

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

BÁRBARA CUNHA TESCH DE OLIVEIRA

**PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DE RESÍDUOS
INDUSTRIAIS DA JABUTICADA UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS PARA A
QUEBRA DA CELULOSE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2019

BÁRBARA CUNHA TESCH DE OLIVEIRA

**PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DE
RESÍDUOS INDUSTRIAIS DA JABUTICABA UTILIZANDO LÍQUIDOS
IÔNICOS PARA A QUEBRA DA CELULOSE**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof. Dr. Irede Angela Lucini Dalmolin
Coorientadora: Prof. Dr. Tânia Maria Cassol

FRANCISCO BELTRÃO

2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

BÁRBARA CUNHA TESCH DE OLIVEIRA

PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO APARTIR DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DA JABUTICADA UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS PARA A QUEBRA DA CELULOSE

Trabalho de Conclusão de Curso
Obtenção do título de Engenheira Química
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná Campus Francisco Beltrão
Engenharia Química
Data da defesa: 03/07/2019

Orientadora: Prof^a Dra. Irede Angela Lucini Dalmolin
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Francisco Beltrão

Coorientadora: Prof^a Dra. Tânia Maria Cassol
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Francisco Beltrão

Membro da Banca Prof^a Dra. Maria Helene Giovanetti Canteri
Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Francisco Beltrão

A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso

AGRADECIMENTOS

Ao professor doutor Américo Wagner Junior do campus Dois Vizinhos da UTFPR pela doação da matéria-prima. Também ao professor doutor Luciano Lucchetta pela ajuda na escolha da matéria-prima. Às professoras doutoras Priscila Conceição Ribeiro, Cláudia Castro Bravo e Thalita Grando Rauen por sugerir e discutir alterações na proposta. Também, à professora Tânia Maria Cassol pela orientação, apoio e confiança.

À minha orientadora, Irede Angela Lucini Dalmolin, pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho e paciente trabalho de revisão da redação. Ao bibliotecário Paulo Roberto Mendonça pelo carinhoso apoio, aos técnicos do laboratório pela paciência e disponibilidade em ajudar.

Agradeço a todos os professores por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e no processo de formação profissional, aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos. Aos meus pais e irmã, pelo amor, incentivo nas horas difíceis de desânimo e cansaço e apoio incondicional. Aos amigos que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

RESUMO

Os biocombustíveis são definidos como combustíveis sintetizados através de recursos renováveis, e entre eles está o etanol de segunda geração. Estes são obtidos da quebra da celulose e apresenta-se como uma alternativa para a crise ambiental ao utilizar resíduos industriais como a casca de jabuticaba como matéria-prima. Esse processo baseia-se na realização de um pré-tratamento da celulose, neste caso utilizando líquidos iônicos (LIs). Para a realização dos testes um LI foi sintetizado, o hidrogenossulfato de trietilamônio e outro adquirido comercialmente, hidrogenossulfato de metilimidazol. Após, foram realizados pré-tratamentos, variando os LIs, para a quebra de celulose da casca da jabuticaba. A fermentação para produção de etanol foi realizada em quatro diferentes condições para comparação, com agitação durante todo o período de fermentação de 7 dias, experimento A, com controle de temperatura em todo o período de fermentação de 5 dias, experimento B, com agitação no início do processo e controle de temperatura em todo o período de fermentação de 5 dias, experimento C, e com adição de açúcar e controle de temperatura em todo o período de fermentação de 5 dias, experimento D. Em seguida, o mosto fermentativo foi destilado para purificação do etanol, observou-se que a jabuticaba contém um alto teor de açúcar em sua casca e que o hidrogenossulfato de metilimidazol obteve melhor desempenho se comparado ao hidrogenossulfato de trietilamônio, na quebra da celulose, devido as condições de fermentação, como pH e temperatura. Além disso, pode-se constatar uma eficiência significativa ao adicionar agitação no início do processo, assim como na adição de metabissulfito para o controle de microrganismos que pudessem vir a competir com a *Saccharomyces cerevisiae*, de maneira que foi possível obter 62,66% de etanol no experimento D, 41,25% no experimento C e 15,37% no experimento B. Logo, a produção de etanol a partir de resíduos industriais de jabuticaba pode ser um processo viável, após a realização de testes para otimização do processo.

Palavras-chave: Resíduos. Casca de Jabuticaba. Líquidos iônicos. Etanol.

ABSTRACT

Biofuels are defined as fuels synthesized through renewable resources, including second generation ethanol. These are obtained from the breakdown of cellulose and presents itself as an alternative to the environmental crisis by using industrial residues such as jabuticaba bark as raw material. This process is based on the accomplishment of a pretreatment of cellulose, in this case using ionic liquids (LIs). For the performance of the tests one LI was synthesized, the triethylammonium hydrogen sulfate and the other commercially acquired, methylimidazole hydrogen sulfate. After that, pretreatments were performed, varying the LIs, for the pulp breaking of the bark of the jabuticaba. Fermentation for ethanol production was performed in four different conditions for comparison, with stirring throughout the 7 day fermentation period, experiment A, with temperature control throughout the 5 day fermentation period, experiment B, with stirring at and temperature control throughout the 5-day fermentation period, experiment C, and with addition of sugar and temperature control throughout the 5-day fermentation period, experiment D. The fermentative must was then distilled for ethanol purification, it was observed that jabuticaba contains a high sugar content in its shell and that methylimidazole hydrogen sulphate obtained better performance when compared to triethylammonium hydrogen sulphate on cellulose breakage due to fermentation conditions such as pH and temperature. In addition, significant efficiency can be observed by adding agitation at the beginning of the process, as well as the addition of metabisulphite to the control of microorganisms that could compete with *Saccharomyces cerevisiae*, so that it was possible to obtain 62.66% of ethanol in experiment D, 41.25% in experiment C and 15.37% in experiment B. Therefore, the production of ethanol from industrial residues of jabuticaba can be a viable process, after performing tests for optimization of the process.

Keywords: Residue. Jabuticaba Peels. Ionic liquids. Ethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Jabuticabas no pé	12
Figura 2 – Resíduo industrial de jabuticaba	14
Figura 3 – Processo de fermentação alcoólica	17
Figura 4 – Equação de quebra da celulose utilizando LI	19
Figura 5 – Fórmula estrutural do LI (hidrogenossulfato de trimetilamônio)	20
Figura 6 – Estrutura química do LI (hidrogenossulfato de metilimidazol)	20
Figura 7 – Reação de síntese do LI (hidrogenossulfato de trimetilamônio)	22
Figura 8 – Curva-padrão para determinação de açúcares totais	25
Figura 9 – Aparato para síntese do LI (hidrogenossulfato de trimetilamônio)	27
Figura 10 – Espectro de ressonância magnética de prótons do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio)	27
Figura 11 – Pré-tratamento da casca de jabuticaba com LI (hidrogenossulfato de trimetilamônio)	28
Figura 12 – Pré-tratamento da casca de jabuticaba com LI (hidrogenossulfato de metilimidazol)	29
Figura 13 – Sistema de fermentação da casca da jabuticaba	29
Figura 14 – Sistema de destilação do mosto	30
Figura 15 – Densidade das soluções destiladas após a fermentação	30
Figura 16 – Influência do pré-tratamento de jabuticaba em uma fermentação apenas com agitação	32
Figura 17 – Influência do pré-tratamento de jabuticaba em uma fermentação apenas com controle de temperatura	35
Figura 18 – Influência do pré-tratamento da jabuticaba em uma fermentação com controle de temperatura e agitação	36
Figura 19 – Influência dos LIs e condições de fermentação para o processo de produção de etanol	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3. 1 A JABUTICABA E GERAÇÃO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS	12
3. 2 ETANOL	15
3. 3 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA	16
3. 4 LÍQUIDOS IÔNICOS	18
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	21
4. 1 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES TOTAIS	21
4.1.1 Preparação das amostras para a determinação de açúcares	21
4.2 SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)	21
4.3 SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO HIDROGENOSSULFATO DE TRIMETILAMÔNIO	22
4.4 PRÉ-TRATAMENTO DA CASCA DA JABUTICABA	22
4.5 FERMENTAÇÃO	23
4.6 DETERMINAÇÃO DE TEOR DE ÁLCOOL	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5.1 AÇÚCARES TOTAIS	25
5.2 SÍNTESE E UTILIZAÇÃO DE LIS PARA A QUEBRA DA CELULOSE	26
5.2.1 Experimento A	32
5.2.2 Experimento B	34
5.2.3 Experimento C	36
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO A – TABELA DE DENSIDADE E PORCENTAGEM DE ETANOL	45

1 INTRODUÇÃO

Os biocombustíveis podem ser entendidos como um combustível sintetizado através de recursos renováveis, por realizarem um balanço em relação a quantidade de gás carbônico emitido por queima com a quantidade absorvida no plantio da matéria-prima. Sendo considerados, como aliados no combate ao efeito estufa.

Uma alternativa para a crise ambiental intensificada pela queima dos combustíveis fósseis e a concentração fundiária gerada pelo programa Proálcool no Brasil, é a geração de etanol a partir de resíduos industriais. Entre os resíduos industriais para a produção de etanol destacam-se os provenientes do processamento de frutas, como a jaboticaba. Esta fruta, tipicamente brasileira, tem despertado grande interesse entre os produtores rurais devido à sua elevada produtividade e rusticidade. Possui alto teor de açúcares nos resíduos gerados após sua industrialização, os quais podem vir a causar impactos ambientais em consequência do descarte inapropriado. Sendo uma das estratégias para o beneficiamento destes resíduos.

Uma vez que a indústria é responsável pelo destino do rejeito que produz e tem o dever de reutilizá-lo, reciclá-lo ou dispor em local sanitário e ambientalmente adequado (BRASIL, 2010), o valor necessário para o tratamento e disposição final do resíduo gerado pode inviabilizar economicamente o processo. A reutilização deste torna-se algo necessário, além de ambientalmente mais adequado.

Com a finalidade de aumentar o rendimento e realizar o uso energético da biomassa formada pelos resíduos, novas tecnologias para a quebra do material lignocelulósico para a produção de biocombustíveis de segunda geração vem sendo utilizadas (PACHECO, 2011). Uma vez que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada atualmente pelas usinas brasileiras para produção do álcool, é incapaz de fermentar a outra fração dos açúcares presentes, que é a fração dos açúcares pentoses (SLININGER et al, 2014).

Grande parte das tecnologias citadas por Pacheco (2011) se baseiam em um pré-tratamento da biomassa com solventes, sendo que dentre os mais

atraentes segundo Ogeda & Petri (2010) estão os processos *organosolv*, fracionamento por ácido fosfórico e os baseados em líquidos iônicos (LIs).

Os LIs são frequentemente fluidos à temperatura ambiente e consistem inteiramente de espécies iônicas e sem pressão de vapor mensurável e, portanto, não pode emitir compostos orgânicos voláteis (VOCs). Em razão disso atraem, de maneira bastante justificável, uma enorme atenção da comunidade acadêmica para a síntese de solventes verdes (EARLY; SEDDON, 2000).

De acordo com Konda et al. (2014) o pré-tratamento com LIs poderia permitir uma rota economicamente viável para a produção de biocombustíveis, fornecendo meios eficientes para extrair açúcares e lignina da biomassa lignocelulósica. No entanto, para perceber isso, novos processos baseados em LIs precisam ser desenvolvidos a fim de minimizar os custos gerais de produção e acelerar a viabilidade comercial.

Os LIs apresentam também a vantagem da possibilidade de serem reciclados para uso posterior, como por evaporação da água introduzida durante a precipitação. Essa reciclagem fornece uma rota para uma fração rica em hemicelulose e um LI de qualidade consistente com características de dissolução da madeira. As hemiceluloses recuperadas têm um potencial significativo de utilização para aplicações de *commodities* e especialidades (AGRYLOPOULOS, 2012).

Ainda que o etanol de segunda geração não seja produzido comercialmente nos dias atuais, existem grandes investimentos, de vários países, para o desenvolvimento e estabelecimento de tecnologias que permitam processar diferentes resíduos vegetais para produção desse biocombustível. Segundo Pacheco (2011) há uma expectativa que a partir de 2020, o processo ganhe escala e tenha um custo de produção ainda menor que o produto atual.

Diante do exposto, este trabalho pretende desenvolver uma fonte alternativa para a produção de etanol de segunda geração, através do pré-tratamento com líquidos iônicos, a partir dos resíduos industriais do processamento da jabuticaba. Passível de ser utilizado como complemento aos combustíveis fósseis e biocombustíveis que necessitam de uma grande área plantada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir bioetanol, a partir da casca da jabuticaba, utilizando ou não líquidos iônicos como meio de fermentação, visando a mínima adição de açúcar, para atingir uma conversão favorável de etanol.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar líquido iônico de baixo custo para a realização do pré-tratamento.
- Analisar a etapa de fermentação alcoólica da casca da jabuticaba com a levedura do gênero *Sacharomise cerevisae*, adicionada à diferentes condições de fermentação, com e sem LIs.
- Avaliar a eficiência do pré-tratamento com LIs.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A JABUTICABA E GERAÇÃO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS

A Jabuticaba (*Myrciaria* sp.), vista na Figura 1 fixada em galhos, é uma fruta típica brasileira, rica em componentes de ação antioxidantes, ferro, fósforo, vitamina C e niacina. Sua produção, além de proteger a sociobiodiversidade, possibilita a geração de renda das famílias agricultoras, viabilizando suas propriedades (FRUTAS NATIVAS, 2016).

A jabuticabeira é nativa das regiões brasileiras de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais se estendendo até o Rio Grande do Sul. Sua fruta é comercializada *in natura* e tem-se também a produção industrial de sucos, fermentados, licores, aguardentes e produção artesanal de doces e geleias.

Figura 1 – Jabuticabas no pé



Fonte: Person (2016).

Segundo Lima et al. (2011) as jabuticabas Paulista (*Plinia cauliflora*), e Sabará (*Plinia jaboticaba*) possuem um grande teor de açúcares totais, principalmente frutose, sacarose e glicose. Contudo, a composição de açúcares pode variar de acordo com a estação, isto é, o inverno por possuir um fotoperíodo mais curto pode ocasionar a diminuição da quantidade de açúcar da fruta.

Além dos açúcares e vitaminas, a jabuticaba contém também ácido cítrico, succínico, málico e os ácidos oxálico e acético em baixas concentrações. A concentração dos ácidos varia de acordo com a maturação da fruta (LIMA et al., 2011).

Em síntese, a jabuticaba é uma fruta abundante no Brasil, além de haver a possibilidade de mais de uma safra por ano, entretanto, muito de sua produção

é perdida pela rápida degradação dos frutos (BORGES et al., 2011). Portanto, como observado por Cunha et al. (2008) e Martins e Farias (2002), a industrialização da jabuticaba é uma alternativa de grande importância, para a rentabilidade econômica de sua produção, mas que possui entraves ambientais, quanto a geração de resíduos sólidos.

Por outro lado, a fruticultura brasileira vive um de seus momentos mais dinâmicos. Os sistemas de cultivo e rastreamento mais eficientes, em conjunto com a responsabilidade social e ambiental, fazem com que ocorra a ampliação da oferta de frutas para a população brasileira. Ademais, as frutas são grandes aliadas ao combate do sobrepeso da população. Ainda que, no Brasil, a cultura é a ingestão de frutas como sobremesa, interferindo diretamente no baixo consumo destas pela população nacional (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015).

Com o objetivo de aumentar o tempo de prateleira, em razão do baixo consumo de frutas *in natura*, a industrialização tornou-se uma excelente alternativa para o destino das frutas, entre elas a jabuticaba, foco do presente trabalho. Segundo Cunha et al. (2008) a indústria de processamento de frutas compreende a transformação primária e secundária, e seu produto pode ser insumo de outras indústrias ou ser destinado a rede de atacado e varejo.

O processamento das frutas favorece sua conservação. Entretanto, de acordo com Martins e Farias (2002) esta indústria gera uma grande quantidade de resíduos que quando não aproveitados podem ser fontes de poluição. Após o processamento da fruta, resta um montante de cascas e sementes, formando o resíduo conhecido como bagaço.

As problemáticas ambientais são mais visíveis quando se tratam de resíduos sólidos, principalmente pelo fato de não existirem, muitas vezes, tratamentos adequados, tornam-se geradores de graves problemas de degradação ambiental. Contudo, o termo resíduo refere-se a algo que possui valor agregado, o que ocasionou a estimulação do reaproveitamento do processo produtivo e da política de resíduos sólidos, visando a sustentabilidade econômica e ambiental (DEMAJOROVIC, 1995).

A sensibilização ambiental tornou-se forte no final do século XX, a partir deste período, o setor agroindustrial, responsável pela geração de grandes

quantidades de resíduos, deteve o desafio de equilibrar a produção com o crescimento econômico (PINTO et. al., 2005).

Com a instituição da política nacional de resíduos sólidos, os fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes passaram a dispor da responsabilidade compartilhada do ciclo de vida dos produtos e manejo dos resíduos sólidos. Sendo estes obrigados a prezar por uma menor geração de resíduos sólidos no processo de produção. Assim como executar, *a priori*, a reutilização em segundo caso, o tratamento ou em último caso, não havendo opção técnica disponível, realizar disposição final em local adequado, seguro ambiental e sanitariamente (BRASIL, 2010).

De acordo com Zoche et al. (2015) uma maneira de reaproveitar os resíduos como matéria-prima rica em açúcares para outros processos, gerando um retorno econômico favorável, é a fermentação alcoólica. Esta, consiste na transformação dos açúcares em álcool e gás carbônico, sendo efetuada por microrganismos.

Da fruta obtém-se sucos, doces e geleias, bem como, de forma artesanal, licores, aguardentes, vinhos e vinagres. Após o processamento da fruta, resta o resíduo, composto basicamente de casca, como é possível visualizar na Figura 2. Um destino alternativo para tal resíduo é a obtenção do extrato das cascas de jabuticaba a partir do contato com água e concomitante fermentação alcóolica na presença de levedura.

Figura 2 – Resíduo Industrial da Jabuticaba



Fonte: Quitete (2018).

Quanto maiores as concentrações de açúcar, maiores os teores de etanol resultante do processo fermentativo. A adição de açúcar ao extrato de

jabuticaba, quando necessária, apresenta efeitos positivos, para a elevação da concentração de etanol. Entretanto, mesmo sem a adição de açúcar o produto da fermentação espontânea resulta em teores etanólicos consideráveis, indicando riqueza de compostos fermentáveis na fruta (ZOCHE et al., 2015).

Segundo Terzi (2004), estabilizando o pH entre 3 e 5, pode-se obter diferentes durações da vida útil do extrato de bagaço da jabuticaba, de acordo com o local de armazenamento, como pode ser observado na Tabela 1. A conservação da matéria-prima e de produtos é extremamente importante para o mercado e o aumento ou diminuição de sua vida útil interfere diretamente na valorização do produto (DIAS et al., 2001).

Tabela 1 – Armazenamento e período de vida útil do extrato aquoso e extrato alcóolico do bagaço da jabuticaba

Armazenamento	Período
Extrato aquoso armazenado em temperatura ambiente	15 dias
Extrato aquoso armazenado na geladeira	1 mês
Extrato aquoso armazenado no freezer	12 meses
Extrato alcóolico armazenado em temperatura ambiente	12 meses
Extrato alcóolico armazenado na geladeira	12 meses
Extrato alcóolico armazenado no freezer	12 meses

Fonte: Terzi (2004).

3. 2 ETANOL

Em função dos vários tipos de biocombustíveis, estes podem ser classificados, de forma geral, entre biocombustíveis de primeira à terceira geração (MOTA; MONTEIRO, 2013).

O etanol de primeira geração compreende o combustível gerado a partir do açúcar simples, já o de segunda geração é sintetizado a partir da celulose (MOTA; MONTEIRO, 2013). Ademais, segundo Leite e Leal (2007) a produção de etanol de primeira geração no Brasil é consolidada e apresenta expectativas de crescimento, para que, além de substituir a gasolina no mercado interno torne-se um produto para exportação. A busca por biocombustíveis a partir de biomassa sem competir com a produção de alimentos, deu origem a terceira geração. Destaca-se o aproveitamento do lixo urbano orgânico como matéria-prima para produção de bioetanol, e o uso algas e microalgas. Pesquisadores já sinalizam a quarta geração, em que a produção é feita a partir de microrganismos

geneticamente modificados - culturas com alta eficiência de captação solar - capazes de degradar celulose e convertê-la em álcool diretamente.

Segundo Suarez et al. (2011) o debate de biocombustíveis é travado na América Latina por países que defendem sua produção em grande escala como uma alternativa economicamente viável para substituição de combustíveis fósseis, e países que argumentam que essa alternativa pode aumentar problemas sociais e a fome.

O etanol é um combustível alternativo aos combustíveis fósseis, potencializado no Brasil pelo programa Proálcool e pode ser obtido através de três maneiras gerais, sintética, fermentativa e destilatória. Isto é, por via sintética

obtem-se o etanol através de derivados fósseis, já a fermentação, possui peculiaridades como ser a maneira mais importante de se produzir álcool etílico no Brasil, pelo grande número de matérias-primas disponíveis em todo o país, cujo o objetivo é a transformação do açúcar em etanol. Por fim, na destilação, o etanol é separado sob a forma de uma mistura hidroalcólica (LIMA et al., 2011).

Os estudos em relação ao etanol atualmente referem-se, em maior número a produção de etanol combustível. Entretanto, ainda que haja atualmente uma gama considerável de pesquisas relacionadas a sua produção, a consolidação do etanol como combustível necessita de novas tecnologias. Em decorrência ao desenvolvimento dessas pesquisas, fundamentou-se um novo conceito chamado bioetanol, cujo refere-se à produção de etanol a partir de açúcares encontrados em vegetais ou, sobra de produtos naturais (BASTOS, 2007).

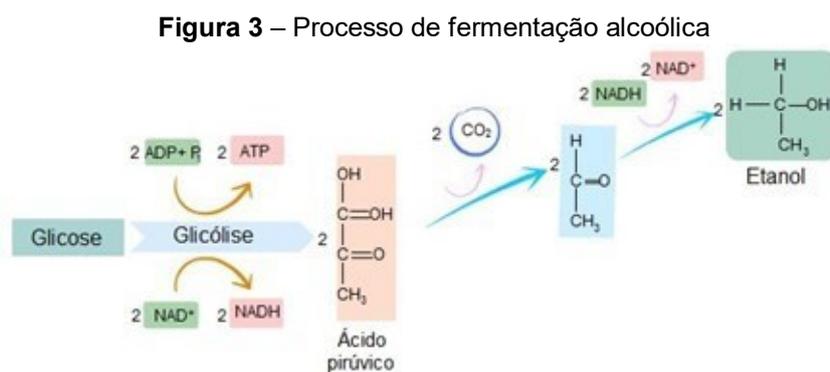
Deste modo, a principal matéria-prima do etanol no Brasil atualmente é a cana-de-açúcar, principalmente pelo fato do Brasil ser também, o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (BRASIL, 2018). O etanol é uma saída bastante eficaz para problemas ambientais, pois, segundo Gazzoni (2008), gera menos gases de efeito estufa. Contudo, o crescente aumento do uso da cana-de-açúcar para a produção de etanol estimula também o agronegócio do etanol e reduz a produção de alimentos (OLIVEIRA, 2009).

3. 3 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

Os primeiros usos da fermentação foram para a produção de bebidas e pão, a partir de cereais e frutas, há mais de 4.000 anos. Entretanto, apenas em 1815, Gay-Lussac realizou a formulação da estequiometria do processo e

Pasteur, em 1863 demonstrou sua natureza anaeróbia. Por consequência, após este período, foram realizadas diversas pesquisas que resultaram em um conhecimento mais aprofundado das reações enzimáticas que ocorrem dentro da levedura e são responsáveis pela transformação química do açúcar em etanol e gás carbônico (LIMA et. al., 2001).

A transformação de açúcar em etanol (Figura 3) processa-se no citoplasma celular, envolve 12 reações químicas, cada qual com sua própria enzima para catálise. Além disso, no processo de fermentação, a levedura mais estudada e utilizada é do gênero *Saccharomyces*, uma vez que, esta pode ajustar-se metabolicamente, tanto para processos aeróbios (com a presença de oxigênio) como anaeróbios (sem a presença de oxigênio). Além disso, o processo fermentativo é extremamente dependente da levedura, ou seja, é diretamente afetado pelo tipo de levedura que o executa (LIMA et al., 2001).



Fonte: Santos (2011).

No processo de fermentação do açúcar para produção de etanol, ocorre a síntese de produtos intermediários, por meio de rotas metabólicas alternativas, fator que resulta em um rendimento de aproximadamente 95% etanol. Assim, uma maneira de realizar o aumento dessa conversão, sem negligenciar as condições metabólicas mínimas das leveduras, é a alteração das condições físico-químicas, uma vez que produtos da reação de fermentação dependem principalmente das condições do ambiente que a levedura se encontra (LIMA et al., 2001).

Segundo Lima et al. (2001) os fatores que afetam a fermentação podem diminuir ou aumentar a conversão de açúcar em etanol. Na maioria dos casos, a diminuição da síntese de etanol ocorre em razão de uma alteração na

estequiometria do processo, ocasionando a maior formação de produtos secundários. As leveduras, são os microrganismos mais importantes para a produção do álcool, ainda que sua produção possa ser realizada com bactérias.

Além das leveduras, o processo também pode ser alterado pela nutrição mineral e orgânica, uma vez que as leveduras necessitam de uma fonte de carbono elaborada para o fornecimento de energia, como vitaminas e sais minerais. Em específico, levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada neste trabalho, não apresenta aptidão metabólica para aproveitar o nitrato e as proteínas do meio, de modo que utiliza o nitrogênio de maneira amoniacal (NH^+4), de ureia ou na forma de aminoácidos (LIMA et al., 2001).

Para o processo de fermentação para produção de etanol, os fatores considerados para o maior rendimento possível no processo são a agitação, que deve ocorrer no início da fermentação, para multiplicação das leveduras e ser evitada no final, a manutenção da temperatura, o pH, com o intuito de inibir o desenvolvimento de bactérias indesejadas e estimular o crescimento das leveduras, nutrientes, substrato e contaminantes bacterianos (SOUZA; MONTEIRO, 2011).

O processo de fermentação para a produção de etanol industrialmente ocorre dentro de biorreatores ou reatores bioquímicos, uma vez que as reações ocorrem com a presença de células vivas. Existe uma grande gama de classificação de biorreatores, entretanto, o mais utilizado industrialmente são os reatores agitados mecanicamente (CSTR) e para escala de bancada o reator batelada (SCHMIDELL et al., 2014).

Um processo alternativo utilizado na produção de etanol de segunda geração é a adição de líquidos iônicos (LIs) para o tratamento da celulose, resultando em uma melhor conversão do bagaço de cana-de-açúcar em etanol (OGEDA; PETRI, 2010). Uma vez que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* não consegue utilizar a celulose, a pré-quebra de celulose em glicose pode vir a aumentar o rendimento da fermentação.

3. 4 LÍQUIDOS IÔNICOS

Líquidos iônicos são sais compostos por um cátion orgânico de tamanho superior ao ânion orgânico ou inorgânico. Esses íons interagem fracamente e formam um retículo cristalino de baixa energia responsável pelo baixo valor de

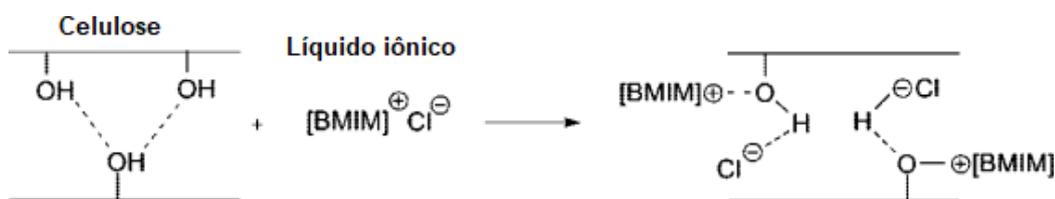
temperatura de fusão em relação aos sais, comumente inferior a 100 °C (WILKES, 2002).

Os primeiros relatos encontrados sobre LIs foram apresentados por Gabriel e Weiner em 1888. Após 26 anos, Walden (1914) sintetizou um dos primeiros LIs à temperatura ambiente, o nitrato de etilamônio, com ponto de fusão 12 °C. Com a evolução da pesquisa, no início da década de 90, LIs estáveis em ar e água foram sintetizados (WILKES e ZAWOROTKO, 1992), sendo solúveis ou insolúveis em água.

De acordo com Campello, Fischer e Hungerbühler (2007) os solventes definem uma parte importante do desempenho ambiental dos processos na indústria química e também afetam as questões de custo, segurança e saúde. A ideia de solventes verdes expressa o objetivo de minimizar o impacto ambiental resultante do uso de solventes na produção química.

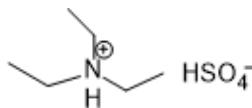
Uma das áreas mais promissoras para a utilização de LIs é na quebra da celulose, segundo Pinkert et al. (2009) os átomos de oxigênio e hidrogênio da molécula de celulose formam complexos doador-elétron-doador (EDA), com as cargas do LI. Esse mecanismo (Figura 4) tem sido sugerido, principalmente entre os grupos hidroxila C-6 e C-3 de cadeias de celulose vizinhas. Essa interação resulta na separação dos grupos hidroxila da celulose diferentes cadeias levando à dissolução da celulose no LI.

Figura 4 – Equação de quebra da celulose utilizando LI



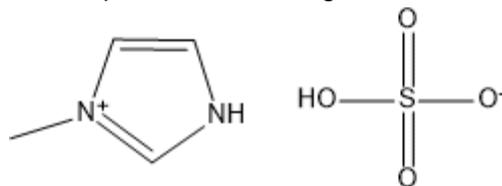
Fonte: Autoria própria (2019).

Um dos líquidos iônicos tidos como mais promissores é o hidrogenossulfato trimetilamônio, que possui a fórmula estrutura apresentada na Figura 5. Em razão de ser um LI de baixo custo e por isso, pode vir a se tornar competitivo com produtos químicos de pré-tratamento mais baratos, visto que o custo de LIs é um dos principais impedimentos para a utilização desse na biorrefinaria celulósica, especialmente na etapa de pré-tratamento (George et al., 2014).

Figura 5 – Fórmula estrutural do LI hidrogenossulfato de trimetilamônia

Fonte: Autoria própria (2019).

Outro importante líquido iônico, muito utilizado em conjunto com a celulose, é o hidrogenossulfato de metilimidazol (Figura 6), com muitas variações como o hidrogenossulfato de 1-butyl-3-metilimidazol, utilizado para a produção de cristais de celulose (TAN et al., 2015). Também podem ser utilizados na catálise da reação de quebra da celulose e diretamente na quebra da celulose (LIU et al., 2013).

Figura 6 – Estrutura química do LI hidrogenossulfato de metilimidazol

Fonte: Autoria própria (2019).

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES TOTAIS

A determinação de açúcares totais foi realizada com para a casca de jabuticaba úmida triturada e a casca da jabuticaba seca triturada, pelo método de DNS (MILLER, 1959) segundo MALDONADE et al. (2013) com modificações. Consiste na reação entre o açúcar redutor e o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) de cor amarelo, que é reduzido a um composto colorido avermelhado, o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico. As amostras eram preparadas segundo o método e submetidas à leitura da absorbância em espectrofotômetro (modelo e marca) a 540 nm. Primeiramente foram realizadas diluições da solução padrão de glicose de 1 g/L em tubos de ensaio. Os tubos foram então agitados, e uma alíquota de 1 mL de cada tubo foi retirada para a construção da curva-padrão.

Os dados obtidos foram plotados em uma planilha do Excel, a concentração de glicose (g/L) no eixo y e a absorbância obtida com o teste de DNS no eixo x.

4.1.1 Preparação das amostras para a determinação de açúcares

Foram pesados 10 g de extrato de jabuticaba bruto triturado e água destilada foi adicionada até completar 50 mL, em seguida a solução foi centrifugada. Em um tubo de ensaio e diluída 5 vezes para a realização do teste.

Para uma segunda amostra, foram pesados 10g de extrato de jabuticaba triturada e seca e adicionou-se água até completar 500 mL. A solução foi centrifugada e diluída 10 vezes. Em seguida era realizada a leitura da absorbância.

4.2 SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)

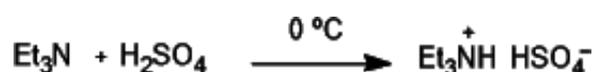
A determinação de sólidos solúveis foi realizada com a casca de jabuticaba úmida triturada e a casca de jabuticaba após o pré-tratamento, antes da etapa de secagem. Para a determinação de sólidos solúveis um Refratômetro Analógico Portátil - Faixa de Medição (BRIX) 0 a 32% (Modelo RHB32, BIOBRIX) foi utilizado. Com auxílio de uma pipeta de Pasteur, duas gotas da amostra foram

dispostas sobre o prisma do aparelho, e a leitura foi feita diretamente na escala de grau Brix.

4.3 SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO HIDROGENOSSULFATO DE TRIMETILAMÔNIO

Inicialmente, 243 mL de ácido sulfúrico 98% e 450 mL de água destilada foram homogeneizados em um *erlenmeyer* com auxílio de um banho de gelo. Em seguida, essa solução foi gotejada à 627 mL de trimetilamina e agitada durante 2 horas, também na presença de banho de gelo. Após, a solução foi levada ao rotaevaporador durante 1 hora para a remoção da água (GSCHWEND et al., 2018). A reação de síntese apresentada na Figura 7.

Figura 7 – Reação de síntese do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio



Fonte: Autoria própria (2019).

Também foi realizada a caracterização do LI por espectro de Ressonância Magnética de Prótons, em um aparelho VARIAN-400 na central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE-Recife - RMN ^1H (400, D₂O) δ 1,1 ppm (t, J=7,6 Hz, 2H), δ 3,0 ppm (t, J=7,2 Hz, 4H), localizado na central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE-Recife. Foi utilizado água deuterada como solvente.

4.4 PRÉ-TRATAMENTO DA CASCA DA JABUTICABA

O pré-tratamento foi realizado de acordo com Yousif & Abdulhay (2017) com modificações. Para o pré-tratamento, uma hidrólise líquida iônica foi conduzida. Inicialmente a solubilização dos materiais lignocelulósicos nos líquidos iônicos (LIs) foi realizada pela mistura de 50 g de cascas de jabuticaba, trituradas e secas no LI. Primeiramente, com o LI hidrogenossulfato de trimetilamônio, e em seguida variou-se o LI, sendo então o hidrogenossulfato de metilimidazólio, adquirido da Sigma Aldrich. O procedimento de solubilização foi realizado em triplicata, agitando por 20 min a 130 °C. O extrato bruto de

jabuticaba pré-tratado foi lavado com água destilada, seguida de centrifugação por 20 min.

4.5 FERMENTAÇÃO

A fermentação foi realizada de acordo com Fortes (2012) e Paraluppi (2017). As cascas de jabuticabas reunidas foram imersas em uma solução aquosa de hipoclorito de sódio durante 20 min para sanitização, então, foram trituradas com auxílio de um liquidificador e armazenadas no freezer doméstico a -18 °C. Para a ativação das leveduras foram adicionados 0,5 g de *Saccharomyces cerevisiae* em 25 mL de uma solução aquosa de água e sacarose, 5% em massa, em um erlemeyer e mantidos na estufa a uma temperatura de 40 °C durante 1 hora.

As cascas úmidas de jabuticabas foram pesadas para os ensaios de fermentação sem pré-tratamento. Enquanto as cascas de jabuticabas pré-tratada foram secas em estufa durante 24 h à 40 °C e pesada.

Para a realização da fermentação, foram adicionados em um *kitassato* 0,5 g de casca de jabuticaba triturada, 1000 mL de água, 0,05 g de metabissulfito, para o controle de microorganismos que pudessem vir a competir com a *Saccharomyces cerevisiae* presente na solução de levedura já ativada. Foi acoplada uma mangueira higienizada na abertura secundária do *kitassato*, com a saída mergulhada em um *becker* com água. A abertura principal do *kitassato* foi vedada com auxílio de uma rolha de silicone, e o sistema foi envolto em papel alumínio para evitar a entrada de luz. Após o período de fermentação indicado a seguir.

Os ensaios de fermentação foram preparados em três diferentes condições, apresentadas abaixo, para a casca de jabuticaba úmida e com pré-tratamento. A quarta condição de fermentação (D) foi realizada apenas com a casca da jabuticaba úmida, sem pré-tratamento.

- A. Temperatura ambiente, utilizando agitação e período de fermentação de sete dias.
- B. Com controle de temperatura em 30 °C e período de fermentação de cinco dias.
- C. Com controle de temperatura em 30 °C e agitação no início do processo e período de fermentação de cinco dias.

D. Correção de sólidos solúveis totais com adição de açúcar até atingir 22 °Brix, com controle de temperatura em 30 °C e período de fermentação de cinco dias.

Após o período de fermentação o mosto fermentativo foi destilado para a separação do álcool.

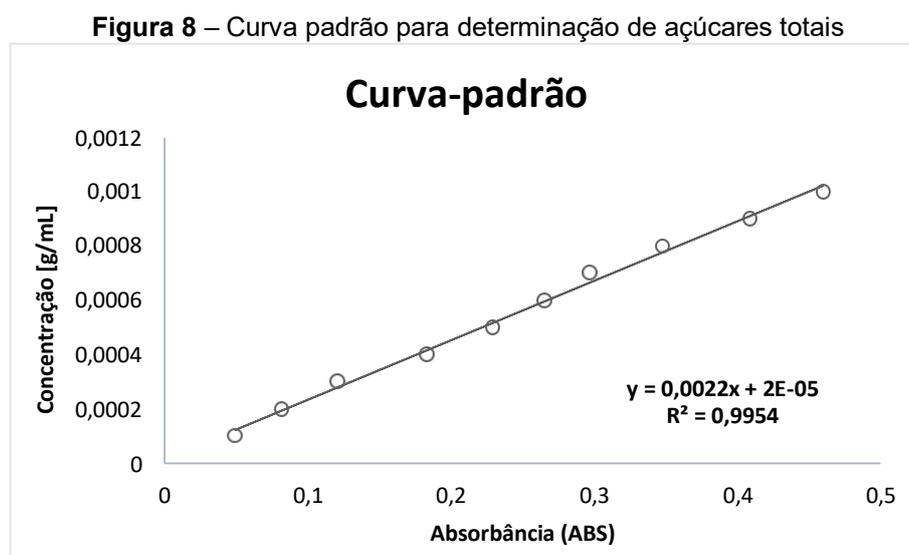
4.6 DETERMINAÇÃO DE TEOR DE ÁLCOOL

A determinação do teor alcoólico foi realizada através da densidade em relação à água (densidade relativa) através de medidas da massa do líquido que ocupa um volume conhecido com auxílio de um picnômetro. Os picnômetros são considerados precisos, pois propiciam a pesagem de volumes exatamente iguais de líquidos, a uma dada temperatura. Da relação destes pesos e volumes resulta a densidade dos mesmos à temperatura da determinação. A partir de uma tabela de conversão de densidade (Anexo A) para porcentagem de álcool é feita a quantificação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 AÇÚCARES TOTAIS

Para a determinação dos açúcares totais, pelo método de DNS, realizou-se um ajuste linear, apresentado na Figura 8, com os dados de absorvância obtidos no Espectrofotômetro UV/Vis das diluições de uma solução aquosa de glicose (1 g/L).



Fonte: Autoria própria (2019).

A partir da equação apresentada na Figura 8, foi possível calcular a concentração de açúcares presentes nas cascas de jabuticabas úmidas, explicitados na Tabela 2, de acordo com a Equação (1), abaixo, utilizado para a fermentação sem pré-tratamento e a casca de jabuticaba seca, e para a realização do pré-tratamento e posteriormente fermentação.

$$\text{Concentração} = 0,0022 * \text{ABS} + 0,00002 \quad (1)$$

Tabela 2 – Concentração de açúcares totais na casca de jabuticaba

Amostra	Concentração de açúcares totais [g/mL]
Casca de jabuticaba úmida	0,095
Casca de jabuticaba seca	1,1896

Fonte: Autoria própria (2019).

Segundo Gutierrez et al. (1976) a concentração de açúcares totais no suco de jabuticaba, é de aproximadamente 0,1 g/mL, valor que se aproxima da concentração de açúcares obtidos na casca da jabuticaba úmida. Além disso, a casca de jabuticaba seca apresentou mais açúcares comparada ao suco ou a casca úmida, devido à concentração pela retirada da água.

Ainda segundo Gutierrez et al. (1976), em relação aos sólidos solúveis totais (SST), a casca da jabuticaba *sabará* apresenta em torno de 11,6 °Brix e a polpa 14,13 °Brix, ou seja, valores muito próximos, similarmente como demonstrado no teste da concentração de açúcares totais. O mesmo acontece para a jabuticaba *paulista*, contendo 12,14 ° Brix na polpa e 11,6 °Brix na casca. No presente trabalho, os valores de sólidos solúveis totais foram de 9 °Brix e 52 °Brix para a casca de jabuticaba bruta e após pré-tratamento, respectivamente. Deve ser observado que para o teste do teor de SST, leva-se em consideração outros sólidos, não apenas os açúcares totais obtidos pelo método DNS, de modo que o valor elevado pode estar relacionado com resíduos do LI que permaneceram na casca da jabuticaba, mesmo após a etapa de separação. A jabuticaba pode apresentar variações de suas propriedades, como massa, cor, tempo de conservação, acidez e SST de acordo com a região de cultivo. No estado de São Paulo, o teor de SST provenientes de 10 regiões de cultivo diferentes apresentou uma variação de 11,6 a 17,9 °Brix (OLIVEIRA, et al., 2003).

5.2 SÍNTESE E UTILIZAÇÃO DE LIs PARA A QUEBRA DA CELULOSE

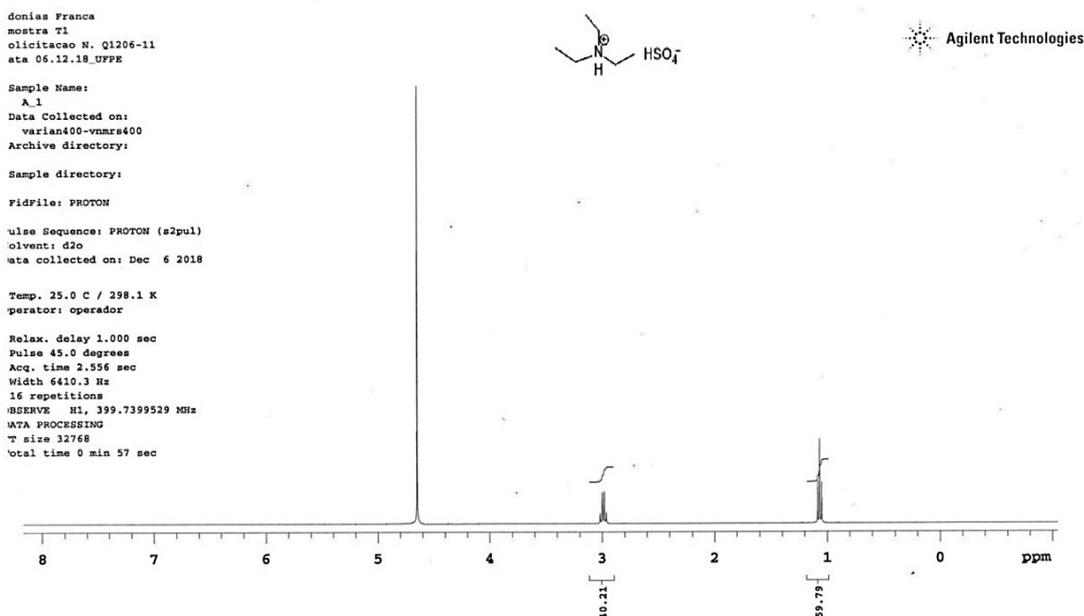
O aparato experimental utilizado para a síntese do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio é apresentado na Figura 9. Obteve-se 98% de rendimento, determinado a partir da caracterização por espectroscopia, como é possível observar no espectro de ressonância magnética de prótons (Figura 10), a partir do Ponto 1,1 ppm, um tripleto atribuído ao CH₃ final, e no Ponto 3 ppm, um quadrupletto referente ao grupamento CH₂.

Figura 9 – Aparato para síntese do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio



Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 10 – Espectro de ressonância magnética de prótons do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio



Após a pesagem da casca de jabuticaba seca e triturada, foi realizado o pré-tratamento com hidrogenossulfato de trimetilamônio, apresentado na Figura 11, anteriormente sintetizado, para a realização do Experimento A. Segundo Zhu et al. (2006) o fracionamento de materiais lignocelulósicos e preparação de derivados de celulose e compósitos são duas das suas aplicações usuais. Embora

alguns estudos básicos, como a síntese econômica de líquidos iônicos, ainda são necessários para a comercialização desses produtos com um preço mais acessível.

Segundo Brandt et al. (2011), os líquidos iônicos contendo os ânions sulfato de metila, sulfato de hidrogênio e metanossulfonato são mais eficazes em termos de fracionamento lignina/celulose e aumento da digestibilidade da celulose, possibilitou tornar o processo economicamente viável.

Figura 11 – Pré-tratamento da casca de jabuticaba com LI (hidrogenossulfato de trimetilamônio)



Fonte: Autoria própria (2019).

Para os testes dos Experimentos B e C, o pré-tratamento da casca de jabuticaba foi realizado com o LI hidrogenossulfato de metilimidazolio, como apresentado na Figura 12, pela disponibilidade deste e em razão da dificuldade financeira para a compra de reagentes necessário para uma nova síntese de hidrogênio sulfato de trimetilamônio. Entretanto, o hidrogenossulfato de metilimidazolio é considerado um LI de alto custo, fator que pode ser contornado realizando um processo com menor consumo de LI e/ou estratégias de separação que permitam maior reciclagem (SEN et al., 2012).

Resíduos de celulose, hemicelulose e outros componentes também podem ser recuperados como combustível sólido ou coprodutos de valor agregado, para que o processo se torne economicamente mais viável (ZHENG, et al., 2009).

Figura 12 – Pré-tratamento da casca de jabuticaba com LI (hidrogênio-sulfato de metilimidazólio)



Fonte: Autoria própria (2019).

A fermentação com e sem pré-tratamento, foi realizada conforme a Figura 13. O aparato foi sanitizado com uma mistura aquosa de hipoclorito de sódio, sendo obtidos resultados eficientes na redução da carga microbiana presente nos alimentos (BEZERRA, 2015), uma vez que a presença de microrganismos contaminantes, é um dos grandes entraves industriais para um bom rendimento no processo de fermentação, principalmente se o local de armazenagem da matéria-prima apresenta umidade (PASCHOALINI; ALCARDE, 2009).

Figura 13 – Sistema de fermentação da casca de jabuticaba



Fonte: Autor (2019).

A destilação do mosto após a fermentação para obtenção do etanol foi realizada utilizando um aparato apresentado na Figura 14. Se obteve uma

solução composta de álcool e água, cuja a densidade foi calculada com auxílio de um picnômetro.

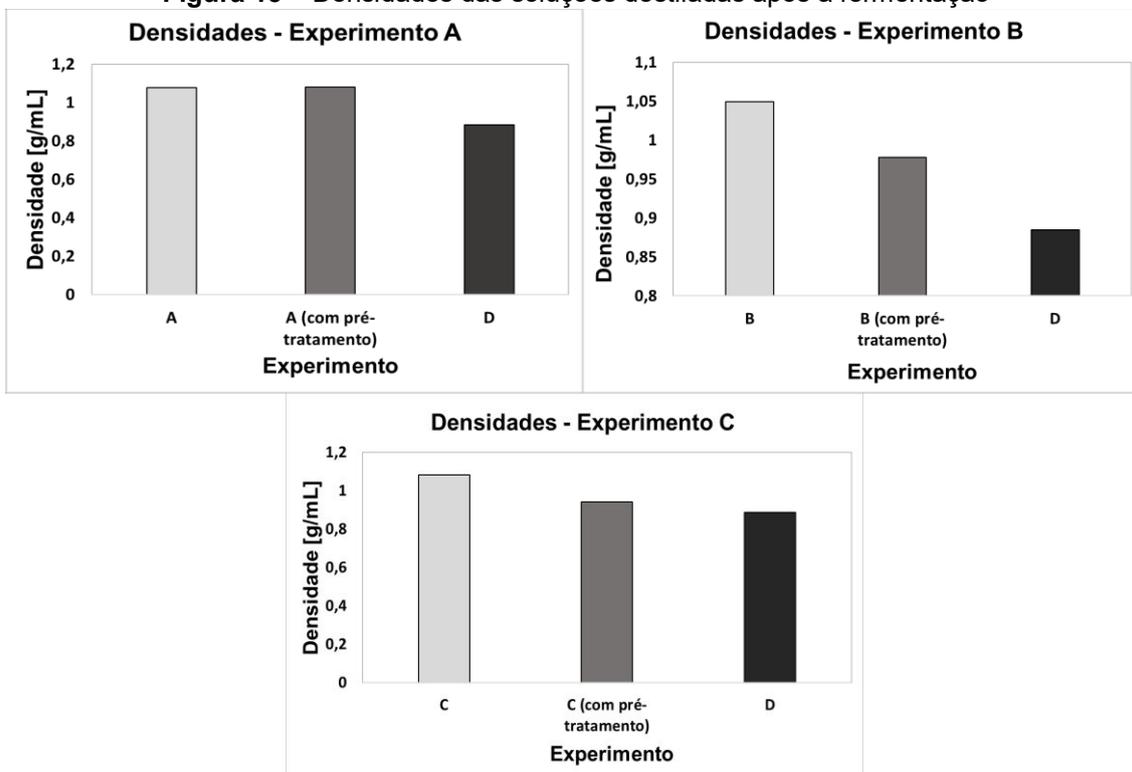
Figura 14 – Sistema de destilação do mosto



Fonte: Autoria própria (2019).

Foram analisadas as soluções com e sem pré-tratamento, de acordo com as condições de fermentação a partir da determinação da densidade em picnômetro. Os dados são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Densidades das soluções destiladas após a fermentação



Fonte: Autoria própria (2019).

Sendo o Experimento A com agitação em todo o período de fermentação, cinco dias, Experimento B com controle de temperatura em todo o período de fermentação, sete dias, Experimento C com agitação no início do processo e controle de temperatura em todo o período de fermentação, cinco dias, e o Experimento D, que simulou as condições ideais de fermentação de um processo de produção de etanol realizado industrialmente, corrigindo os SST com adição de açúcar até atingir 22° Brix, controle de temperatura durante toda a fermentação com duração de cinco dias.

Pode-se observar na Figura 15, que as densidades do experimento realizado com a concentração ideal de açúcar, Experimento D, foram perceptivelmente menores comparadas aos Experimentos A, B e C, sem o pré-tratamento e o Experimento A com pré-tratamento.

Em relação aos Experimentos B e C realizados com o pré-tratamento, as densidades se aproximaram do Experimento D. De acordo com César et al. (2013), a densidade relaciona conceitos como compressão e empacotamento. Assim, quanto maior for o empacotamento dos átomos, mais densa é a substância. Além disso, cada substância pura possui uma densidade própria e a densidade das misturas é uma função da sua composição, dessa maneira, pode-se calcular a porcentagem de etanol em uma solução a partir da densidade desta.

Em uma mistura água-etanol, as moléculas de etanol são orientadas na superfície, de tal forma que o grupo alquila aponta para fora da solução. O número de moléculas de água envolvidas na ligação de hidrogênio com as moléculas de etanol diminui por um fator de 2 entre a superfície e o volume, de maneira que ao aumentar a concentração de etanol na solução, a densidade tende a diminuir (TAREK et al., 1996). De modo que, os valores menores de densidade dos testes utilizando pré-tratamento nos Experimentos B, C e D podem indicar maior concentração de etanol.

Ademais, um dos fatores de maior importância na fermentação, segundo Lima et al. (2001), é o pH, uma vez que altera as condições do mosto fermentativo induzindo uma maior produção de etanol, conseqüentemente, uma menor densidade nas soluções destiladas. Em razão disso, foi medido o pH no início de cada fermentação, havendo a adição de bicarbonato de sódio para a

correção do pH dos Experimentos B e C com pré-tratamento, até um valor próximo a 4, como apresentado no Tabela 3.

Tabela 3 – pH no início da fermentação

Experimento	pH
A	3,40
A (com pré-tratamento)	0,35
B	3,35
B (com pré-tratamento)	3,90
C	3,36
C (com pré-tratamento)	4,2
D	4,1

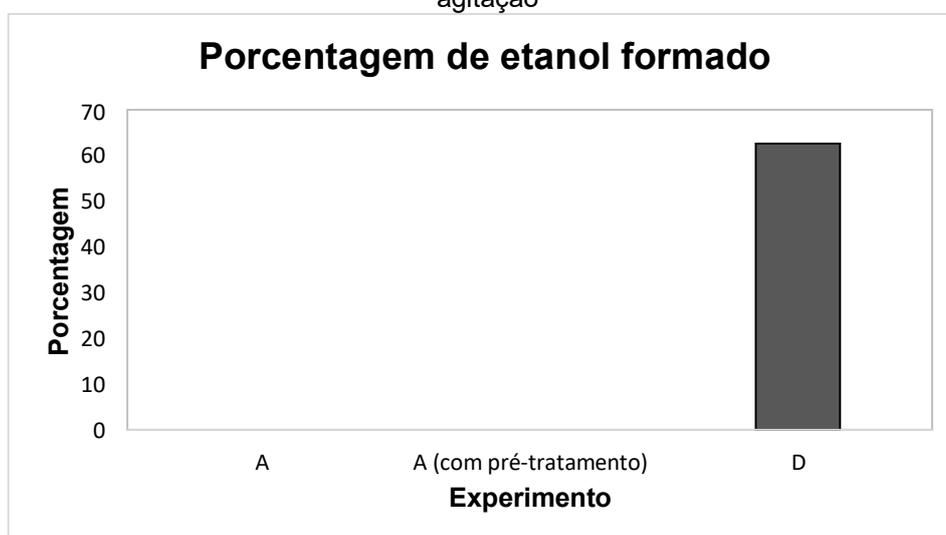
Fonte: Autor (2019).

Observa-se que o pH dos Experimentos A, B, C e D sem pré-tratamento e os Experimentos B e C com pré-tratamento obtiveram valores de pH entre 3 e 4, assim como Fortes (2012) e Silva et al. (2008), que alcançaram resultados favoráveis, com menor acidez volátil e maior porcentagem de etanol.

5.2.1 Experimento A

Uma vez que a densidade de uma mistura etanol-água é proporcional a concentração de álcool dessa mistura (TAREK et al., 1996), pôde-se calcular a porcentagem de etanol formado com base na massa, volume e temperatura. Assim, de acordo com o Anexo A, a porcentagem de etanol foi calculada e os dados para o experimento encontram-se na Figura 16 a seguir.

Figura 16 – Influência do pré-tratamento de jabuticaba em uma fermentação apenas com agitação



Fonte: Autor (2019).

Pode-se observar na Figura 16 que não houve detecção de etanol, ou seja, possivelmente, não ocorreu a formação de álcool na fermentação do Experimento A, com e sem pré-tratamento. Observa-se também a discrepância dos valores obtidos no Experimento A em relação ao Experimento D, que obteve aproximadamente 63% de etanol. Isso pode ser devido principalmente à falta de açúcar simples, glicose, para a fermentação, condições de fermentação, tipo de levedura e síntese de produtos intermediários (LIMA et al., 2001).

Também, pode-se constatar que ocorreram limitações no processo de produção, uma vez que há a presença de açúcares na casca da jabuticaba, como apresentado na Tabela 2. Fato que pode ser resultante de ineficiências no processo, contaminações e da solução destilada apresentar valores significativos de água, nas fermentações com e sem pré-tratamento, impossibilitando a detecção do etanol formado.

Considerando apenas a fermentação utilizando a casca de jabuticaba pré-tratada, sabe-se que o LI tem a função de quebrar as moléculas de celulose e disponibilizar açúcares simples para a fermentação utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Assim, porcentagem de etanol formado na fermentação utilizando pré-tratamento deveria ser, teoricamente, maior se comparado à fermentação da casca de jabuticaba bruta, nas mesmas condições de fermentação (YUSIF; ABDULHAY, 2017). Demonstrando que o LI utilizado, hidrogenossulfato de trimetilamônio, pode não ter sido efetivo para a quebra da celulose e produção de etanol nas condições de fermentação realizadas.

Além disso, uma possível entrada de oxigênio pode ter ocorrido, uma vez que este apresentou odor ácido ao final das fermentações, tanto nos experimentos com e sem pré-tratamento, indicando a ocorrência de fermentação acética, transformando o etanol produzido em ácido acético. A produção de ácido acético, ou vinagre, pode ser devido ao pH da fermentação da casca de jabuticaba pré-tratada, apresentado Quadro 4, abaixo dos valores que a fermentação para produção do etanol ocorre, aproximadamente 4,5 (TESARO et al., 2010). Também, segundo Aquarone et al. (2001), a formação de vinagre ocorre à medida de o álcool é consumido, assim, quanto maior o período fermentativo, menor concentração de álcool e maior a concentração de vinagre, o que poderia ter causado a ineficiência do processo.

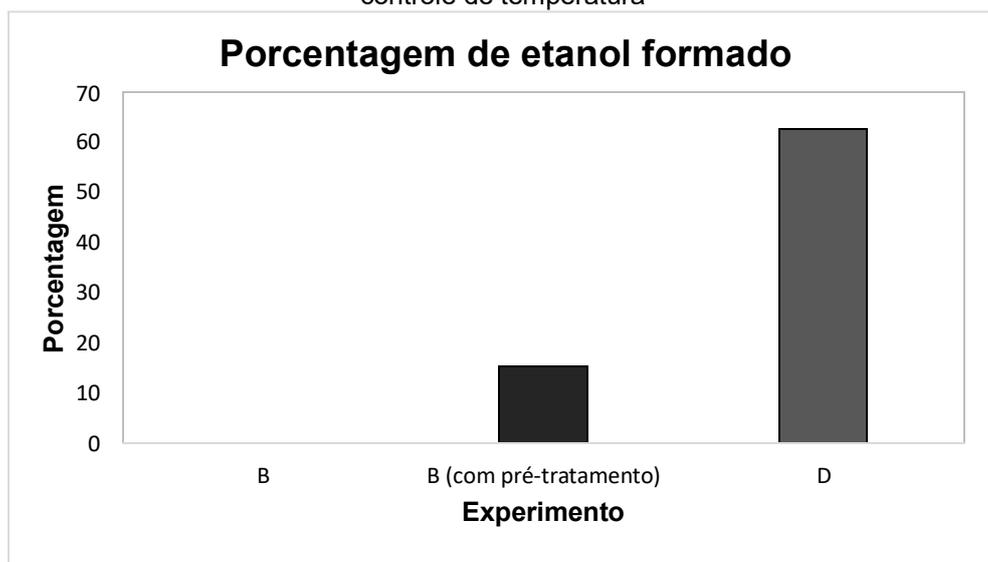
Segundo Silva et al. (2008), quanto maior o pH da fermentação da jabuticaba, menor é a acidez total e maior a acidez volátil do mosto fermentativo, quanto maior a acidez volátil, menor o teor alcoólico (TESARO et al. 2010). Ademais, ocorreu também uma ineficiência do processo de destilação, em razão do arraste de água, podendo-se concluir que a produção de etanol não realizou-se em condições ótimas indicando que a baixa porcentagem de etanol apresentada, pode ser devido também as condições do processo.

5.2.2 Experimento B

Para um segundo teste, Experimento B, foram-se adotadas condições mais rigorosas, para não ocorrência de contaminação e produção de vinagre. Com a adição de metabissulfito no mosto fermentativo, para inibição da proliferação de bactérias e outros microrganismos que pudessem competir com a *Saccharomise cerevisae* (FORTES, 2012). O tempo de fermentação foi alterado para cinco dias (PARALUPPI, 2017). Também ocorreu a correção do pH nas fermentações que utilizaram a casca de jabuticaba pré-tratada para valores ideais, como apresentado na Tabela 3, de acordo com Souza e Monteiro (2011).

Além disso, ocorreu a mudança do LI utilizado para o pré-tratamento da casca de jabuticaba, sendo utilizado para o Experimento B o hidrogenossulfato de metilimidazol. As porcentagens de etanol produzido com e sem pré-tratamento do experimento B, estão apresentados na Figura 17.

Figura 17 – Influência do pré-tratamento de jabuticaba em uma fermentação apenas com controle de temperatura



Fonte: Autor (2019).

Observa-se que ocorreu uma variação significativa em relação a porcentagem de etanol formado, considerando o processo que o LI foi utilizada para o pré-tratamento da casca da jabuticaba com melhora nas condições de fermentação e uma disponibilidade maior de açúcar simples na fermentação contendo pré-tratamento.

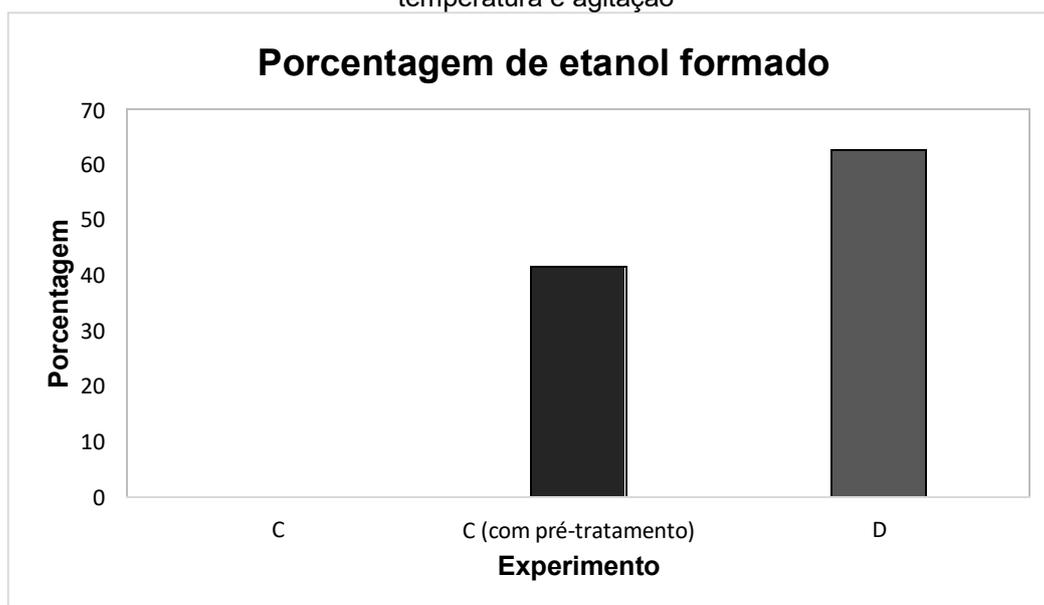
O aumento da porcentagem de etanol em relação ao Experimento A com pré-tratamento também pode ser devido à troca de LI, pois hidrogenossulfato de metilimidazolio pode ter apresentado uma melhor desenvoltura para a quebra da celulose, se comparado ao hidrogenossulfato de trimetilamônio. Entretanto, pode-se observar que a porcentagem de etanol formado ainda é baixa, aproximadamente 15,5%, indicando uma ineficiência no processo.

A eficiência da quebra da celulose por LI pode ter sido comprometida pela presença de água no processo de pré-tratamento, uma vez que a água diminui significativamente a solubilidade da celulose no líquido iônico (OGEDA; PETRY, 2010), o que pode ter interferido no pré-tratamento dos Experimentos A e B. Além disso, o hidrogênossulfato de trimetilamônio é um LI de baixo custo segundo Gschwend et al. (2018) o que poderia tornar o processo economicamente mais viável em comparação ao hidrogenossulfato de metilimidazolio.

5.2.3 Experimento C

Com o objetivo, de variar as condições de fermentação para obter uma produção de etanol máxima, a agitação foi utilizada no início da etapa fermentativa e a temperatura foi controlada em 30 °C durante toda a fermentação, baseado no trabalho de Lima et al. (2001). O LI utilizado foi o mesmo do Experimento 2B, metilimidazólio hidrogênio sulfato. Também foi adicionado metabissulfito para a inibição de contaminantes do meio fermentativo (FORTES, 2012). Os resultados em relação à porcentagem de etanol produzida referentes ao Experimento C encontram-se Figura 18.

Figura 18 – Influência do pré-tratamento da jabuticaba em uma fermentação com controle de temperatura e agitação



Fonte: Autor (2019).

Analisando a porcentagem de etanol com e sem pré-tratamento, pode-se observar a melhora significativa em sua produção, utilizando o LI. Entretanto, ainda que em condições ótimas de acordo com o trabalho de Lima et al. (2001), não foi possível detectar o etanol formado na fermentação da casca de jabuticaba bruta.

Pode-se observar que a porcentagem de etanol formado utilizando o pré-tratamento com LI no Experimento C, aproximadamente 41,5%, obteve

resultados notadamente mais satisfatórios se comparado aos outros testes com e sem pré-tratamento. Similares as porcentagens de etanol obtidas no Experimento D, com correção de açúcares, indicando uma maior eficiência do processo com a utilização de pré-tratamento, sendo necessária uma menor adição ou a não adição de açúcares.

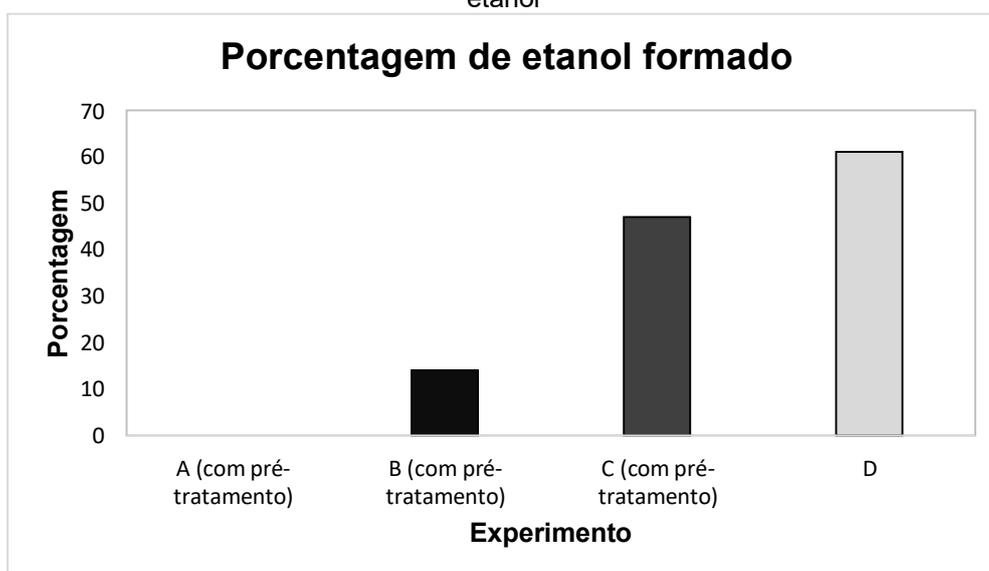
Segundo Brandt et al. (2011), os líquidos iônicos contendo os ânions sulfato de metila, sulfato de hidrogênio e metanossulfonato apresentam melhor resultados no fracionamento de celulose se comparados à outros tratamentos como hidrólise ácida ou hidrólise enzimática.

Além disso, a porcentagem de etanol obtida no Experimento D com pré-tratamento, foi similar à porcentagem de etanol formado pela hidrólise do amido de mandioca (SANTANA et al., 2010), próximo dos 45%, superior a alguns citados pela literatura e do máximo teórico.

5.2.4 Condições de fermentação

Para análise das condições de fermentação entre os Experimentos A, B, C e D, e a porcentagem de etanol formada para fermentação realizada com pré-tratamento utilizando o LI hidrogenossulfato de trimetilamônio e hidrogenossulfato de metilimidazolio, foram plotados os dados de todos os Experimentos realizados com pré-tratamento e o Experimento D, apresentados Figura 19.

Figura 19 – Influência dos LIs e condições de fermentação para o processo de produção de etanol



Fonte: Autor (2019).

Observa-se na Figura 19 que a porcentagem de etanol aumentou ao utilizar o LI hidrogenossulfato de metilimidazolio, em comparação ao hidrogenossulfato de trimetilamônio. Entretanto, essa variação também pode ter sido ocasionada pela mudança nas condições de fermentação e pela possível contaminação do mosto fermentativo no Experimento A.

Em relação as condições do processo de fermentação, segundo Ferreira (2005) um rendimento de 46% é considerado satisfatório indicando que o processo de produção de etanol utilizando o pré-tratamento, não necessita de adição de açúcar, apenas o controle de temperatura do mosto fermentativo, próximo a temperatura ambiente e agitação no início do processo.

Uma alternativa para diminuir o consumo de energia pela necessidade do controle de temperatura durante toda a etapa de fermentação é um procedimento de otimização termoeconômica (ENSINAS, 2008).

6 CONCLUSÕES

A casca de jabuticaba possui uma quantidade significativa de açúcares, 0,95g/mL para a casca de jabuticaba úmida e 1,1896g/mL para a casca de jabuticaba seca o que pode vir a tornar este resíduo matéria-prima para a produção de etanol em grande escala ou outros processos que necessitam de açúcar. Em relação aos sólidos solúveis totais, pode-se observar um aumento significativo de ° Brix, após o pré-tratamento, indicando possíveis resquícios de LIs após a etapa de lavagem.

Realizou-se a síntese de hidrogenossulfato de trimetilamônio, líquido iônico considerado de baixo custo, para a execução do pré-tratamento da casca de jabuticaba. Constatou-se que este favoreceu a quebra da celulose, podendo vir a tornar o processo de fermentação da casca da jabuticaba em grande escala, sem a necessidade da adição de açúcar. Entretanto, ainda há a necessidade da realização de mais testes para analisar a desenvoltura do LI hidrogenossulfato de trimetilamônio para esse processo.

Também, observou-se que a agitação no início da fermentação e o controle da temperatura em durante toda a fermentação melhorou significativamente o rendimento do processo, resultando em 41,52% de etanol em comparação a fermentação realizada apenas com controle de temperatura que obteve 15,37% de etanol.

REFERÊNCIAS

AGRYLOPOULOS, D. **Use of lignocellulosics solvated in ionic liquids for production of biofuels**. North Carolina State University. Raleigh. 2012.

Anuário Bras. da Fruticultura 2015. Santa Cruz Do Sul: Gazeta; 2015. 104 p.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia na produção de alimentos**. Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2001.

BASTOS, V. Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, mar. 2007.

BEZERRA, N. S. **Pesquisa de Salmonella spp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em hortaliças comercializadas em estabelecimento formal e não formal de João Pessoa – PB**. UFP. João Pessoa. 2015.

BORGES, L. MONTE, L. G. C. ROCHA, R. S JÚNIOR, O. M. MODESTO, T. F. Vinho de jabuticaba. **Revista Científica Unisalesiano**. Lins, n. 5, 2011.

BRANDT, A. RAY, M. J. PARA, T. Q. LEAK, D. J. MURPHY, R. J. WELTON, T. Ionic liquid pretreatment of lignocellulosic biomass with ionic liquid–water mixtures. **Green Chemistry**, v. 13, p. 2489-2499, 2011.

BRASIL. Decreto n. 3.847, de 2 de agost. De 2010. **Institui a Política Nacional dos Resíduos Sólidos**. BrasíliaDF, agost. 2010.

BRASIL, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v. 1, Brasília: Conab, 2018.

BRASIL. Decreto n. 3.847, de 2 de agosto. Dde 2010. Institui a Política Nacional dos Resíduos Sólidos. Brasília, DF, agost. 2010.

CAMPELLO, C. FISCHER, U. HUNGERBÜHLER, K What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. **Green Chemistry**. n. 9, p. 927-934, 2007.

CÉSAR, J. PAOLI, M. A. ANDRADE, J. C. **A determinação da densidade em sólidos e líquidos**. UNICAMP. Campinas, 2004.

CUNHA, A. M.; ARAÚJO, R. D.; MELLO, C. H.; BOEIRA, J. L. F. (2008). **RELATÓRIO DE ACOMPANHAMENTO SETORIAL FRUTAS PROCESSADAS**. Volume I. Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial – ABDI.

DEMAJOROVIC, J. Da política tradicional de tratamento do lixo à política de gestão de resíduos sólidos: as nove prioridades. **Revista de Administração de Empresas**. São Paulo, v. 35, n. 3, p. 88-93, 1995.

DIAS, J. F. FILIPE, J. C. GUIA, F. MENEZES, R. GUERREIRO, V. A saga do “fiel amigo”: as indústrias portuguesas do bacalhau. **Revista Científica Nacional**. Lisboa, p. 1-11, 2001.

EARLY, M. J. SEDDON, K. R. Ionic liquids: green solvents for the future. *Pure and Applied Chemistry*. Belfast. v. 72, n. 7, p. 1391–1398, 2000.

ENSINAS, A. V. **Integração térmica e otimização termoeconômica aplicada ao processo industrial de produção de açúcar e etanol a partir da cana-de-açúcar**. UNICAMP. Campinas, 2018.

FERREIRA, E. **Contribuição para o estudo da otimização da fermentação alcoólica operando em batelada alimenta**. UNICAMP. Campinas. 2005.

FORTES, G. A. **Análise multiparimétrica da qualidade dos frutos, mostos e vinhos de jaboticaba**. UFG. Goiânia. 2012.

GAZZONI, D. L. **Balço de emissões de dióxido de carbono por biocombustíveis no Brasil: histórico e perspectivas**. Londrina: Embrapa Soja, 2012. 102 p. (Documentos/ Embrapa Soja, ISSN : 2176-2937 ; n.334). Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br/download/Doc_334_OL.pdf> Acesso em: 19 out. De 2008.

GEORGE, A. BRANDT, A. TRAN, K. ZAHARI, S. M. S. N. MARCUSCHAMER, D. K. SUN, N. SATHITSUKSANO, N. SHI, J. STAVILA, V. PARTHASARATHI, R. SINGH, S. HOLMES, B. M. WELTON, T. SIMMONS, B. HALLETT, J. P. Design of low-cost ionic-liquids for lignocellulosic biomass pretreatment. **Green Chemistry**, n. 3, v. 17, p. 1728-1734, 2015.

GSCHWEND, F. J. MARELARET, F. SHINDE, S. TALBOT, A. B. HALLETT, J. P. Rapid pretreatment of *Miscanthus* using the low-cost ionic liquid triethylammonium hydrogen sulfate at elevated temperatures. **Green Chemistry**, v. 20, p. 3486-3498, 2018.

KONDA, N. M. SHI, J. SINGH, S. BLANCH, H. W. SIMMONS, B. A. MARCUSCHAMER, D. K. Understanding cost drivers and economic potential os two variants of ionic liquid pretreatment for cellulosic biofuel production. **Biotechnology for Biofuels**, p. 1-11, 2014.

LEITE, R. C. C. LEAL, M. R. L. V. O biocombustível no Brasil. **Revista Novos Estudos** - CEBRAP, n.78, pp. 15-21, 2007.

LIMA, A. J. B. CORRÊA, A. D. DANTAS-BARROS, A. M. NELSON, D. L. AMORIN, A. C. L. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 33, n. 2, 2010.

LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo; Edgard Blucher, 2001. v. 3. 593p.

MADONADE, I. R. CARVALHO, P. G. B. FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Embrapa hortaliças, 2013.

MARTINS, C. R. FARIAS, R. M. Produção de alimentos x desperdícios: tipos, causas, como reduzir perdas na produção agrícola – revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. Uruguaiana, v. 9, n. 1, p. 20-32, 2002.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. Analytical Chemistry, v.31, p.426-428, 1959.

MOTA, C. J. A.; MONTEIRO, R. S. Química e sustentabilidade: novas fronteiras em biocombustíveis. **Química Nova**. Rio de Janeiro, v. 36, nº 10, p. 1483- 1490, 2013.

OGEDA, T. L. PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**. São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, A. U. Os Agrocombustíveis e a produção de alimentos. In: ENCONTRO DE GEÓGRAFOS DA AMÉRICA LATINA, 12, 2009, Montevideu/Uruguai. Anais... Montevideu/Uruguai, 2009.

Oliveira, Antônio Luís de et al. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Sociedade Brasileira de Fruticultura, v. 25, n. 3, p. 397-400, 2003. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/27457>>.

PACHECO, T. F. Produção de etanol: Primeira ou Segunda Geração. Circular Técnica 04, p. 1 – 6. 2011.

PARALUPPI, A. L. **Utilização do metabissulfito de potássio no processo de fermentação etanólica para controle de leveduras e bactérias contaminantes**. UFSCAR. Araras. 2017.

PASCHOALINI, G. ALCARDE, V. E. Estudo do Processo Fermentativo de Usina Sucroalcooleira e Proposta para sua Otimização. **Ciência & Tecnologia**, v. 15, n. 32, p. 59-68, 2009.

PINTO, G.A.S.; BRITO, E.S.; ANDRADE, A.M.R.; FRAGA, S.L.P.; TEIXEIRA, R.B. Fermentação em Estado Sólido: Uma Alternativa para o Aproveitamento e Valorização de Resíduos Agroindustriais Tropicais. **Comunicado Técnico Online 102 da Embrapa**. Fortaleza, CE. Agosto, 2005.

PINKERT, A.MARSH, K. N. PANG, S. STAIGER, M. P. Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose. **Chem. Rev**, v. 109, p. 6712-6728, 2009.

SANTANA, J. C. C. EHRHARDT, D. D. TAMBOURGI, E. B. Otimização da produção de etanol de mandioca. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 30, n. 3, p. 613-617, 2010.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo; Edgard Blucher, v2, 541p, 2014.

SEM, S M. BINDER, J. B. RAINES, R. T. MARAVELIAS, C. T. Conversion of biomass to sugars via ionic liquid hydrolysis: process synthesis and economic evaluation. **Biofpr**, v. 6, n. 4, p. 444-452, 2012.

SILVA, M. C. **Aproveitamento do resíduo do despulpamento da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) para obtenção de pigmento com propriedades funcionais**. USP, 2014.

SOUZA, J. L. U. MONTEIRO, R. A. B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para produção de etanol. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. Uberaba, n. 8, p. 100-107, 2011.

SLININGER, P. J.; DIEN, B. S.; LOMONT, J. M.; LADISCH, M. R.; OKOS, M. R. Evaluation of a Kinetic Model for Computer Simulation of Growth and Fermentation by *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* Fed D-xylose, *Biotech. and Bioeng.*, 2014, DOI 10.1002/bit.25215.

SILVA, P. H. A. FARIA, F. C. TONON B. MOTA, S. J D. PINTO, V. T. Avaliação da composição química de fermentados de alcóolicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 595-600, 2008.

SUAREZ, P. A. Z. SANTOS, A. L. F. RODRIGUES, J. P. ALVEZ, M. B. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. *Química Nova*, Brasília, v. 32, n. 3, p. 768-775, 2011.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocinas extraídas de frutas**. UNICAMP. Campinas, 2004.

TAREK, M. TOBIAS, D. J. KLEIN M. L. Molecular dynamics investigation of na ethanol-water solution. **Physica A: Statistical Mechanics and its applications**. v. 231, p. 177-122.

TESARO, D. LARSEN, A. C. DALLAGO, R. C. DAMASCENO, S. G. SENE, L. COELHO, S. R. M. Avaliações das fermentações alcóolicas e acéticas para a produção de vinagre a partir do suco de laranja. **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, n. 2, p. 201-205, 2010.

WALDEN, P. **Ueber die Molekulargrösse und elektrische Leitfähigkeit einiger geschmolzener Salze (Molecular weights and electrical conductivity of several fused salts)**, Bulletin de l'Academie Imperiale des Sciences de Saint-Petersbourg, v. 8, p. 405-422, 1914.

WILKES, J.S. *Ionic Liquids in Perspective: The Past with an Eye Toward the Industrial Future in Ionic Liquids: Industrial Applications to Green Chemistry*. Washington: R. D. Rogers And K. R. Seddon, p. 214, 2002.

WILKES, J.S.; ZAWOROTKO, M.J. Air and water stable 1-methyl-3-ethylimidazolium based ionic liquids. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, p. 965-967, 1992

ZHENG, Y. PAN, Z. ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 2, n. 3, p. 51-67, 2009.

ZOCHE, E. P. FIGUEREDO, O. PAZUCH, C. M. COLLA, E. SILVA-BUZANELLO, R. A. Obtenção de vinagre de jabuticaba por fermentação espontânea. **Rebrapa Brazilian Journal of Food Research**. Medianeira, v. 6, n. 2, p. 80-91, 2015.

ZHU, S. WU, Y. CHEN, Q. YU, Z. WANG, C. JIN, S. DING, Y. WU, G. Dissolution of cellulose with ionic liquids and its application: a mini-review. **Green Chemistry**, v. 8, p. 325-327, 2006.

ANEXO A – TABELA DE DENSIDADE E PORCENTAGEM DE ETANOL

B.1.7 – Densidade de Solução aquosa de Álcool Etilico (C₂H₅OH)

%	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	%	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
0	0,99973	0,99913	0,99823	0,99708	0,99568	0,99406	0,99225	50	0,92126	0,91776	0,91384	0,90985	0,90580	0,90168	0,89750
1	785	725	636	520	379	217	034	51	0,91943	555	160	760	353	0,89940	519
2	602	542	453	336	194	031	0,98846	52	723	333	0,90936	534	125	710	288
3	426	365	275	157	014	0,98849	663	53	502	110	711	307	0,89896	479	056
4	258	195	103	0,98984	0,98839	672	485	54	579	0,90885	485	079	667	248	0,88823
5	098	032	0,98938	817	670	501	311	55	505	659	258	0,89850	437	016	589
6	0,98946	0,98877	780	656	507	335	142	56	0,90831	433	031	621	206	0,88784	356
7	801	729	627	500	347	172	0,97975	57	607	207	0,89803	392	0,88975	552	122
8	660	584	478	346	189	009	808	58	381	0,89980	574	162	744	319	0,87888
9	524	442	331	193	031	0,97846	641	59	154	752	344	0,88931	512	085	653
10	393	304	187	403	0,97875	685	475	60	0,89927	523	113	699	278	0,87851	417
11	267	171	047	0,97897	723	527	312	61	698	293	0,88882	446	044	615	180
12	145	041	0,97910	753	573	371	150	62	468	602	640	233	0,87809	379	0,86943
13	026	0,97914	775	611	424	216	0,96989	63	237	0,88830	417	0,87998	574	142	705
14	0,97911	790	643	472	278	063	829	64	006	597	183	763	337	0,86905	466
15	800	669	514	334	133	0,96911	670	65	0,88774	364	0,87948	527	100	667	227
16	692	552	387	199	0,96990	760	512	66	541	130	713	291	0,86863	429	0,85987
17	583	433	259	062	844	607	352	67	308	0,87895	477	054	625	190	747
18	473	313	129	0,96923	697	452	189	68	074	660	241	0,86817	387	0,85950	407
19	363	191	0,96997	782	547	294	023	69	0,87839	424	004	579	148	710	266
20	252	068	864	639	395	134	0,95856	70	602	187	0,86766	340	0,85908	470	25
21	189	0,96944	729	495	242	0,95973	687	71	365	0,86949	527	100	667	228	0,84783
22	024	818	592	348	087	809	516	72	127	710	287	0,85859	426	0,84986	540
23	0,96907	689	453	199	0,95929	643	343	73	0,86888	470	047	618	184	743	297

%	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	%	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
24	787	558	312	048	769	476	168	74	648	229	0,85806	376	0,84941	500	053
25	665	424	168	0,95895	607	306	0,94991	75	408	0,85988	564	134	698	257	0,83809
26	539	287	020	738	442	133	810	76	168	747	322	0,84891	455	013	564
27	406	144	0,95867	576	272	0,94955	625	77	0,85927	505	079	647	211	0,83768	319
28	268	0,95996	710	410	098	774	438	78	685	262	0,84835	403	0,83966	523	074
29	125	844	548	241	0,94922	590	248	79	442	018	590	158	720	277	0,82827
30	0,95977	686	382	067	741	403	055	80	197	0,84772	344	0,83911	473	029	578
31	823	524	212	0,94890	557	214	0,93860	81	0,84950	525	096	664	224	0,82780	329
32	665	357	038	709	370	021	662	82	702	277	0,83848	415	0,82974	530	079
33	502	186	0,94860	525	180	0,93825	461	83	453	028	599	164	724	279	0,81828
34	334	011	679	337	0,93986	626	257	84	203	0,83777	348	0,82913	473	027	576
35	162	0,94832	494	146	790	425	051	85	0,83951	525	095	660	220	0,81774	322
36	0,94986	650	306	0,93952	591	221	0,92843	86	697	271	0,82840	405	0,81965	519	067
37	805	464	114	756	390	016	634	87	441	014	583	148	708	262	0,80811
38	620	273	0,93919	556	186	0,92808	422	88	181	0,82754	323	0,81888	448	003	552
39	431	079	720	353	0,92979	597	208	89	0,82919	492	062	626	186	0,80742	291
40	238	0,93882	518	148	770	385	0,91992	90	654	227	0,81797	362	0,80922	478	028
41	042	682	514	0,92940	558	170	774	91	386	0,81959	529	94	655	211	0,79761
42	0,93842	478	107	729	344	0,91952	554	92	114	688	257	0,80823	384	0,79941	491
43	639	271	0,92897	516	128	733	332	93	0,81839	413	0,80983	549	111	669	220
44	433	062	685	301	0,91910	513	108	94	561	134	705	272	0,79835	393	0,78947
45	226	0,92852	472	085	692	291	0,90884	95	278	0,80852	474	0,79991	555	114	670
46	017	640	257	0,91868	472	069	660	96	0,80991	566	138	706	271	0,78831	388
47	0,92806	426	041	649	250	0,90845	434	97	698	274	0,79846	415	0,78981	542	100
48	593	211	0,91823	429	028	621	207	98	399	0,79975	547	117	684	247	0,77806
49	379	0,91995	604	208	0,90805	396	0,89979	99	094	670	243	0,78814	382	0,77946	507
								100	0,79784	360	0,78934	504	75	641	203