

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

LETICIA CRISTINA APOSTÓLICO CABRAL

PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DOS RESÍDUOS DA ALGA
NORI

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2019

LETICIA CRISTINA APOSTÓLICO CABRAL

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE RESÍDUOS DA ALGA
NORI**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Tecnólogo em
Alimentos do Departamento de
Alimentos, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Profa. Dra. Rosilene
Aparecida Prestes.

PONTA GROSSA

2019



TERMO DE APROVAÇÃO

PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DOS RESÍDUOS DA ALGA NORI

por

LETÍCIA CRISTINA APOSTÓLICO CABRAL

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em 16 de dezembro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido(a) pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Rosilene Aparecida Prestes
Prof.(a) Orientador(a)

Simone Bowles
Membro titular

Maria Carolina de Oliveira Ribeiro
Membro titular

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

AGRADECIMENTOS

Não tem como começar sem agradecer Àquele que nos dá suporte o tempo todo e meu primeiro agradecimento vai à Deus que todos os dias mais difíceis me deu forças para continuar e nunca desistir. Meu agradecimento também vai à professora Dra. Rosilene por ser a orientadora mais paciente do mundo e me transmitir tantos ensinamentos, sem ela esse projeto jamais existiria. Também ao restaurante Sho que gentilmente cedeu seus resíduos para esse projeto.

Ao meu noivo Guilherme por me apoiar em todas as minhas decisões possíveis, por estar ao meu lado nos meus piores dias e me apoiar não me deixando desistir nunca.

Aos meus colegas da UTFPR, Juliano que me ajudou muito no laboratório enquanto realizava esse projeto e ainda não tinha noção de nada, e meu grupo de afinidade Bárbara, Beatriz e Eloisa por todos os dias me aguentando falando disso e estando ao meu lado durante todos os semestres na universidade.

A todos os professores que participaram da minha jornada na UTFPR, cada um teve sua parte colaborando para minha formação da sua maneira, gostaria de agradecer em especial os professores Simone Bowles, Maria Helene, Giovana, Eliana, Maria Carolina, Matheus Postigo, Nelson Canabarro e Sabrina por serem tão pacientes comigo durante todas as aulas.

E por último, mas não menos importante minhas amigas queridas Annie, Beatriz, Bárbaras, Nadja, Daniela, Melissa, que foram meus pilares nessa etapa final e me encorajaram muito.

Muito obrigada!

RESUMO

CABRAL, Letícia Cristina Apostólico. **Produção de Etanol a partir dos Resíduos da Alga Nori**. 2019. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

Com o desenvolvimento e mudança nos padrões de vida da população a quantidade de resíduos sólidos a cada dia aumenta mais, considerando o crescimento da quantidade de restaurantes orientais no Brasil se vê imprescindível que um outro destino seja dado pela grande quantidade de resíduos gerados, visando o aproveitamentos desses resíduos e ascensão dos biocombustíveis nessa era além de sua fácil viabilidade, esse trabalho teve como principal objetivo utilizar das técnicas de fermentação e hidrólise para produzir um etanol a partir de resíduos sólidos da alga nori provindo de restaurantes orientais criando assim um biocombustível sustentável e dando um reaproveitamento para os resíduos gerados. Com o método de cromatografia gasosa foi possível caracterizar e quantificar o rendimento deste etanol. Como resultado desse trabalho foi possível produzir e quantificar esse etanol.

Palavras-chave: Etanol. Resíduos. Alga. Fermentação.

CABRAL, Leticia Cristina Apostólico. **Ethanol Production From the Nori Seaweed Residues**. 2019. 27.p. Work of Conclusion Course Graduation in Food Technology) - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2019.

ABSTRACT

With the technologic development and the changing of the life standards from the population the amount of solid residues increases each day more, considering the growing of the amount of oriental restaurants in Brazil it's indispensable that another destiny has been given due the great amount of residues generated, seeking the reuse of those residues and the rise of the biofuels in this era, besides its viability, this work had as primal goal use the fermentation and hydrolysis techniques to produce a ethanol with the residues from the nori seaweed came from oriental restaurants, creating then a sustainable biofuel and reusing the generated residues. With the gas chromatography method it was possible to characterize and quantify the yield of this ethanol. As a result of this work it was possible to produce and quantify this ethanol.

Keywords: Ethanol; Residues; Seaweed; Fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tabela de consumo dos combustíveis	Erro! Indicador não definido.
Figura 2 – Fluxograma adaptado de produção do etanol	Erro! Indicador não definido.
Figura 3 – Diferentes pré-tratamentos na biomassa na hidrólise	19
Figura 4 – Prato japonês Temaki envolto na alga Nori.....	21
Figura 5 – Perfil cromatográfico da amostra B com 5 dias de processo de hidrólise (sem levedura)	26
Figura 6 – Perfil cromatográfico da amostra padrão de etanol e cetona	27

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 – Prato japônes Temaki envolto na alga Nori.....	21
Fotografia 2 – Alga após a separação do resíduo do Sushi.....	22
Fotografia 3 – Maceração da alga obtida	23
Fotografia 4 – Amostras A com levedura antes de serem colocadas na estufa	23
Fotografia 5 - Amostras B sem a levedura antes de serem colocadas na estufa.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Medidas das áreas da curva de calibração do etanol e padrão interno acetona.....	25
Tabela 2 – Cálculo da área de pico de etanol formado nas amostras A e B.....	27
Tabela 3 – Cálculo de rendimento do etanol nas amostras segundo equação	28
Tabela 4 – Cálculo do desvio padrão das amostras A e B.....	28

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Gráfico referente à curva de calibração obtida após as análises do padrão interno acetona	25
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
mL	Mililitros
g	Grama(s)

LISTA DE SIGLAS

CG	Cromatografia Gasosa
BNDES	Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico e Social
FS	Fermentação Submersa
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
DP	Desvio Padrão
CV	Coefficiente de Variação

LISTA DE ACRÔNIMOS

E2G	Etanol Segunda Geração
-----	------------------------

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS	144
1.1.1 OBJETIVO GERAL	14
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 BIOCOMBUSTÍVEIS NO CENÁRIO ATUAL	15
2.2 O ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO	ERRO! INDICA
2.3 O ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO	ERRO! INDICA
2.4 A LIGNOCELULOSE	18
2.5 OBTENÇÃO DO ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO	19
2.6 ALGA NORI	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 MATERIAL	22
3.2 MÉTODOS	23
3.2.1 PREPARO DA AMOSTRA	23
3.2.2 HIDRÓLISE E FERMENTAÇÃO	24
3.2.3 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO ETANOL	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO	25
4.2 QUANTIFICAÇÃO E RENDIMENTO O ETANOL	26
4.3 CONTRIBUIÇÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	30
5 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento e desenvolvimento da população, tanto o país quanto o mundo vem sendo levado a uma mudança de padrões no seu estilo de vida. Em decorrência dessas mudanças vem ocorrendo um aumento dos resíduos sólidos urbanos, tanto em quantidade quanto em variedade (GOUVEIA, 2012). O desperdício de alimentos que conseqüentemente leva a geração de resíduos é ainda um grande problema na área de alimentos, sem considerar ainda o fato do desperdício de recursos como água e energia para produzir esses alimentos que tem um impacto no meio ambiente. A falta de uma gestão dos resíduos e um direcionamento final são um dos grandes causadores desses problemas. (IMechE, 2013) Diariamente são geradas no Brasil cerca de 216.629 toneladas de resíduos sólidos urbanos, isto é, em média de 1,039kg por habitante (ABRELPE, 2019).

Com uma quantidade diária de resíduos produzidos tão grande, é imprescindível que seja realizada uma gestão desses resíduos e um direcionamento para seu reaproveitamento final, utilizando aplicações tecnológicas e diminuindo o impacto ambiental. Devido a isso esse trabalho tem como foco reaproveitamento de resíduos sólidos provindos de restaurantes orientais.

O resíduo escolhido foi o da alga nori, componente em pratos da culinária japonesa conhecidos como *sushi*. Com a abundância de restaurantes orientais que utilizam essa alga na maioria de seus pratos, chegando em torno de 600 restaurantes apenas na cidade de São Paulo, ultrapassando até a quantidade de churrascarias (RODRIGUEZ, 2016) visto isso e pensando também na grande quantidade de resíduos que são gerados a partir desse prato ficando principalmente a alga, foi feita a escolha da alga para esse trabalho.

A alga nori nada mais é que uma folha fina e seca obtida a partir da desidratação de algas comestíveis da espécie *Porphyra*. Por ser um ingrediente com alto teor de fibras, a alga nori é rica em celulose (PAULA, 2018), um componente importante para a produção do etanol segunda geração (ANDRADE, 2014) e produção de nanoestruturas.

Visando a produção do biocombustível etanol segunda geração este projeto utilizou como metodologia experimentos de fermentação com a amostra do resíduo de *sushi* coletado de um restaurante da cidade de Ponta Grossa, Paraná. Após o processo fermentativo as amostras foram caracterizadas por cromatografia gasosa (GC).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Produzir etanol a partir de resíduos da alga nori.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Selecionar linhagens microbianas com alta capacidade de degradação de celulose;
- Agregar valor ao resíduo (alga nori) provindo de restaurantes orientais;
- Caracterizar e quantificar o etanol por técnica instrumental;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BIOCOMBUSTÍVEIS NO CENÁRIO ATUAL

A grande demanda por energia, o combustível cada vez mais caro e a preocupação com o aquecimento global são fatores que alavancaram a procura e produção de bioenergia principalmente provinda de recursos renováveis (MSANGI *et al*, 2006) assim com isso sendo feita a produção do biocombustível, mas o que de fato seriam esses biocombustíveis?

O termo biocombustível é designado para combustíveis que são produzidos a partir da agricultura ou algum material orgânico, como o etanol e o biodiesel que podem ser produzidos da cana de açúcar ou de plantas oleoginosas como o algodão. Os biocombustíveis têm chamado atenção principalmente pela abundância de matéria-prima disponível em várias regiões, a sua fácil utilização como combustível e criando também um novo mercado para a agricultura revitalizando áreas rurais (UNCTAD, 2009).

O Brasil, motivado pelo alto valor do petróleo e as altas taxas a serem pagas começou a produção de etanol em larga escala em torno de 40 anos atrás, e apesar dos Estados Unidos também ter entrado nessa empreitada apenas o Brasil mesmo 40 anos depois ainda continua mantendo o etanol como um componente significativo do abastecimento de combustíveis do país (UNCTAD, 2009).

A inserção dos biocombustíveis no Brasil começou em 1925 por meio de testes utilizando álcool anidro e foi crescendo durante os anos principalmente após a inserção dos veículos *flex-fuel* no mercado e no ano de 2017 o biocombustível já representava 19,7% (16,4% do etanol e 3,3% do biodiesel) da matriz energética veicular do país que pode ser observado na Figura 1. Também pode se observar que apesar de alguns altos e baixos o consumo durante os anos permanece estável. (SAUER, 2019)

Figura 1. Tabela demonstrando o consumo dos combustíveis e biocombustíveis no setor de transporte de 2008 a 2017

FONTES	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	% SOURCES
ÓLEO DIESEL	48,3	47,1	46,6	46,2	45,7	46,2	45,2	43,4	43,9	44,0	DIESEL OIL
BIODIESEL	1,2	1,7	2,3	2,4	2,4	2,4	2,4	3,2	3,3	3,3	BIODIESEL
ÓLEO COMBUSTÍVEL	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,2	1,3	0,9	0,6	0,7	FUEL OIL
GASOLINA AUTOMOTIVA	23,1	23,3	25,1	28,2	30,9	29,3	29,8	27,7	29,3	29,4	GASOLINE
QUEROSENE	4,5	4,5	4,6	4,8	4,8	4,3	4,2	4,3	4,0	3,9	KEROSENE
ÁLCOOL ETÍLICO	17,5	18,7	17,3	14,5	12,5	14,3	15,1	18,4	16,8	16,4	ETHYL ALCOHOL
OUTRAS	3,7	3,2	2,8	2,6	2,4	2,2	2,1	2,1	2,2	2,3	OTHERS
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	TOTAL

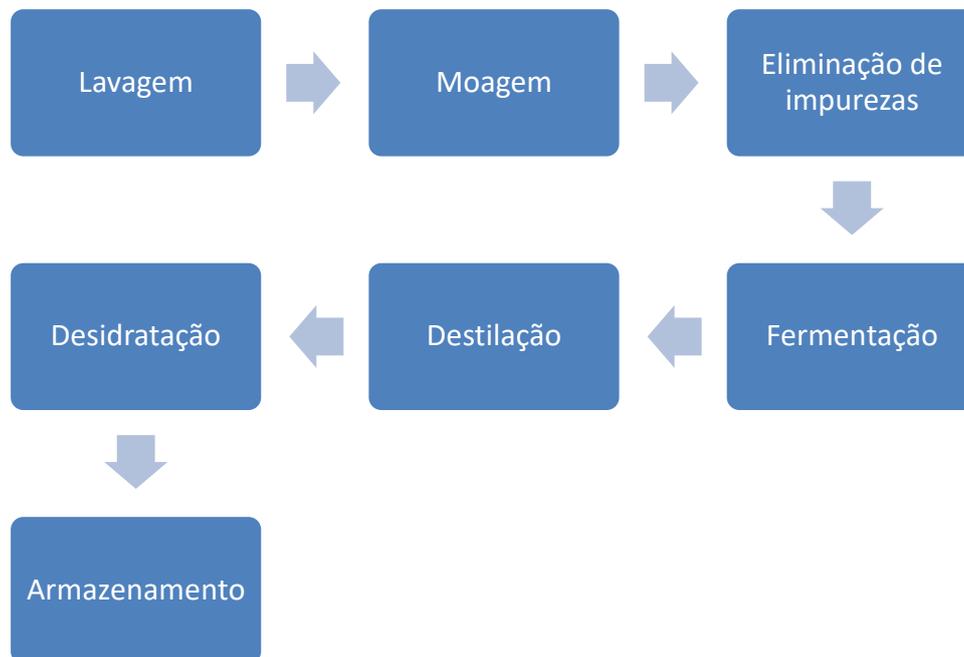
Fonte: Ministério de Minas e energia, 2018

2.2 ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO

De acordo com Arias et al. (1999 apud CARVALHO *et al.*, 2013, p. 533) etanol ou álcool etílico como é comumente conhecido de fórmula molecular C_2H_5OH é um líquido transparente, volátil, com odor etéreo, sabor picante, miscível na água e em outros líquidos orgânicos, pode ser comercializado de duas formas: a anidra (>99%) e hidratada (95 a 96%). Pode ser obtido por fermentação por meio de vegetais ricos em açúcar, o mais utilizado no Brasil é a cana de açúcar mas pode ser de extraído milho, beterraba, arroz entre outros.

Esse etanol é considerado de primeira geração, pois é produzido a partir de um amido, óleo vegetal, gordura animal ou açúcar (CARVALHO *et al.*, 2013). Sua obtenção acontece a partir da fermentação do caldo, no caso da cana de açúcar, esse caldo é esterilizado e purificado e a fermentação acontece por linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e o álcool produzido é separado por destilação. Macedo (2008 apud CARVALHO *et al.*, 2013). O processo de obtenção do etanol de primeira geração pode ser resumido no fluxograma a ser visualizado na Figura 2.

Figura 2. Fluxograma demonstrando o processo de obtenção do Etanol de primeira geração produzido a partir da cana de açúcar



Fonte: NOVACANA, 2016

2.3 ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

Etanol segunda geração (E2G) também conhecido como etanol lignocelulósico veio com uma alternativa para aumentar a produção de etanol no mundo. Países que não tem uma agricultura tão rica, principalmente a da cana de açúcar, pois esse etanol é obtido a partir de resíduos orgânicos como bagaço e palha da cana de açúcar, cascas, gramíneas e até embalagens cartonadas, desde que na sua composição esteja a lignocelulose, componente fundamental para a obtenção do etanol segunda geração (E2G). (BARROS, 2019).

Segundo Pacheco (2011, p. 3), “essa nova geração representa uma alternativa para o uso energético da biomassa, apresentando vantagens ambientais e econômicas, por ser o etanol produzido a partir de lignocelulose, presente em resíduos de origem vegetal”.

Com políticas como a proibição da queima da palha da cana de açúcar e colheita mecanizada que está gradualmente sendo implantada faz com que o

Brasil tenha grande vantagem competitiva em relação a outros países quando se trata do E2G. Como a cana de açúcar oferece grande potencial energético visto que dois terços são constituídos por material lignocelulósico e o aproveitamento do bagaço pode ser de 30 a 40% (PACHECO, 2011) diminuindo então a necessidade de aumentar a área plantada e diminuindo a concorrência com o mercado alimentício, que é uma questão que torna o etanol polêmico.

2.4 LIGNOCELULOSE

A lignocelulose é composta por três polímeros: celulose, hemicelulose e lignina que se associam por pontes de hidrogênio ou ligação covalente.(PACHECO, 2011). Pacheco, 2011, p.4 ainda cita que:

A celulose é formada por subunidades de D-glicose, unidas por ligação glicosídica. A hemicelulose é uma estrutura bem mais complexa por ser constituída por diferentes tipos de pentoses, hexoses e açúcares ácidos unidos entre si. A lignina é associada à parede vegetal, conferindo à planta resistência a ataques microbiológicos e mecânicos, além de rigidez e impermeabilidade.

A fração formada pela celulose ($C_6H_{10}O_5$) (40-60%) da matéria seca é um polímero linear glicose-glicose formada por vários monômeros, duro e difícil de ser quebrado, quando é hidrolisada gera glicose. A fração hemicelulósica (20-40%) constituída por uma cadeia principal de xilose com ramificações de manose, arabinose, galactose entre outros e diferentemente da celulose é mais fácil de ser hidrolisada, já a fermentação não tem um grande desenvolvimento.

A lignina (10%-25%) não se relaciona com as moléculas de açúcar. Portanto é parada na fermentação, entretanto na hidrólise ela desempenha um papel fundamental e apesar de obter-se vários produtos a partir da lignina o seu maior foco de estudo está para explorar seu uso como energia. (BDNES, 2008). A lignina ainda funciona como uma cola entre a celulose e a hemicelulose e há a necessidade da sua retirada para transformar a celulose e a hemicelulose em açúcares por meio da fermentação (BARROS, 2019).

2.5 OBTENÇÃO DO ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

Para iniciar o processo de obtenção começa-se pelo pré-tratamento mecânico que basicamente visa a limpeza pela “quebra” do material, destruindo assim a sua estrutura celular para facilitar os tratamentos químicos que vem em seguida. (BNDES, 2008)

A segunda etapa realiza a remoção da lignina e a hidrólise da hemicelulose, essa etapa também pode ser considerada como pré-tratamento, existem diferentes processos que afetam tanto o rendimento quanto o efeito na biomassa e podem ser observados na figura 3: (BNDES, 2008)

Figura 3. Diferentes pré-tratamentos na biomassa para hidrólise

Processo	Descrição	Tempo de reação	Rendimento de xilose	Custo *
Físicos				
Explosão de vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160°-260° C) seguido de uma rápida descompressão	1-10 min	45%-65%	-
Termoidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose	30 min	88%-98%	-
Químicos				
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico, ou nítrico, concentrados ou diluídos	2-10 min	75%-90%	+
Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases, como hidróxidos de sódio ou cálcio	2 min	60%-75%	++
Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H ₂ SO ₄ , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose	40-60 min	70%-80%	
Biológicos	Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente, é utilizado em combinação com outros processos			
Combinados				
Explosão de vapor catalisada	Adição de H ₂ SO ₄ (ou SO ₂) ou CO ₂ na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose	1-4 min	88%	-
<i>Afex (ammonia fiber explosion)</i>	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão		50%-90%	
Explosão de CO ₂	Similar à explosão de vapor		75%	

Fonte: BNDES, 2008

Na hidrólise a celulose é convertida em glicose gerando a reação (1) que é catalisada por ácidos ou enzimas.



Quando a hidrólise ácida é realizada ela acontece em duas etapas, primeiramente a hidrólise da hemicelulose e a segunda etapa consiste em aplicar altas temperaturas e pressões com tempo de segundos a minutos. (BNDES, 2008)

No caso da hidrólise enzimática a hidrólise catalisada pela enzima celulase que na verdade se trata de um complexo de enzimas formados pela endoglucanase, exoglucanase e β -glucosidases que tem as funções de produzir polissacarídeos de menor comprimento, remover a celulose e hidrolisar a celobiose a glicose, respectivamente. Por ser um processo com temperaturas mais brandas, entre 45 a 50°C o processo enzimático se torna mais barato sendo um método promissor por sua versatilidade e custo competitivo (BNDES, 2008).

A seleção correta do microrganismo também obtém um rendimento melhor para o etanol e uma velocidade fermentativa maior. (MURAKAMI; BOMBANA; AFFONSO, 2016 apud PACHECO, 2011). Independente do método de hidrólise escolhido, a fermentação alcoólica é sempre aplicada da mesma maneira para ambos os métodos, entretanto a hidrólise ácida produz um açúcar de 5 carbonos que não podem ser fermentados pela linhagem selvagem da *Saccharomyces cerevisiae* tornando esse método com menor inviabilidade econômica. Já na hidrólise enzimática existe a possibilidade de fazer a sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) deixando o método viável e otimizado. (BNDES, 2008) Após a fermentação já se obtém o etanol segunda geração.

2.6 ALGA NORI

A alga Nori consiste em folhas desidratadas da alga da espécie *Porphyra* e é um alimento que existe a muitos séculos sendo retratada como

alimento já em 987 d.C. onde por muito tempo foi consumida como pasta até 1750 com o advento do método de fabricação de papel que ela adquiriu o formato de folha. Nos dias de hoje a alga Nori faz parte de muitos pratos de origem japonesa, como o *sushi*, *hossomaki*, *uramaki*, *temaki* podendo ser vistos na Figura 4 (PAULA, 2019).

Figura 4. Prato japonês Temaki envolto pela alga Nori



Fonte: Google imagens/ Amino Apps, 2019

Alga Nori, rica em proteínas, cálcio, ferro, vitaminas A, B e C, boa fonte de iodo, carotenos, possui em fibras e pode conter até duas vezes mais proteínas do que a carne, considerada um alimento com vários benefícios para a saúde com benefícios ao sistema endócrino e nervoso. (PAULA, 2019)

A produção da alga Nori é realizada por técnicas avançadas de agricultura onde são cultivadas em fazendas na beira do mar, onde a alga *Porphyra* cresce. Essa espécie cresce muito rápido levando em torno de 45 dias para sua colheita, realizada por colhedores mecânicos e após a colheita as algas passam por um novo processo para serem transformadas nas folhas que dão origem a alga Nori. (PAULA, 2019)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O principal material utilizado nesse trabalho foi a Alga Nori que foi adquirida por doação dos resíduos de *sushi* por um restaurante da cidade de Ponta Grossa, Paraná. Também foram utilizadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* do fabricante saf-instant de forma seca, isto é, liofilizada.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparo da amostra

Após a coleta da amostra no restaurante foi feita a separação somente da alga de acordo com a Fotografia 1. Em seguida foi realizada a maceração da amostra com um pistilo no graal conforme Fotografia 2:

Fotografia 1. Alga após separação do resíduo do sushi

Fonte: o autor



Fotografia 2. Maceração da alga obtida para serem utilizadas no processo de fermentação e seleção microbiológica.



Logo após o processo de maceração as amostras foram divididas em dois experimentos: A e B. No experimento B foram adicionados ao fermentador 2g da amostra de alga com adição de 20 mL de água ultrapura. No experimento A foi repetido o mesmo processo de preparação das amostras, mas com a adição de 0,2g da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2.2 Hidrólise e fermentação

Os experimentos foram preparados em condições estéreis, conduzidos em triplicata à temperatura de aproximadamente 32°C durante 5 dias. e preparados em condições estéreis pode ser observados nas Fotografias 3 e 4.

Fotografia 3. Amostras A com a levedura antes de serem colocadas na estufa por 05 dias a 32°C.



Fotografia 4. Amostras B sem a levedura antes de serem colocadas na estufa por 05 dias a 32°C.



Passado o período de 5 dias, o processo de fermentação foi interrompido com o congelamento das amostras. Para proceder a análise de cromatografia gasosa das amostras, as mesmas foram descongeladas e centrifugadas por 20 minutos centrifugadas à temperatura de 1°C na centrífuga Mod. 280 R, marca Excelsa.

3.2.3 Caracterização e quantificação do etanol

As amostras foram caracterizadas e quantificadas por análise no cromatógrafo gasoso modelo 6100GC, marca Young Lin. A análise deu-se em 5mL da amostra com 1g de sulfato de sódio num vial de 20ml, levando em torno de 20 minutos para ser realizada onde 8 minutos foram para a agitação do vial e 12 minutos foram para o processo de eluição no interior da coluna. Em seguida o software do equipamento fornecia o cromatograma. A coluna capilar utilizada foi a ZB-WAX, de dimensões 30 metros, 25 milímetros e 0,25 micrômetros e as condições do equipamento foram as seguintes: fluxo de 1,5, rampa de aquecimento 40 a 230°C e temperaturas do injetor e do detector de 60 e 200°C respectivamente. Para o etanol que foi produzido ser quantificado, deve-se construir uma curva de calibração de diferentes concentrações. A curva foi realizada por concentrações de 0,02%, 0,25%, 0,5%, 0,7% e 1% de solução padrão de etanol (SINTY), também foi adicionado o padrão interno cetona na concentração 0,01 %. A leitura desse perfil cromatográfico é realizada no software Origin 2018b, onde é obtida a área de pico de etanol de cada amostra para poder calcular seu rendimento, essa área é calculada pelo próprio software quando selecionamos a área de pico ele nos dá o valor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO

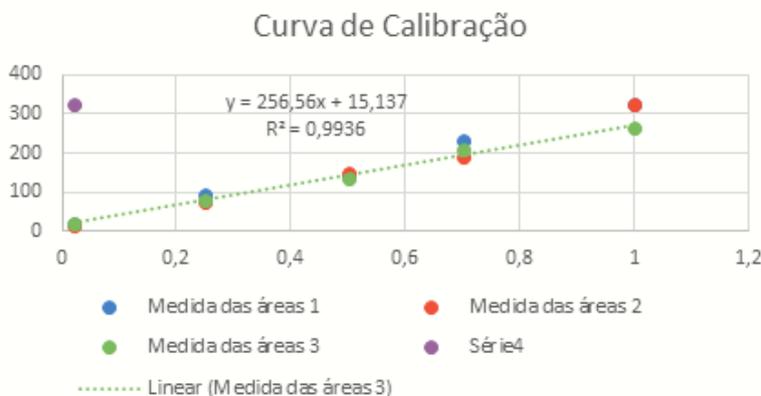
Para ser realizada quantificação uma curva de calibração da solução padrão é plotada por cromatografia gasosa. O software gera uma área para cada ponto da curva que leva a Tabela 1.

Tabela 1. Medida das áreas da curva de calibração do etanol e do padrão interno acetona

Concentração (%)	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio Padrão	CV
0,02	18,499	15,599	18,347	17,482	1,632	9,337
0,25	91,946	73,813	80,971	82,244	9,133	11,105
0,5	145,437	148,094	137,001	143,51	5,791	4,035
0,7	230,513	190,438	207,460	209,47	20,112	9,601
1	323,873	323,873	265,609	304,45	33,639	11,049

O Gráfico 1, representa a curva obtida a partir da plotagem dos apresentados acima.

Gráfico 1. Gráfico referente à curva de calibração obtida após análises do etanol e do padrão interno acetona



Com a equação da reta obtida a partir da curva de calibração apresentada pela Equação 2 é possível quantificar o etanol produzido, utilizando a metodologia proposta.

$$Y=256,56x+15,137 \quad (2)$$

4. 2 QUANTIFICAÇÃO E RENDIMENTO DO ETANOL

Na Figura 5 pode-se observar o perfil cromatográfico da amostra da alga B1, 05 dias sem adição levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

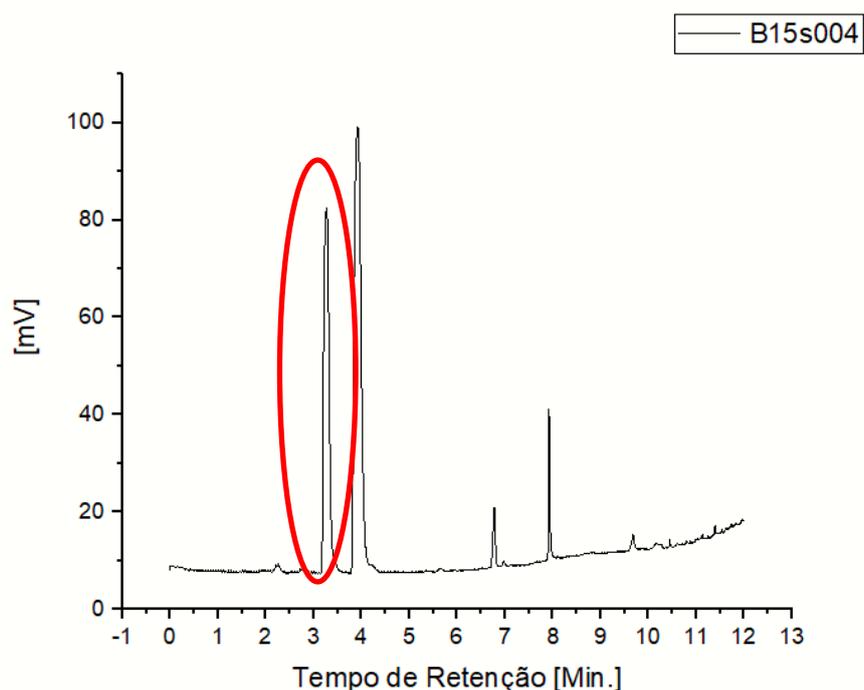
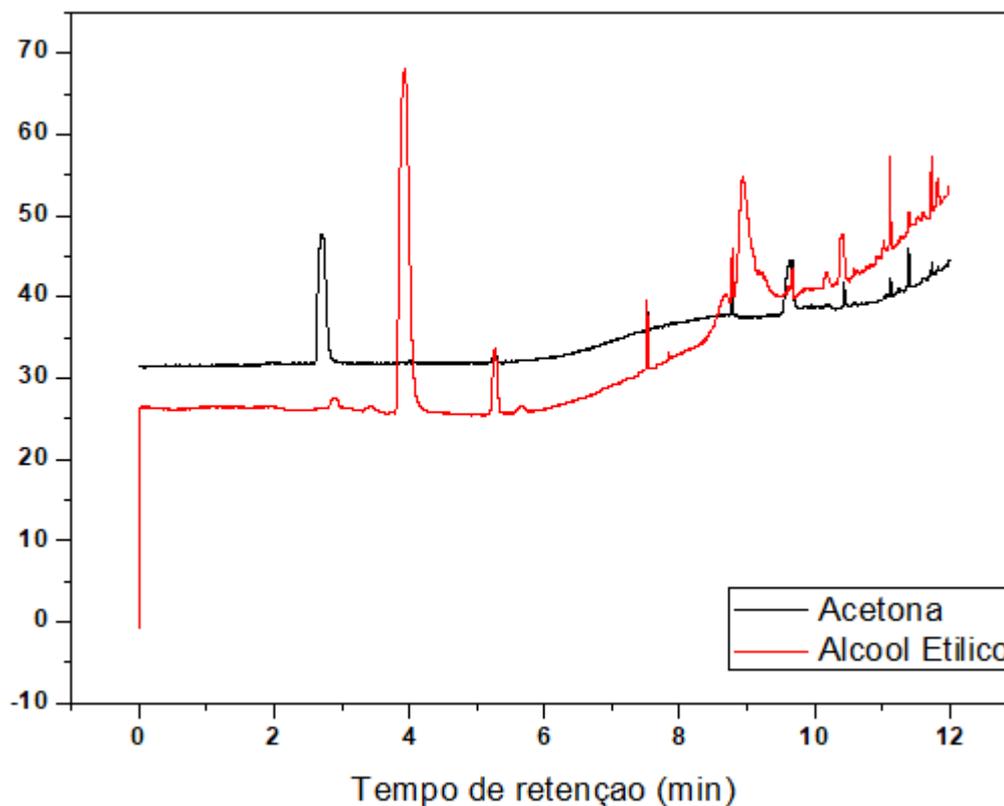


Figura 5. Perfil cromatográfico da amostra produzida na etapa B, com 05 dias de processo de hidrólise e fermentação (sem levedura) onde demonstra o pico de etanol entre os valores de 03 a 3,5 minutos de tempo de retenção.

Na figura 5 se observa que o etanol se formou no pico entre 03 a 3,5 do tempo de retenção e a cetona entre 02 a 2,5 minutos. Isso se deve a comparação ao perfil cromatográfico dos padrões de cetona e etanol podendo

ser vistos na figura 6 onde seus picos também acontecem nos tempo 02 a 2,5 para cetona e 3 a 4 minutos para o etanol.

Figura 6. Perfil cromatográfico da amostra padrão de etanol e cetona onde demonstra o pico de etanol entre os valores de 03 a 4 minutos de tempo de retenção



Na Tabela 2, estão organizadas as áreas dos picos obtidos para o etanol.

Tabela 2. Área de pico do etanol formado após leitura no CG das A com a levedura e as amostras B são sem a levedura ambas com 5 dias de fermentação.

Amostra	Área do pico de Etanol
A15	(*)
A25	6,900
A35	7,398
B15	11,432
B25	2,608
B35	6,249

(*) Não quantificado devido a dificuldade de cálculo da área

Considerando a Equação 2, obtida pela curva de calibração, as áreas dos picos foram substituídas na equação e se obteve o rendimento de etanol para cada ensaio, como está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Cálculo do rendimento de etanol nas amostras com 5 dias de fermentação de acordo com a equação (2)

Amostra	Rendimento (g/100ml)
A25c	0,032
A35c	0,03
B15s	0,015
B25s	0,049
B35s	0,034

Na tabela acima se observa o rendimento individual de cada amostra e que as amostras B, que são das algas sem a levedura obtiveram um rendimento melhor que as amostras A com a levedura. Calculando a média, desvio padrão e o coeficiente de variação das amostras A e B obtém-se a Tabela 4:

Tabela 4. Cálculo da média, desvio padrão e coeficiente de variação das Amostras A com 5 dias de fermentação (com levedura) B com 5 dias de fermentação (sem levedura).

Amostra	Média	DP	CV
A	0,031	0,0023	7,4193
B	0,032	0,0139	10,373

Fazendo uma breve análise de todos os dados expostos acima se observa que as amostras de etanol sem levedura produziram a mesma quantidade de etanol que as amostras com levedura, o que nos mostra que não houve diferença nos tratamentos.

De acordo com a tabela nutricional da alga nori que pode ser vista na tabela 5 se observa que a alga nori tem zero carboidrato na sua composição, isto é, não tem açúcares disponíveis como glicose, frutose ou sacarose,

componentes essenciais para que a fermentação aconteça. Entretanto na composição da alga há fibras, e essas fibras contém a celulose, componente essencial do etanol segunda geração, portanto pode-se levantar a possibilidade que a celulose que continha na alga foi quebrada e o etanol produzido ser de segunda geração e não de primeira por não conter carboidratos simples na sua composição e sim carboidratos complexos que são as fibras.

Tabela 5. Tabela nutricional da alga nori adaptada

Algas Marinhas Chinesa YAKI SUSHI NORI Globo com 10 Folhas 25g		
Ingredientes: Alga Marinha Nori.		
NÃO CONTÉM GLÚTEN		
TABELA NUTRICIONAL		
INFORMAÇÃO NUTRICIONAL PORÇÃO 2,5g (01 Folha)	QUANTIDADE POR PORÇÃO	% VD (*)
Valor Energético	0 Kcal	0
Carboidratos	0 g	0
Proteínas	1 g	0
Gorduras totais	0 g	0
Gorduras saturadas	0 g	0
Gorduras Trans	0 g	**
Fibra alimentar	1 g	0,03
Sódio	0,06 mg	0,03

Fonte: Casa Fiesta, 2019

Como é possível observar os resultados obtidos abrem uma gama de áreas a serem estudadas futuramente e que aplicando algumas melhorias no processo como melhor controle de substrato, uma análise mais afundo das capacidades fermentativas e potencial enzimático dos microrganismos pode-se produzir um etanol com mais rendimento e quem sabe estudar sua expansão para escala industrial.

4.3 CONTRIBUIÇÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Os biocombustíveis em especial o Etanol segunda geração abrem uma gama gigante de possibilidades tendo ainda muito que estudar e analisar.

Em relação ao Etanol e seu rendimento, pode ser ainda estudado maneiras mais eficazes de realizar uma fermentação mais rápida e com um rendimento de etanol maior, seja para amostras com ou sem o microrganismo. Também pode ser estudado o poder como combustível desse etanol na prática e suas possibilidades de ser produzido a escala industrial.

Em relação aos microrganismos que estavam contidos na amostra, pode ser feito um trabalho de seleção para caracterizar o microrganismo presente na alga e seu potencial enzimático e de crescimento.

Além do etanol esse mesmo resíduo pode produzir nano compostos como a nano celulose ou nano lignina que pode ser utilizado na produção de biofilme.

5 CONCLUSÃO

Esse trabalho de conclusão de curso teve como objetivo geral a produção do etanol segunda geração a partir dos resíduos da alga Nori, e pode se dizer que há a possibilidade do etanol de segunda geração ter sido produzido tanto para as amostras com a levedura quanto para as amostras apenas com o microrganismo presente na alga, todavia não havendo nenhuma diferença entre os tratamentos.

Entretanto considerando o que foi atingido com esse trabalho ainda existem muitas coisas a serem feitas, pois há muito para explorar em termos da expansão da produção do etanol tendo muito a agregar para a grande área.

Ainda pensando em agregar valor não podemos deixar de mencionar o reaproveitamento de um resíduo que seria descartado aumentando ainda mais os resíduos sólidos urbanos produzidos, e ter sido dado um destino final com a possibilidade da produção do etanol segunda geração.

Sua viabilidade pensando na grande escala ainda não é tão simples, mas são assuntos que podem ser estudados num futuro para aliar a sustentabilidade e a ciência para a produção de um combustível mais limpo e que ainda colabora para o reaproveitamento dos resíduos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, F.L. **Produção de Etanol Segunda Geração**, 2014, p. 10

ABRELPE; **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil**, 2019, p. 12

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BNDES). **Bioetanol de cana de açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro: BNDES, 2008

BARROS, T. D.; **Etanol lignocelulósico**, 2019. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000g63ym1ge02wx5ok0o71pxtm0b852y.html>> acesso em 18/11/2019

CARVALHO, L. C.; OLIVEIRA, R.C.; CARVALHO, M.M.; FAVORETO, A. L.; GODOY, A.F.; **Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética**; ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p., 2013. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/cana-de-acucar.pdf>> acesso em 18/11/2019

FIESTA, C; **Algas marinhas chinesas Yaki Sushi Nori**, 2019. Disponível em: <<https://www.casafiesta.com.br/produto/algas-marinhas-chinesa-yaki-sushi-nori-globo-com-10-folhas-25g-63396>> Acesso em: 17/12/2019

GOUVEIA, N.; **Resíduos sólidos urbanos: impactos socioambientais e perspectiva de manejo sustentável com inclusão social**. *Ciência e saúde coletiva*, p. 1504, 2012.

Instituto de Ciências Biológicas, UFMG; **Morfologia, fisiologia e classificação dos fungos**, 2019. Disponível em: <<http://microbiologia.yolasite.com/resources/morfologia%20e%20fisiologia%20fungos.pdf>> acesso 01/12/2019

INSTITUTION OF MECHANICAL ENGINEERS – ImechE, **Global Food Report 2013** Disponível em: <https://www.imeche.org/docs/default-source/reports/Global_Food_Report.pdf?sfvrsn=0> acesso em 18/11/2019

Ministério de Minas e Energia; **Balanco energético nacional**, 2018. Disponível em: <epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-303/topico-419/BEN2018__Int.pdf> acesso em 18/11/2019

MSANGI, S.; SULSER, T; ROSEGRANT, M.; VALMONTE-SANTOS, R.; RINGLER, C.; **Global scenarios for biofuels: Impacts and Implications**, 2006. Disponível em <

http://www.fao.org/uploads/media/07_Global_Scenarios_for_Biofuels_Impacts_and_Implications_01.pdf > acesso em 18/11/2019

MURAKAMI, L.S.N.A; BOMBANA, G.A; AFFONSO, G.S; **Processo produtivo do etanol de segunda geração usando bagaço de cana-de-açúcar**, 2016. Disponível em: < http://www.fecilcam.br/anais/x_eepa/data/uploads/13-alimentos/13-02.pdf> acesso 01/12/2019

NOVACANA; **Processos de Fabricação do Etanol**, 2016. Disponível em: < <https://www.novacana.com/etanol/fabricacao>> acesso em 18/11/2019

PAULA, L.; **Nori – Tudo sobre a famosa alga utilizada no sushi**. Disponível em:< <https://skdesu.com/nori-tudo-sobre-famosa-alga-utilizada-no-sushi/>> acesso em 09/08/2018

PACHECO, T. F. **Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?** Circular Técnica (INFOTECA-E), Brasília, 20 abr. 2011. 6 p. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886571/1/CITE04.pdf>>. acesso em 18/11/2019

RODRIGUEZ, S.; **São Paulo tem mais restaurantes japoneses que churrascarias**, 2016. Disponível em: < <http://blog.aeru.com.br/sao-paulo-tem-mais-restaurantes-japoneses-do-que-churrascarias/> > acesso em 18/11/2019

SAUER, I. **Biocombustíveis no Brasil, Comercialização e Logística**, 2019. Disponível em < https://sistemas.mre.gov.br/kitweb/datafiles/NovaDelhi/pt-br/file/Biocombustiveis_03-biocombustiveisnobrasil.pdf > acesso em 18/11/2019

UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT; **The biofuels market: current situation and alternative scenarios**, 2009. Disponível em < https://unctad.org/en/docs/ditcbcc20091_en.pdf > acesso em 18/11/2019