

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DE BANANA PRÉ-TRATADOS COM H_3PO_4 EM UM BIOPROCESSO FERMENTATIVO CATALISADO PELA *PACHYLOSEN TANNOPHILUS*

Evaluation of the potencial use of banana residues pre-treated with H_3PO_4 in a fermentation bioprocess catalysed by *Pachylosen tannophilus*

Ronaldo Naponence Martins Filho¹; Inti Doraci Cavalcanti Montano²;
Carlos Alberto Galeano Suarez³

¹Graduando em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, rfnaponence@gmail.com

²Professora Doutora em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, inti@ufg.br

³Professor Doutor em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, carlogalen21@ufg.br

Data da submissão: 21/10/2023 - Data do aceite: 11/12/2023

RESUMO: A procura por novas fontes de energia limpa está cada vez mais em pauta nas discussões globais relativas ao desenvolvimento sustentável. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo aproveitar cascas de banana prata (*Musa sapientum*) para produção de açúcares redutores por meio do pré-tratamento com ácido fosfórico (H_3PO_4). Os licores obtidos foram fermentados pela levedura *Pachylosen tannophilus* a fim de avaliar o crescimento celular da levedura, e mostrar o potencial de utilização desses resíduos visando à produção de etanol de segunda geração. Os resultados após o pré-tratamento mostraram que foi possível obter concentrações de açúcares redutores acima de 68 g/L. Uma análise estatística dos dados evidenciou a relação líquido/sólido como a variável de maior significância na etapa de pré-tratamento, com os dados experimentais se ajustando bem ao modelo utilizado, apresentando um coeficiente de correlação (R^2) de 90,5%. A fermentação dos licores gerados na etapa de pré-tratamento revelou uma boa adaptabilidade da

levedura utilizada, havendo o consumo de até 91% dos açúcares disponíveis em 54h de fermentação.

Palavras-chave: Etanol celulósico. Resíduos agroindustriais. Energias renováveis.

ABSTRACT: The search for new sources of clean energy has been increasing in global discussions agendas regarding sustainable development. In this context, the present work aimed to use Lady Finger banana (*Musa sapientum*) peels to produce reducing sugars through pre-treatment with phosphoric acid (H₃PO₄). The liquors obtained were fermented by the yeast *Pachylosetanophilus* in order to evaluate the cellular growth of the yeast, and show the potential use of these residues for the production of second-generation ethanol. The results after pre-treatment showed that it was possible to obtain reducing sugar concentrations above 68 g/L with this type of pre-treatment. A statistical analysis of the data highlighted the liquid/solid ratio as the most significant variable in the pre-treatment stage, with the experimental data fitting well the model used, presenting a correlation coefficient (R²) of 90.35%. The fermentation of the liquors generated in the pre-treatment stage, revealed a good adaptability of the yeast used, with the consumption of up to 91% of the available sugars in 54 hours of fermentation.

Keywords: Cellulosic ethanol. Agro-industrial residues. Renewable energy.

Introdução

A crescente preocupação com a descarbonização da matriz energética mundial suscita cada vez mais esforços do poder público e privado na busca de energias limpas. Nesse contexto, o etanol 2G surge como uma alternativa sustentável e promissora, apresentando-se como um combustível de baixa emissão de poluentes e com um ciclo de vida que praticamente anula sua pegada de carbono, visto que o CO₂ emitido em sua queima, é absorvido durante o cultivo da biomassa necessária para a produção do biocombustível (Ades, 2021; Macedo; Seabra; Silva, 2008).

Aliada a esses fatores, sua produção contribui para a minimização dos resíduos gerados na produção agroindustrial, garantido um

fim mais nobre aos rejeitos lignocelulósicos advindos desse ramo industrial (Carrillo-Nieves *et al.*, 2019)

Na atualidade, apesar de muito se pensar e investir no hidrogênio como fonte de energia do futuro, o etanol ainda se sobressai em diversos aspectos, tais como: segurança, facilidade de transporte e de obtenção. Sobretudo num país de dimensões continentais como o Brasil, a preexistência de uma rede de distribuição de etanol, materializada na infinidade de postos de combustível espalhados pelo território, o converte em uma alternativa mais viável e de maior aplicabilidade (Peres; Freitas Júnior; Gazzoni, 2005).

Fundamentados nessas premissas, grupos importantes do mercado automobilístico internacional – como a Volkswagen, a Nissan e a Toyota – preparam investimentos, no

mercado brasileiro, para o desenvolvimento de veículos equipados com tecnologia de células a combustível movidas a etanol em detrimento das convencionais que iniciam o processo de geração de energia diretamente do hidrogênio (Castro, 2023).

Por esse e outros motivos, torna-se interessante pensar no etanol celulósico como uma via para o aumento da disponibilidade desse biocombustível, bem como contribuir para a segurança alimentar das gerações futuras, uma vez que a principal rota de obtenção do álcool etílico, atualmente, compete com a produção de açúcar no Brasil e de milho e beterraba nos EUA e Europa, respectivamente (Manochio *et al.*, 2017) corn and sugar beet in terms of energy indicators, carbon emissions and economic aspects. A description of the bioethanol production process for each feedstock is first presented, providing the basis for the comparative assessment. In general, best indicator values are achieved with sugarcane as feedstock, which allows the lowest requirements of fossil inputs for ethanol production. The cogeneration system of sugarcane biorefineries can provide the energy self-sufficiency to them through the burning of the main coproduct (bagasse).

Nesse sentido, diversos resíduos lignocelulósicos vêm sendo estudados quanto ao seu uso em potencial para a produção do etanol de segunda geração, como o bagaço de cana, a palha, o sabugo de milho e o farelo de trigo (Rocha; Almeida; Cruz, 2017; Arumugam *et al.*, 2020; Farkas *et al.*, 2019; Pratto *et al.*, 2020).

A banana, por sua vez, ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas no Brasil, sendo que 40% de seu peso corresponde a sua casca, que é rejeitada. Apesar de apenas 3% de sua produção ser industrializada, a disponibilidade desse resíduo não é limitada, tendo em vista que mais de 50% do quantitativo cultivado é perdido por estar

fora dos padrões de consumo do mercado (Ferreira, 2017). Portanto, abre-se um leque interessante quanto à exploração, não só da casca, como da polpa da banana, para o almejado fim.

Não obstante, é importante ressaltar que a tecnologia 2G ainda é embrionária e carece de desenvolvimento para ser expandida em escala industrial, sobretudo nas etapas de pré-tratamento e hidrólise (Raj *et al.*, 2022). Na literatura, encontram-se diversos trabalhos que abordam formas variadas de pré-tratamento visando à fragilização da matriz lignocelulósica e à disponibilização dos açúcares da biomassa. Mas poucos são os que exploram a fase líquida oriunda dessa etapa, seja pela toxicidade final do licor aos microrganismos fermentadores ou mesmo pela baixa quantidade de açúcares nessa fase, ao final do processo.

O pré-tratamento ácido, no entanto, é conhecido por atingir uma elevada eficiência na solubilização da hemicelulose (80-100%), um dos principais componentes da matriz lignocelulósica. A utilização dos ácidos sulfúrico e clorídrico é comum nesse tipo de pré-tratamento apesar da utilização dos mesmos normalmente vir acompanhada da formação de inibidores que afetam o desenvolvimento das células na etapa de fermentação. Nesse sentido a utilização de ácidos mais fracos, como o fosfórico, pode ser vantajosa, com a força ácida sendo suficiente para solubilizar os açúcares complexos em açúcares redutores (AR's) presentes na biomassa, mas não tão grande para catalisar a formação de inibidores (Wolf, 2011).

Arelado a isso, o emprego de leveduras capazes de metabolizar uma gama mais abrangente de carboidratos simples para produzir etanol, como a *Pachylosen tannophilus*, poderia viabilizar a utilização da fase líquida oriunda de um pré-tratamento ácido, uma vez que a hemicelulose é um polímero formado

por hexoses e pentoses, sendo essas últimas recalcitrantes aos biocatalisadores, normalmente empregados para a produção de etanol como a *Saccharomyces cerevisiae* (Avanthi *et al.*, 2017).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho consistiu em avaliar o potencial de utilização de cascas de banana prata (*Musa sapientum*) pré-tratadas com H_3PO_4 , em um bioprocesso fermentativo, utilizando a levedura *Pachyloson tannophilus* como biocatalisador.

METODOLOGIA

CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA E PRÉ-TRATAMENTO FÍSICO

Cascas de banana-prata (*Musa sapientum*) foram adquiridas no comércio local, na cidade de Goiânia (GO), em estágio de maturação completo a avançado (amarelas e algumas marrons). As cascas apresentaram uma umidade de 85,57% (Base Úmida B.U.). Inicialmente elas foram trituradas em um liquidificador – da marca Philips Walita, modelo RI776 – e secas em uma estufa – da marca Fanem, modelo C7106 – com temperatura controlada de 66 °C, alcançando, após três dias de secagem, a umidade final de 12,72% (B.U.).

PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO COM H_3PO_4

Depois de secas, as cascas foram pré-tratadas com diferentes concentrações de ácido fosfórico (H_3PO_4) 85% (v/v). Adicionalmente, diferentes relações líquido/sólido também foram avaliadas. No caso da relação líquido/sólido, foi mantida fixa a quantidade inicial de líquido de 90 mL em todos os experimentos, com a quantidade de sólido (cascas) variando de um experimento a outro.

As diferentes condições testadas podem ser observadas na Tabela I.

As cascas moídas e secas foram homogeneizadas com a solução ácida em garrafas de vidro e autoclavadas a 121°C por 30 minutos, em uma autoclave – da marca Stermax, modelo 30 AVA. Os licores gerados, após os pré-tratamentos, foram filtrados a vácuo utilizando um kitassato e bomba de vácuo – da marca Biomec, modelo ECO-740LAB. A parte líquida foi armazenada em garrafas com rosca permeável à passagem de gás e congelada.

A parte sólida foi armazenada e congelada em sacolas *ziplock*. A quantificação dos açúcares redutores presentes nos licores pré-tratados foi realizada pelo método colorimétrico DNS com a leitura das amostras realizada em um espectrofotômetro – da marca IONLAB, modelo IL-226-NM – no comprimento de onda de 540 nm, baseado na metodologia de Santos *et al.* (2017).

PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL DO PRÉ-TRATAMENTO DAS CASCAS DE BANANA

O planejamento fatorial foi realizado para avaliar a influência das variáveis relação líquido/sólido e concentração de ácido fosfórico na liberação de açúcares redutores no pré-tratamento ácido. Os testes foram planejados utilizando-se um planejamento fatorial do tipo composto central em dois níveis, com duas variáveis (2^2 experimentos), somado de uma réplica no ponto central, além de quatro experimentos nos pontos axiais (α), elevando-se o total para dez experimentos (Box; Hunter, 1957; Rodrigues; Iemma, 2005). As condições de pré-tratamento ácido para os fatores codificados e não codificados (relação de líquido/sólido e concentração de ácido fosfórico) são apresentadas na Tabela I.

Tabela I. Fatores codificados e não codificados para o pré-tratamento das cascas de banana

Experi- mento	Relação Líquido/Sólido(v/m)	Concentração Ácido Fosfórico (v/v)
1	(-1)5	(-1)1,00%
2	(-1)5	(+1)5,00%
3	(+1)15	(-1)1,00%
4	(+1)15	(+1)5,00%
5	(-α)2,94	(0)3,00%
6	(+α)17,07	(0)3,00%
7	(0)10	(-α)0,17%
8	(0)10	(+α)5,83%
9(C)	(0)10	(0)3,00%
10(C)	(0)10	(0)3,00%

FERMENTAÇÃO DOS LICORES PRÉ-TRATADOS

Para a etapa de fermentação, foi utilizada levedura *P. tannophilus* adquirida na coleção de culturas da Fundação André Tosello. Para o crescimento das colônias, foi utilizado meio sólido *Yeast Extarct Peptone Dextrose* (YPD), contendo extrato de levedura (10g/L), peptona (20g/L), ágar (20g/L) e glicose (30g/L), com o pH ajustado para 5,5, utilizando solução de NaOH 5M.

Após realizado o repique das células no meio sólido usando as placas de petri, elas foram incubadas em uma estufa – da marca SolidSteel, modelo SSB-21 L – a 30°C, por cerca de três dias, visando ao crescimento celular, sendo posteriormente armazenadas na geladeira. A cada trinta dias, o repique das placas foi realizado por um período de onze meses até o dia da fermentação dos licores.

Com o intuito de obter uma maior concentração de leveduras para fermentar os licores pré-tratados, o pré-inóculo da fermentação foi realizado a partir das cepas cultivadas nas placas de petri, inoculadas em um Erlen-

meyer contendo 100 mL de meio complexo YPD. Posteriormente, os Erlenmeyers contendo o pré-inóculo foram incubados em uma câmara incubadora com agitação orbital – da marca Alfa Mare, modelo AM 800 – a 200 rpm e 30°C por doze horas. Ao final desse período, o meio foi centrifugado em tubos falcon, numa centrífuga – da marca Kasvi, modelo K14-4000 – a 4000 rpm, por quinze minutos, onde o sobrenadante foi descartado, e a levedura concentrada seria utilizada para fermentação dos licores.

Seguidamente, realizou-se a lavagem das células, homogeneizando-as com uma pequena quantidade de água autoclavada em um vórtice – da marca Global Trade Technology, modelo XH-CU. A suspensão formada foi novamente centrifugada a 4000 rpm, por quinze minutos, e o sobrenadante descartado, sendo esse processo de lavagem e centrifugação realizado em triplicata. Por fim, a concentração de células foi quantificada por meio da Densidade Óptica (D.O.) em espectrofotômetro a 600 nm.

Por sua vez, aos licores de maior volume gerados na etapa de pré-tratamento (Experimentos 3,4,6,7,8,10) adicionou-se extrato de levedura e peptona, de modo que a concentração desses componentes na mistura atingisse 10 g/L e 20g/L, respectivamente. Posteriormente o pH dos meios preparados foi ajustado para 5,5 com solução de NaOH 5M.

Os licores gerados nos demais experimentos não foram avaliados na etapa de fermentação, já que eles apresentaram um volume muito baixo após a etapa de pré-tratamento, o que inviabilizou o processo de fermentação, pois seria necessário realizar uma diluição significativa, o que levaria a descaracterização do licor, uma vez que haveria uma diluição de potenciais inibidores gerados no pré-tratamento.

A partir das leveduras concentradas, inoculou-se uma quantidade de células necessária para que os meios preparados, a partir dos licores pré-tratados, iniciassem o processo fermentativo com uma D.O., aproximadamente, igual à unidade.

Por fim, as garrafas contendo o meio de cultivo inoculado com as células foram dispostas na câmara incubadora com agitação orbital e incubadas por cinquenta e quatro horas, a 80 rpm e 30°C. Durante o experimento amostras de 1 mL foram coletadas para verificar a D.O., a qual era medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 600 nm.

Posteriormente, as amostras eram centrifugadas em uma centrífuga – da marca Kasvi, modelo 1215 – por cinco minutos a 15000 rpm. O sobrenadante obtido foi utilizado para realizar a quantificação da concentração dos AR's pelo método DNS a 540 nm, baseado na metodologia de Santos *et al.* (2017). O intervalo de coleta das amostras foi de seis horas entre o primeiro e o segundo ponto, e de doze, para os demais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela II apresenta os valores de AR's presentes nos licores após a etapa de pré-tratamento.

A partir dos dados experimentais obtidos (Tabela II), verifica-se que em todos os experimentos foi possível obter uma liberação considerável de AR's, mesmo nos de condições mais diluídas ou de baixa concentração de ácido fosfórico. Isso pode ser justificado considerando o teor apreciável de alguns açúcares complexos presentes na casca de banana, tais como: pectina, entre 10-21%; amido, cerca de 3%; além da própria hemicelulose, comumente encontrada em biomassas lignocelulósicas, que oscila entre 6,4% a

9,4%. Tais carboidratos apresentam hidrólise facilitada em meio ácido, dando origem a uma gama variada de açúcares redutores incluindo glicose, xilose e ácido galacturônico (Ferreira, 2017).

Tais características apresentadas trazem uma posição de destaque para a casca de banana quanto ao potencial de utilização na produção de açúcares fermentescíveis e, conseqüentemente, de etanol celulósico. Isso porque, em grande parcela dos resíduos lignocelulósicos, tal quantidade de AR's só é obtida após a etapa de hidrólise. Etapa essa, de cinética bastante demorada que envolve a utilização de consórcios enzimáticos onerosos em vista do aproveitamento dos carboidratos simples contidos na fração sólida oriunda do pré-tratamento (Ogeda; Petri, 2010).

Com o intuito de realizar uma análise estatística, a quantidade em gramas dos açúcares redutores totais produzidos foi determinada. O objetivo foi avaliar os efeitos que os fatores (A) Relação Líquido/Sólidos e (B) Porcentagem de Ácido Fosfórico têm na obtenção de açúcares redutores totais. Na Tabela III são apresentados os valores, em gramas, dos açúcares redutores totais obtidos.

A partir dos resultados obtidos no planejamento experimental nas condições avaliadas para as duas variáveis estudadas (Relação Líquido/Sólido e Concentração de Ácido Fosfórico), é evidente que a maior resposta obtida foi no ensaio 4, realizado na condição de maior relação L/S (+1) e na condição de concentração de ácido fosfórico (+1).

Ao comparar esse experimento com a média dos pontos centrais, verifica-se um aumento de quase 60% no valor da resposta. Acredita-se, em primeira instância, que a variável relação líquido/sólido tem uma influência considerável na liberação de AR's durante o pré-tratamento ácido. De igual modo essa influência pode ser observada, mas desta vez com um comportamento contrário

na condição de baixa relação L/S ensaio 5, na qual os açúcares redutores produzidos foram reduzidos em 98 % quando comparados com o valor médio dos pontos centrais.

Devido à grande variabilidade inerente aos bioprocessos que envolvem material orgânico e micro-organismos, foram considerados significativos os parâmetros com p-valores menores que 10 % ($p < 0,10$), apresentados na Tabela IV

Ao observar os valores obtidos na Tabela IV, é possível identificar que aqueles fatores que resultaram ser não significativos na obtenção de açúcares redutores, a partir da casca de banana, são os termos linear e quadrático da porcentagem de ácido fosfórico utilizado e o termo quadrático da relação L/S. Adicionalmente, a Tabela V apresenta a Anova para a produção de açúcares redutores totais.

Tabela II. Concentração de Açúcares Redutores Totais e quantidade de licor obtido após o pré-tratamento ácido com H₃PO₄

Ensaio	Relação Liq/Sol (v/m)	Concentração Ácido fosfórico (v/v)	AR's (g/L)	Volume Final de Licor Produzido (mL)
1	(-1)5,0	(-1)1,00%	68,5	32
2	(-1)5,0	(+1)5,00%	69,3	17
3	(+1)15,0	(-1)1,00%	23,7	70
4	(+1)15,0	(+1)5,00%	47,2	71
5	(-α)2,9	(0)3,00%	70,6	15
6	(+α)17,1	(0)3,00%	23,0	68
7	(0)10,0	(-α)0,17%	30,8	61
8	(0)10,0	(+α)5,83%	37,6	65
9(C)	(0)10,0	(0)3,00%	37,3	55
10(C)	(0)10,0	(0)3,00%	36,8	60

Tabela III. Quantidade de Açúcares Redutores Totais produzidos após o pré-tratamento ácido com H₃PO₄

Ensaio	Relação Líquido/Sólido (v/v)	Ácido Fosfórico (%)	Quantidade de AR's Produzidos (g)
1	(-1)5,0	(-1)1,00%	2,19
2	(-1)5,0	(+1)5,00%	1,18
3	(+1)15,0	(-1)1,00%	1,66
4	(+1)15,0	(+1)5,00%	3,35
5	(-α)2,9	(0)3,00%	1,06
6	(+α)17,1	(0)3,00%	1,56
7	(0)10,0	(-α)0,17%	1,88
8	(0)10,0	(+α)5,83%	2,44
9(C)	(0)10,0	(0)3,00%	1,99
10(C)	(0)10,0	(0)3,00%	2,21

Tabela IV. Coeficientes de regressão para a obtenção de açúcares redutores a partir da casca de banana. ($R^2=0,9016$; $\alpha = 0,1$)

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t(4)	p-valor
Média	2,100	0,222	9,464	0,0007
(A) L	0,589	0,222	2,644	0,0573
(A) Q	-0,610	0,293	-2,078	0,1063
(B) L	0,368	0,222	1,658	0,1726
(B) Q	0,240	0,293	0,816	0,4601
(A) L (B)L	1,350	0,314	4,302	0,0126

(A): Relação Líquido/Sólido; (B): Porcentagem de Ácido; L: Linear; Q: Quadrático.

A partir da Tabela V, observa-se que os maiores valores de F são para interação (A) (B) e a forma linear de (A). Esses valores indicam que esses termos são significativos na produção de açúcares redutores totais. Observa-se que o modelo ajustado reparametrizado, para as variáveis codificadas, que representa os açúcares redutores produzidos no pré-tratamento com ácido fosfórico, em função da relação Líquido/Sólido e a porcentagem de ácido fosfórico na faixa estudada, é caracterizado pela equação 1:

$$AR=2,100+0,589*(A)+1,350*(A)*(B) \quad (1)$$

Após realizado o pré-tratamento das cascas de banana, alguns dos licores obtidos

(experimentos: 3, 4, 6, 7, 8 e 10) foram fermentados com a finalidade de avaliar a adaptabilidade da levedura *P. tannophilus* ao meio oriundo do pré-tratamento. A Figura 1 ilustra o crescimento celular para cada experimento de fermentação realizado.

A partir do perfil de crescimento celular é possível observar que existe uma diferença considerável entre os experimentos que utilizaram a menor e maior concentração de ácido fosfórico para obtenção de licor, cultivos 7 e 8, respectivamente.

Na Figura 1 fica evidente que o licor derivado do pré-tratamento com menor teor de ácido (Exp. 7) apresentou um perfil de crescimento mais elevado quando comparado com o licor que tinha uma maior concentração

Tabela V. Anova para a obtenção de açúcares redutores a partir da casca de banana após o pré-tratamento ácido

Fatores	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	F	p
(A) L	0,6886	0,6886	6,9954	0,0573
(A) Q	0,4253	0,4253	4,3200	0,1062
(B) L	0,2708	0,2708	2,7513	0,1725
(B) Q	0,0658	0,0658	0,6687	0,4594
(A) L (B)L	1,8225	1,8225	18,5141	0,0126
Erro	0,3939			
Total	3,9530			

de ácido (Exp. 8). Contudo, o experimento 4, no qual a concentração de ácido foi de 5,0%, um valor cerca de 86% do valor da máxima concentração de ácido 5,83% (exp. 8), o perfil de crescimento durante a maior parte da fermentação foi quase idêntico ao do experimento 10 que apresentou a maior D.O. ao final das experimentações. Percebe-se, portanto, que apesar do notável efeito retardatário promovido pelo meio ácido, a levedura apresentou tolerância considerável à utilização do ácido fosfórico como meio de pré-tratamento.

Ressalta-se, ainda, que os fatos constatados não sugerem que o tratamento com H₃PO₄ tenha sido prejudicial no desenvolvimento da levedura em si, já que a utilização desse ácido pode inclusive ser benéfica pela liberação dos íons fosfato no meio que contribuem para formação de ATP, ácidos nucleicos e na constituição da membrana plasmática das células (Nelson; Fox, 2014).

Nesse sentido, é possível que o efeito retardatário observado seja função da própria

natureza dos pré-tratamentos ácidos que favorece a formação de compostos tóxicos às células, como o furfural e o hidroximetil-furfural, a partir da degradação dos açúcares presentes no meio de cultivo, independentemente do tipo de ácido utilizado (Cola, 2018). Além disso, o excesso de íons sódio adicionados ao meio durante a correção de pH com solução de hidróxido de sódio, também podem ter contribuído negativamente no crescimento celular, devido a que tal excesso prejudica a homeostase osmótica das células (Alberts *et al.*, 2017).

A Figura 2, por sua vez, ilustra os perfis de consumo dos açúcares redutores obtidos a partir das cascas de banana. Aqui, observa-se que, de maneira análoga ao perfil de crescimento celular, o experimento 8, advindo da condição de pré-tratamento mais ácida, mostrou um consumo mais lento dos açúcares. Ainda assim, mesmo com um metabolismo limitado, a levedura conseguiu consumir cerca do 76% dos açúcares redutores presentes no meio. Contrariamente, o experimento 7

Figura 1. Perfil temporal da evolução do crescimento da levedura *P. tannophilus* nos diferentes meios de fermentação usando o licor obtido no pré-tratamento ácido

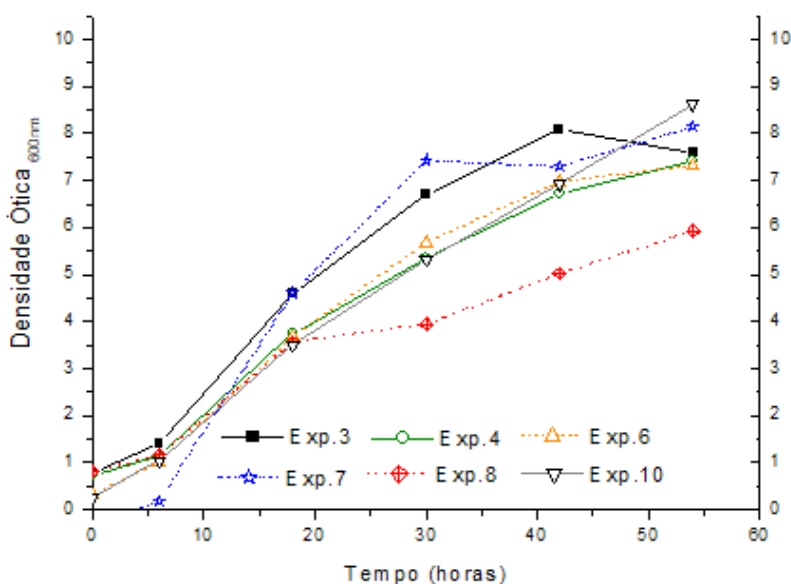
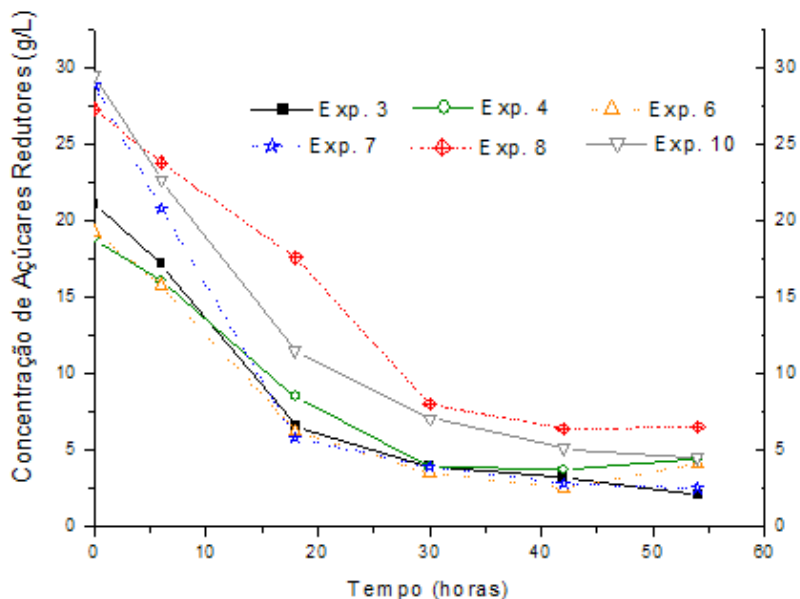


Figura 2. Perfil temporal de evolução do consumo de açúcares redutores totais (AR's) pela levedura *P. tannophilus* nos diferentes meios de fermentação usando o licor obtido no pré-tratamento ácido



(menor concentração de ácido), mostrou um perfil de consumo de açúcares mais rápido, alcançando um consumo de 91% da quantidade total de AR's.

Comparando os experimentos 4 e 10, no entanto, percebe-se que o primeiro citado apresentou um consumo de açúcares mais rápido e pronunciado do que o segundo, mesmo sendo oriundo de uma condição com maior utilização do ácido. Nesse caso é possível que o retardo no consumo de AR's no experimento 10 seja em função da maior quantidade dos mesmos, junto à possível concentração de algum composto presente neste experimento, uma vez que a relação L/S era mais elevada quando comparada ao experimento 4. Assim, esta condição, pode ter levado a uma condição mais desfavorável para o desenvolvimento celular.

Uma análise preliminar da possível aplicação do processo em uma maior escala baseada na liberação de açúcares redutores totais, mostra que a melhor condição operacional em termos de relação líquido/sólido

e porcentagem de ácido fosfórico são 15 e 5%, respectivamente, (experimento 4). Como discutido anteriormente, esta condição apresentou um crescimento celular satisfatório e, sobretudo, permitiu um melhor tratamento do material pela viscosidade relativamente baixa apresentada, causada pela relação líquido/sólido superior. Tal condição pode ser observada na Figura 3, na qual nota-se, visivelmente, a condição mais fluidificada do ensaio 4.

Figura 3. Comparativo das condições físicas dos experimentos durante a etapa de pré-tratamento. Ensaio I L/S=5; II: Ensaio



Ademais, as condições do ponto central com $L/S = 10$ e 3% de ácido também se mostraram potencialmente interessantes, uma vez que para este caso a liberação de AR's foi pouco inferior à do ensaio 4, sendo compensada por um dos maiores e mais uniformes crescimentos celulares, com a vantagem da menor utilização de água e catalisador ácido.

CONCLUSÃO

Ao final das experimentações foi possível observar que as cascas de banana apresentaram boa liberação de açúcares logo após a etapa de pré-tratamento com H_3PO_4 , gerando licores com concentração de AR's

de até 68 g/L, fazendo dessa biomassa uma opção interessante para fins de produção de açúcares fermentescíveis e etanol celulósico. A análise estatística dos efeitos relação líquido/sólido, bem como da porcentagem de H_3PO_4 utilizado no processo de pré-tratamento, permitiram identificar que a interação destes dois fatores se mostrou como a mais significativa na liberação de AR's, seguida pela relação líquido/sólido linear. Por fim, as fermentações dos licores obtidos após pré-tratamento também apresentaram resultados satisfatórios, com uma boa adaptação da levedura *P. tannophilus* ao meio pré-tratado, havendo, em alguns casos, o consumo de até 91% dos açúcares após 54h de fermentação.

REFERÊNCIAS

- ADES, A. Z. O etanol como fonte de descarbonização no mundo. **Opiniões**, 2021. Disponível em: <https://sucroenergetico.revistaopinioes.com.br/revista/detalhes/2-o-etanol-como-fonte-de-descarbonizacao-no-mundo/>. Acesso em: 07 maio 2023.
- ALBERTS, B. *et al.* **Fundamentos da Biologia Celular**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2017. 838 p.
- ARUMUGAM, A.; MALOLAN, V.V.; PONUSSAMI, V. Contemporary Pretreatment Strategies for Bioethanol Production from Corncobs: A Comprehensive Review. **Waste Biomass Valor**, v. 12, n. 2, p. 577-612, 2020.
- AVANTHI, A.; KUMAR, S.; SHERPA, K. C.; BANERJEE, R. Bioconversion of hemicelluloses of lignocellulosic biomass to ethanol: an attempt to utilize pentose sugars. **Biofuels**, v. 8, n. 4, p. 431-434, 2017.
- BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S. Multi-Factor Experimental Designs for Exploring Response Surfaces. **The Annals of Mathematical Statistics**, v. 28, n. 1, p. 195-241, 1957.
- CARRILLO-NIEVES, D.; ALANÍS, M. J. R.; QUIROZ, R. DE L. C.; RAIZ, H. A.; IQBAL, H. M. N.; SALDÍVAR, R. P. Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 102, p. 63-74, 2019.
- COLA, P. **Respostas fisiológicas de leveduras da produção de etanol a inibidores provenientes do pré-tratamento do material lignocelulósicos do bagaço da cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 131. 2018
- FARKAS, C.; SZABÓ, J. M. R.; GUPTA, V. K.; TRUONG, D. H.; FRIEDRICH, L.; FELFÖLDI, J.; NGUYEN, Q. D. Microbial saccharification of wheat bran for bioethanol fermentation. **Journal of Cleaner Production**, v. 240, p. 118269, 2019.

FERREIRA, J. **Produção de bioetanol utilizando cascas de banana, maracujá e coco verde por co-fermentação de *Zymomonas mobilis* e *Pachysolen tannophilus***. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, p. 119. 2017.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E.A.; SILVA João E.A.R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n 7, p. 582-595, jul. 2008.

MANOCHIO, C.; ANDRADE, B.R; RODRIGUES, R.P.; MORAES, B.S. Ethanol from biomass: A comparative overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 80, p. 743-755, 2017.

NELSON, D. L.; FOX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014. 1220 p.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 33, p. 1549-1558, 2010.

PRATTO, B.; SANTOS-ROCHA, M. S.R.; LONGATI, A. A.; SOUZA JUNIOR, R.; CRUZ, A. J G. Experimental optimization and techno-economic analysis of bioethanol production by simultaneous saccharification and fermentation process using sugarcane straw. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122494, 2020.

RAJ, T.; CHANDRASEKHAR, K.; KUMAR, A. N.; BANU, J. R.; YOON, J.J.; BHATIA, S. K.; YANG, Y. H.; VARJANI, S.; KIM, S. H. Recent advances in commercial biorefineries for lignocellulosic ethanol production: Current status, challenges and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126292, 2022.

ROCHA, M. S. R. DOS S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CRUZ, A. J. G. DA. Avaliação do potencial energético de resíduos agroindustriais provenientes de diferentes regiões brasileiras. **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 217-235, 2017.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos**. 3. ed. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. 325 p.

SANTOS, A. A. D.; DEOTI, J. R.; MÜLLER, G.; DÁRIO, M. G.; STAMBUK, B. U.; ALVES JUNIOR, S. L. Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 0, 2017.

PERES, R.; FREITAS JÚNIOR, E. de; GAZZONI, D. L. Biocombustíveis: uma oportunidade para o agronegócio brasileiro. **Política Agrícola**. v.14, p. 31-41, 2005.

WOLF, L. D. **Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-de- açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, p. 147. 2011