



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

SIMONE DE LIMA CÔRTEZ

**PRODUÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO EXTRATO
AQUOSO DA POLPA DE FRUTAS PRODUZIDAS EM
DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL**

Londrina
2016

SIMONE DE LIMA CÔRTEZ

**PRODUÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO EXTRATO
AQUOSO DA POLPA DE FRUTAS PRODUZIDAS EM
DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Bioenergia da Universidade
Estadual de Londrina, como requisito para
obtenção do título de Mestre em Bioenergia.

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Côrtes, Simone de Lima.

Produção de álcool a partir do extrato aquoso da polpa de frutas produzidas em diferentes regiões do Brasil / Simone de Lima Côrtes. - Londrina, 2016.
75 f. : il.

Orientador: Dionísio Borsato.

Dissertação (Mestrado em Bioenergia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Biocombustíveis - Tese. 2. Álcool - Tese. 3. Álcool - Combustível - Indústria - Tese. 4. Polpa de frutas - Fermentação - Tese. I. Borsato, Dionísio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Bioenergia. III. Título.

SIMONE DE LIMA CÔRTEZ

**PRODUÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA
POLPA DE FRUTAS PRODUZIDAS EM DIFERENTES REGIÕES DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioenergia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Bioenergia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Helder Rodrigues da Silva
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Alexandre Orsato
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 15 de dezembro de 2016.

Dedico este trabalho à Deus, pois sem Ele nada eu conseguiria. Sempre serei eternamente grata pelas pessoas maravilhosas que ele pôs em meu caminho, as quais só posso dizer que são fruto da atuação d'Ele.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus que me guiou e me deu forças e sabedoria para mais esta conquista.

À minha família por sempre confiar em mim e mesmo vendo-me passar por obstáculos, ter sempre uma palavra de ânimo.

Ao meu querido esposo, que muito me incentivou nos estudos e foi muito paciente nas horas difíceis.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Dionísio Borsato, pela constante orientação neste trabalho, por sempre acreditar em mim e além disso tudo, por proporcionar-me fazer parte da sua maravilhosa convivência de dedicação e entusiasmo.

Ao Prof. Dr. Olívio Fernandes Galão, que gentilmente sempre esteve presente na realização dos experimentos, sugerindo, cooperando e oferecendo suporte intelectual.

Agradeço à Prof^a Dr^a Carmen Luisa Barbosa Guedes, coordenadora do curso, a qual sempre foi muito atenciosa e acolhedora.

À minha amiga Marissa Kimura, por dividir, somar e multiplicar junto comigo, dúvidas que nem sempre foram respondidas de imediato, mas depois de várias tentativas, conseguimos acertar.

Agradeço também à Silvia Costa, a Ivanira Moreira, ao Thiago e ao Lycio que muito contribuíram para a realização dos experimentos nos laboratórios que atuam.

Gostaria também de agradecer aos meus amigos do mestrado: Guilherme, Carol, Danilo, Ivo e em especial ao Raí que por muitas vezes ajudou-me pacientemente à distância.

A todos os meus professores que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação intelectual e profissional.

“Isto diz o que é santo, o que é verdadeiro, o que tem a chave de Davi; o que abre e ninguém fecha; e fecha, e ninguém abre.”
Apocalipse 3:7

CÔRTEZ, Simone de Lima. **Produção de álcool a partir do extrato aquoso da polpa de frutas produzidas em diferentes regiões do Brasil.** 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

Atualmente é o etanol quem apresenta as melhores condições de suprir as exigências mundiais por um combustível de fonte renovável, com baixo custo e poder poluente. Embora o Brasil tenha usado apenas a cana-de-açúcar para produzir etanol, é possível utilizar outras biomassas desde que a mesma apresente quantidades significativas de açúcares, entre outras características, pois a monocultura da cana-de-açúcar para atender a uma demanda mundial, traz desvantagens ambientais, porque diminui a fertilidade do solo com o transcorrer do tempo, além de reduzir a biodiversidade. O objetivo deste trabalho foi analisar o teor de açúcares de sete frutas encontradas no país: acerola, caju, cupuaçu, jamelão, maracujá, mangas Palmer e Tommy, a fim de escolher as que tivessem melhores condições para a produção de álcool. Na análise realizada através do método por cromatografia, as polpas das frutas com maior concentração de açúcar foram manga Palmer, maracujá, manga Tommy e jamelão, com 16,10%, 13,31%, 11,61% e 9,73%, respectivamente. Embora as quatro frutas tenham apresentado quantidades significativas de açúcar para fermentar, foi escolhida a manga Palmer por apresentar maior teor de açúcar e pH igual a 4,5 que é adequado para o processo de fermentação alcoólica. Com isso, o presente estudo focou na análise do potencial da manga Palmer, em relação à produção de etanol. Foi determinada a concentração de açúcares totais no extrato aquoso da polpa pelo método do fenol sulfúrico, sendo o valor obtido de 16,66% de açúcares totais. Em seguida foi feita a fermentação, a 30°C, utilizando as condições estabelecidas pelo ponto central do delineamento experimental e estabeleceu-se que o tempo de 10 horas apresentou o maior rendimento na produção de álcool. Foi realizada a fermentação, utilizando o tempo de 10 horas, seguindo a metodologia de superfície de resposta (MSR) com 13 ensaios e duas repetições no ponto central. Após a fermentação, as amostras foram centrifugadas e o teor de álcool foi determinado. A otimização indicou uma formulação contendo 3,0 g L⁻¹ de extrato de levedura, 8,0 g L⁻¹ de levedura e 0,35 g L⁻¹ de NH₄H₂PO₄, para um teor de álcool de 34,5 g L⁻¹ e rendimento de 88,27%. Por fim, foram realizados os mesmos procedimentos com o extrato aquoso do maracujá, Jamelão e da manga Tommy bem como a mistura do extrato da manga Palmer com estas três frutas porém, os resultados foram muito abaixo daqueles obtidos utilizando somente a manga Palmer. O caldo da cana-de-açúcar, diluído nas mesmas condições, também foi fermentado e passou pelos mesmos procedimentos, mas o resultado do teor de álcool foi de 35,68 g L⁻¹ com rendimento de 70,74% valor inferior ao apresentado quando se utilizou o extrato aquoso da manga Palmer. Os resultados demonstram que a manga Palmer apresentou melhor rendimento em porcentagem se comparado ao resultado ao caldo da cana diluído.

Palavras chave: Açúcar. Fermentação alcoólica. Álcool etílico. Metodologia de superfície de resposta.

CÔRTEZ, Simone de Lima. **Alcohol production from the aqueous extract of fruit pulp produced in different regions of Brazil**. 2016. 75 p. Dissertation (Masters in Bioenergy) – Universidade de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Nowadays ethanol has the best conditions to meet the world's requirements for a renewable source fuel with low cost and polluting power. Although Brazil has used only sugarcane to produce ethanol, it is possible to use other types of biomass, which has significant amount of sugars among other characteristics. In order to meet global demand, sugarcane monoculture has environmental drawbacks because it reduces soil fertility with the passage of time, and reduces biodiversity. The objective of this work was to analyze the sugar content of seven fruits found in the country: acerola, cashew, cupuaçu, jmelão, passion fruit, mangoes Palmer and Tommy in order to choose the ones, which have the best conditions for the production of alcohol. In the analysis performed by chromatography, the fruits pulp with higher concentrations of sugar were "Palmer" mango, passion fruit, Tommy mango and jambul, with 16.10%, 13.31%, 11.61% and 9.73%, respectively. Palmer mango was chosen, even though the other four fruits have shown significant quantities of sugar to ferment, because of its higher sugar content and pH of 4.5 that is suitable for the alcoholic fermentation process. Thus, the present study focused on the analysis of "Palmer" mango potential to produce ethanol. The concentration of total sugars in the aqueous extract of the pulp was determined by the sulfuric phenol method, and obtained value of 16.66% of total sugars. In the following, the fermentation was done at 30 ° C using the conditions set by the central point of the experiment and established at the time 10 hours the highest yield value in ethanol production. The fermentation was performed using the time 10 hours, following the response surface methodology (RSM) with 13 tests and 2 repetitions in the central point. After fermentation, the samples were centrifuged and the alcohol content was determined. A The optimization showed that a formulation containing 3,0 g L⁻¹ of yeast extract, 8,0 g L⁻¹ yeast and 0,35 g L⁻¹ of NH₄H₂PO₄ for a 34,5 g L⁻¹ of alcohol content and yield of 88.27%. Finally, the same procedure with the aqueous extract of passion fruit, Tommy mango, jambul and the mixture of Palmer mango extract were performed with these three fruits. However, the results were much lower than those obtained using only "Palmer" mango. The juice of sugarcane was diluted in the same conditions, was also fermented and went through the same procedures, but the result of the alcohol content was 35.68 g L⁻¹ with 70.74% yield lower than the value presented when using the aqueous extract of "Palmer" mango. Results demonstrate that Palmer mango performs better in yield compared to the diluted juice of sugarcane.

Keywords: Sugar. Alcoholic fermentation. Ethanol and response surface methodology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Evolução do Licenciamento de carros flex-fuel no Brasil	22
Figura 2	– Produção de etanol no mundo, em milhões de galões.....	23
Figura 3	– Acerola	26
Figura 4	– Caju.....	26
Figura 5	– Manga Tommy	27
Figura 6	– Manga Palmer	28
Figura 7	– Cupuaçu.....	29
Figura 8	– Goiaba.....	29
Figura 9	– Maracujá	30
Figura 10	– Jamelão	31
Figura 11	– Estrutura da glicose	32
Figura 12	– Estrutura da frutose	33
Figura 13	– Estrutura da sacarose	33
Figura 14	– Estrutura do manitol	34
Figura 15	– Estrutura da nistose	34
Figura 16	– Erlenmeyers incubados na estufa a 30 °C	42
Figura 17	– Microdestilador TE-012 Tecnal	44
Figura 18	– Cromatograma com a ordem e os tempos de retenção dos padrões utilizados na quantificação dos açúcares.....	47
Figura 19	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de acerola.....	48
Figura 20	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de caju.....	49
Figura 21	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de cupuaçu.....	50
Figura 22	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de goiaba.....	51
Figura 23	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa do jamelão.....	52
Figura 24	– Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa da manga Tommy.....	53

Figura 25 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa do maracujá.....	54
Figura 26 – Cromatografia dos padrões de nistose, sacarose, frutose, glicose e manitol em sobreposição	54
Figura 27 – Cromatograma do extrato aquoso da manga Palmer com a identificação das substâncias de nistose, sacarose, glicose, frutose e manitol.....	55
Figura 28 – Gráfico do tempo (h) de fermentação em função do rendimento de álcool	58
Figura 29 – Gráfico de dispersão com valores experimentais observados em função dos valores estimados.....	61
Figura 30 – Gráfico de Pareto mostrando as variáveis mais significativas na Fermentação	62
Figura 31 – Otimização das variáveis dependentes e independentes do extrato aquoso da polpa da manga Palmer.....	63
Figura 32 – Curvas de nível, da Superfície de resposta, da combinação binária entre as variáveis originais, concentração de levedura (g L^{-1}) e extrato de levedura (g L^{-1}) e % do rendimento de álcool.....	64
Figura 33 – Sobreposição dos cromatogramas do extrato aquoso da polpa da manga Palmer, antes e depois da fermentação em condições ótimas, em 10 horas.....	65

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Diferenças básicas entre o álcool de cana-de-açúcar e de milho22
- Quadro 2** – Quantidade de açúcares antes e depois da fermentação e os açúcares consumidos.....66
- Quadro 3** – Teor de álcool após a fermentação do extrato aquoso da polpa das frutas que inicialmente apresentaram maiores teores de açúcares e da mistura entre elas, juntamente com o extrato aquoso da polpa da manga Palmer66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diferenças básicas entre o álcool de cana-de-açúcar e de milho	43
Tabela 2 – Variáveis independentes e níveis de variação	45
Tabela 3 – Resultado dos açúcares das polpas das frutas por cromatografia	56
Tabela 4 – Nível de variação, variáveis independentes codificadas, teor de álcool em g L ⁻¹ e rendimento do processo de fermentação em %	59
Tabela 5 – Análise de variância do rendimento da reação de fermentação alcoólica do extrato aquoso da polpa da manga Palmer, usando o delineamento fatorial incompleto 3 ³	60

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	–	Determinação do teor de álcool	45
Equação 2	–	Determinação do rendimento em porcentagem de etanol obtido	45
Equação 3	–	Modelo Matemático	46
Equação 4	–	Equação da regressão do delineamento experimental em Função do rendimento	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
FMI	Fundo Monetário Internacional
IBRAF	Instituto Brasileiro da Fruta
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
Eq.	Equação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	HISTÓRIA E IMPORTÂNCIA DO ETANOL	19
2.2	A MONOCULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	23
2.3	BIOMASSAS ALTERNATIVAS NA PRODUÇÃO DE ETANOL.....	24
2.3.1	NORMAS PARA FABRICAÇÃO DE ETANOL NO BRASIL	24
2.3.2	Caracterização das Frutas	25
2.3.2.1	Acerola	25
2.3.2.2	Caju.....	26
2.3.2.3	Manga	27
2.3.2.4	Cupuaçu.....	28
2.3.2.5	Goiaba.....	29
2.3.2.6	Maracujá	30
2.3.2.7	Jamelão.....	30
2.4	AÇÚCARES	31
2.4.1	Glicose	32
2.4.2	Frutose	32
2.4.3	Sacarose	33
2.4.4	Manitol.....	34
2.4.5	Nistose	34
2.5	FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	35
2.5.1	Leveduras	37
2.6	DESTILAÇÃO.....	37
2.7	METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	37
3	OBJETIVOS	39
3.1	OBJETIVO GERAL.....	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39

4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	LOCAIS ONDE FORAM REALIZADOS OS EXPERIMENTOS.....	40
4.2	AMOSTRAS	40
4.3	PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DAS FRUTAS	40
4.4	LEVEDURA	41
4.5	SUPLEMENTAÇÃO DE NUTRIENTES	41
4.6	FERMENTAÇÃO	41
4.7	ANÁLISES.....	42
4.7.1	Cromatografia	42
4.7.2	Determinação de Açúcares Totais	43
4.7.3	Determinação do Teor de Álcool	44
4.7.4	Delineamento Experimental	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÕES	68
7	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	69
	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

O etanol desperta de modo crescente a atenção de pesquisadores, empresas e governos. Isso decorre das pressões de preços e perspectivas de esgotamento das fontes não renováveis de combustíveis fósseis, assim como de preocupações de natureza ambiental, relacionadas à emissão de substâncias que comprometem o meio ambiente (BASTOS, 2007).

O Brasil é destaque na produção de etanol, devido detenção de tecnologias e políticas mais avançadas do mundo, em decorrência da pioneira utilização do etanol obtido a partir da cana-de-açúcar como combustível. A estimativa é que a produção de etanol anidro aumente gradativamente, o que representará um acréscimo de 15,35% na produção, e o etanol hidratado um aumento de 4,45% quando comparados com a produção de etanol de safras anteriores (ACOMPANHAMENTO..., 2013).

O etanol obtido do caldo de cana-de-açúcar, etanol de primeira geração, é no momento, o único combustível com capacidade de atender a crescente demanda mundial por energia renovável de baixo custo e de baixo poder poluente (SANTOS, et al., 2012). Por isso, o etanol vem despertando a atenção de pesquisadores, empresas e governos. Nesse sentido o Brasil encontra-se em posição privilegiada na produção de etanol, já que é líder mundial na tecnologia de produção de etanol da cana-de-açúcar, tornando menor o custo de produção de açúcar e etanol. A produção do país corresponde por cerca de 40% da oferta mundial de etanol combustível, com tendência a ascensão. As condições edafoclimáticas, oferta de terras e tecnologias desenvolvidas, são fatores que contribuem para este cenário (CORTEZ e colaboradores, 2010).

Em março de 2015 o ministro de Minas e Energia do Brasil, anunciou o aumento obrigatório da mistura de etanol anidro na gasolina, de 25% para 27%, com isso o setor sucroenergético passou a fazer um planejamento de safra mais alcooleiro, reduzindo portanto a produção de açúcar, mesmo o Brasil sendo o maior produtor e exportador mundial da commodity. Há que se preocupar com este cenário, já que o Brasil precisará reduzir a produção de açúcar, que é de extrema importância para a economia do país, em função do aumento da demanda de etanol (AMATO e MATOSO, 2015). Diante desta situação, o Brasil pode continuar sua produção de açúcar a fim de não correr o risco de perder o destaque de maior

produtor e exportador mundial, se decidir investir na produção de etanol a partir de outras fontes também com o teor elevado de açúcar, semelhantes ou próximo ao da cana-de-açúcar.

Ao longo de anos, no mapa do agronegócio global, o Brasil, vem apresentando uma importância inquestionável na produção de frutas, já que é o terceiro maior produtor mundial de frutas, perdendo apenas para China e Índia. Dados revelam que de 2004 a 2013 a fruticultura nacional vem apresentando produção acima dos 40 milhões de toneladas, demonstrando assim seu imenso potencial. A produção de frutas no Brasil tem alcançado excelentes resultados mesmo com um cenário difícil de combater, como as diversidades climáticas, e outros fatores que merecem ainda mais atenção, como a questão de logística de armazenamento e de abastecimento (POLL, 2013).

Entretanto, o Brasil, apesar de ser o terceiro maior produtor de frutas do mundo, não aproveita toda a sua produção. De acordo com o Instituto Brasileiro da Fruta (IBRAF), há uma demanda do setor produtivo para pesquisas pós-colheita, mostrando a necessidade de soluções para a diminuição de perdas, cuja média nacional é de 31% isto é, perde-se quase um terço da produção. São jogados fora US\$2,3 bilhões por ano, sem falar nos mercados externos que não aceitam produtos que não atendem aos padrões de qualidade estabelecidos. Não são apenas perdas de volume de produção, mas também perdas de qualidade, aparência, sabor, dentre outros (STAUFFER, 2015).

De acordo com Freire e Soares (2014), a maior parte das frutas comercializadas no país são *in natura*, e que grande parte do volume de perdas ocorre após a produção, por falta de conhecimento e condições para a adequada seleção, classificação e embalagem das frutas, o transporte em condições incorretas, sem refrigeração, a exposição inadequada nas gôndolas dos pontos de venda e o excessivo manuseio das frutas pelos consumidores, são fatores que também contribuem para agravar o problema, dessa forma muitas delas são desperdiçadas e acabam parando nos grandes lixões.

Apesar de toda tecnologia já aplicada nas indústrias de frutas, ainda existe a necessidade de se desenvolver novos processamentos que permitam a redução das perdas, provenientes dos excedentes de safras, ao mesmo tempo em que permite agregar valor a essas frutas por meio de seu beneficiamento. As bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores, além de

contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (SANDHU; JOSHI, 1995).

Devido às suas proporções continentais, o Brasil oferece uma gama inigualável de frutas com sabores, cores e formas que surpreendem o mundo inteiro. As perspectivas para a fruticultura brasileira são excelentes, diante do incremento no consumo interno e da demanda externa também em elevação. Com isso é possível estudar a ampliação da produção de etanol a partir de frutas cultivadas nas diversas regiões do país, uma vez que muitas delas possuem alto teor de açúcar em sua polpa e podem agregar valor no desempenho da produção de etanol (SANTOS, 2013).

A produção de etanol pode ser realizada a partir do extrato aquoso da polpa de algumas frutas com alto teor de açúcar produzidas com este fim ou com aquelas que são desperdiçadas no país. Além disso, as frutas apresentam moléculas pequenas de açúcar, formadas por um ou dois monossacarídeos, os quais são fáceis de serem fermentadas pelas leveduras, o que reduz o tempo da fermentação.

Portanto, já que a demanda mundial pelo etanol é cada vez maior e o Brasil vem se destacando nessa produção, bem como no setor frutífero, este trabalho se propõe a determinar a concentração de açúcar e as melhores condições do processo de fermentação alcoólica do extrato aquoso da polpa de algumas frutas produzidas no Brasil para a produção de etanol, utilizando a metodologia de Superfície de Resposta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRIA E IMPORTÂNCIA DO ETANOL

No começo da década de 70, as nações produtoras de petróleo começaram a regular o escoamento da produção petrolífera por conta de sua natureza não renovável. Em 1973, o valor do barril mais que triplicou em um curto período de três meses (SOUSA, 2016). No Brasil, em 1975 o governo resolveu criar o Programa Pró-álcool com o objetivo de garantir o suprimento de energia, além de apoiar a indústria açucareira, que vinha tendo prejuízo com a queda do preço do açúcar. Através deste Programa surgiram novas destilarias com o objetivo de transformar o açúcar excedente da produção em etanol anidro, usado como aditivo na gasolina, sem haver necessidade de fazer transformações nos motores dos veículos (KOHLHEPP, 2010).

O Programa Pró-álcool também surgiu com o objetivo de reduzir a dependência do país em relação ao petróleo importado, o qual vinha sofrendo aumentos significativos. Com isso, o Brasil passou a dominar a tecnologia na produção de álcool de cana-de-açúcar, bem como o desenvolvimento de carros à álcool (MORAES, 2007).

Depois das duas crises do petróleo desencadeadas durante a década de 70, houve um impulso no surgimento de programas envolvendo energias renováveis (LEITE; LEAL, 2007). Com isso, carros à álcool, passaram a serem utilizados em todo o país, além de tornar-se obrigatório a adição de 15% de álcool anidro à gasolina (TÁVORA, 2011).

Recentemente, os preços do petróleo estão em níveis baixos, nunca vistos desde o final de março de 2004, por volta de US\$ 30 o barril. Essa queda no preço do barril do petróleo no mundo, vem também sendo impulsionada devido a alta exploração de gás de óleo de xisto nos Estados Unidos, o qual tem forçado a baixa dos preços do petróleo no mercado mundial. Além disso, outro aspecto é que há uma grande quantidade de petróleo disponível no mercado mundial, mas a sua compra pelos países está cada vez menor (ABE; MARÇAL, 2016).

O Fundo Monetário Internacional (FMI) defende que o preço do petróleo precisa estar acima dos US\$ 104/barril, para que haja equilíbrio orçamentário. Para o Brasil, a queda no preço do barril de petróleo pode prejudicar tanto a receita com exportações da Petrobras quanto os planos de investimento da

estatal no pré-sal isto porque, o custo para se extrair petróleo das reservas do pré-sal são mais altos do que os de reservas tradicionais. Se os preços do produto final caírem demais, pode não valer a pena explorar alguns poços. Mesmo com a atual queda no preço do barril do petróleo, a gasolina e o diesel no Brasil não diminuíram de preço e estão sem previsão de redução, tudo isso porque de acordo com a Petrobrás esses ganhos atuais ajudam a petroleira a recuperar parte do que perdeu quando o petróleo estava caro e também a arrumar suas contas, em meio a um endividamento muito grande e à crise nos negócios (ABE; MARÇAL, 2016).

Na década de 70, o cenário foi diferente, a produção de álcool surgiu como uma válvula de escape devido aos altos preços do barril do petróleo, hoje vivemos uma situação em que o petróleo está disponível no mercado com preços baixos, entretanto, o mercado vem buscando um combustível menos poluente, uma vez que o maior problema causado pelo uso dos combustíveis fósseis é a emissão de gases causadores do efeito estufa, na sua combustão, que pode ser definido como o acréscimo constante da temperatura média da Terra em consequência do aumento da concentração de alguns gases, como o gás carbônico (CO_2), os clorofluorcarbonos (CFCs), o metano (CH_4), o óxido nitroso (N_2O) na atmosfera. Estes gases são conhecidos como gases estufa e capturam parte da radiação infravermelha que a Terra devolve para o espaço, provocando o aumento da temperatura atmosférica com as decorrentes mudanças climáticas (LORA; TEIXEIRA, 2001).

O dióxido de carbono é considerado o gás de efeito estufa de maior importância, ele é o principal composto resultante da combustão completa de combustíveis. Quando em grande quantidade, o gás carbônico e outros poluentes acabam formando um filtro na atmosfera. Durante o dia a Terra é aquecida pelo sol e à noite perde o calor armazenado, tendo por consequência, uma redução de temperatura. Entretanto, com a camada de poluentes presentes, o calor fica retido na Terra, provocando um aumento na temperatura média (MOREIRA, 2012).

De acordo com Ribeiro, et al. (2000) o setor de transporte tem uma participação considerável nas questões climáticas, pois contribuem com pelo menos 22% para a emissão global de gases de efeito estufa, empregando praticamente 100% de combustíveis fósseis.

Já o etanol, como é obtido a partir de vegetais, é considerado um combustível renovável, ou seja, não se esgota. É também um combustível

sustentável, já que grande parte do gás carbônico lançado na atmosfera em sua produção é absorvido pela cultura da cana-de-açúcar durante a fotossíntese. O uso de etanol reduz em 89% a emissão de gases de efeito estufa se comparado à gasolina, e diminui a emissão de gases poluentes em comparação com os combustíveis derivados do petróleo, o que o torna um dos mais viáveis ecologicamente. Em sua aplicação como combustível, o etanol comum comercializado em postos de combustíveis é o álcool etílico hidratado, que é uma mistura com cerca de 96% de etanol e 4% de água. Já o etanol adicionado à gasolina é o álcool anidro, com grau de pureza de 99,6%. Atualmente na gasolina brasileira a proporção de etanol misturado ao combustível é de 27%. (CONTROLE..., 2016).

Com relação à produção de etanol, o Brasil se destaca no cenário global como sendo o país com tecnologia mais avançada na sua fabricação. A produção mundial desse combustível é da ordem de 40 bilhões de litros, sendo o Brasil responsável pela fabricação de 15 bilhões de litros. No país, a cada tonelada de cana-de-açúcar são produzidos 66 litros de álcool e 700 a 800 litros de vinhaça (FRANCISCO, 2016).

No Brasil, o modelo de carro flexfuel que foi desenvolvido por empresas alemãs e produzido em série a partir de março de 2003, tem como características ser movido tanto a gasolina quanto a etanol ou com uma mistura de ambos (KOHLHEPP, 2010).

Em termos de produção, o Brasil é o segundo maior produtor de etanol do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos, sendo que o Brasil produz etanol a partir da cana-de-açúcar e os Estados Unidos a partir de milho (MAIORES..., 2016).

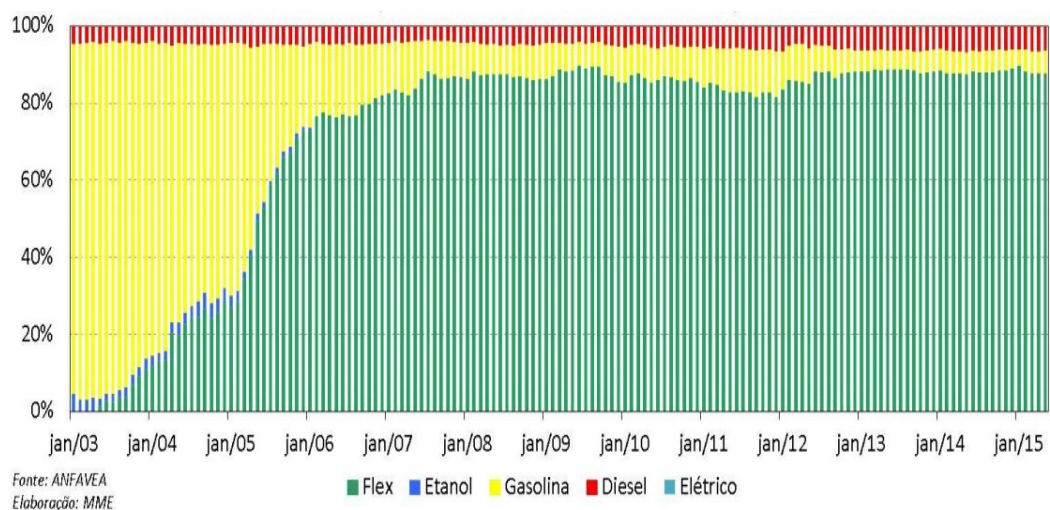
A partir de qual cultura é mais vantajosa a produção de etanol? Será que existem de fato diferenças entre o etanol produzido a partir do milho e da cana-de-açúcar? De acordo com o quadro 1, estão relacionados alguns aspectos que diferenciam o etanol produzido a partir da cana-de-açúcar e do etanol de milho.

Quadro 1 – Diferenças básicas entre o álcool de cana-de-açúcar e de milho.

	Cana-de-açúcar	Milho
Custos adicionais	Não há gastos adicionais com enzimas, pois a sacarose é facilmente quebrada.	Há gastos com as enzimas alfa amilase e glucoamilase, necessárias à quebra das moléculas de amido.
Rendimento	1t dela produz entre 85 e 90 litros de etanol.	1t rende mais de 400 litros de etanol.
Safras e estocagem	Pode ser colhida durante todo o ano.	Precisa ser colhido em 4 meses após o plantio.
Fermentação	Média de 10 a 12h.	Entre 35 e 48h.
Produtividade	1ha produz uma média de 80t de cana.	1ha produz entre 15 e 20t de milho.

Fonte: adaptado de Curiosidades... (2016).

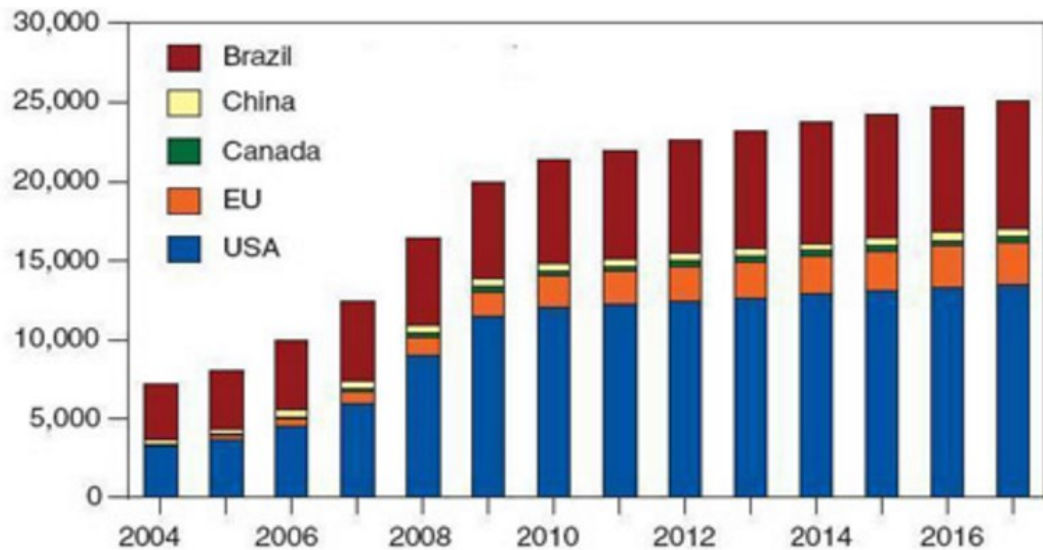
Conforme o gráfico (Figura 1) é possível perceber que a demanda por etanol no país apresenta uma certa estabilidade por quase dez anos, porém, essa demanda é bastante elevada visto que o Brasil precisa produzir muito etanol, tanto o anidro que é misturado à gasolina, quanto o etanol hidratado, vendido nos postos, que precisa atender a todo esse contingente de veículos que utilizam tanto o álcool quanto a gasolina(flexfuel) no país (AMATO; MATOSO, 2015).

Figura 1 – Evolução do Licenciamento de carros flex-fuel no Brasil.

Fonte: ANFAVEA (2016)

Além de ser o segundo maior produtor de etanol do mundo (Figura 2), maior produtor de açúcar, o Brasil é o terceiro colocado no ranking das principais nações produtoras de frutas. Está atrás apenas da China e da Índia, respectivamente (REETZ et al., 2015).

Figura 2 – Produção de etanol no mundo, em milhões de galões.



Fonte: Grãos & Soja (2016)

O Brasil também é o maior produtor de açúcar do planeta, com 36 milhões de toneladas produzidas e 24 milhões de toneladas exportadas em 2014/2015, quantias equivalentes a 20% da produção global e 40% da exportação mundial, respectivamente (UNICA, 2016).

O uso do etanol como biocombustível automotivo no país, tem conferido a liderança no cenário internacional de seqüestro de carbono e mitigação do efeito estufa. Entretanto, este combustível pode ser produzido não apenas com a cana-de-açúcar ou milho, mas de outra biomassa que tenha uma quantidade significativa de açúcar, que é um dos principais requisitos na produção de álcool (SOUZA, 2011).

2.2. A MONOCULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Ao utilizar apenas a cana-de-açúcar na produção de etanol, o país fica sujeito à monocultura, que é o plantio extensivo de um único vegetal. E ela traz desvantagens ambientais, como o desgaste do solo, uma vez que cada espécie de

planta necessita de um determinado tipo de nutriente(s), promove portanto o aumentando do consumo de um tipo de substância, levando, com isso, ao empobrecimento do solo, além de reduzir a biodiversidade. Há também possibilidade de prejuízos econômicos, pois apresenta enormes riscos, já que uma única doença, praga ou a queda do preço do produto no mercado podem pôr a perder toda a cadeia produtiva regional (FLORES et al., 2010). Porém, hoje, no entanto, o maior temor é que o interesse internacional pelo biocombustível seja tão grande que a cana-de-açúcar se torne uma cultura predominante de extensão ainda maior, visto que também é da cana que se produz o açúcar no Brasil. (ROMEIRO, 1996).

2.3 BIOMASSAS ALTERNATIVAS NA PRODUÇÃO DE ETANOL

Apesar do Brasil ser um dos maiores produtores de frutas do mundo, as perdas de frutas, tanto na fase de produção, colheita, embalagem, transporte e pós-colheita, são grandes, na ordem de 20 a 50%. Com isso, ao chegar a mercados e feiras, os resíduos (biomassas) dessas frutas são, na sua maioria, descartadas e lançadas no meio ambiente e não apresentam nenhuma forma de reaproveitamento. Portanto, produzir etanol a partir de biomassa de frutas pode ser uma forma de agregar valor às sobras destas (ACCARINE, 2000).

Quanto maior a concentração de açúcar na biomassa, maior é produção de etanol, visto que sua produção ocorre pela fermentação através das leveduras sobre os açúcares (FIGUEIREDO, 2012).

Testar diferentes biomassas de frutas para obtenção de etanol, a fim de saber qual delas possui maior rendimento é uma das propostas deste trabalho. A seguir, estão caracterizadas as frutas escolhidas para serem analisadas a priori, o teor de açúcar e posteriormente a(s) escolhida(s) para ser(em) fermentada(s) e destilada(s) na produção de etanol.

2.3.1 NORMAS PARA FABRICAÇÃO DE ETANOL NO BRASIL

O etanol combustível (C_2H_6O), tem suas normas estipuladas pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP) através do Regulamento Técnico ANP nº3/2011, anexo da Resolução ANP Nº7 de 9 de fevereiro de 2011, que determina as características que o etanol precisa ter quanto a

seu aspecto, cor, massa específica, teor alcoólico, potencial hidrogeniônico, condutividade elétrica, entre outros elementos. Ambos precisam ser límpidos e isentos de impurezas, uniforme, sem nenhum resíduo sólido em sua mistura, os dois são incolores, sendo que o anidro se diferencia em relação à sua cor alaranjada, com o intuito de diferenciá-los, presença de até 1% de metanol e ter pH neutro. Também pode aparecer naturalmente no etanol uma goma, em que a quantidade máxima que o etanol pode ter dessa substância é de até 5 miligramas a cada 100 mililitros. Na resolução, existem outras especificações para a fabricação do etanol, relacionadas à condutividade elétrica, poder calorífico, octanagem, entre outros (PROCESSOS..., 2016).

2.3.2 Caracterização das Frutas

As frutas utilizadas nos experimentos estão descritas a seguir.

2.3.2.1 Acerola

A acerola (*Malpighia glabra L.*) conforme imagem na Figura 3, tem sua origem no mar da Antilhas, na América Central. A acerola (ou cereja-das-antilhas) é um arbusto que atinge até 3m de altura e sua copa é densa. A aceroleira é uma planta de clima tropical, que se adapta bem em regiões de clima subtropical. Temperaturas entre 15 °C e 32 °C, com médias anuais em torno de 26°C, são as mais favoráveis. Para que a mesma cresça e produza bem, também é fundamental uma adequada disponibilidade de água no solo. A planta é exigente quanto à insolação, que influencia bastante a produção de vitamina C (CARVALHO, 2000).

A fruta leva aproximadamente 22 dias desde a floração até a maturação. Dá seus frutos durante todo o ano, a frutificação se inicia, em média, a partir de dois a três anos de plantio. O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador da acerola. Atualmente a região nordeste do Brasil é a maior produtora de acerolas do país (NOGUEIRA et al., 2002).

Figura 3 – Acerola

Fonte: o próprio autor

2.3.2.2 Caju

Normalmente, o caju (*Anacardium occidentale*), conforme figura 4, é chamado de fruto, quando de fato ele é um pseudofruto. Ele é constituído por duas partes: a castanha – o fruto propriamente dito e o pedúnculo floral, no qual é chamado de fruto erroneamente. Este pseudofruto possui diversas propriedades terapêuticas, antidiabética, adstringente, antidiarreica, depurativa, tônica, antiasmática, antisséptica, anti-inflamatória, depurativa, expectorante, vermífuga, diurética. (BARROS, et al., 2016).

Figura 4 – Caju

Fonte: SÂ; PAIVA; MARINHO (2000)

2.3.2.3 Manga

A manga (*Mangifera indica L.*), é uma das frutas mais procuradas no mundo, consumida principalmente in natura, pode ser transformada em vários produtos: polpa simples, suco, sorvete, geléias, compotas, etc. É rica em vitaminas A e C. A mangueira se adapta bem em áreas onde as estações seca e chuvosa se apresentam bem definidas, rústica, a mangueira vegeta e frutifica bem tanto em solos arenosos quanto nos argilosos, ligeiramente ácidos ou alcalinos (FONSECA, et al., 2006).

Uma de suas variedades é a manga Tommy (Figura 5), sua origem é da Flórida, EUA, possui fruto de tamanho médio para grande, 460 g, com casca espessa e formato oval. Apresenta coloração do fruto atraente (laranja-amarela coberta com vermelho e púrpura intensa). A polpa é firme, succulenta, e teor de fibra médio e 16° brix. É uma das variedades de manga mais cultivadas mundialmente para exportação. Apresenta facilidade para indução floral em época quente, alta produtividade e boa vida de prateleira. Essa variedade representa 90% das exportações de manga no Brasil (COSTA, 2004).

Figura 5 – Manga Tommy



Fonte: o próprio autor

Outra variedade da manga é a Palmer (Figura 6), também com origem na Flórida, tem variedade semi-anã, de copa aberta. Os frutos possuem casca roxa quando “de vez” e vermelhos quando maduros. A polpa é amarelada, firme, bom sabor (21,6° Brix), com pouca ou nenhuma fibra. Relação polpa/fruto é de 72%, teor médio de fibras e casca fina. Apresenta boa vida de prateleira e produções regulares e é bem aceita no mercado interno. A produção é tardia,

permitindo prolongamento do período das safras. É uma fruta que chama atenção e vem ganhando a preferência por causa do sabor acentuado, doce e ótima para o consumo. Outra vantagem da variedade: o seu caroço é pequeno, o que garante uma polpa consistente e o melhor aproveitamento da fruta. Relação polpa/fruto é de 72%, teor médio de fibras e casca fina (COSTA, 2004).

Figura 6 – Manga Palmer



Fonte: o próprio autor

2.3.2.4 Cupuaçu

O Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta nativa da região amazônica. Este vegetal, que pode ser encontrado até mesmo com 20 metros de altura, é do grupo familiar do cacau. O cupuaçu, conforme figura 7, nasce em terra sólida e distante da superfície, com incrível capacidade de reter água, fértil e bem consistente fisicamente. (SEREJO et al, 2009).

Figura 7 – Cupuaçu



Fonte: o próprio autor

2.3.2.5 Goiaba

A goiaba (*Psidium guajava* L.), conforme Figura 8, se destaca dentre os frutos tropicais não só devido às suas boas características organolépticas como sabor e aroma, mas como também nutricionais, sendo considerados, alta fonte de vitamina C, teores de vitamina A e do grupo B, como a tiamina e a niacina, fibras e minerais como fósforo, ferro e cálcio (VIEIRA, et al., 2008).

Figura 8 – Goiaba



Fonte: o próprio autor

2.3.2.6 Maracujá

Maracujá amarelo apresentado na Figura 9, cujo nome científico é *Passiflora edulis f. Flavicarpa*, natural do Brasil e do Peru, ele tem quase duzentas variedades, a maioria delas, ótimas para sucos, mousses, bolos. Possui uma substância chamada passiflora, motivo pelo qual é considerado um calmante, além de ser fonte de vitamina C, cálcio e fósforo. O maracujá, famoso por seu ativo calmante, é rico em vitaminas do complexo B e sais minerais, como cálcio, ferro e fósforo. Quando ingerido, dá ao organismo betacaroteno, que é transformado em vitaminas A, C, B2 e B3 (LIMA, 2002).

Figura 9 - Maracujá



Fonte: o próprio autor

2.3.2.7 Jamelão

O Jamelão (*Syzygium Cumini*) como mostra a figura 10, é da mesma família da pitanga e da goiaba e chega a atingir cerca de 10 metros de altura quando chega a maturidade. Tem sua origem no Sul da Ásia e das regiões australianas, a árvore possui frutos que no formato lembram azeitonas e ficam com uma coloração roxa quando maduros. No Brasil, a árvore se adaptou melhor na Região Nordeste, graças a seu clima quente. É mais comum consumir o jamelão in natura, mas com ele também é possível preparar uma diversidade grande de pratos (VIZZOTTO; FETTER, 2009).

Figura 10 – Jamelão



Fonte: Vizzoto; Fetter (2009)

2.4 AÇÚCARES

A descoberta do açúcar é atribuída aos indianos, sendo conhecido pela humanidade há muitos anos fazendo parte do dia-a-dia da sociedade. É bastante consumido tanto nas residências, quanto nas indústrias de alimentos que utilizam toneladas de açúcar para a produção de uma infinidade de produtos, que vão desde biscoitos até bebidas. O Brasil é o maior produtor de açúcar do mundo tendo como matéria-prima a cana-de-açúcar porque ela tem uma maior capacidade de aclimação e adaptação aos ambientes locais (ALBUQUERQUE, 2011).

Os açúcares, também conhecidos como carboidratos ou glicídios, são importantes biomoléculas que constituem a base da nutrição dos organismos heterotróficos. Eles são formados principalmente por carbono, hidrogênio e oxigênio, apresentando a seguinte fórmula geral $(CH_2O)_n$. Devido a essa fórmula, também são denominados de hidratos de carbono. Alguns carboidratos fogem da fórmula geral e apresentam nitrogênio, fósforo ou enxofre em sua composição (PASSOS; PARK, 2003).

Os carboidratos classificam-se em simples e complexos, de acordo com sua estrutura química. Os carboidratos simples são conhecidos como monossacarídeos ou açúcares simples, eles caracterizam-se por serem formados por uma única molécula, que não pode ser hidrolisada. Como exemplos de monossacarídeos podemos citar a glicose e frutose. Temos também, os carboidratos complexos que possuem duas ou mais unidades de açúcar interligadas.

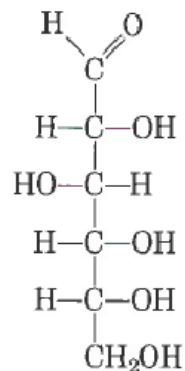
Como exemplos deste, temos os dissacarídeos com duas subunidades de açúcares interligadas, os oligossacarídeos que possuem de 3 a 10 subunidades de açúcar interligadas (oligos significa 'pouco') e os polissacarídeos que têm mais de 10 subunidades de açúcar interligadas (BRUICE, 2006).

No presente trabalho foram identificados e analisados a glicose, a frutose, sacarose, manitol e nistose.

2.4.1 Glicose

A glicose é um monossacarídeo e não sofre hidrólise. Ela é uma aldose, pois, conforme mostra a sua estrutura química na figura 11 além dos grupos poliálcoois, ela possui um grupo aldeído em sua fórmula (NELSON; COX, 2014).

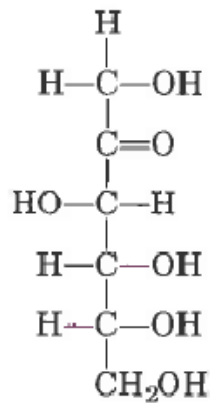
Figura 11- Estrutura da glicose



Fonte: o próprio autor

2.4.2 Frutose

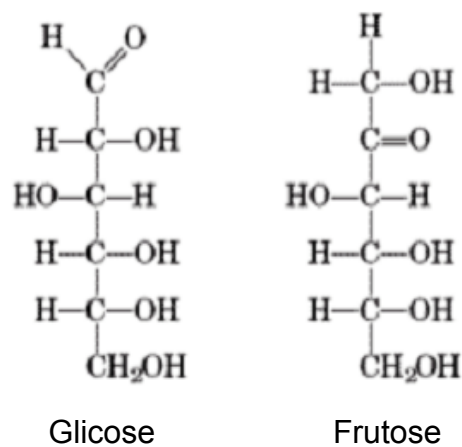
A frutose, também é um monossacarídeo, carboidratos mais simples que não sofrem hidrólise, é classificada como uma hexose. Devido à presença de um grupo cetona em sua estrutura, a frutose pode ser classificada, ainda como uma cetose. Portanto, podemos dizer que se trata de uma ceto-hexose (BRUICE, 2006). A figura 12 mostra a estrutura química da frutose.

Figura 12 – Estrutura da frutose

Fonte: o próprio autor

2.4.3 Sacarose

Já a sacarose é um dissacarídeo, formada por uma molécula de glicose e uma de frutose, unidas entre si por uma ligação glicosídica, conforme a figura 13. Ao ser submetida à ação de ácidos diluídos ou da enzima invertase, a sacarose sofre hidrólise e libera a molécula de glicose e a de frutose, as quais fazem parte da sua estrutura, em uma reação química conhecida por inversão de sacarose (FIGUEIREDO, 2012).

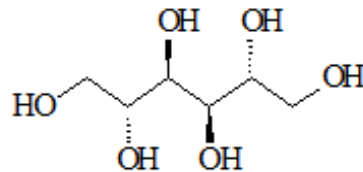
Figura 13- Estrutura da sacarose

Fonte: o próprio autor

2.4.4 Manitol

O manitol é um açúcar-álcool ou poliálcool formado por seis carbonos, é um sólido branco e cristalino. Do ponto de vista estrutural, possui quatro carbonos quirais, conforme figura 14 (OLIVEIRA; FERREIRA; SOUZA,2009).

Figura 14 – Estrutura do manitol

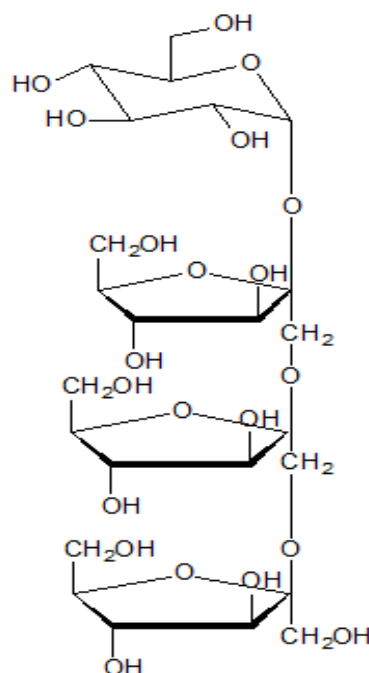


Fonte: o próprio autor

2.4.5 Nistose

A nistose é um oligossacarídeo, e conforme a figura 15 sua estrutura é composta por 3 frutoses e uma glicose. A nistose faz parte do grupo de açúcares conhecido como frutooligossacarídeos (FOS) que são açúcares não convencionais, não metabolizados pelo organismo humano e não calórico (HOMME et al., 2003).

Figura 15 – Estrutura da nistose



Fonte: o próprio autor

2.5 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

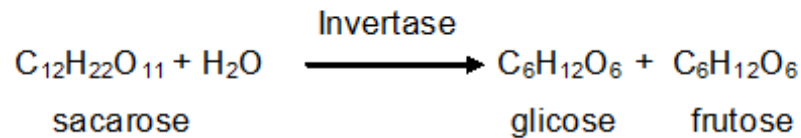
A forma mais simples e antiga de obter álcool, descoberta pela humanidade há milhares de anos antes de Cristo, é a fermentação. Com esse processo é produzido o álcool utilizado para todos os fins. Essa técnica consiste basicamente, em adicionar ao caldo seja da cana-de-açúcar ou de outra biomassa, micro-organismos que quebram moléculas de açúcar, transformando-as em duas moléculas de etanol mais duas moléculas de gás carbônico. Nas usinas produtoras de etanol, a biomassa utilizada passa por diversos processos, até se obter o álcool anidro e hidratado (LIMA, 2001).

A glicose e a frutose são os dois monossacarídeos mais abundantes na natureza. Eles são os principais açúcares de muitas frutas e, a presença da glicose e da frutose possibilita, com o processo de fermentação, a produção de bebidas como o vinho e as sidras cujo processo é anaeróbio e necessita da ação de microorganismos. Neste processo, os monossacarídeos são convertidos, principalmente, em etanol e dióxido de carbono com liberação de energia (BRUICE, 2006).

Todo e qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato, constitui-se matéria-prima para a produção de etanol, tanto quanto as sobras e resíduos de produtos naturais. É preciso que os substratos (mostos) sejam adequados ao desenvolvimento do microrganismo e à finalidade de sua atividade, que é produzir uma determinada substância. Também é preciso que a composição do meio seja capaz de suprir as exigências do microrganismo, para seu melhor desempenho, como pH, temperatura, assepsia ou esterilidade dentre outros (LIMA, 2001).

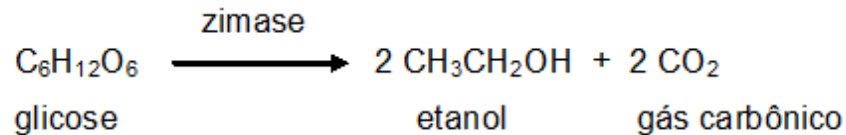
A fermentação alcoólica apresenta dois processos básicos:

1° Hidrólise da sacarose: uma molécula de sacarose, por ação de catalisadores, sofre hidrólise, utilizando uma molécula de água e produzindo glicose e frutose, conforme descrito na equação da reação a seguir:



Fonte: o próprio autor

2° Fermentação alcoólica: a levedura e outros microorganismos fermentam a glicose em etanol e CO₂, como apresentado na equação da reação a seguir:



Fonte: o próprio autor

As fermentações industriais podem ser classificadas em processos contínuos e descontínuos. O processo contínuo opera sem parar, ou seja, utiliza os equipamentos em sua totalidade, diminuindo assim o volume de fermentadores. Neste processo, o investimento inicial é em média 60% menor do que em um processo de batelada de mesma capacidade, entretanto, mesmo sendo mais simples os processos de fermentação contínua exigem maiores cuidados e um maior nível de automação e operação. Já os processos descontínuos são os intermitentes, denominados batelada simples ou batelada alimentada. Na batelada simples, a fermentação inicia logo depois do preenchimento do fermentador, quando se mistura o mosto com o fermento, porém, só é viável em situações de pequenas quantidades de mosto, como em fermentações laboratoriais e farmacêuticas. Na batelada alimentada, o método é mais produtivo, porque expõe as leveduras a menores riscos de se tornarem inativas que no processo de batelada simples, nela, mistura-se o mosto ao fermento, à medida que a dorna vai sendo abastecida (ALCARDE, 2016).

2.5.1 Leveduras

O processo de fermentação alcoólica é um processo biológico, tendo como principal agente a levedura, processo este em que ocorre a transformação de açúcares em álcool e gás carbônico. A espécie mais utilizada na fabricação de álcool é a *Saccharomyces cerevisiae*. Essa levedura, quando em contato com um meio contendo glicose, e sob condições de anaerobiose, produz álcool etílico e gás carbônico, entre outros produtos. Durante o processo de fermentação, podem surgir diversos fatores, que podem alterar a produção de álcool etílico, devido ao fato de interferirem na atividade celular da levedura. O pH tem papel importante na fermentação, sendo que para favorecer o desenvolvimento das leveduras deve estar na faixa entre 4,5 e 5,5 (JONES, PAMMENT; GREENFIELD, 1981).

2.6 DESTILAÇÃO

Após a fermentação, a etapa que se segue é separar o etanol da mistura. Nesta fase, o líquido é colocado em colunas de destilação, e este é aquecido até se evaporar. Em seguida acontece a condensação que é a transformação de um gás ou vapor em líquido, onde será separado etanol do restante da mistura. Assim, o álcool hidratado, usado como etanol combustível estará pronto, com uma faixa de 96% de grau alcoólico (MENEGUZZO; RIZZON, 2008).

2.7 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR)

Metodologia de Superfície de Resposta é um conjunto de técnicas matemáticas e estatísticas que são úteis para modelar e analisar problemas cuja resposta de interesse é influenciada por muitas variáveis. A forma de relacionamento entre a variável de resposta e as variáveis independentes é desconhecida e a resposta deve alcançar um valor ótimo que pode ser a maximização ou minimização. Desse modo, o primeiro passo dentro da metodologia MSR é encontrar uma aproximação razoável para o verdadeiro relacionamento entre

a resposta e o conjunto de variáveis independentes. Usualmente, emprega-se um polinômio de baixa ordem (MYERS; MONTGOMERY, 1995).

Através da ferramenta do planejamento experimental e também da análise de superfície de resposta é possível investigar a influência das variáveis em um processo, bem como a forma de interação entre elas, além de chegar ao valor das variáveis que otimizem os resultados (SANTOS, et al., 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar a produção de etanol a partir do extrato aquoso da polpa de frutas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração de açúcares na polpa de maracujá, jamelão, mangas Palmer e Tommy, caju, goiaba, cupuaçu e acerola por cromatografia;
- Determinar a concentração de açúcares totais pelo método do fenol sulfúrico, da fruta que apresentar as melhores condições para a fermentação alcoólica;
- Evidenciar as frutas que possuem maior potencial para a produção de etanol;
- Fermentar as quatro frutas com maior teor de açúcar, separadamente e juntas, em forma de mistura, analisando os resultados na produção de etanol;
- Fermentar o caldo diluído da cana-de-açúcar nas mesmas condições das polpas de frutas e fazer um comparativo dos resultados de teor e rendimento de etanol produzido;
- Utilizar a metodologia de superfície de resposta para atingir o processo de fermentação alcoólica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAIS ONDE FORAM REALIZADOS OS EXPERIMENTOS

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Pesquisa e Análise de Combustíveis (LPAC), Laboratório de pesquisa 339, no Laboratório de Desenvolvimento de Instrumentação, Automação e Metodologia Analítica (DIA), pertencentes ao Departamento de Química e no Laboratório de Bioquímica Ensino 1, que pertence ao Departamento de Bioquímica e Biotecnologia. Todos os laboratórios citados estão localizados na Universidade Estadual de Londrina, os quais possuem equipamentos básicos para a realização da proposta de pesquisa.

4.2 AMOSTRAS

As frutas acerola (*Malpighia glabra* L.), caju (*Anacardium occidentale*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e goiaba (*Psidium guajava* L.), foram adquiridas de polpas da marca Polpa Norte, comercializadas em mercados de Londrina, embaladas em plástico e que de acordo com o rótulo da embalagem, sem conservantes e nem aditivos. Já o maracujá (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) e a manga (*Mangifera indica* L.), foram adquiridas em mercados de Londrina e transformadas em polpa. Em relação ao jamelão (*Syzygium Cumini*), os frutos foram coletados no Distrito de Santa Margarida, no município de Bela Vista/PR e também transformados em polpa. Quanto a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) utilizada, a mesma foi comprada na região do Lago Igapó em Londrina, que segundo o vendedor tem origem da cidade de Porecatu/PR.

4.3 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DAS FRUTAS

As frutas maracujá, manga e jamelão foram descascados, despulpados e transformadas em um extrato aquoso com adição de 50% de água destilada em um liquidificador de baixa rotação e após, com o auxílio de uma peneira, foram separadas as fibras. As frutas acerola, caju, cupuaçu e goiaba foram adquiridas na forma de polpa, também tiveram a adição de 50% de água destilada. O caldo de cana-de-açúcar adquirido, logo após a sua moagem, foi acondicionado em uma garrafa plástica e, no laboratório, uma porção foi diluída em água destilada

na mesma proporção das frutas utilizadas. O extrato aquoso de cada amostra foi congelado em freezer até o momento do uso na fermentação.

4.4 LEVEDURA

Blocos de levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (marca ITAIQUARA), foram deixados em equilíbrio à temperatura ambiente (25 °C) por uma hora. A camada externa dos blocos foi descartada para evitar contaminação (JONES, PAMMENT; GREENFIELD, 1981). A parte interna da levedura foi cortada em pequenos pedaços, até ficarem com um pó e que próximo do horário estabelecido para a fermentação foram adicionadas ao mosto, as quais foram misturadas até dissolverem.

4.5 SUPLEMENTAÇÃO DE NUTRIENTES

Foram utilizados o extrato de levedura, da marca Acumedia e fosfato de amônio monobásico P.A. ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), da marca Vetec, como fonte de nitrogênio e fósforo. O sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), da marca Nuclear e sulfato de zinco (ZnSO_4) da marca Anidrol, foram adicionados ao meio de cultura (CRUZ; BORZANI, 1980).'

4.6 FERMENTAÇÃO

Para a realização da fermentação, foram utilizados erlenmeyers de 125 mL, pré-esterilizados contendo meio de cultura suplementado e levedura em concentrações definidas pelo delineamento experimental (Tabela 1). Os erlenmeyers foram fechados com algodão hidrofóbico e incubados por dez horas em temperatura de 30°C estabilizada em estufa (Figura 16). Após a retirada das amostras da estufa, foram centrifugadas por 10 minutos em rotação máxima (4000 rpm) e, em seguida, foi realizada a destilação e medido o teor de álcool.

Figura 16 – Erlenmeyers incubados na estufa a 30° C



Fonte: o próprio autor

4.7 ANÁLISES

4.7.1 Cromatografia

No preparo das amostras foram utilizadas alíquotas das polpas, balões volumétricos de 100 mL, funis de vidro, papel filtro quantitativo e membrana de polietileno para CLAE da MILLIPORE com 0,45 μm de poro e 13 mm de diâmetro. Soluções padrões de estoque foram feitas a partir do padrão analítico de nistose, sacarose, glicose, frutose e maltose da Sigma-Aldrich. A coluna utilizada foi REZEX, do tipo RCM para partículas de 8 μm . Demais acessórios do cromatógrafo foram da Shimadzu como a bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20AC HT, detector RID-10A e forno CTO-20AS. A fase móvel usada foi a água da marca Mili-Q sonicada. As análises do cromatógrafo foram processadas no software Shimadzu's LCSolutions.

4.7.2 Determinação de Açúcares Totais

Para determinação de açúcares totais foi utilizado o método de Dubois et al. (1956) com o uso de ácido sulfúrico concentrado (Vetec), solução de fenol 5% (Vetec), e solução padrão de glicose 0,1 % (m/v). O ácido sulfúrico concentrado desidrata pentoses e hexoses, convertendo-as em furfural e hidroximetilfurfural respectivamente, que reagem com fenol, formando um complexo colorido alaranjado o qual é detectado no espectrofotômetro da marca Biochrom Libra S22 na faixa de 490 nm.

Para a determinação do fator de calibração denominado de Fc, foram elaborados 2 soluções padrões de glicose para cada concentração encontrada na tabela 1. A quarta e a quinta coluna correspondem a razão da concentração da glicose pela absorvância, e na última coluna está a média das duas razões. O fator de calibração é a média das médias.

Para calcular a concentração foi utilizada a seguinte fórmula: $\text{concentração} = \text{Fc} \cdot \text{Absorvância da amostra} \cdot \text{diluição}$.

A curva de calibração ficou como fator de calibração de 110,649. O extrato aquoso da polpa da manga Palmer diluído, apresentou absorvâncias médias de 0,351 e o fator de diluição foi $2,145 \cdot 10^{-3}$. Resultando em um total de 8,33% de açúcares.

Tabela 1 – Valores experimentais com os cálculos na determinação de açúcares totais pelo método do fenol sulfúrico

Concentração de glicose ($\mu\text{g} \cdot \text{m L}^{-1}$)	Absorvância 1	Absorvância 2	Razão 1	Razão 2	Média
20	0,176	0,186	113,636	107,527	110,582
40	0,344	0,381	116,279	104,987	110,633
60	0,524	0,533	114,504	112,570	113,537
80	0,783	0,697	102,171	114,778	108,474
100	0,932	0,887	107,296	112,740	110,018
				Fator de calibração	110,649

Fonte: o próprio autor

4.7.3 Determinação do teor de álcool

Na determinação do teor de álcool, foram usadas as seguintes soluções: solução sulfocrômica 0,15 N, contendo dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), ácido sulfúrico (H_2SO_4) e água destilada; solução de sulfato ferroso amoniacal [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$]. Como indicador, usou-se a solução com ortofenantrolina, sulfato de ferro heptahidratado e água destilada.

Para determinar o teor de álcool, foi usado o método de Zimmerman (1970). Uma alíquota de 1 mL do fermentado foi destilado em um microdestilador TE-012 Tecnal (Figura 17), o qual adicionou água, produzindo 20 mL de amostra que foi colocada em um erlenmeyer de 125 mL, em seguida adicionou-se 5 mL de água destilada, 20 mL de solução sulfocrômica contendo dicromato de potássio (3,7 g de dicromato de potássio, 280 mL de ácido sulfúrico e água destilada suficiente para completar 500 mL). A solução ficou em repouso por 25 minutos em banho Maria a 60 °C. Em seguida adicionou-se 0,5 mL do indicador ortofenantrolina (1,45 g de ortofenantrolina, 0,69 g de sulfato ferroso heptahidratado e água destilada suficiente para completar 100 mL). Logo após foi titulado com a solução de sulfato ferroso amoniacal (67,55 g), ácido sulfúrico (10 mL) e água destilada suficiente para completar 500 mL, sendo o teor em álcool expresso em $g L^{-1}$.

Figura 17 – Microdestilador TE-012 Tecnal



Fonte: o próprio autor

O teor de álcool (E) foi determinado por meio da equação 1 e rendimento pela equação 2.

$$E(\text{g L}^{-1}) = k \cdot V \cdot N \left(1 - \frac{V_b}{V_a} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

Onde, $E(\text{g L}^{-1})$ o teor de álcool, k é o valor de 11,5 uma constante teórica; V e N se referem ao volume e molaridade do reagente dicromato de potássio respectivamente; V_a é o volume de sulfato ferroso amoniacal utilizado na titulação da amostra e V_b é o volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação do branco.

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{\text{Teor de álcool obtido}}{\text{Teor de álcool máximo}} \cdot 100 \quad \text{Eq. 2}$$

4.7.4 Delineamento Experimental

Para otimizar as condições de fermentação alcoólica do extrato aquoso das amostras, foi utilizado o delineamento fatorial incompleto de Box-Behnken (3^3). As variáveis independentes, X_1 , X_2 e X_3 , foram transformadas respectivamente em variável codificada em três níveis de variação, com as restrições apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 – Variáveis independentes e níveis de variação

Variáveis independentes	Variáveis codificadas		
	-1	0	1
X_1 =Extrato de levedura (g L^{-1})	1,50	2,50	3,50
X_2 = $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (g L^{-1})	0,30	0,35	0,40
X_3 =Levedura (g L^{-1})	2,00	6,00	10,00

Fonte: o próprio autor

Modelo Matemático

A função que foi utilizada foi do tipo (3):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad \text{Eq.3}$$

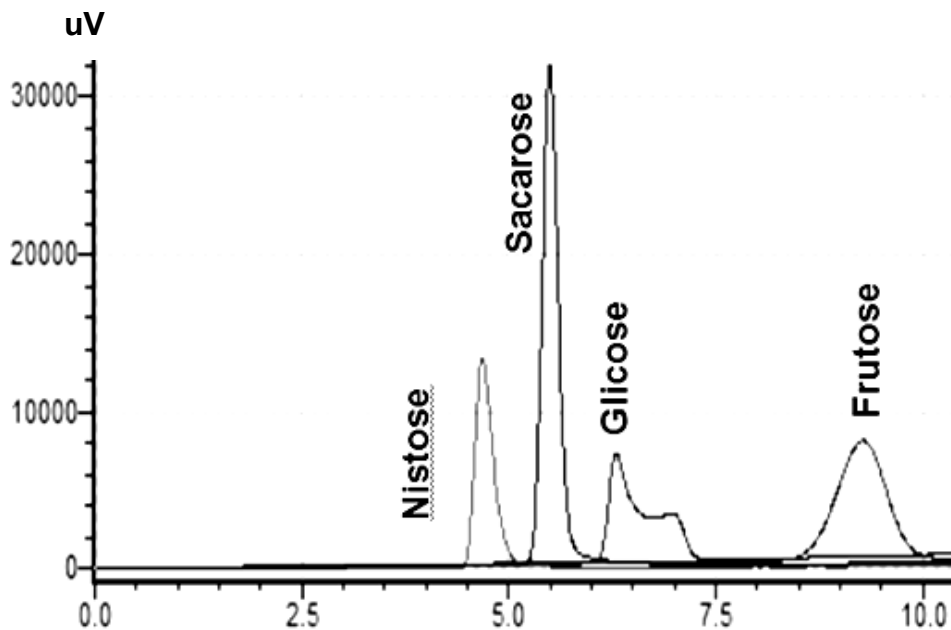
Em que Y, representa a função resposta dos dados experimentais e x_1 , x_2 e x_3 são variáveis independentes codificadas, correspondendo às concentrações de extrato de levedura, levedura e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, respectivamente, β os parâmetros estimados e ε o erro observado (STATISTICA, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos aquosos das polpas das frutas contendo 50% de polpa e 50% de água foram submetidos a ensaios de cromatografia, com o objetivo de verificar os teores de açúcares de cada amostra.

Na Figura 18, temos a ordem e os tempos de retenção dos padrões utilizados na quantificação dos açúcares. Foi empregado o método de padronização externa, com os padrões disponíveis, em cinco concentrações diferentes. Os padrões utilizados foram: nistose, sacarose, glicose e frutose. Outros açúcares e demais compostos, podem ser vistos nos cromatogramas apresentados, entretanto, não serão analisados por não terem sido utilizados os seus respectivos padrões.

Figura 18 – Cromatograma com a ordem e os tempos de retenção dos padrões utilizados na quantificação dos açúcares



Tempo (min)

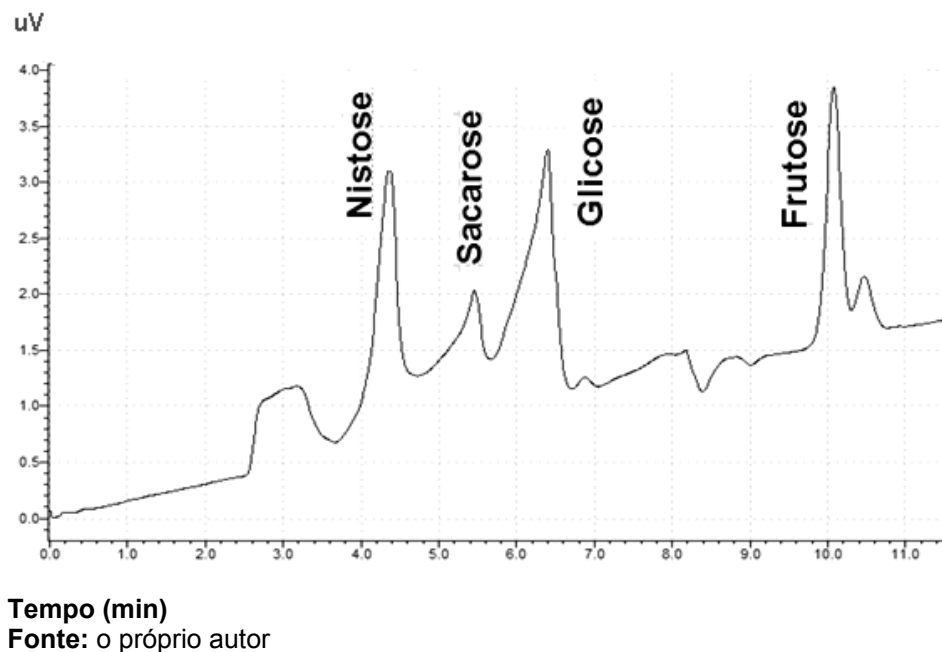
Fonte: o próprio autor

Na análise cromatográfica, o extrato aquoso da polpa da acerola apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,26 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($0,06 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($0,29 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($0,29 \text{ g L}^{-1}$). A acerola (figura 19) apresentou 0,89 % de açúcares totais, demonstrando um valor muito abaixo do esperado, pois de acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, em um Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de

Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta, na Instrução normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000, órgão que regulamenta o padrão de qualidade de polpas, determina que a polpa de acerola sem água, deve estar com teor de açúcares totais no intervalo entre 4,0 e 9,5% (BRASIL, 2000).

Algumas características específicas, foram evidenciadas no cromatograma da acerola, como por exemplo, houve deslocamento da linha de base, em razão de um efeito de matriz, o que causou pequenas distorções no formato do pico, uma justificativa para tal situação é que o método foi avaliado para as matrizes por ensaios de adição de padrão sobre a amostra, o que mostrou que cada pico de carboidrato não apresenta diluição com nenhum outro possível interferente das matrizes e com isso o formato do cromatograma bem como a elevação dá linha de base não comprometem o resultado, pois o mesmo se baseia em proporções das áreas cromatográficas.

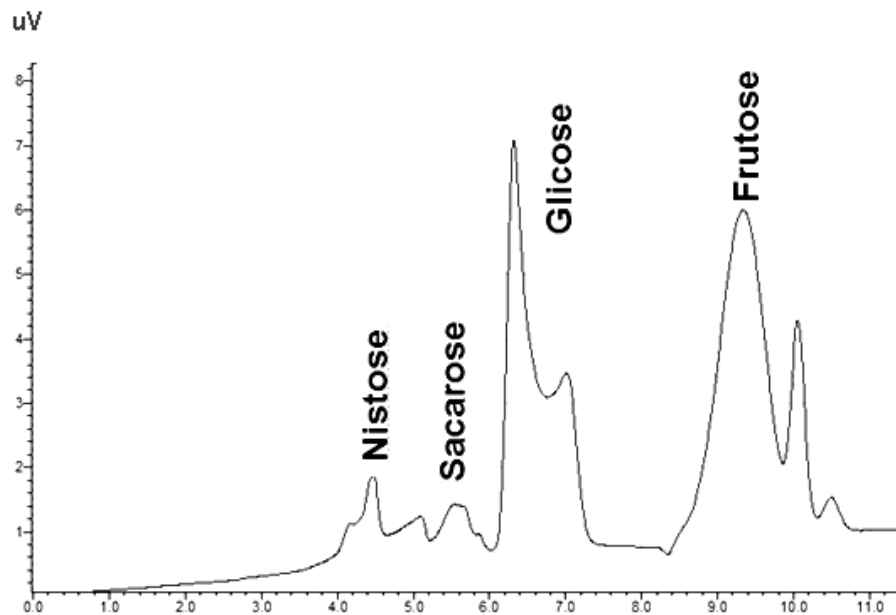
Figura 19 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de acerola



O cromatograma da polpa de caju (figura 20) possui em destaque os picos de glicose (G) e de frutose (F). O extrato aquoso da polpa do caju apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,10 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($0,06 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($1,44 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($2,34 \text{ g L}^{-1}$). A soma dos

açúcares da polpa de caju por CLAE foi de 3,93 % o qual ficou próximo ao valor de Silva (2012) que relatou ser de 7,43% de açúcares totais na polpa sem água , estando de acordo com a exigência do Ministério da Agricultura e Abastecimento, em que na sua Instrução normativa, determina que a polpa deve ter no máximo 15% de açúcares totais (BRASIL, 2000).

Figura 20 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de caju

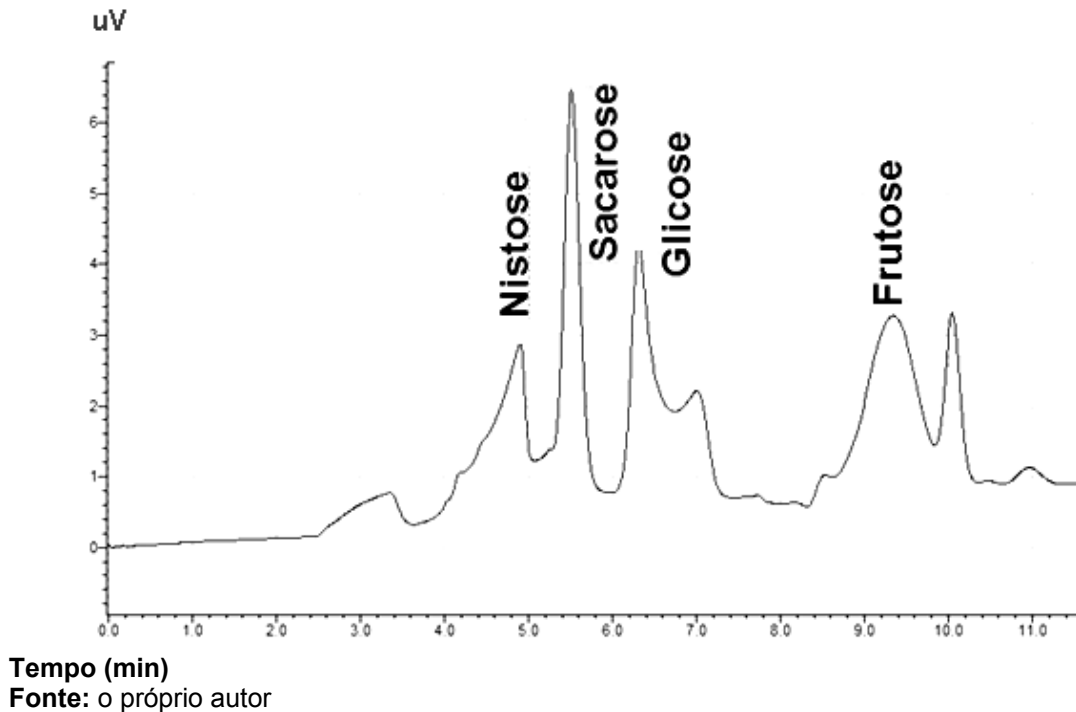


Tempo (min)

Fonte: o próprio autor

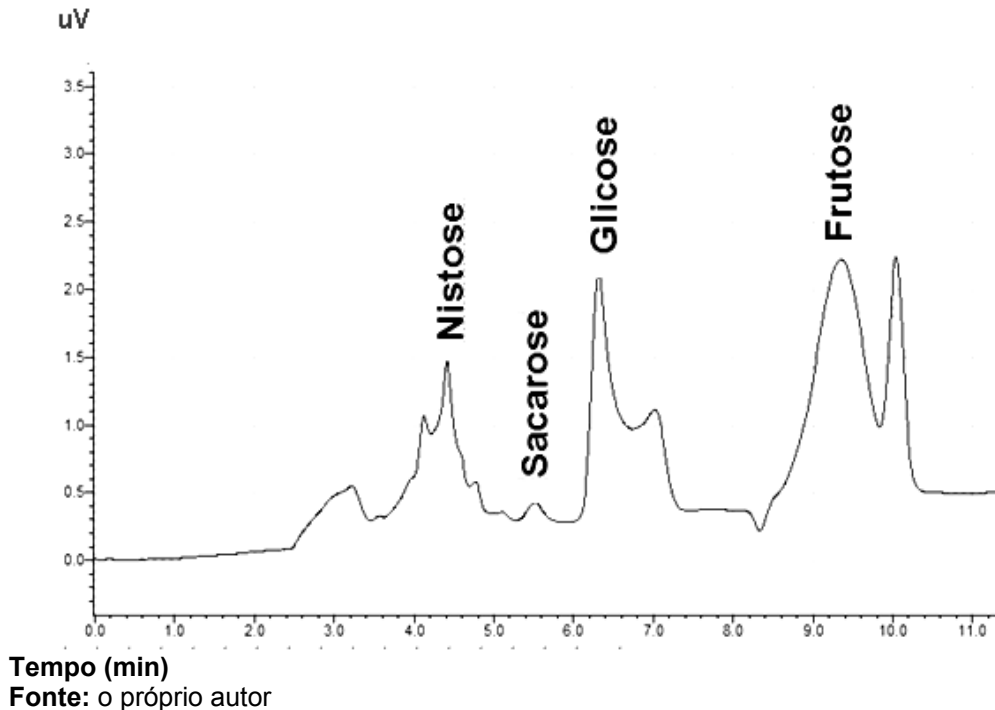
Na figura 21 é apresentado o cromatograma da polpa de cupuaçu que apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,36 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($0,62 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($0,88 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($1,28 \text{ g L}^{-1}$). No cromatograma apareceu um pico antes da nistose (N) e depois da frutose (F). Foi determinado com a soma dos açúcares totais de 3,14%, ficando superior ao encontrado nas exigências do Ministério da Agricultura e Abastecimento, em sua legislação, que é de no máximo 6% na polpa sem água (BRASIL, 2000).

Figura 21 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa de cupuaçu



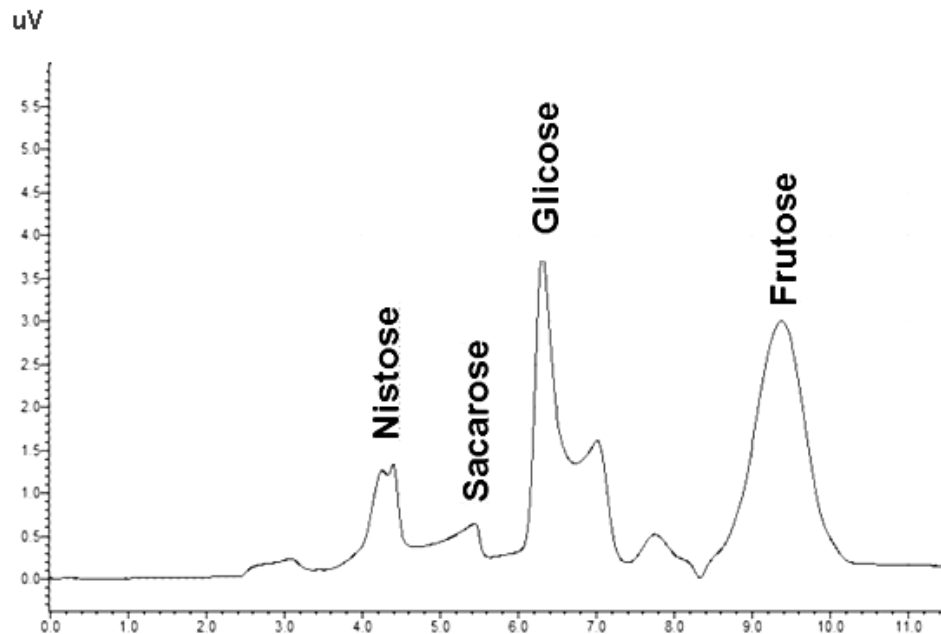
O extrato aquoso da polpa da goiaba apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,55 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($0,055 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($0,94 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($1,93 \text{ g L}^{-1}$). A figura 22 representa o cromatograma da polpa de goiaba, onde nota-se que quase não tem sacarose, mas glicose e frutose nota-se que os picos destacaram-se. Para o Ministério da Agricultura e Abastecimento, a quantidade de açúcares totais na polpa do fruto, deve ser de no máximo 15% e na cromatografia apresentou 3,47% de açúcares totais (BRASIL, 2000).

Figura 22 – Cromatograma dos açúcares encontrados na polpa do extrato aquoso da goiaba



Na análise cromatográfica, o extrato aquoso da polpa do Jamelão (Figura 23) apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,53 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($0,18 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($0,23 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($3,93 \text{ g L}^{-1}$). De acordo com a cromatografia, na polpa do jamelão, os açúcares com maiores picos foram glicose e frutose, já a sacarose e a nistose, apresentaram menores teores de açúcares. O total de açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa do jamelão foi de 4,86% que de acordo com Jadhav, Kamble e Kadam (2009) deve ter no máximo 8,09% de açúcares totais, sem adição de água. Portanto na amostra, o resultado foi superior ao encontrado na literatura, já que a amostra sem água obteria um resultado de 9,73% de açúcares totais.

Figura 23 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa do jmelão

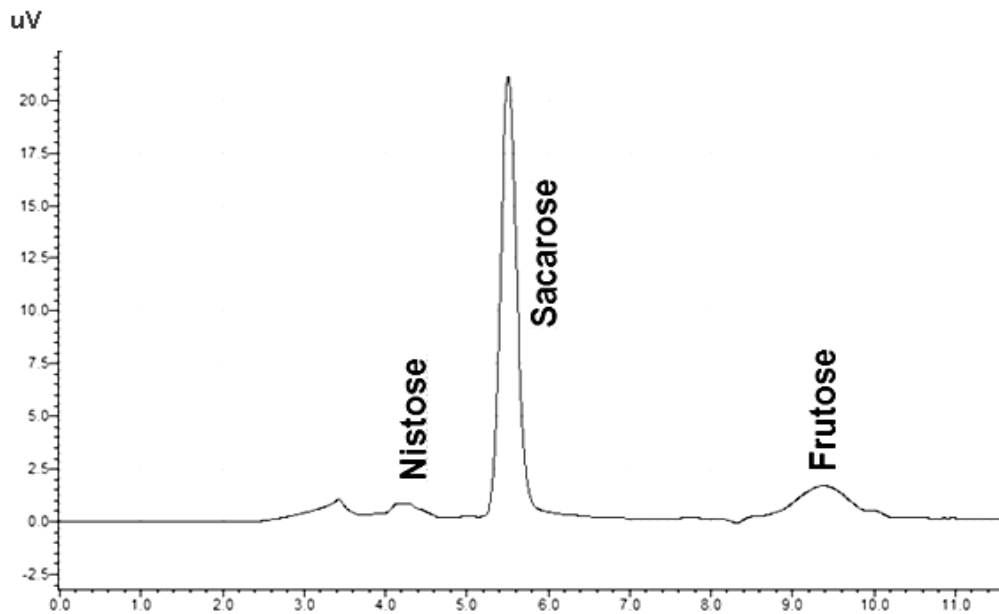


Tempo (min)

Fonte: o próprio autor

Na análise cromatográfica, o extrato aquoso da polpa da manga Tommy apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($0,21 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($3,98 \text{ g L}^{-1}$), glicose (ND) e frutose ($1,61 \text{ g L}^{-1}$). No cromatograma da manga Tommy (Figura 24) foram identificados apenas a nistose (N), sacarose (S) e frutose (F), porém a glicose não foi detectada (N.D.). Na cromatografia da amostra da manga o pico da sacarose ficou em destaque, que representou a maioria dos açúcares totais. Na legislação brasileira em relação à polpa de manga exige-se que tenha açúcares totais naturais na polpa do fruto de no máximo 17%, sem adição de água, portanto, a amostra está de acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, já que no experimento, a soma dos açúcares foi de 5,8%, com água (BRASIL, 2000).

Figura 24 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa da manga Tommy

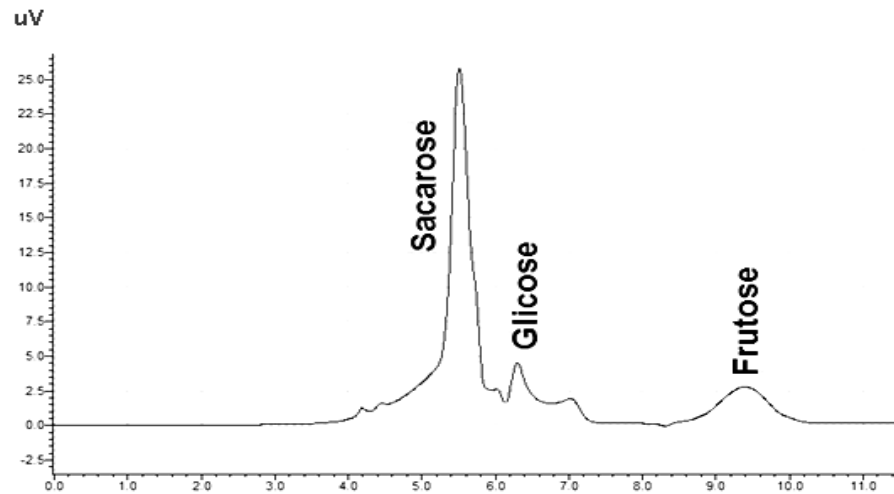


Tempo (min)

Fonte: o próprio autor

No cromatograma da polpa de maracujá mostrado na figura 25, os picos que foram detectados, foram de sacarose(S), glicose (G) e frutose (F), já a nistose não foi encontrada (N.D.). O extrato aquoso da polpa de maracujá apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose (ND), sacarose($4,81 \text{ g L}^{-1}$), glicose($0,60 \text{ g L}^{-1}$) e frutose ($1,25 \text{ g L}^{-1}$). Através da cromatografia do maracujá foi possível perceber que a sacarose destacou-se em relação aos picos da glicose e da frutose. Na soma, foram encontrados na polpa do maracujá 6,66% de açúcares totais. Com isso, a amostra revela que encontra-se de acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, que é de no máximo 18% de açúcares totais naturais na polpa do fruto, sem água (BRASIL, 2000).

Figura 25 – Cromatograma dos açúcares encontrados no extrato aquoso da polpa do maracujá

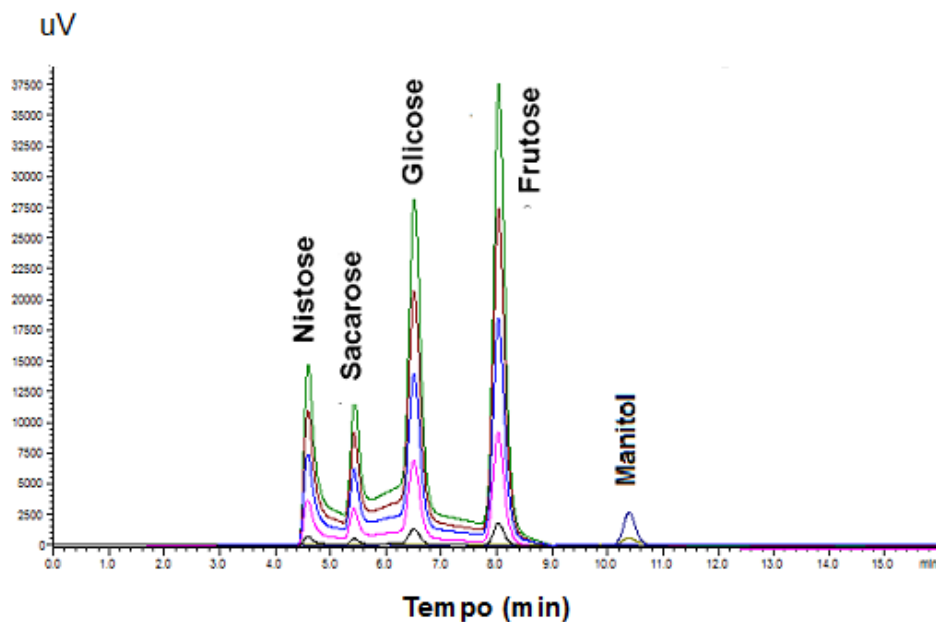


Tempo (min)

Fonte: o próprio autor

Para identificar e quantificar os diferentes tipos de açúcares presentes na manga Palmer, foi realizada a cromatografia do extrato aquoso da sua polpa utilizando os padrões de nistose, sacarose, frutose, glicose e manitol (Figura 26).

Figura 26 – Cromatografia dos padrões de nistose, sacarose, frutose, glicose e manitol em sobreposição

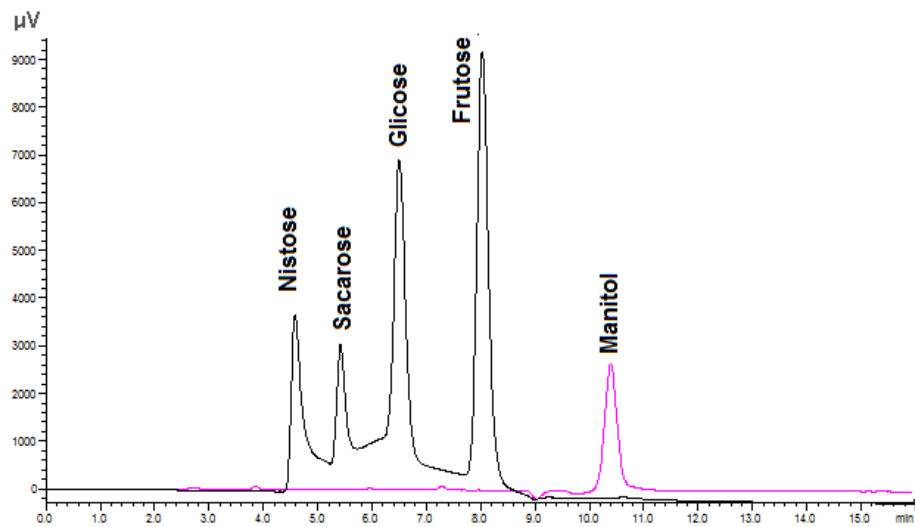


Fonte: o próprio autor

a análise cromatográfica, o extrato aquoso da polpa da manga Palmer (Figura 27)

apresentou os seguintes teores para os diferentes tipos de açúcares: nistose ($3,0 \text{ g L}^{-1}$), sacarose ($40,71 \text{ g L}^{-1}$), glicose ($7,36 \text{ g L}^{-1}$), frutose ($16,93 \text{ g L}^{-1}$) e o poliálcool manitol ($5,26 \text{ g L}^{-1}$). Alguns compostos que não foram identificados chegaram ao valor de $7,24 \text{ g L}^{-1}$ e a soma de todos os compostos foi de $80,51 \text{ g L}^{-1}$.

Figura 27 – Cromatograma do extrato aquoso da polpa da manga Palmer com a identificação das substâncias de nistose, sacarose, glicose, frutose e manitol



Tempo (min)

Fonte: o próprio autor

Na Tabela 3, é possível identificar o tipos de açúcares encontrados no extrato aquoso das polpas das frutas analisadas, em destaque, as que apresentaram maiores teores de açúcares, a manga Palmer, maracujá, manga Tommy e jmelão.

Tabela 3 – Resultado dos açúcares totais por cromatografia das polpas das frutas, com e sem água destilada

Fruto	Polpa com adição 50% de água	Polpa de sem de água	Valores encontrados na literatura (sem adição de água) (%)
Manga Palmer	8,05%	16,10%	17,49% (MANICA, 2001)
Maracujá	6,66%	13,31%	18% (BRASIL, 2000)
Manga Tommy	5,81%	11,61%	12,75% (BERNARDES SILVA, 2003)
Jamelão	4,86%	9,73%	8,09%(JADHAV; KAMBLE;KADAM,2009)
Caju	3,93%	7,87%	7,43% (SILVA, 2012)
Goiaba	3,46%	6,93%	7,98%(BALBACH, 1992)
Cupuaçu	3,14%	6,28%	7,45%(SANTOS, 2007)
Acerola	0,89%	1,79%	2,53% (FIGUEIRÊDO, 2001)

Fonte: o próprio autor

O extrato aquoso da polpa de jamelão, maracujá, mangas Tommy e Palmer foram filtrados em tecido filtrante de algodão, o pH das mangas foi de 4,5, já o maracujá e o jamelão, apresentaram pH 2,0 e 4,0, respectivamente, os quais necessitaram de ajuste do pH para 4,5 com solução de hidróxido de sódio a 50%.

Para que haja um ótimo desempenho das leveduras durante a fermentação, é necessário que o pH do fermentado esteja na faixa entre 4,5 e 5,5 (NOVAES et al, 1974). A partir desse pressuposto, das quatro frutas analisadas, a que apresentou maior teor de açúcar, além de pH adequado para a realização da fermentação, foi a manga Palmer.

Também foi verificado o teor de açúcares totais da manga Palmer pelo método do Fenol Sulfúrico de acordo com Dubois et al.(1956), o qual teve como resultado o valor de 8,33%. Vale ressaltar, que aplicando o teste t para amostra simples, verificou-se que não houve diferença significativa em nível de 5% entre os resultados de açúcares totais por cromatografia e pelo método do fenol sulfúrico, mesmo sabendo que a cromatografia é baseada na comparação por padrões analíticos, sendo um método específico e seletivo para cada tipo de açúcar e, com isso alguns picos não foram identificados e quantificados. Enquanto que o método

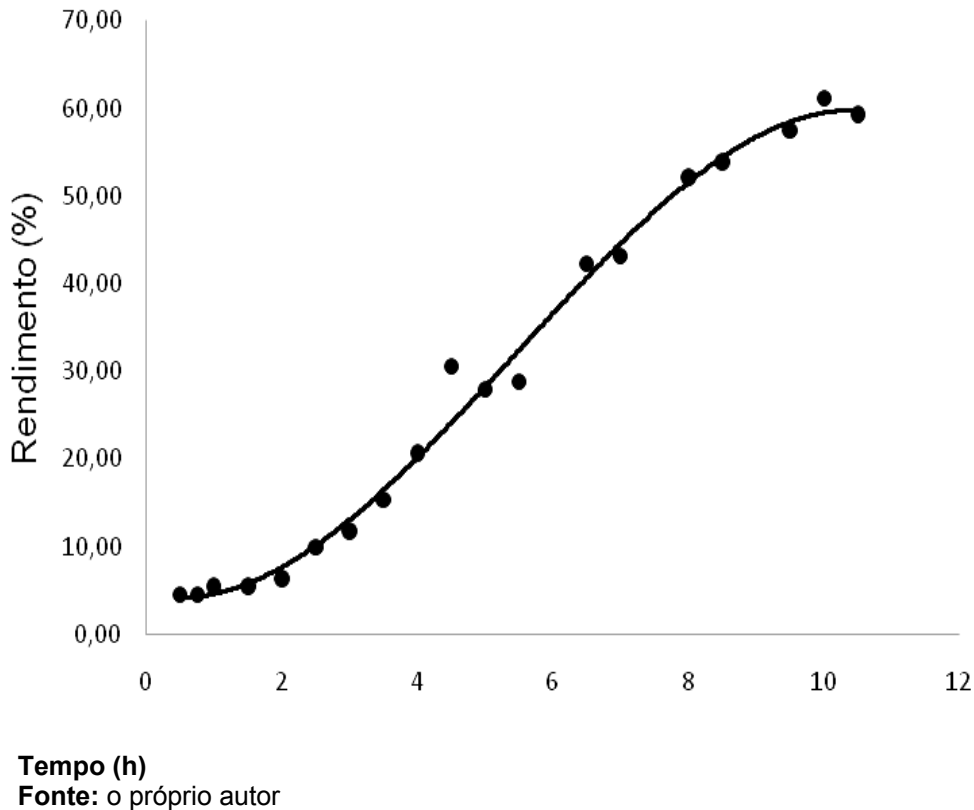
do fenol sulfúrico é abrangente na determinação de açúcares simples, polissacarídeos e seus derivados, incluindo os metil-ésteres com grupos redutores livres, após a desidratação dos mesmos pelo ácido sulfúrico e subsequente complexação dos produtos formados com o fenol (SILVA, et al., 2003). Assim, esses compostos não foram detectados na cromatografia.

Após verificado os açúcares totais pelo método do Fenol Sulfúrico e por cromatografia, foram feitos ensaios preliminares da fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer para detectar a cinética durante o processo, identificando o melhor tempo para realização da fermentação propriamente dita, contendo $6,0 \text{ g L}^{-1}$ de levedura, $2,5 \text{ g L}^{-1}$ de extrato de levedura, $0,35 \text{ g L}^{-1}$ de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, além de $0,25 \text{ g L}^{-1}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $0,20 \text{ g L}^{-1}$ de ZnSO_4 , os quais permaneceram a uma temperatura constante de 30°C , temperatura esta, em que as leveduras desenvolvem-se muito bem, pois encontra-se no intervalo ótimo de crescimento que, segundo Lima, et al. (1975) está entre 26°C e 35°C .

As quatro primeiras amostras foram retiradas da estufa a cada 15 minutos e as demais a cada 30 minutos. Em seguida, foram centrifugadas por 10 minutos, uma alíquota foi injetada no microdestilador e posteriormente feito a análise para verificar o teor de álcool de acordo com o método de Zimmerman (1970).

A Figura 28 mostra o aumento progressivo do rendimento da produção de álcool, em que os pontos representam os dados experimentais e a linha contínua os dados ajustados matematicamente. O modelo polinomial que foi utilizado mostrou a estabilização dos valores das respostas após 10 horas de fermentação, sendo assim, foi fixado o melhor tempo para realização da fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer.

Figura 28 – Gráfico do tempo (h) de fermentação em função do rendimento de álcool



Escolhido o melhor tempo, foi utilizado o delineamento fatorial 3^3 incompleto de Box-Behnken, para otimizar a fermentação alcoólica do extrato aquoso da polpa da manga Palmer, com 13 experimentos e duas repetições no ponto central, com o objetivo de estimar a variância do erro (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

Na Tabela 4 estão apresentadas as variáveis independentes codificadas, juntamente com os níveis de variação em valores originais e as respostas da produção, em g L^{-1} , e do rendimento em %, apresentadas em valores médios de duas repetições dos ensaios da fermentação, como também as réplicas do ponto central que foram utilizadas para estimar a variância do erro. A média do ponto central em relação ao teor de álcool do extrato aquoso da manga Palmer foi de $33,98 \text{ g L}^{-1}$ e o rendimento foi de 88,27%.

Tabela 4 – Nível de variação, variáveis independentes originais, teor de álcool em g L⁻¹ e rendimento do processo de fermentação em %

Ensaio	Variáveis			Teor de álcool	Rendimento
	X ₁ (Extrato de levedura)	X ₂ (NH ₄ H ₂ PO ₄)	X ₃ (Levedura)		
1	-1(1,50)	-1(0,30)	0(0,60)	28,62	74,36
2	1(3,50)	-1(0,30)	0(0,60)	31,36	81,49
3	-1(1,50)	1(0,40)	0(0,60)	29,02	75,38
4	1(3,50)	1(0,40)	0(0,60)	30,58	79,45
5	-1(1,50)	0(0,35)	-1(2,00)	25,61	66,55
6	1(3,50)	0(0,35)	-1(2,00)	28,23	73,34
7	-1(1,50)	0(0,35)	1(10,00)	30,58	79,45
8	1(3,50)	0(0,35)	1(10,00)	30,84	80,12
9	0(2,50)	-1(0,30)	-1(2,00)	27,71	71,98
10	0(2,50)	1(0,40)	-1(2,00)	25,61	66,54
11	0(2,50)	-1(0,30)	1(10,00)	29,79	77,41
12	0(2,50)	1(0,40)	1(10,00)	31,36	81,48
13	0(2,50)	0(0,35)	0(0,60)	32,93	85,55
14	0(2,50)	0(0,35)	0(0,60)	34,50	89,63
15	0(2,50)	0(0,35)	0(0,60)	34,50	89,63

Fonte: o próprio autor

Conforme a Tabela 5, a análise de variância indicou que o modelo proposto é significativo em nível de 5%, já o desvio da regressão é não significativo também no mesmo nível de variação. Para ser significativo, o F calculado deve ser maior que o F tabelado.

Tabela 5 – Análise de variância do rendimento da reação de fermentação alcoólica do extrato aquoso da polpa da manga Palmer, usando o delineamento fatorial incompleto 3^3

Fonte de variação	g L ⁻¹	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	9	688,252	76,472	29,640*	4,77
X₁ (L)	1	43,545	43,545	16,878*	6,61
X₂ (L)	1	0,708	0,708	0,274 (NS)	6,61
X₃ (L)	1	200,486	200,486	77,707*	6,61
X₁ (Q)	1	94,046	94,046	36,452*	6,61
X₂ (Q)	1	114,081	114,081	44,217*	6,61
X₃ (Q)	1	258,194	258,194	100,075*	6,61
X₁ X₂	1	2,344	2,344	0,909 ^(NS)	6,61
X₁ X₃	1	9,361	9,361	3,628 ^(NS)	6,61
X₂ X₃	1	22,564	22,564	8,746*	6,61
Erro	5	12,898	2,580		
Total	14	701,150			

*Significativo em nível de 5%; ^(NS) Não significativo em nível de 5%.

Fonte: o próprio autor

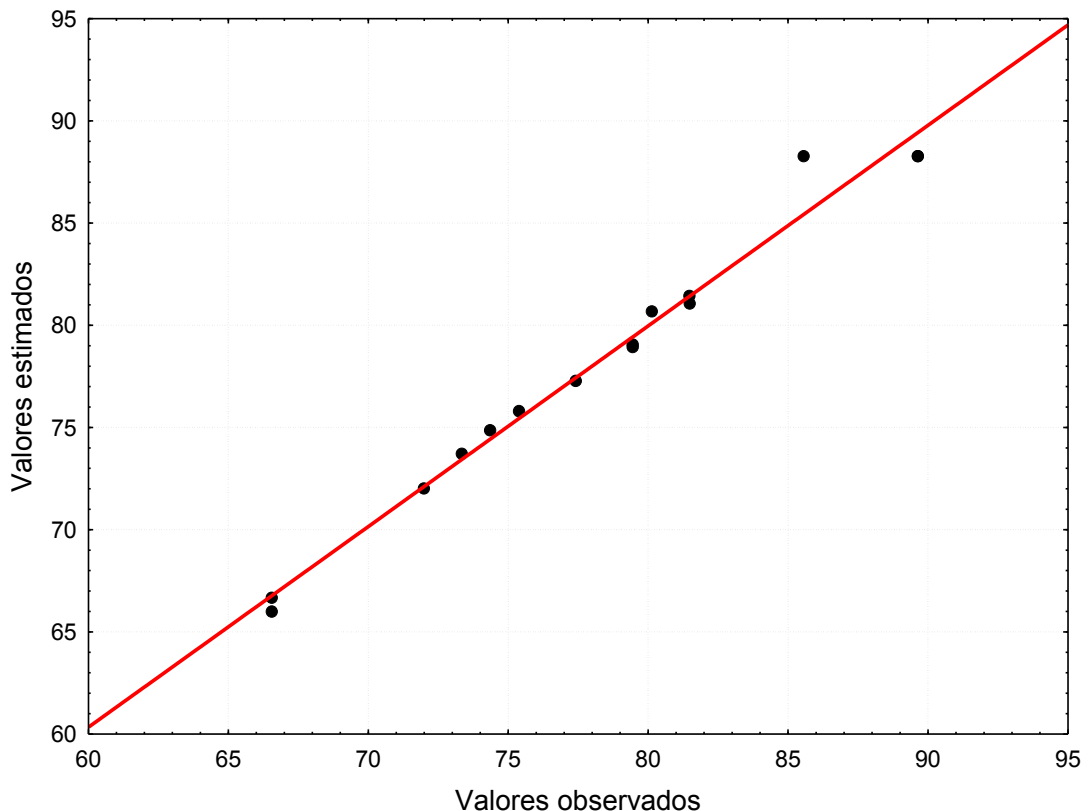
O modelo quadrático ajustado para o rendimento da fermentação alcoólica, contendo as variáveis independentes codificadas, está representado pela equação 4, onde os coeficientes de regressão (β) foram obtidos por $\beta = (A'A)^{-1} A'B$, onde A é a matriz de delineamento contendo os termos lineares, quadráticos e de interação e B é o vetor resposta.

$$Y = 88,274^* + 2,333^*x_1 - 0,298x_2 + 5,006^*x_3 - 0,766x_1x_2 - 1,530x_1x_3 + 2,375^*x_2x_3 - 5,047^*x_1^2 - 5,459^*x_2^2 - 8,362^*x_3^2 \dots\dots\dots \text{eq.4}$$

Na equação os termos significativos, em nível de 5%, estão representados por asteriscos e Y representa a estimativa do rendimento da reação de fermentação e, na forma codificada, x_1 representa a concentração de extrato de levedura, x_2 a

concentração de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e x_3 a concentração de levedura. Além disso, o coeficiente de determinação (R^2) foi igual a 0,98 e o ajustado igual a 0,95, o qual pode ser considerado adequado, já que de acordo com Joglekar e May (1987), para se obter um bom ajuste do modelo aos dados experimentais o valor do R^2 precisa ser superior a 80%. O desvio da regressão não significativo ($p= 0,95$) e o valor do R^2 elevado revelaram que a equação obtida, sem os termos não significativos, pode ser utilizada para fins preditivos, mostrando ser útil para procedimentos de otimização. A Figura 29 mostra a distribuição dos valores experimentais em relação aos valores obtidos por meio da equação. Nota-se que a maioria dos dados estão próximos à reta, mostrando que a diferença entre os valores experimentais e os estimados não são consideráveis confirmando a qualidade do modelo.

Figura 29 – Gráfico de dispersão com valores experimentais observados em função dos valores estimados

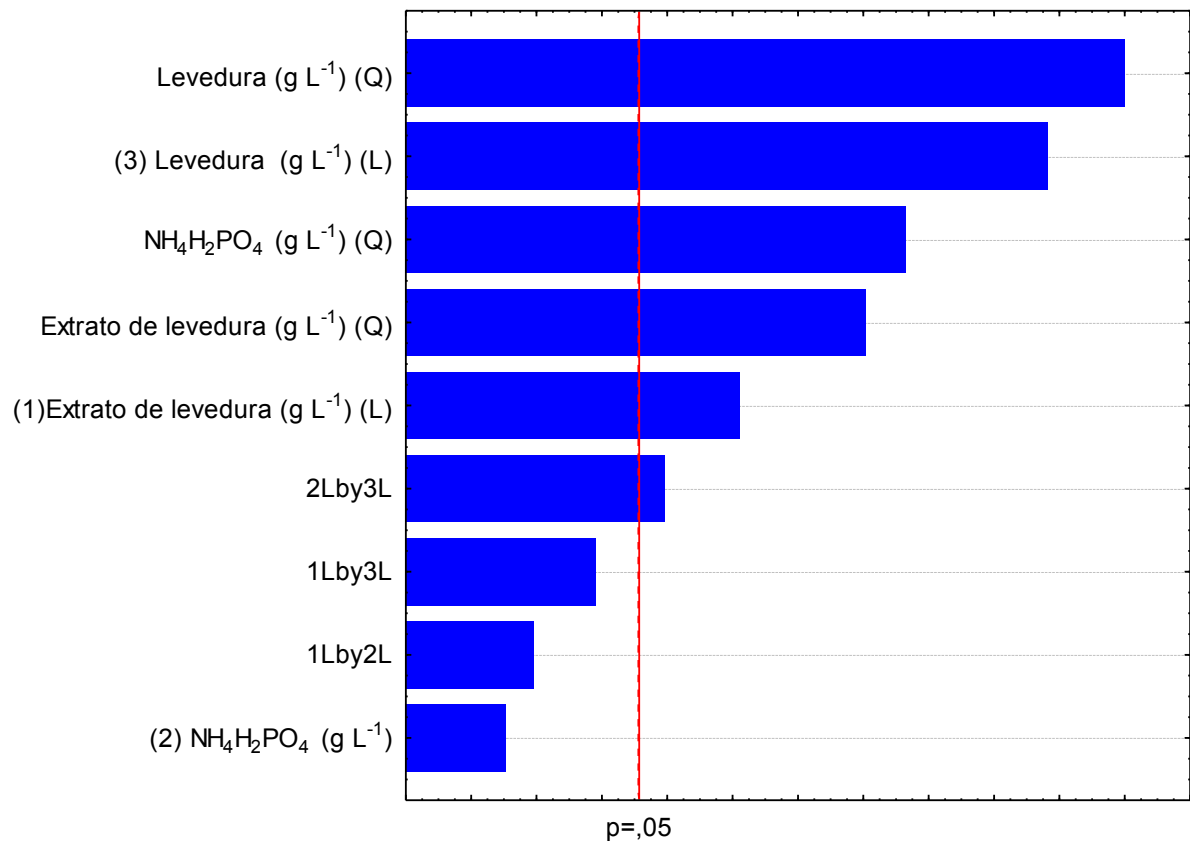


Fonte: o próprio autor

O gráfico de Pareto (Figura 30) contendo todos os termos mostra as variáveis mais significativas e a sua ordem de importância no modelo preditivo obtido. Os valores ao lado do retângulo representam os valores da estatística do

teste t. A letra “L” indica os termos lineares, a letra “Q” os quadráticos que não apresentam significado físico mas dá um indicativo da curvatura. Através do gráfico é possível determinar as variáveis mais significativas, que são levedura e extrato de levedura, as quais encontram-se logo após a linha vermelha, do lado esquerdo do gráfico.

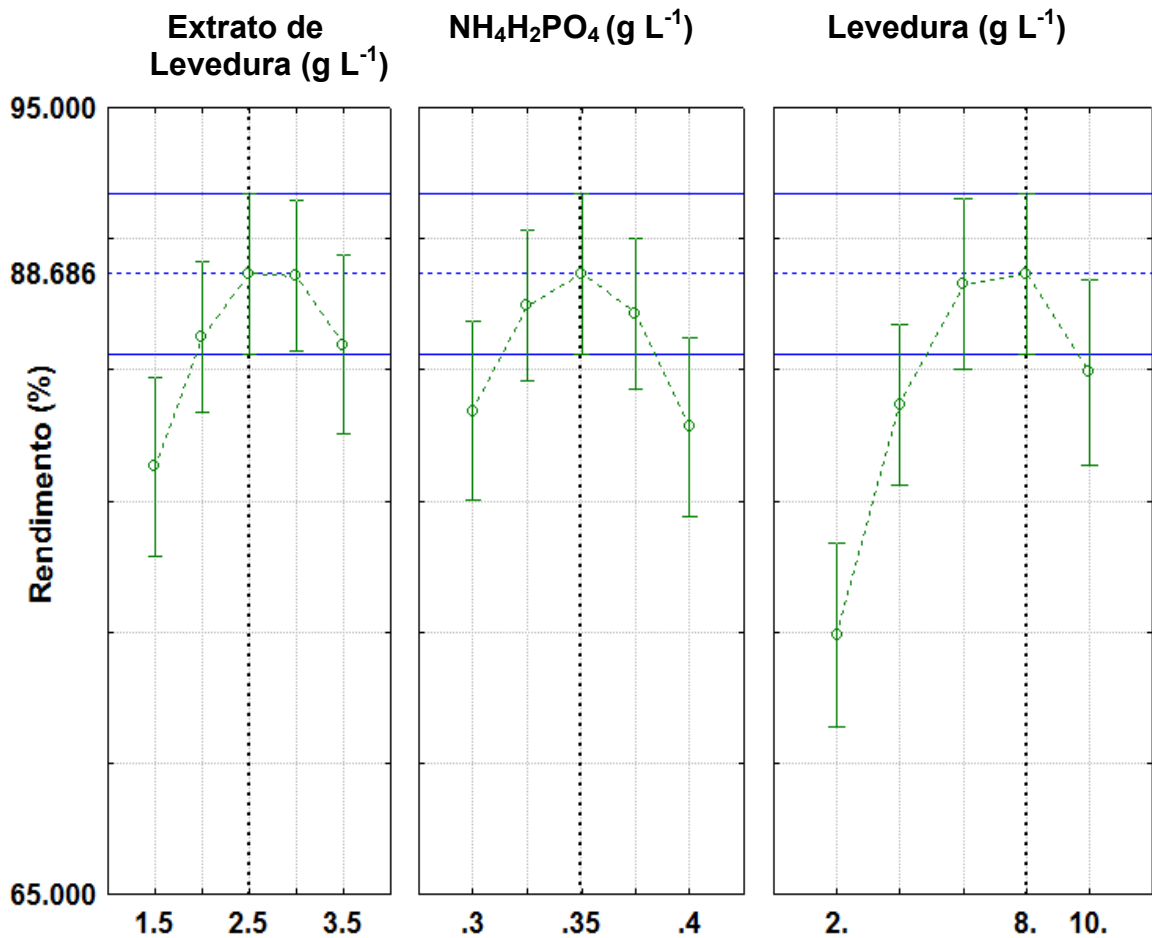
Figura 30 – Gráfico de Pareto mostrando as variáveis mais significativas na fermentação



Fonte: o próprio autor

A Figura 31 apresenta a otimização das variáveis, o qual mostra que um rendimento de 88,68% pode ser obtido quando se utiliza 8,0 g L⁻¹ de levedura, 2,5 g L⁻¹ de extrato de levedura e 0,35 g L⁻¹ de NH₄H₂PO₄.

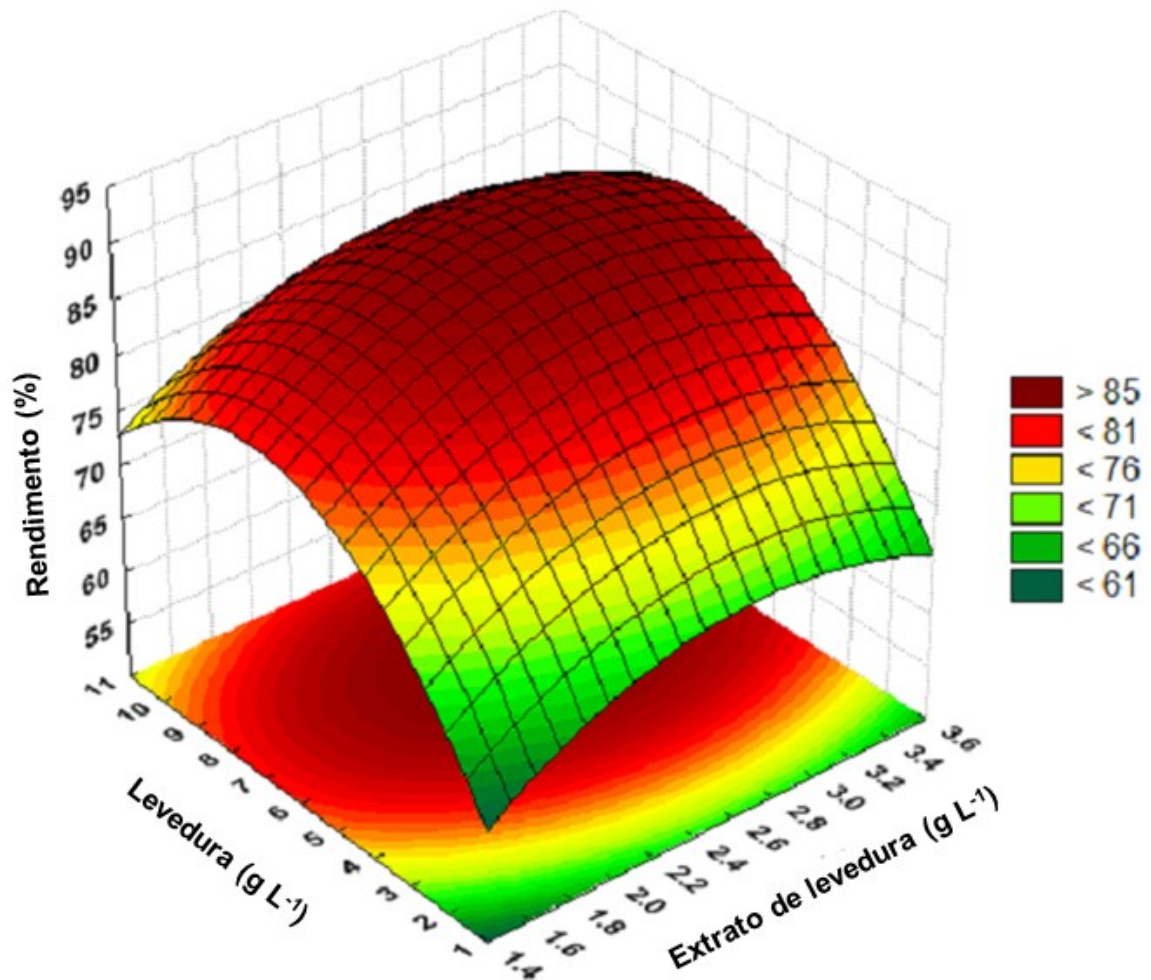
Figura 31 – Otimização das variáveis dependentes e independentes do extrato aquoso da manga Palmer



Fonte: o próprio autor

A Figura 32 mostra as curvas de nível, da superfície de resposta, da combinação binária entre as variáveis originais, concentração de levedura (g L⁻¹) e extrato de levedura (g L⁻¹). Com a figura é possível ver as regiões de contorno da superfície de resposta para a variável dependente, rendimento da produção de álcool, obtidas pelo modelo matemático, fixando-se a variável linear menos importante x_2 (NH₄H₂PO₄) em 0,35 g L⁻¹ de acordo com o diagrama de Pareto (Figura 30). Observa-se que a região ótima para o rendimento da produção de etanol, situa-se próximo ao ponto central do delineamento experimental, fornecendo como resposta ótima estimada, um rendimento de etanol superior a 85%.

Figura 32 – Curvas de nível, da Superfície de resposta, da combinação binária entre as variáveis originais, concentração de levedura (g L^{-1}) e extrato de levedura (g L^{-1}) e % do rendimento de álcool

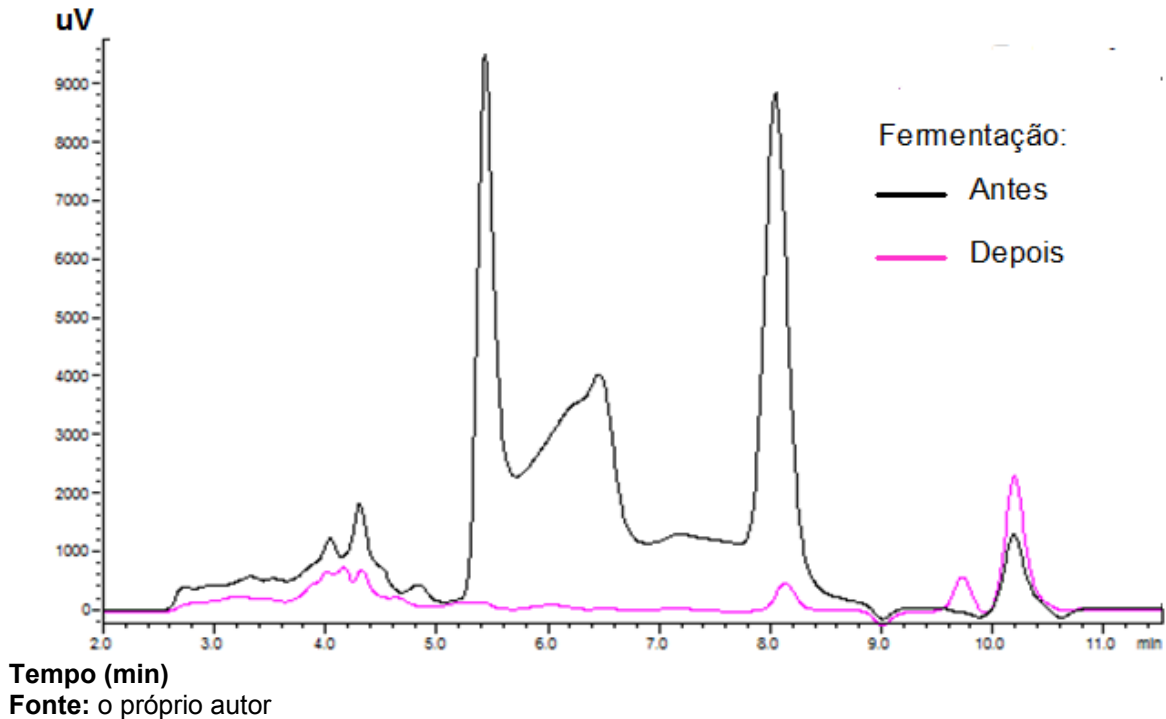


Fonte: o próprio autor

A validação da equação preditiva foi realizada por meio da fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer nas condições ótimas. O valor médio do rendimento em triplicata foi de 88,27 %. Através do teste t, para amostra simples, constatou-se que não houve diferença significativa em nível de 5%, entre este valor médio e aquele obtido na otimização que foi de 88,68%.

O resultado da análise cromatográfica do produto antes e depois da fermentação (Figura 33), nas condições ótimas estabelecidas, demonstra que embora a fermentação tenha acontecido de forma satisfatória, nem todos os açúcares foram consumidos em sua totalidade.

Figura 33 – Sobreposição dos cromatogramas do extrato aquoso da polpa da manga Palmer, antes e depois da fermentação em condições ótimas, em 10 horas



Através do quadro 2, é possível saber quantos e quais açúcares haviam antes e após a fermentação, além da quantidade de açúcares que foram consumidos durante a fermentação. Nota-se que o açúcar mais consumido foi a sacarose e que o total de açúcares consumidos foi $66,33 \text{ g L}^{-1}$. É possível perceber também que o manitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$), que é um poliálcool, após a fermentação aumentou significativamente. Uma justificativa para tal evento, é que as bactérias da fermentação malolática utilizam como substrato o açúcar residual da fermentação alcoólica e o ácido cítrico. Se houver uma quantidade de açúcar residual elevada após a fermentação, a degradação pelas bactérias pode provocar a fermentação malolítica e conseqüente haverá a formação de quantidades elevadas de manitol (EMBRAPA, 2006).

Quadro 2 – Quantidade de açúcares antes e depois da fermentação e os açúcares consumidos

Amostras	Nistose (g L ⁻¹)	Sacarose (g L ⁻¹)	Glicose (g L ⁻¹)	Frutose (g L ⁻¹)	Manitol (g L ⁻¹)	Outros (g L ⁻¹)	Total de compostos (g L ⁻¹)	Total de açúcares (g L ⁻¹)
Antes da fermentação	3,00	40,71	7,36	6,93	5,26	7,24	80,51	75,24
Depois da fermentação	1,44	0,53	0,49	3,30	24,40	3,16	33,32	8,92
Açúcar consumido	1,57	40,18	6,87	13,63	-19,14	4,08	47,19	66,33

Fonte: o próprio autor

As quatro frutas (manga Palmer, maracujá, manga Tommy e jmelão) que inicialmente apresentaram maiores concentrações de açúcares totais, também foram fermentadas utilizando as condições estabelecidas para o ponto central (Tabela 1). O maracujá e o jmelão, por apresentarem pH abaixo do ideal para fermentação, precisaram ser corrigidos com solução de hidróxido de sódio para pH 4,5. No quadro 3 é possível perceber que o teor de álcool após a fermentação em g L⁻¹ do maracujá, da manga Tommy e do jmelão, bem como da mistura das frutas (maracujá, manga Tommy, manga Palmer e jmelão) não foram expressivos se comparados ao teor de álcool em g L⁻¹ produzido apenas pela fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer.

Quadro 3 – Teor de álcool após a fermentação do extrato aquoso da polpa das frutas que inicialmente apresentaram maiores teores de açúcares e da mistura entre elas, juntamente com o extrato aquoso da polpa da manga Palmer

AMOSTRA	TEOR DE ÁLCOOL (g L ⁻¹)
Maracujá	10,19
Manga Tommy	20,39
Jamelão	13,33
Mistura (maracujá, jmelão, mangas Palmer e Tommy)	18,30
Manga Palmer	33,98

Fonte: o próprio autor

Por fim, para se obter um comparativo do teor de álcool em g L^{-1} e do rendimento em % da manga Palmer, foi feito também a fermentação com a cana-de-açúcar, que no Brasil é parâmetro na produção de álcool. Através do refratômetro, avaliou-se que o caldo da cana apresentou $19,8^\circ\text{brix}$. Considerando esse valor como a concentração de açúcar, o seu teor de álcool teórico após a fermentação seria de $101,26 \text{ g L}^{-1}$. Pelo método de Zimmerman (1970), analisou-se o caldo fermentado por dez horas em triplicata e sua média ficou em $28,62 \text{ g L}^{-1}$, logo o rendimento foi de $28,26\%$. Também foi feito a diluição na proporção de 1 parte de caldo e 1 parte de água, sendo o teor de sólidos solúveis de $9,9^\circ\text{brix}$, produzindo o valor teórico de do teor de álcool de $50,63 \text{ g L}^{-1}$. No experimento com o caldo diluído, o valor obtido após a fermentação do teor de álcool foi em média de $35,68 \text{ g L}^{-1}$, com rendimento em torno de $70,74\%$. De acordo com Carvalho e colaboradores (2008) com o caldo da cana, medindo 15°brix , obteve-se um rendimento de $80,4\%$, valor próximo ao obtido experimentalmente, ou seja $70,74\%$. Porém, é necessário levar em consideração que o tempo de fermentação no experimento realizado por eles foi de 96h , sendo superior ao tempo utilizado no presente trabalho, que foi de 10h .

6 CONCLUSÕES

Das frutas analisadas (maracujá, jmelão, mangas Palmer e Tommy, caju, goiaba, cupuaçu e acerola), a manga Palmer demonstrou ser uma grande alternativa na produção de álcool, já que a mesma possui características favoráveis como alto teor de açúcares, pH adequado e pouca ou quase nenhuma fibra.

A fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer indica que ela pode ser usada como fonte alternativa na produção de álcool, se utilizarmos 2,5 g L⁻¹ de extrato de levedura, 0,35 g L⁻¹ de NH₄H₂PO₄ e 8,0 g L⁻¹ de levedura, a uma temperatura constante de 30 °C por 10 horas em estufa.

O teor e rendimento de álcool obtidos da fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Tommy, do maracujá e jmelão não foram expressivos, bem como a mistura realizada com as quatro frutas com maiores teores de açúcares, se comparados aos resultados obtidos apenas com a fermentação do extrato aquoso da polpa da manga Palmer.

O caldo diluído da cana-de-açúcar, que é parâmetro no país na produção de álcool, foi fermentado nas mesmas condições que o extrato aquoso da manga Palmer e apresentou como resultado um teor de álcool de 35,68 g L⁻¹ e rendimento em torno de 70,74%, já com a manga Palmer foi possível obter um teor de álcool de 33,98 g L⁻¹ e rendimento de 88,27%, demonstrando resultados semelhantes quanto ao teor de álcool e um melhor rendimento do extrato aquoso da polpa da manga Palmer.

Por fim, a modelagem matemática, utilizando a metodologia de Superfície de Resposta, demonstrou ser eficiente e prática como estratégia de otimização, podendo ser considerada de grande valia nos processos de fermentação alcoólica.

7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalho não se esgota por aqui, muito pelo contrário, ele abre um leque de possibilidades de pesquisas, já que existem outras biomassas com potencial para a produção de etanol. Embora o extrato aquoso da manga Palmer tenha apresentado nos experimentos, as melhores condições para a realização da fermentação, com a qual apresentou maior rendimento de álcool, as frutas maracujá e jamelão demonstraram potencial para a produção de álcool, embora o pH de ambas necessite de correção.

Outra sugestão é utilizar o extrato aquoso da polpa de algumas frutas com alto teor de açúcar, com pH entre 4,5 e 5,5, que são desperdiçadas no país, que é em torno de 31%, como valor agregado. Utilizando-as, é possível suprimir várias etapas na produção de matéria prima na produção de álcool, inclusive a redução de tempo, fertilizantes, insumos, gastos com o plantio, mão de obra, água na irrigação, entre outros custos de produção, uma vez que a fruta já encontra-se disponível para a fabricação do álcool.

REFERÊNCIAS

- ABE, M. C.; MARÇAL, L. **Petróleo em queda**: quais as causas e efeitos e por que a gasolina não cai. UOL, São Paulo, 15/01/2016. Disponível em: <http://economia.uol.com.br/noticias/redacao/2016/01/15/petroleo-em-queda-quais-as-causas-e-efeitos-e-por-que-a-gasolina-nao-cai.htm>. Acesso em 14 fev. 2016.
- ACCARINI, J.H.; MAZOCATO, M.A.; COSTA, O.G.P. da; LUENGO, R. de F.A. Pontos de estrangulamento: os obstáculos internos e externos representam vicissitudes a serem vencidas pela olericultura brasileira. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v.20, n.2, p.32-36, fev. 2000.
- ACOMPANHAMENTO da safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2013. **Companhia Nacional de Abastecimento. CONAB** - Brasília: 2º levantamento, 2013.
- ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação do açúcar**. Editora Universitária UFPE – Recife/PE, 2011. 273 p.
- ALCARDE, A.R. Fermentação. **AGEITEC (Agência Embrapa de Informação Tecnológica)**. Campinas, SP– Brasil. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_105_22122006154841.html. Acesso em: 15 nov. 2016.
- AMATO, F.; MATOSO, F. **Mistura de etanol na gasolina sobe para 27% a partir de 16 de março, 2015**. G1, em Brasília, 04 de março de 2015. Disponível em: <http://g1.globo.com/economia/noticia/2015/03/mistura-de-etanol-na-gasolina-sobe-para-27-partir-de-16-de-marco.html>. Acesso em: 07 mar. 2016.
- ANFAVEA - Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores - Brasil. **Anuário Estatístico da Indústria Automobilística**. São Paulo, 2016.
- BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As Frutas na Medicina Natural**. 1ª ed. versão atual e condensada. Itaquaquecetuba, SP. Editora Missionária, 1992, 312p.
- BARROS, L.M. et al. **Árvore do Conhecimento caju**. Características da planta. Morfologia. **AGEITEC (Agência Embrapa de Informação Tecnológica)**. Fortaleza - CE. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/caju/arvore/CONT00fi8wxjm202wyiv80z4s473zfkkt9.html>. Acesso em: 02 jul. 2016.
- BASTOS, V. D. **Etanol, Alcooquímica e Biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, mar. 2007.
- BERNARDES SILVA, A.P. F.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** [online]. 2003, vol.23, p.116-120.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta.** Instrução normativa nº 01, 7 de jan. 2000.

BRUICE, P. **Química Orgânica.** 4º. ed. São Paulo: Person, v. 2, 2006.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica.** LTDA, E.-P. S. E. Rio de Janeiro, 2003. 260 p.

CARVALHO, R.A. **Análise econômica da produção de acerola no município de Tomé-Açú, Pará.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 21 p.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cinética da fermentação e balanço de massa da produção de cachaça artesanal. *Braz. J. Food Technol.*, VII BMCFB, dez. 2008. 8 p.

CONTROLE de qualidade: especificações do etanol. **NOVACANA.** Disponível em: <https://www.novacana.com/etanol/controle-qualidade/>. Acesso em: 17 out. 2016.

CORTEZ, L. A. B. **Instrumento de apoio à P&D em etanol.** In: CORTEZ, L. A. B. *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade.* São Paulo: Blucher, 2010.

COSTA, J.C.;SANTOS, C.A.F. Cultivo da Mangueira. **Embrapa Semi-Árido.** Sistemas de Produção, 2 ISSN 1807-0027 Versão Eletrônica, jul., 2004.

CRUZ, M. R. M.; BORZANI, W. Fermentação alcoólica de melaço e de caldo de cana de açúcar por *Zymomonas*: Ensaios preliminares. **Rev. Brasil Technology.** Brasil: p. 51 – 57 , 1980.

CURIOSIDADES sobre o etanol. **NOVACANA.** Curitiba, 2016. Disponível em: <https://www.novacana.com/etanol/curiosidades/>. Acesso em: 21 dez. 2016.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. **Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances.** *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

FIGUEIRÊDO, R.M.F., GRANDIN, A., MARTUCCI, E.T. Armazenamento do suco de acerola microencapsulado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais,** Campina Grande, v.3, n.1, p.1-6, 2001.

FIGUEIREDO, T. M. P. **Validação de métodos analíticos** - Determinação do teor de açúcar numa amostra de produto alimentar. 2012. 116 f. Tese (Mestrado em Química) Universidade de Coimbra. Coimbra/ Portugal, 2012.

FLORES, A.C.S.; SILVA, D.G.; SANTOS, L. A; SOARES, J. A. . **As conseqüências causadas pela monocultura da cana-de-açúcar e do café na região norte do Paraná.** In: X CONGRESSO DE EDUCAÇÃO DO NORTE PIONEIRO Jacarezinho. 2010. Anais. UENP – Universidade Estadual do Norte do Paraná – Centro de Ciências Humanas e da Educação e Centro de Letras Comunicação e Artes. Jacarezinho, 2010, p. 225-238.

FONSECA, N.; CUNHA G. A. P.; NASCIMENTO, A. S.; FILHO, H. P. S. A cultura da manga. – **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília/DF 2. ed. revisada e ampliada – Coleção Plantar, 53, 2006. 63 p.

FRANCISCO,W.E."Etanol"; **Brasil Escola.** Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/geografia/etanol.htm>>. Acesso em: 01 mar. 2016.

FREIRE JÚNIOR, M.; SOARES, A. G. Orientações quanto ao Manuseio pré e pós-colheita de frutas e hortaliças visando a redução de suas perdas. Comunicado técnico, 205. **EMBRAPA**, Rio de Janeiro: set., 2014.

GRÃOS & SOJA. Corretora de Mercadorias Ltda. **Produção mundial de etanol.** Disponível em: http://www.graosesoja.com.br/graficos_milho_08.php. Acesso em: 04 mar. 2016.

HOMME, C. L. et al. Kinetics of Hydrolysis of Fructooligosaccharides in Mineral-Buffered Aqueous Solutions: Influence of pH and Temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 224-228, Jan., 2003.

JADHAV, V. M.; KAMBLE, S. S.; KADAM, V. J. Herbal medicine : Syzygium cumini :A Review. **Journal of Pharmacy Research**, Mumbai, v. 2, n. 8, p. 1212-1219, Aug, 2009.

JOGLEKAR, A.M.;MAY, A. T. **Product excellence through design of experiments.** Cereals Foods World, London, v. 32, n.12, p.854-868, 1987.

JONES, R. P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P. F. Alcohol Fermentation By Yeasts-The Effect of Environmental And Other Variables. **Process Biochemistry**, v. 16, n. 3, p. 42-49, 1981.

KOHLHEPP, G. Analise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos Avançados**, São Paulo, v.24, n.68, 2010.

LEITE, R.C.C; LEAL, M.R.L.V. O biocombustível no Brasil. **Novos Estudos - CEBRAP**, São Paulo, v.78, p. 15-21, jul., 2007.

LIMA, A. A. Maracujá produção: introdução. In: LIMA, A. de A. (Ed.). Maracujá produção: aspectos técnicos. Brasília: **Embrapa**. Informação Tecnológica,. p.104, 2002.

LIMA, U.A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.(Ed.) **Biotecnologia Industrial: alimentos e bebidas produzidos por fermentação.** São Paulo/SP: Edgard Blücher, v.4. p.145-182, 2001.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Tecnologia das Fermentações**. São Paulo, Edgard Blucher, p. 285, 1975.

LORA, E. S; TEIXEIRA, F. N. Energia e meio ambiente. In: MARQUES, M.; HADDAD, J.; MARTINS, A. R. S. (Coord.). **Conservação de energia: eficiência energética de instalações e equipamentos**. Itajubá, MG: FUPA, 2001. p. 30-89.

MAIORES produtores: Brasil e EUA. **NOVACANA**. Disponível em: <https://www.novacana.com/etanol/sobre-etanol/>. Acesso: 05 out. 2016.

MANICA, I.; ICUMA, I.M.; MALAVOLTA, E.; RAMOS, V.H.V.; OLIVEIRA Jr., M. E. de; CUNHA, M.M. da; JUNQUEIRA, N.T.V. **Manga: tecnologia, produção, agroindústria e exportação**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. 617p.

MENEGUZZO, J. RIZZON, L. A.: Sistema de Produção de Destilado de Vinho. **Embrapa Uva e Vinho**. Sistemas de Produção, 16. 2ª ed. Versão Eletrônica. nov. 2008.

MORAES, M.A.F.D. **As profundas mudanças institucionais ao longo da história agroindústria canvieira e os desafios atuais**. Economia Aplicada, São Paulo, v.11, p.555-557, 2007.

MOREIRA L. C. O. **Comparação entre os poluentes atmosféricos emitidos por uma caldeira flamotubular movida a gás natural e a óleo combustível BPF 2A**. , vol.13, n.1, Campo Grande, Interações, jan./jun. 2012, p.49-57.

MYERS, R.H; MONTGOMERY, D.C. **Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**. 2nd ed . New York: John Wiley Professional, 1995.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1328 p.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A. et al. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p.463-470, abr. 2002.

NOVAES, F. V. et al. Curso de extensão em aguardente de cana. Piracicaba: **ESALQ/Departamento de Tecnologia Rural**, 1974.

OLIVEIRA, P. S. M.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. V. N. Utilização do D-manitol em síntese orgânica. **Quím. Nova.**, vol.32, n.2, p.441-452, 2009.

PASSOS, M. L.; PARK, K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2003.

POLL, H... et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2013**. [et al.]. – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2013. 136 p.

PROCESSOS de fabricação do etanol. **NOVACANA**. Disponível em: <https://www.novacana.com/etanol/fabricacao/> Acesso em: 03 mar. 2016.

REETZ, E.R... [et al.]. **Anuário brasileiro da Fruticultura, 2014** - Santa Cruz do Sul, Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 104 p.

RIBEIRO, S. K., COSTA, C. V., David, E.G., Real, M. V., D'Agosto, M. A. **Transporte mudanças climáticas**. Rio de Janeiro, MAUAD Editora Ltda, 2000.

ROMEIRO, A.R. **Agricultura sustentável, tecnologia e desenvolvimento**. 1996. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0,5&q=PROBLEMAS+AMBIENTAIS+COM+A+MONOCULTURA. Acesso: 10 out. 2016.

SÁ, F. T.; PAIVA, F. F. A. , MARINHO, F. A. Plantando caju - EMBRAPA - Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE) Fortaleza, 2000. 33 p.

SANDHU, D. K.; JOSHI, V. K. **Technology, quality and scope of fruit wines especialiy Apple beverages**. Indian Food Industry, New Delhi, v.14, n.1, p.24-34, 1995.

SANTOS, F.A.; QUEIRÓZ, J.H.; COLODETTE, J.L.; FERNANDES,S.A.; GUIMARÃES,V.M; REZENDE,S.T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quím. Nova**, vol.35, nº 5, São Paulo, 2012.

SANTOS, G.M. **Contribuição da Vitamina C, carotenóides e compostos Fenólicos no Potencial Antioxidante de produtos Comerciais de Açaí e Cupuaçu**. 2007. 108f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Curso de pós-graduação em tecnologia de alimentos. Fortaleza - 2007.

SANTOS, S.F.M. et al. Aplicação da Metodologia de Superfície de Resposta no estudo da produção de pectinase por fermentação em estado sólido do pedúnculo de caju. **Revista Brasileira de Produção de Produtos Agroindustriais**, Natal, v. 10, p.101-109, 2008.

SEREJO, J. A. S.; DANTAS, J.L.L.; SAMPAIO, C.V.; COELHO, Y.S. (Eds.). **Fruticultura tropical: espécies regionais e tropicais**. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2009, p. 171-184.

SILVA, L. M. R. et al. Estudo do comportamento reológico de polpas de caju (*Anacardium occidentale*, L.), acerola (*Malpighia emarginata*, D.C.) e manga (*Mangifera indica*, L.). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 237-248, jan-mar 2012.

SILVA, R. N. et al. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341, dez. 2003.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 .ed. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.1055 p.

SOUZA, F.M.P. **O uso de biocombustíveis no Brasil e seu potencial de reduzir a emissão de gases de efeito estufa**. 2011.67f. TCC(Trabalho de Conclusão de Curso)- Tecnologia de Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Araçatuba/SP, 2011.

SOUZA, R .G. Crise do Petróleo. **Brasil Escola**. Disponível em: <<http://brasilecola.uol.com.br/historiag/petroleo1.htm>>. Acesso em: 05 fev. 2016.

STATISTICA. **Statistica for Windows Software**. v.9.0, Tulsa, OK, USA, 2009.

STAUFFER, C., Aumento na gasolina deve gerar maior demanda por etanol, diz Única, 2015. **REUTERS Brasil**. 20 jan. 2015. Disponível em: <http://br.reuters.com/article/businessNews/idBRKBN0KT1LK20150120>. Acesso em: 10 jul. 2015.

TÁVORA, F. L. História e economia dos biocombustíveis no Brasil.Textos para discussão, 89, Senado Federal, Brasília/DF: **Centro de Estudos de Consultoria do Senado Federal**, abr. 2011, 78p.

VIEIRA, S. M. J.; COUTO, S. M.; CORRÊA, P. C.; SANTOS, A. E. O. CECOM, P. R., SILVA, D.J. P. Características físicas de goiabas (*Psidium guajava* L.) submetidas a tratamento hidrotérmico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, UAEAg/UFCG , v.12, n.4, p.408–414, jan. 2008.

VIZZOTTO, M. Jambolão: o poderoso antioxidante. **Embrapa Clima Temperado (CPACT)**.Cultivar Máquinas, Pelotas, maio, 2009. p.1-2.

ZIMMERMANN, H. W. **Studies on the dichromate method of alcohol determination**. In: **Methods in Food Analysis**. New York: Academic Press 1970.