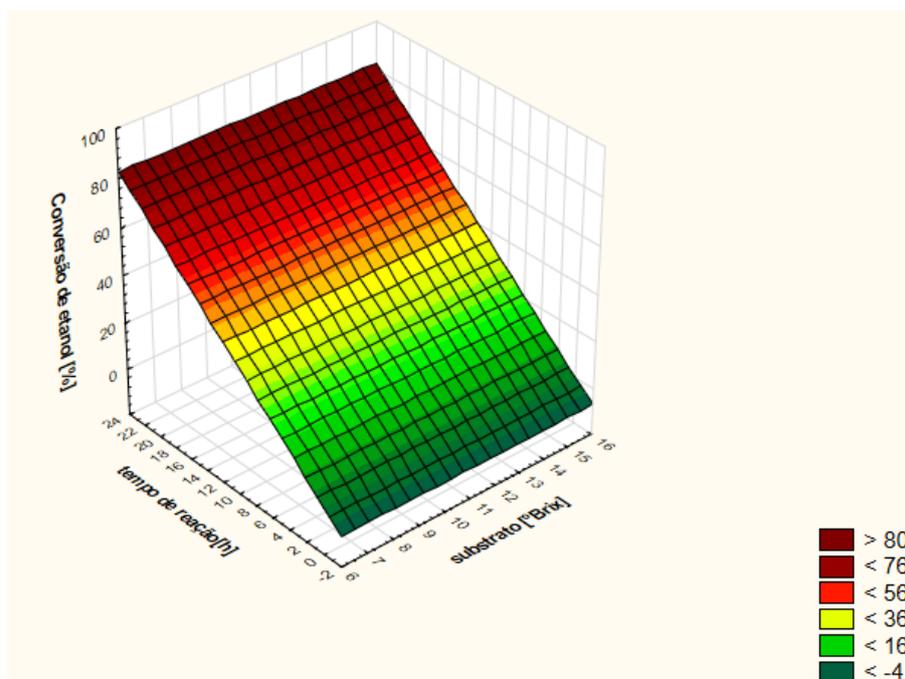


Figura 30 - Superfície de resposta linear do experimento 3: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

As Figuras 31 e 32 mostram a superfície de resposta linear do experimento 4. A figura mostra que com o °Brix fixado em 12,5 e levedura 20 g.L⁻¹ (+1), a concentração de etanol foi de 70,014 g.L⁻¹ e produtividade 51,84 g.L⁻¹.h⁻¹. Com relação à conversão, o valor máximo atingido foi de 73,4% com tempo de reação de 36 horas. Os experimentos 3 e 4 tem a mesma concentração de levedura (ponto +1), porém o experimento 4 apresentou maior concentração de etanol, isso se explica porque o °Brix inicial do experimento 4 é 25 (ponto +1) e maior que o experimento 3, com isso, a levedura, que tem concentração relativamente alta para esses pontos, conseguiu sintetizar maior quantidade de etanol. É possível aferir que com a concentração de levedura alta, como a dos experimentos 3 e 4, a produção de etanol foi maior, mais eficiente e com menor tempo de reação. Então, para o planejamento, o ponto (+1) de levedura foi mais eficaz.

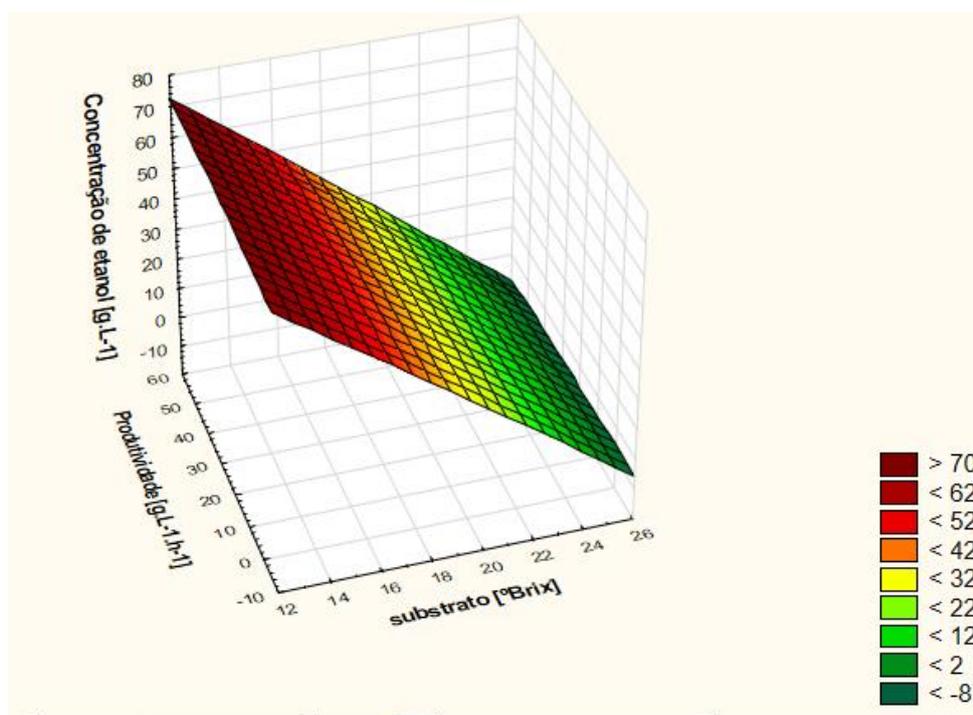


Figura 31 - Superfície de resposta linear do experimento 4: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

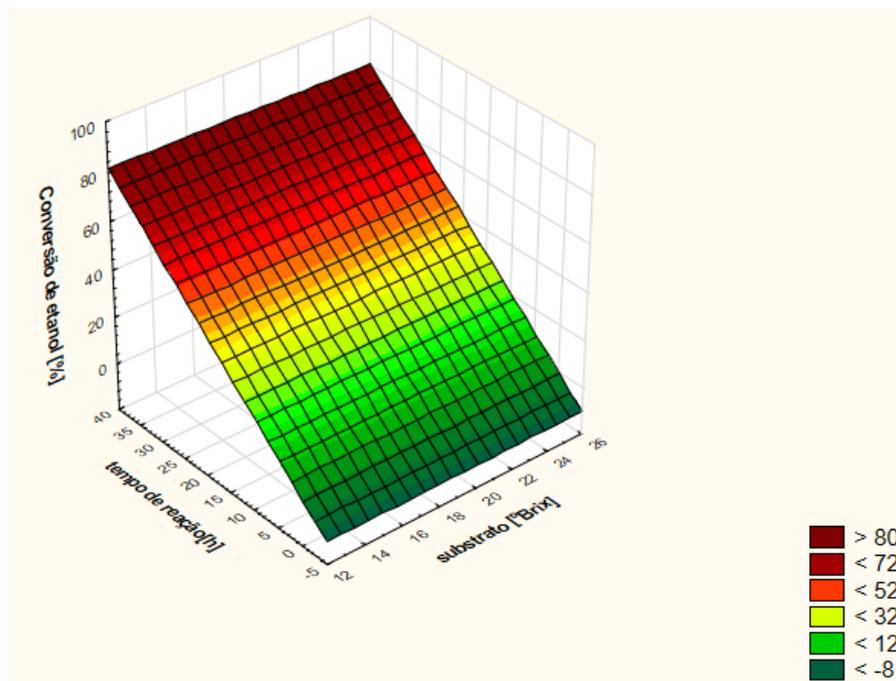


Figura 32 - Superfície de resposta linear do experimento 4: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

As figuras a seguir de 33 a 38 mostram a superfície de resposta linear dos experimentos 5, 6 e 7 do planejamento. Esses experimentos são o ponto (0) do planejamento, onde a levedura tem concentração de 15 g.L^{-1} e °Brix inicial igual a 20. As figuras mostram que nos experimentos 5 e 6 com o °Brix operando em 7 e levedura 15 g.L^{-1} (ponto 0) a concentração de etanol foi $72,774 \text{ g.L}^{-1}$ e produtividade máxima de $32,4 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Para o experimento 7, esses valores para concentração e produtividade foram de $67,176 \text{ g.L}^{-1}$ e $32,88 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Os experimentos 5, 6 e 7 apresentaram valor de conversão de aproximadamente 43,5; 45,6 e 48,2%. Esses valores de conversão foram os menores de todo o planejamento, ou seja, o ponto 0 desse planejamento não se mostrou tão eficaz quanto os outros pontos, pois os valores de eficiência também foram menores. Todos os valores de concentração, rendimento, conversão, eficiência e tempo de reação se mostraram semelhantes para os experimentos do ponto 0, visto que todos foram realizados sob as mesmas condições.

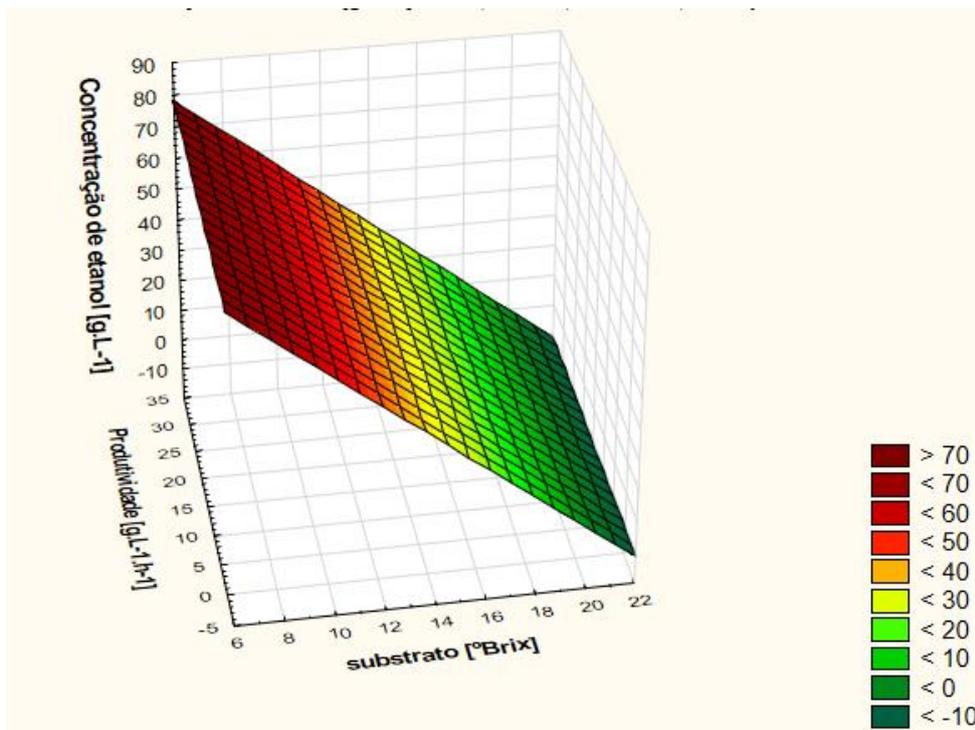


Figura 33 - Superfície de resposta linear do experimento 5: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

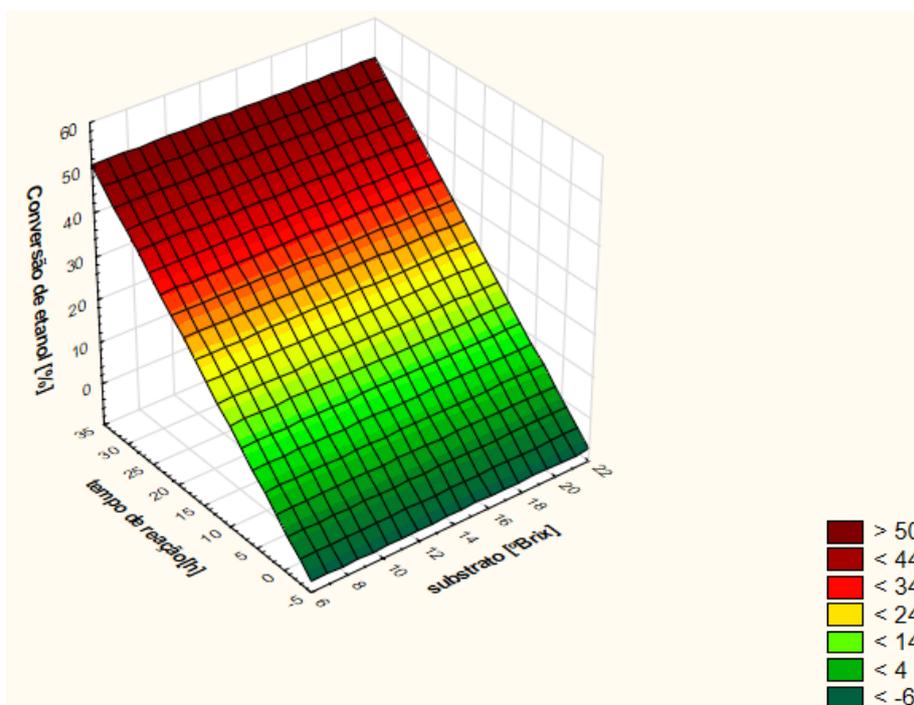


Figura 34 - Superfície de resposta linear do experimento 5: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

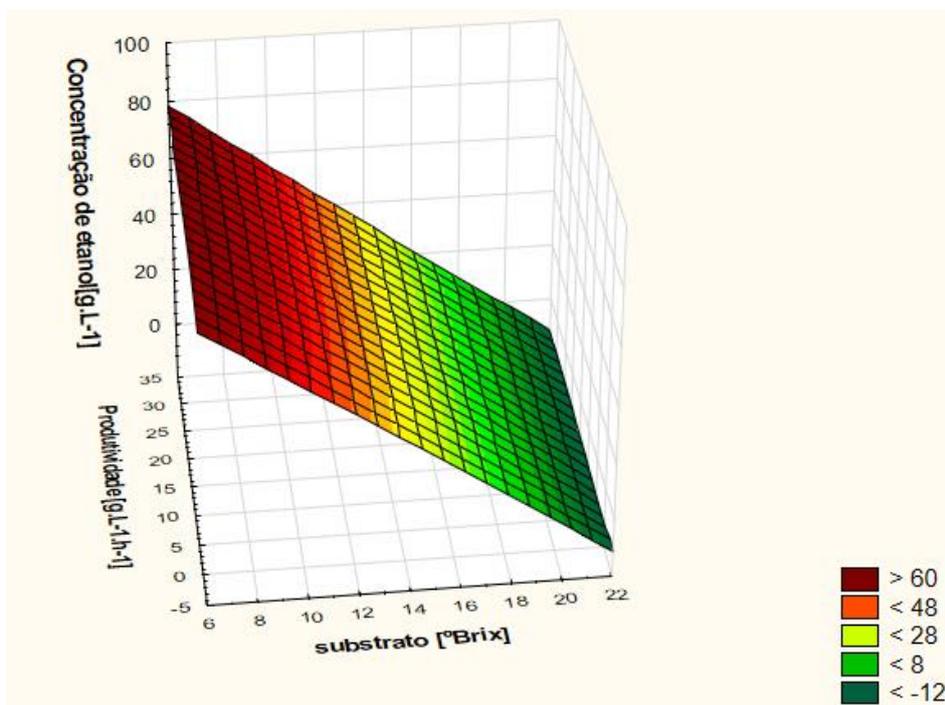


Figura 35 - Superfície de resposta linear do experimento 6: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

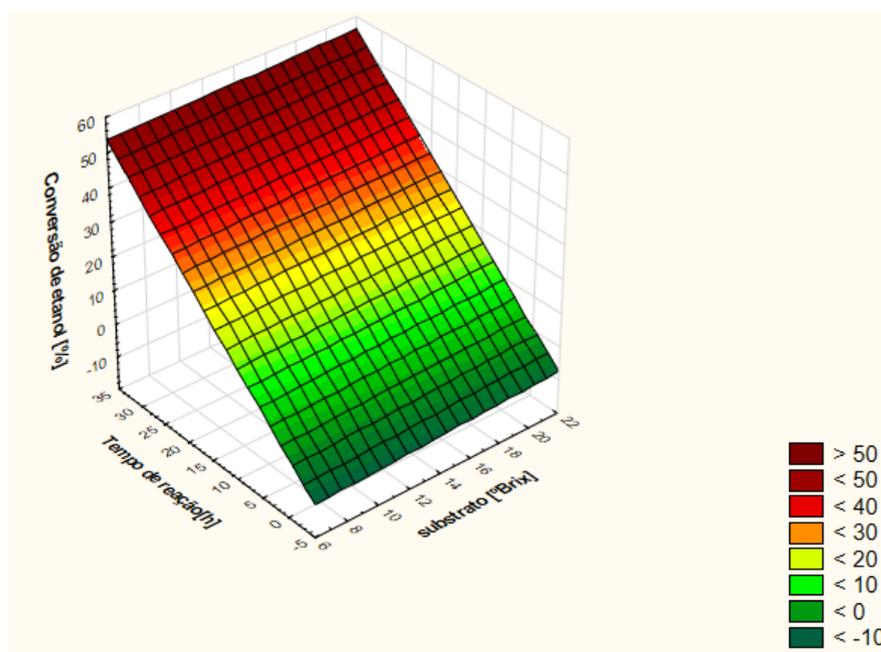


Figura 36 - Superfície de resposta linear do experimento 6: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

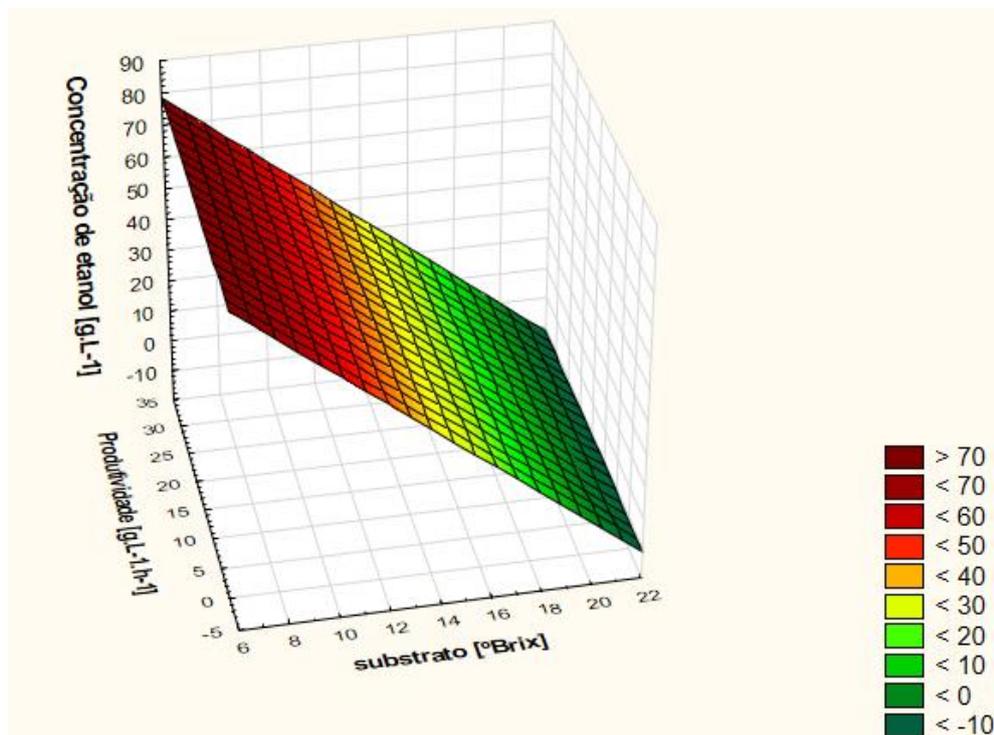


Figura 37 - Superfície de resposta linear do experimento 7: variação da concentração de etanol em função da produtividade e °Brix.

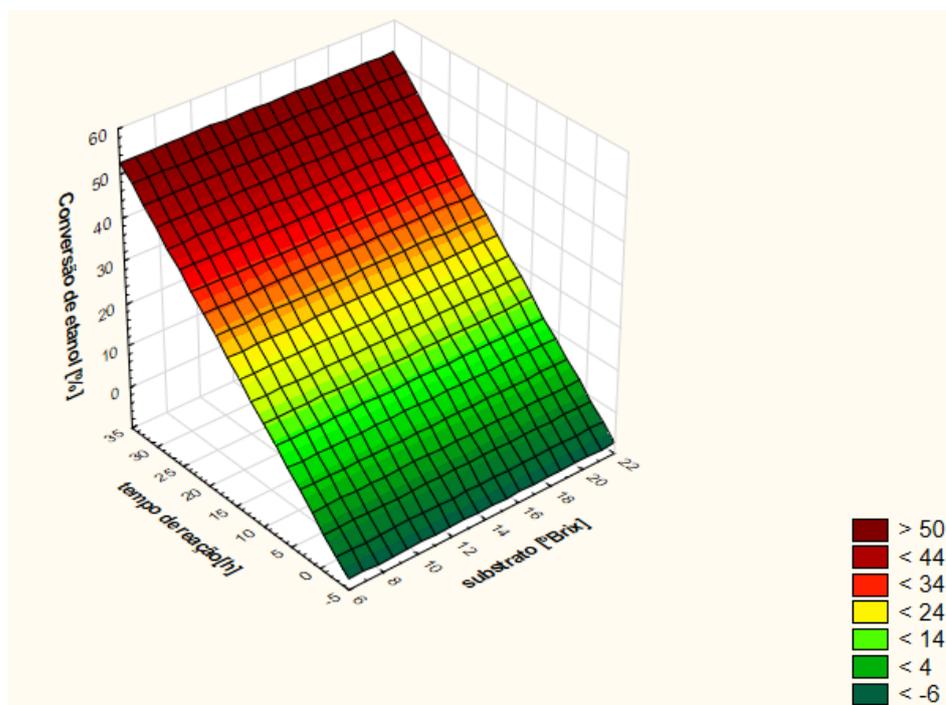


Figura 38 - Superfície de resposta linear do experimento 7: variação da conversão de etanol em função do tempo de reação e °Brix.

Por meio do software *Statistic*, foram obtidas equações para todos os experimentos e para os dois tipos de gráficos. Sendo o primeiro, uma equação de primeiro grau com ajuste linear, onde é relacionada a concentração de etanol (variável de resposta) com a produtividade e °Brix, que são as variáveis de entrada. Com isso, é possível ver a influência direta das variáveis de entrada na variável de saída.

Para o segundo tipo de gráfico, também foram obtidas as equações de primeiro grau com ajuste linear, onde foi relacionada a conversão de etanol (variável de saída) com o tempo de reação e o °Brix, que foram as variáveis de entrada.

Para um melhor entendimento das equações e a influência de suas respectivas variáveis, é viável uma ampliação do planejamento experimental, do tipo estrela, onde são adicionados mais experimentos e é diminuído o intervalo entre os níveis e com isso também acontece a diminuição dos erros. Além disso, dessa maneira, é possível também relacionar diretamente a concentração de levedura por meio de outras análises químicas e a forma como ela influencia nas variáveis de resposta. Por essas razões, não foi viável evidenciar as equações dos experimentos neste planejamento.

4.3 Análise Infravermelho (IR)

Foi realizada a análise de espectroscopia na região de infravermelho dos etanóis obtidos pelas sete fermentações. Para uma melhor comparação, foi utilizado o espectro infravermelho de uma amostra padrão (PA) 99,5 % de etanol. A Figura 39 a seguir mostra o espectro infravermelho do etanol padrão.

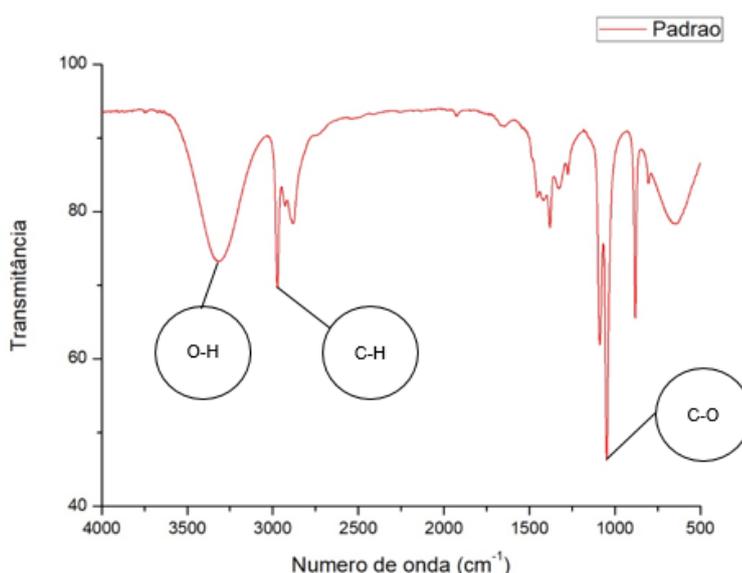


Figura 39 - Espectro infravermelho do etanol padrão.

É possível identificar na figura que a banda entre 2800 a 3000 cm^{-1} está atribuído aos grupos funcionais C-H, que existem nos grupos funcionais CH_2 e CH_3 . Também é possível identificar que a banda entre 1000 e 1280 cm^{-1} é referente ao grupo C-O e a banda entre 3300 e 3500 cm^{-1} é referente ao grupo O-H. Onde existe uma maior concentração de O-H é observada um maior estiramento da banda (OLIVEIRA, 2001; apud, SILVA, 2018).

A Figura 40 abaixo mostra o espectro infravermelho de todos os etanóis produzidos no planejamento. É possível observar que todos apresentam espectro semelhante do etanol padrão, com os grupos funcionais respectivos de cada banda do espectro. Os etanóis foram identificados como a amostra de 1 a 7, onde cada uma está relacionada a um experimento da matriz de planejamento.

Com relação a banda entre 3300 e 3500 cm^{-1} (O-H), os espectros 3, 4 e 5 foram os que mais semelhantes em relação ao etanol padrão, devido á serem os etanóis que apresentaram maior valor de graduação alcoólica. Essa banda é mais larga em todos os etanóis, quando comparados ao padrão, pois são etanóis hidratados que foram obtidos por destilação simples. A banda C-O, localizada entre 1000 e 1100 cm^{-1} apresenta pico maior para o etanol padrão, isso acontece porque o padrão tem menor concentração de água em sua composição. Os etanóis obtidos pelo planejamento apresentam maior quantidade de água e por isso apresentam pico menor para esta largura de banda.

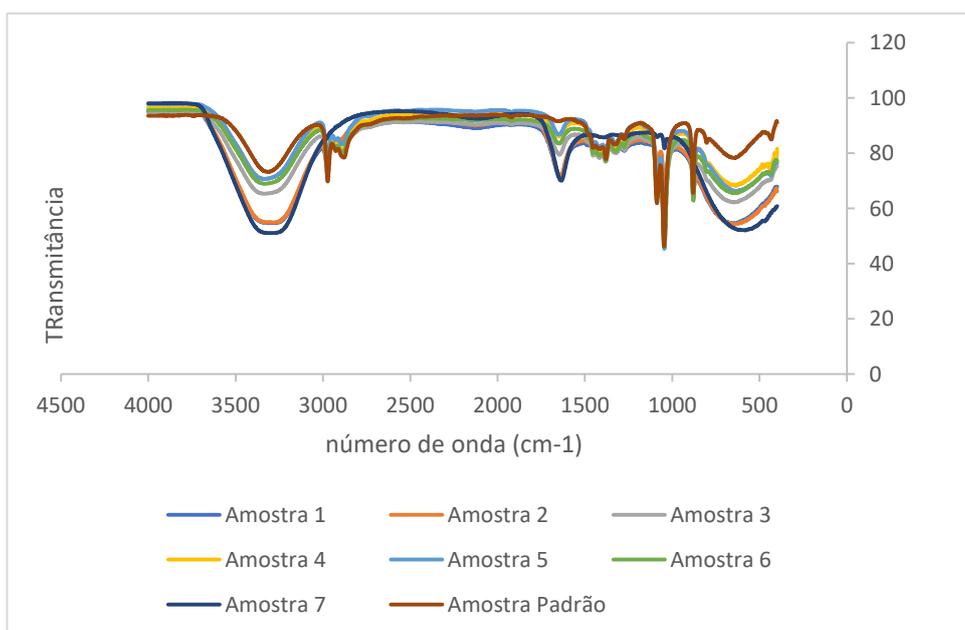


Figura 40 - Espectro infravermelho dos etanóis do planejamento.

5. CONCLUSÃO

O caqui apresenta grande potencial para produção de etanol e demonstrando relevância ao uso de frutas como biomassa para esse fim. Levando em consideração que o Brasil é um país que apresenta uma grande variedade de biomas com os mais diferentes tipos de frutos, trabalhos como esse são de grande importância para a valorização das mais variadas culturas locais e nacionais.

Os parâmetros temperatura e pH foram medidos e controlados com o objetivo de permitir uma fermentação eficiente. As fermentações tiveram tempo de duração diferentes, variando entre 24 e 72 horas, visto que as variáveis de entrada °Brix e concentração de levedura eram diferentes para cada ensaio experimental. O tempo de reação dependeu prioritariamente da concentração de levedura. Assim, quanto mais elevada essa concentração, mais rápida foi a reação. Os experimentos com o ponto (-1) de levedura foram os que apresentaram menores valores de produtividade e de concentração de etanol.

A produtividade, rendimento experimental e a eficiência do processo dependeram principalmente da concentração de levedura e do °Brix, visto que os melhores valores desses parâmetros foram para o experimento três, onde a levedura tem o ponto (+1) e o °Brix o ponto (-1). Foi observado que uma elevada concentração de levedura produziu etanol de forma mais eficiente quando utilizada a mais baixa concentração de °Brix. Os valores de produtividade e conversão de etanol para esse ponto do planejamento foram $1,656 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e 76%.

O planejamento experimental se mostrou uma ferramenta eficiente para a análise da concentração de etanol, que neste trabalho foi a variável de resposta. Os experimentos que apresentaram menores valores de conversão e eficiência foram o do ponto 0 do planejamento, com a média de 45,77% e 45,93%, respectivamente, o que mostra que esses parâmetros não dependem prioritariamente da concentração de levedura.

Por meio da espectroscopia no infravermelho foi possível aferir a obtenção de etanol, com diferentes graduações alcoólicas. Todos os espectros apresentaram os grupos funcionais que caracterizam o etanol, como o O-H, C-H e C-O. Com relação a banda O-H, os espectros que mais se aproximaram do espectro padrão foram os da amostra 3, 4 e 5, que estão entre os que apresentaram elevados valores de graduação alcoólica e conseqüentemente menor presença de água. Com relação a banda C-O,

o etanol padrão apresentou maior pico que os outros, devido à menor concentração de água em sua composição.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA (ANEEL). **Atlas de energia elétrica do Brasil**. Disponível em: <<http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/atlas3ed.pdf>>.

Acesso em: 06 de maio de 2018

AGUIAR, M. de J.N. *et al.* **Zoneamento pedoclimático para a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) no Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical / Recife: Embrapa-CNPS-ERP-NE, 2000. 30p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa, 27).

ALBARELLI, J. Q. **Produção de açúcar e etanol de primeira e segunda geração: simulação, integração energética e análise econômica**. Tese (Tese em Engenharia Química) – Faculdade Estadual de Campinas. São Paulo, 2013.

ANDRADE, J. C. *et al.* **Experimentos didáticos utilizando medidas voltamétricas**. Disponível em: <<http://chemkeys.com/br/2007/04/18/experimentos-didaticos-utilizando-medidas-voltametricas/>> Acesso em: 17 de novembro de 2018.

AZHAR, Siti Hajar. *et al.* **Yeasts in sustainable bioethanol production: A review**, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405580816302424>

B, Sheetal. *et al.* **Experimental Investigation and Optimization for Production of Bioethanol from Damaged Corn Grains**, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785317325087>

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BNDS). **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/2002>>. Acesso em: 029 de abril de 2018

BARROS NETO, B., SCARMINIO, J.S., BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Editora Unicamp, Campinas, São Paulo, 1995.

BELLEZONI, R. A. *et al.* **Water-energy-food nexus of sugarcane ethanol production in the state of Goiás, Brazil: An analysis with regional input-output matrix.** Biomass and Bioenergy, v. 115, 2018.

BOX, G.E.P., HUNTER, J.S. **Statistics for experiments.** New York. 1978.

BRAGION, N. *et al.* **Variáveis que sustentam o período atual de produção de bioetanol.** RAI – Revista de Administração e Inovação, São Paulo, v. 9, 2012.

CARUSO, Miriam Solange Fernandes. *et al.* **Avaliação do teor alcoólico e componentes secundários de cachaças,** <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v67n1/v67n1a02.pdf>

CARVALHO, F. S. **O setor sucroenergético no Brasil: Estado, hegemonia e relações internacionais.** Mestrado (Mestrado em Ciências Sociais) – Faculdade de Filosofia e Ciências da Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 2012.

CHIAPINOTTO, L. **Análise da combustão e das emissões de um motor Flex usando misturas heterogêneas de combustíveis.** 2017, 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2017

CINELLI, B. A. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial.** Mestrado (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2012.

CORAZZA, M. L. *et al.* **Preparação e caracterização do vinho de laranja.** Quim. Nova, v. 24, 2001.

COSTA, B. P. **Obtenção de etanol a partir de caju (*Anacardium occidentale L.*).** Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

COSTA, B. P. **Uso do Bagaço do cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*) para Obtenção de Etanol de Segunda Geração.** Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

CUNICO, M. W. M. *et al.* **Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica.** Visão Acadêmica, Curitiba, v.9, 2008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?** Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886571/1/CITE04.pdf>>. Acesso em: 20 de maio de 2018

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Matriz Energética e Elétrica.** Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica>> Acesso em: 21 de abril de 2018

ERNANDES, F. M. P. G. **Utilização de diferentes substratos para a produção de etanol, levana e sorbitol por *Zymomonas mobilis*.** Tese (Tese em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São Paulo, 2009.

FGV ENERGIA. **A política nacional de biocombustíveis e os ganhos de eficiência no setor produtivo.** Disponível em: <<https://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/bitstream/handle/10438/22059/Coluna%20Opinio%20Marco%20-%20Biocombustiveis%20-%20Elizabeth%20e%20Luciano.pdf>>. Acesso em: 26 de maio de 2018

FURLAN, F. F. **Desenvolvimento de ambiente integrado para a simulação e otimização estática da produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar por rota bioquímica.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 2012.

GALZERANI, J. C., RODRIGUES A. G. **Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades.** Departamento de Física, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil. Revista Brasileira de Ensino de Física, v. 34, n. 4, 4309, 2012.

GHANI, N. *et al.* **Biomass feedstock supply chain network design with biomass conversion incentives.** Energy Policy, v. 116, 2018.

GOMES, S. O. *et al.* **Características físicas e químicas de frutos de cajuí.** Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117074/1/CBMPVAL-DOMIRO3.pdf>> Acesso em: 15 de abril de 2018

GONÇALVES, D. A R. *et al.* **Matérias primas para produção de biocombustíveis.** Disponível em: <<http://site.uniaraxa.edu.br/wp-content/uploads/2015/12/materias-primas-para-producao.pdf>> Acesso em: 15 de abril de 2018

GONÇALVES, E. D. et al. **Armazenamento refrigerado de caqui 'fuyu' (*Diospyros kaki*) em atmosfera modificada com filme de polietileno.** Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/4523>> Acesso em: 25 de abril de 2018

GORINI, Ricardo; GUERREIRO, Amilcar; TOLMASQUIM, Mauricio T. **Matriz energética brasileira: uma prospectiva.** *Novos Estudos*, v. 79, 2007.

GUPTA, Rishi. et al. **Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498.**, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085240800730X?via%3Dihub>

GURGUEL, P. C. **Estudo da utilização do Caqui (*Diospyros kaki* L.) como biomassa para produção de Etanol.** Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

GURGUEL, P. C. **Obtenção de Bioetanol de Segunda Geração a partir da fibra do Curauá (*Ananas erectifolius*).** Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2016.

HAN X, Guo Y, Liu X, Xia Q, Wang Y, **Catalytic conversion of lignocellulosic biomass into hydrocarbons: a mini review, *Catalysis Today* (2010),** <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.05.013>

HASSAN, S.S., Williams, G.A., Jaiswal, A.K., **Emerging Technologies for the Pre-treatment of Lignocellulosic Biomass, *Bioresource Technology* (2018)**

JÚNIOR, S. V. et al. **Análise química da biomassa – uma revisão das técnicas e aplicações.** *Quim. Nova*, v. 37, 2014.

Koponen, K., **Renewable and Sustainable Energy Reviews (2017),** <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.292>

LOPES, Wilson Araújo. et al. **Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do Infravermelho.** *Quim. Nova*, v. 27, 2004.

LOPES, R. V. V. et al. **Elaboração de fermentados a partir do figo-da-india.** *Revista de biologia e ciências da terra*, v.6, 2006.

LI, Y. *et al.* **Urban biomass and methods of estimating municipal biomass resources.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 80, 2017.

MACHADO, C. M. M. *et al.* **Produção de álcool combustível a partir de carboidratos.** Revista de Política Agrícola, ano XV, 2006

MALTA, H. L. **O setor sucroenergético no Brasil: Estado, hegemonia e relações internacionais.** Tese (Tese em Farmácia) – UFMG. Belo Horizonte, 2006.

MELO, C R. *et al.* **The Brazilian energy matrix: From a materials science and engineering perspective.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 19, 2013.

MENDES, T. A. O. *et al.* **Aumento na produção de biomassa de levedura em propagador aerado por processo descontínuo e semicontínuo para produção de cachaça.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 16, 2013.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL 2016.** Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2016.pdf>. Acesso em: 18 de abril de 2018

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL 2017.** Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2017.pdf>. Acesso em: 18 de abril de 2018

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Matriz Energética Brasileira 2030.** Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/web/guest/publicacoes-e-indicadores/matriz-energetica-nacional-2030>>. Acesso em: 18 de abril de 2018

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Matriz energética de 2016 terá maior participação das energias renováveis.** Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial> > Acesso em: 18 de abril de 2018

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Participação de renováveis na matriz energética brasileira é três vezes superior ao indicador mundial.** Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial> > Acesso em: 18 de abril de 2018

MIURA, A. K. *et al.* **Avaliação de áreas potenciais ao cultivo de biomassa para produção de energia e uma contribuição de sensoriamento remoto e sistemas de informações geográficas.** Eng. Agríc., Jaboticabal, v.31, 2011.

Modelagem cinética da fermentação da cerveja. **Revista brasileira de agrotecnologia (Brasil)**, v. 7, 2017.

MURUAGA, M. L. *et al.* **Isolation and characterization of *Saccharomyces* species for bioethanol production from sugarcane molasses: Studies of scale up in bio-reactor.** *Renewable Energy*, v. 85, 2016.

NOVA CANA. **Propriedades Físico-químicas do Etanol.** Disponível em: <<https://www.novacana.com/etanol/propriedades-fisico-quimicas#massa-molecular-densidade>>. Acesso em: 9 de julho de 2019.

PASSOS, J. H. *et al.* **Aplicação do planejamento experimental para otimização da fermentação alcoólica do permeado de soro de leite.** Disponível em: <<https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2016/papers/aplicacao-do-planejamento-experimental-para-otimizacao-da-fermentacao-alcoolica-do-permeado-de-soro-de-leite->>> Acesso em: 17 de novembro de 2018.

PAULILLO, L. F. *et al.* **Variáveis que sustentam o período atual de produção de bioetanol.** *RER*, Rio de Janeiro, v. 45, 2007.

PETROBRAS. **Ficha de informações de segurança de produto químico (FISPQ) - ETANOL HIDRATADO COMBUSTÍVEL EHC.** Disponível em: <<http://www.br.com.br/wcm/connect/6fad4419-69ca-47f1-aabb-b507d1980d19/fispq-comb-etanol-etanol-hidratado-combustivel-ehc.pdf?MOD=AJPERES&CVID=mbu-HAd&CVID=IZfF7d->>>. Acesso em: 28 de abril de 2018

PIO, R. *et al.* **A Cultura do Caquizeiro.** *Série Produtor Rural*, nº 23, 2003.

RODRIGUES, Ariano De Giovanni Rodrigues. *et al.* **Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades.** *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 34, 2012.

SANTOS, R. C. *et al.* **Divergência genética por análise multivariada de caracteres fenotípicos de *Anacardium humile* (St. Hilaire)1.** *Revista Ceres*, v. 62, 2015.

SANTOS, R. C. M. **Obtenção e caracterização de etanol a partir da fermentação da polpa extraída do cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*).** Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

SENNA, Pedro Pinho; ANSANELLI, Stela Luiza de Mattos. **Etanol de primeira ou de segunda geração? Uma comparação entre os ciclos produtivos**, p. 1497-1510 .

In: Anais do 1º Encontro da Nacional de Economia Industrial e Inovação [=Blucher Engineering Proceedings, v.3 n.4]. São Paulo: Blucher, 2016.

Siti Hajar Mohd Azhar and Rahmath Abdulla, **Bioethanol Production from Galactose by Immobilized Wild-type *Saccharomyces cerevisiae*, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.04.013>

SILVA, C. M. S. *et al.* **Biomass torrefaction for energy purposes – Definitions and an overview of challenges and opportunities in Brazil**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 82, 2018

SILVA, F.L.H. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua extrativa**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas – SP. 1998.

SILVA, J. A. *et al.* **Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica**. Quim. Nova, v. 31, 2008.

SILVA, J. C. *et al.* **Prática integrada: planejamento fatorial e produção de ácido acético**. Disponível em: < <http://www.eventosufrpe.com.br/2011/cd/resumos/R0107-2.pdf>> Acesso em: 17 de novembro de 2018.

SILVA, J. S. *et al.* **Noções Sobre Fermentação e Produção de Álcool na Fazenda**. Disponível em: <<ftp://ftp.ufv.br/dea/posco-lheita/Produ%E7%E3o%20de%20C1lcool%20Combust%EDvel%20na%20Fazenda%20e%20em%20Sistema%20Cooperativo/P%E1ginas%20iniciais.pdf>> Acesso em: 25 de maio de 2018

SILVA, L.C. *et al.* **Análise da expansão e impactos da cana-de-açúcar em taquaral de goiás e itaberaí entre os anos de 2003 e 2015**. Disponível em: <<http://www.anais.ueg.br/index.php/cepe>> Acesso em: 15 de abril de 2018

SILVA, M. D. **Produção de etanol de segunda geração por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602 a partir da hidrólise ácida de sabugo de milho (*Zea mays* L.)**. Dissertação (Dissertação em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São José do Rio Preto, 2018.

SILVA, P. L. A. **Avaliação da influência da levedura (*saccharomyces cerevisiae*) de diferentes fontes na obtenção de etanol a partir da cana-de-açúcar**. Monografia (Monografia em Engenharia de Energia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2018.

SILVA, Roberto do Nascimento. et al. **Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel**, http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000300007

SOUSA, M. *et al.* **FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA UTILIZANDO SUCO DO PEDÚNCULO DE CAJU (*Anacardium occidentale L.*)**. Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2010.

SOUZA, C. J. A. **Produção de etanol por sacarificação e fermentação simultâneas do bagaço de cana-de-açúcar utilizando leveduras termotolerantes**. Dissertação (Dissertação em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2011.

SOUZA, C. S. **O setor sucroenergético no Brasil: Estado, hegemonia e relações internacionais**. Tese (Tese em Biotecnologia) – USP/Instituto Butantan/IPT. São Paulo, 2009.

SULIEMAN AK, et al. **Kinetic modeling of the simultaneous production of ethanol and fructose by *Saccharomyces cerevisiae***, (2018), <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.04.006>

SUKAI, Yeshona Swesyner. et al. **Simultaneous saccharification and bioethanol production from corn cobs: Process optimization and kinetic studies**, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418305698>

TSCHOEKE, P. C. I *et al.* **Modelagem Cinética da Fermentação da Cerveja**. Revista Brasileira de Agrotecnologia, 2017.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR (UNICA). **Consumo de combustíveis**. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/historico-de-consumo-de-combustiveis.php?idMn=11&tipoHistorico=10&acao=visualizar&idTabela=1987&produto=Etanol%2Banidro%2Bcombust%2526iacute%253Bvel&nivelAgregacao=1>> Acesso em: 20 de abril de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS. **Matérias primas açucaradas ou sacarínea**. Disponível em: <<https://www.coursehero.com/file/p7mbt7b/Matérias-primas-açucaradas-ou-sacar%C3%ADneas-Cana-de-açúcar-Beterraba-açucareira/>>. Acesso em: 18 de abril de 2018.

VÁSQUEZ, M. P. **Desenvolvimento de Processo de Hidrólise Enzimática e Fermentação Simultâneas para a Produção de Etanol a Partir de Bagaço de Cana-de Açúcar**. Tese Doutorado (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, 2007.

VILANI, M. T. et al. **Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica**. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/viewFile/9693/5806>> Acesso em: 03 de novembro de 2018.

ZHANG, Liang. et al. **Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales**, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411000083>

ZHENG, Chunming. et al. **Scaling up of ethanol production from sugar molasses using yeast immobilized with alginate-based MCM-41 mesoporous zeolite composite carrier**,<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411016671>