



**Desenvolvimento e Análise de Viabilidade
Econômica do Processo de Produção da 6-
Pentil- α -Pirona por Fermentação em Estado
Sólido e Recuperação por Permeação de Vapor**

Felipe Ramalho Moura

Gabriel Nascimento Serafim

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Prof. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

Prof. Cristiano Piacsek Borges, D.Sc.

Manoela Pessanha da Penha, D.Sc.

Agosto de 2015

**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE VIABILIDADE
ECONÔMICA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA 6-PENTIL-
A-PIRONA POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO E
RECUPERAÇÃO POR PERMEAÇÃO DE VAPOR**

Felipe Ramalho Moura

Gabriel Nascimento Serafim

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia Química.

Aprovado por:

Eliana Mossé Alhadeff, D.Sc.

Heloísa Lajas Sanches, D.Sc.

Cristina Cardoso Pereira, D.Sc.

Orientado por:

Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

Cristiano Piacsek Borges, D.Sc.

Manoela Pessanha da Penha, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Agosto de 2015

Moura, Felipe Ramalho. Serafim, Gabriel Nascimento.

Desenvolvimento e Análise de Viabilidade Econômica do Processo de Produção da 6-Pentil- α -Pirona por Fermentação em Estado Sólido e Recuperação por Permeação de Vapor / Felipe Ramalho Moura, Gabriel Nascimento Serafim.

Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2015.

xi, 63 p.; il.

(Projeto Final de Curso) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2015. Orientadores: Selma Gomes Ferreira Leite, Cristiano Piacsek Borges e Manoela Pessanha da Penha.

1. Bioprocesso. 2. Fermentação em estado sólido. 3. Permeação de vapor. 4. Projeto Final de Curso. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Selma Gomes Ferreira Leite, Cristiano Piacsek Borges e Manoela Pessanha da Penha. I. Desenvolvimento e Análise de Viabilidade Econômica do Processo de Produção da 6-Pentil- α -Pirona por Fermentação em Estado Sólido e Recuperação por Permeação de Vapor.

“Hello, I’ve waited here for you... Everlong.”

Everlong – Foo Fighters

AGRADECIMENTOS

À Lúcia, Patrícia e Graça, mãe, irmã e segunda mãe, por me proporcionarem uma fundação tão sólida de educação e caráter que modelaram a pessoa que sou hoje.

A Trindade, Rodrigo, Serafim, Diego e Marília, meus melhores amigos, que sempre estiveram comigo nas minhas conquistas e sempre estenderam a mão quando precisei.

À Bianca, minha namorada, por todo o amor, carinho, compreensão e dedicação ao longo dessa reta final, fundamentais para me manter trabalhando em busca de um futuro melhor para nós.

À Prof. Selma, Prof. Cristiano e Dra. Manoela, pela paciência e por tanto compartilhamento de conhecimento e informação que quase beiraram a sobrecarga, mas foram extremamente necessários tanto para a realização deste trabalho quanto para meu crescimento profissional.

A Felipe, Júlia, Rafael, Pedro, Klein e tantos outros nomes da turma do primeiro semestre de 2010 da Escola de Química, parceiros que fizeram deste ciclo universitário uma experiência única.

À Manu, Douglas, Cristina, Tayrinni, Bárbara e Joyce, amigos e companheiros de laboratório, por terem proporcionado o melhor ambiente de trabalho possível para a realização de qualquer pesquisa.

A, novamente, Gabriel Nascimento Serafim, coautor e melhor amigo, por ter feito parte de toda a jornada que foi a vida até aqui, desde a 5ª série do ensino fundamental em 2003 até a obtenção do título de Engenheiros Químicos em 2015. A sua influência na minha vida é algo até palpável e vai ficar para sempre.

Felipe Ramalho Moura

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Raimunda, por toda a luta, esforço e dedicação em mostrar para o seu filho sempre o caminho de trabalho, dignidade e recompensa que a educação pode proporcionar. Obrigado por tudo que você fez e faz por mim.

Aos meus padrinhos Dr. Scheinkman e Lea, por fazerem algo do qual vocês não tinham a menor obrigação e ajudarem uma simples criança a se tornar um Engenheiro. Muito obrigado.

À Prof Selma, Prof Cristiano e a Dra. Manoela, que me ensinaram muito dentro da Engenharia Química e da Microbiologia. Foi um prazer poder desenvolver esse projeto com a ajuda e o suporte de vocês.

Aos meus amigos do pH Felipe, Rodrigo, Diego, Letizia, Marília e Anna Paula, por todos os minutos de amizade, risos, diversão, cervejas, jogos e alegria. Sem vocês não seria metade do que sou hoje.

Aos amigos Eduardo, Gustavo, Roberta, Karina, Alejandro por todas as conversas e excelentes distrações nesses cinco anos e meio de faculdade.

À Thais, Anita, Ailton, Joana, Danielle e todos os amigos e colegas da SCJ. Obrigado por todo o suporte, ajuda e compreensão nesses 2 anos de empresa. Aprender com vocês tem sido fundamental para a construção da minha carreira profissional.

À Clarice, por nesses quase 4 anos me presentear com amor, carinho e uma amizade indescritível. Você é a prova de que a minha vida está no caminho certo.

Ao Felipe Ramalho Moura, por me dar a honra de dividir esse momento único de sua vida com você. Obrigado por seu meu amigo, companheiro, professor, aluno e irmão. Espero estar sempre junto contigo. Te amo, cara.

Gabriel Nascimento Serafim

Resumo do Projeto Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE VIABILIDADE ECONÔMICA DO
PROCESSO DE PRODUÇÃO DA 6-PENTIL-A-PIRONA POR FERMENTAÇÃO EM
ESTADO SÓLIDO E RECUPERAÇÃO POR PERMEAÇÃO DE VAPOR**

Felipe Ramalho Moura

Gabriel Nascimento Serafim

Agosto, 2015

Orientadores: Prof. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

Prof. Cristiano Piacsek Borges, D.Sc.

Manoela Pessanha da Penha, D.Sc.

Substâncias aromáticas são produtos químicos capazes de adicionar ou reforçar características organolépticas, como aroma e sabor, a determinados produtos de consumo humano desde cosméticos a alimentos. Sua produção via rota sintética, atualmente, é bastante questionada devido à geração de subprodutos indesejados, baixos rendimentos e altos custos de produção. Assim, a demanda pela produção destes compostos via rotas biotecnológicas está crescendo cada vez mais.

A fermentação em estado sólido se apresenta como uma destas rotas para a produção do bioaroma de coco, a 6-pentil-alfa-pirona. Esta técnica utiliza o fungo filamentosso *Trichoderma harzianum* como microorganismo fermentador e resíduo do processamento do açaí (*Euterpe oleracea*) como substrato para a produção do produto de interesse, se mostrando como uma grande alternativa para a utilização de resíduos agroindustriais, gerados em larga escala no território brasileiro.

Como técnica de recuperação, foi utilizada a permeação de vapor, método que ainda tem implementação industrial recente e que em poucos casos é economicamente viável. Entretanto, estudos já vem sendo realizados com a separação de compostos de aromas de sucos de abacaxi e caju diretamente de suas fontes naturais, obtendo resultados tecnicamente favoráveis.

Propõe-se no presente trabalho um processo biotecnológico utilizando a técnica de fermentação em estado sólido para a produção da 6-pentil-alfa-pirona e recuperação através de permeação de vapor em membranas de PDMS (polidimetilsiloxano). Estudos laboratoriais foram realizados para a avaliação da cinética de produção do bioaroma via fermentação e da permeabilidade do mesmo através da matriz polimérica. A concepção e fluxograma do processo foram apresentados e estudou-se a viabilidade econômica do sistema, realizando análises de sensibilidade específicas para o entendimento do impacto no custo das principais variáveis de projeto consideradas. Nos cenários considerados, o número de bandejas e o preço do produto foram os principais impactantes, por se relacionarem diretamente com a receita gerada. Parâmetros relacionados à membrana, como o preço por área seriam relevantes no caso de custos menores do fermentador.

Abstract of a Final Project presented to Escola de Química/UFRJ as partial fulfillment of the requirements for the degree of Chemical Engineering.

***DEVELOPMENT AND ECONOMICAL FEASIBILITY ANALYSIS OF THE
PRODUCTION PROCESS OF 6-PENTYL-ALPHA-PYRONE BY SOLID STATE
FERMENTATION AND RECOVERY BY VAPOR PERMEATION***

Felipe Ramalho Moura

Gabriel Nascimento Serafim

August, 2015

Supervisors: Prof. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

Prof. Cristiano Piacsek Borges, D.Sc.

Manoela Pessanha da Penha, D.Sc.

Aromatic substances are chemical products capable of adding or reinforcing organoleptic properties, such as fragrances and flavors, to products of human consumption since cosmetics to food. Their production via synthetic route, nowadays, is questionable due to undesirable sub products production, low yields and high manufacturing costs. Therefore, the demand for these compounds production via biotechnological routes is growing significantly.

*The solid state fermentation is one of these routes for the production of the coconut bio flavor, 6-pentyl-alpha-pyrone. The technique uses the filamentous fungus *Trichoderma harzianum* as the fermenter microorganism and milled açai bagasse as substrate for the bio flavor production, proving to be an alternative for the agro industrial residues recovery, generated at high amounts on the Brazilian territory.*

As a purification technique, vapor permeation was chosen. This method is still recent in industrial implementation, only a few units are economical feasible. Studies of flavors separations from pineapple and cashew juices, however, have been realized with favorable results.

In this paper, it is proposed that a biotechnological process using the solid state fermentation technique for the 6-pentyl-alpha-pyrone production and its recovery by vapor permeation through PDMS (polydimethylsiloxane) membranes. Laboratory studies were performed to evaluate the bio flavor's production kinetics and its permeability through the polymeric matrix. The process conception and flowchart were presented and the process economic feasibility was studied, executing specific sensibility analysis in order to understand the impact of the main project variables in the total cost. At the considered scenarios, the tray quantity and product price were the most impactful parameters, because of its relation with the unit's income. Membrane parameters, such as its price per area, would be impactful if the fermenter costs were reviewed and it were smaller.

ÍNDICE

i.	Lista de Tabelas.....	x
ii.	Lista de Figuras	xi
1.	Introdução.....	1
2.	Processo de Fermentação em Estado Sólido	3
2.1.	Revisão Bibliográfica	3
2.1.1.	6-Pentil- α -Pirona: produção e extração	3
2.1.2.	Matéria-prima: Resíduo do processamento do açaí.....	8
2.1.3.	<i>Trichoderma harzianum</i>	9
2.1.4.	Fermentação em Estado Sólido	14
2.2.	Metodologia	17
2.2.1.	Preparação da fermentação e solução nutritiva	17
2.2.2.	Microrganismo fermentador	17
2.2.3.	Preparação do inóculo e condições de cultivo.....	18
2.2.4.	Análise de umidade e pH.....	18
2.3.	Resultados e Discussões	18
3.	Processo de Pervaporação	22
3.1.	Revisão Bibliográfica.....	22
3.2.	Metodologia	25
3.2.1.	Membrana.....	25
3.2.2.	Processo de Pervaporação	26
3.2.3.	Análise do Pervaporado por cromatografia em fase gasosa	27
3.2.4.	Curva de calibração para análise do pervaporado	29
3.3.	Resultados e Discussões	29
4.	Concepção do Processo	32
4.1.	Rota Proposta.....	32
4.2.	Considerações e Modelagem do Balanço de Massa	36
4.2.1.	Equações Intrínsecas ao Sistema	37

4.2.2.	Variáveis Especificadas do Sistema	39
4.2.3.	Equações do Balanço de Massa.....	41
4.3.	Resultados e Discussões	43
5.	Avaliação Técnico-Econômica	45
5.1.	Metodologia	45
5.1.1.	Valor Presente Líquido (VPL).....	45
5.1.2.	Taxa Interna de Retorno (TIR)	47
5.1.3.	Análise de Sensibilidade.....	48
5.2.	Considerações para análise econômica	49
5.2.1.	Custo de equipamentos	49
5.2.2.	Custo de matéria prima e utilidades	50
5.3.	Resultados e Discussão	51
5.3.1.	Análise dos parâmetros médios, ótimos e péssimos.....	51
5.3.2.	Análise de sensibilidade frente ao preço por metro quadrado de membrana	52
5.3.3.	Análise de sensibilidade frente ao número de bandejas do fermentador.....	53
5.3.4.	Análise de sensibilidade frente ao preço de venda do aroma	54
5.3.5.	Análise de sensibilidade frente à permeabilidade do aroma.....	54
6.	Considerações Finais.....	56
7.	Referências Bibliográficas	58

i. Lista de Tabelas

Tabela 1: Empresas líderes de mercado de fragrâncias (FONTE: CALASANS, 2011).....	5
Tabela 2: Propriedades físico-químicas do aroma de coco (fonte: THEGOOD SCENT COMPANY, 2015).....	6
Tabela 3: Metabólitos secundários produzido por <i>Trichoderma harzianum</i> (fonte: KESWANI et al, 2013).	13
Tabela 4: Principais aplicações da fermentação em estado sólido (FONTE: RAIMBAULT, 1998).....	16
Tabela 5: Nutrientes e respectivas concentrações do meio nutritivo.....	17
Tabela 6: Parâmetros para dimensionamento da fermentação	21
Tabela 7: Cálculos para Fluxo Mássico de solução pela Membrana.....	30
Tabela 8: Lista de equipamentos	35
Tabela 9: Variáveis do processo	36
Tabela 10: Variáveis especificadas e seus valores	41
Tabela 11: Balanço de Massa	43
Tabela 12: Cálculo para investimento total do projeto.....	46
Tabela 13: Definição dos custos gerais para o projeto (FONTE: DI LUCCIO, 2001)	47
Tabela 14: Cálculo do lucro líquido após imposto de renda (FONTE: DI LUCCIO, 2001)....	47
Tabela 15: Variáveis e valores utilizados na análise de sensibilidade	49
Tabela 16: Custos com Equipamentos (Σ equip).....	50

ii. Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura da molécula 6-pentil-alfa-pirona (fonte: CHEMSYNTHESIS, 2015)	6
Figura 2: A: Açaizeiro; B: Fruto Açaí; C: Carço do Açaí (FONTES: AGEITEC e REVISTA GALILEU).	8
Figura 3: Rota metabólica para a produção da 6-PP a partir de ácido linoleico (fonte: SERRANO-CARREÓN ET AL, 1993).	12
Figura 4: Aparência da fermentação no 7º dia	19
Figura 5: Evolução do pH ao longo da fermentação	19
Figura 6: Evolução da umidade ao longo da fermentação.....	20
Figura 7: Processo genérico de separação por membrana.....	23
Figura 8: Sistema de Pervaporação	27
Figura 9: Micro Extração em Estado Sólido	28
Figura 10: Curva padrão para quantificação de 6-PP em solução aquosa com etanol	30
Figura 11: Esquema do biorreator em bandejas (FONTE: <i>Solid State Fermentation Bioreactors</i>).....	33
Figura 12: Fluxograma do processo proposto para produção, separação e purificação de aroma 6-PP.	34
Figura 13: Análise de custo frente sensibilidade do preço da área (m ²) de membrana	52
Figura 14: Análise de custo frente à sensibilidade do número de bandejas	53
Figura 15: Análise de custo frente à sensibilidade do preço do aroma	54
Figura 16: Análise de custo frente à sensibilidade da permeabilidade do aroma.....	55

1. Introdução

Compostos de aroma são produtos capazes de conceder ou melhorar odores a determinados produtos. Esses tipos de componentes são utilizados principalmente nas indústrias de alimentos e cosméticos, de acordo com a necessidade tanto do fabricante quanto do consumidor. Hoje em dia, estes compostos são largamente produzidos via rota química ou extração de fontes naturais, como frutas (AKACHA e GARGOURI, 2014).

As rotas químicas para produção de aroma muitas vezes podem gerar subprodutos indesejáveis via reações secundárias. Geralmente esses tipos de processos possuem problemas de baixos rendimentos, altos custos fixos e operacionais, baixa seletividade e produção de possíveis compostos que podem causar possíveis impactos ambientais. Isso faz com que este tipo de produção seja questionável, especialmente se tratando de produtos para consumo humano direto. Devido aos fatos anteriormente citados, diversas empresas e produtoras de aromas e fragrâncias são levadas a buscarem alternativas naturais, isto é, compostos de aromas provenientes de fontes naturais e renováveis, de forma a substituir os aromas químicos, tornando o produto final mais isento de compostos prejudiciais à saúde humana (AKACHA e GARGOURI, 2014).

Diversos processos biotecnológicos foram estudados para alcançar este objetivo, mas poucos mostraram serem uma alternativa viável devido à baixos rendimentos, o que leva a altos custos de investimento tanto da produção do composto, quanto na sua separação e purificação, fazendo com que o produto final tenha custo de 10 a 100 vezes maior do que o de origem sintética (AKACHA e GARGOURI, 2014).

Ramos (2009) e Alves (2011) mostraram a possibilidade de produção do aroma de coco, baseado no composto 6-pentil- α -pirona (6-PP), através da fermentação em estado sólido pelo fungo filamentosso *Trichoderma harzianum*, utilizando como suporte o resíduo de caroço de açaí. Os resultados de produção do composto obtidos nestes estudos foram promissores para uma fermentação em estado sólido e os parâmetros de condições do meio e concentrações de nutrientes foram otimizados.

O presente trabalho tem como objetivo a apresentação e avaliação técnico-econômica do processo de produção do aroma de coco pela fermentação em estado sólido, integrado a sua separação. O processo de separação selecionado foi a permeação de vapor através de um módulo de membrana seletiva ao composto de interesse.

Para a elaboração do processo integrado foram realizados experimentos para determinação de parâmetros relativos à cinética de produção do aroma pela fermentação, bem

como ensaios de pervaporação para a determinação da permeabilidade e seletividade frente à membrana utilizada. Por conta da correlação e similaridades entre os processos de pervaporação e permeação de vapor, a permeabilidade de um composto pode ser utilizada para a modelagem das duas técnicas. Assim, o processo integrado proposto para a produção e separação do composto de aroma foi projetado como uma permeação de vapor, já que o produto já se encontra em fase gasosa.

O projeto foi estruturado para mostrar, de forma organizada, a evolução dos estudos de laboratório até a avaliação de viabilidade econômica final. Os capítulos 2 e 3 apresentam as revisões bibliográficas e ensaios de bancada da fermentação em estado sólido e pervaporação, respectivamente. O Capítulo 2 tem como objetivo o estudo e obtenção de parâmetros relativos a cinética de produção do produto de interesse e o Capítulo 3 procura obter o valor da permeabilidade do aroma através da membrana selecionada. Estes dois resultados são necessários para a concepção do projeto e para o balanço de massa, cujas equações são apresentadas no Capítulo 4. Neste, faz-se a modelagem matemática do balanço de massa e energia do sistema, explicitando todas as hipóteses necessárias para tal. Por fim, o Capítulo 5 utiliza esta modelagem junto com conceitos econômicos para avaliar a viabilidade econômica do processo e entender como as variáveis de projeto impactam no custo final através de análises de sensibilidade específicas.

2. Processo de Fermentação em Estado Sólido

2.1. Revisão Bibliográfica

2.1.1. 6-Pentil- α -Pirona: produção e extração

Atualmente, substâncias aromáticas são aditivos de grande valor agregado para diferentes ramos da indústria. Do mercado de *personal e home care* à indústria de alimentos, aromas são utilizados com o objetivo de adicionar características organolépticas (aroma e sabor), e que após passarem por um processo dinâmico de percepção, influenciarão o consumidor na escolha do produto que mais o agrada.

Na indústria de alimentos, essas substâncias são utilizadas com a função de impedir alterações, caracterizar, melhorar, padronizar e/ou reconstituir o aroma/sabor dos produtos, além de serem também utilizados para mascarar os aromas e sabores indesejáveis que possam ocorrer durante o processamento de um alimento (FANI, 2011)

Seguindo uma definição básica, aromas são compostos químicos voláteis facilmente perceptíveis pelos órgãos olfativos dos animais. Normalmente são substâncias com um cheiro agradável e que, por isso, são utilizadas na culinária, na fabricação de perfumes, além de também serem usadas com o objetivo de mascarar um cheiro desagradável (BASTOS, 2002). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA – Resolução nº 2, de 15 de Janeiro de 2007), aromas ou aditivos aromatizantes são substâncias ou misturas de substâncias com propriedades odoríferas e/ou sápidas, capazes de conferir ou intensificar o aroma e/ou sabor dos alimentos. A mesma resolução ainda classifica as substâncias aromatizantes em naturais, sintéticas ou misturas. As definições podem ser encontradas abaixo

Os aromatizantes naturais são obtidos exclusivamente por métodos físicos, microbiológicos ou enzimáticos, a partir de matérias-primas aromatizantes naturais. Entende-se por matérias-primas aromatizantes naturais, os produtos de origem animal ou vegetal aceitáveis para consumo humano, que contenham substâncias odoríferas e ou sápidas, seja em seu estado natural ou após um tratamento adequado, como: torrefação, cocção, fermentação, enriquecimento, tratamento enzimático ou outros. São compreendidos entre óleos essenciais, extratos, bálsamos, oleoresinas, oleogomaresinas e substâncias aromatizantes naturais isoladas.

Os aromatizantes sintéticos são compostos quimicamente definidos obtidos por processos químicos. Esses ainda podem ser divididos entre aromatizantes idênticos ao natural e aromatizantes artificiais. Os primeiros são substâncias quimicamente definidas obtidas por síntese e aquelas isoladas por processos químicos a partir de matérias-primas de origem animal,

vegetal ou microbiana. Essa categoria de aromatizantes sintéticos apresenta uma estrutura química idêntica às substâncias presentes nas referidas matérias-primas naturais. Já os artificiais são os compostos químicos obtidos por síntese, que ainda não tenham sido identificados em produtos de origem animal, vegetal ou microbiana, utilizados em seu estado primário ou preparados para o consumo humano.

Em relação as misturas, elas podem ser consideradas naturais, quando derivam da mistura de aromatizantes naturais; idêntico ao natural, quando derivam de misturas de aromatizantes idênticos aos naturais com ou sem adição de aromatizantes naturais ou artificiais, quando derivam da mistura em que pelo menos um dos compostos presentes é de origem artificial.

Ainda em relação a classificação, temos os aromas de transformação/reação, que são produtos obtidos por aquecimento. Ele pode ser comparado ao cozimento de alimentos, já que as matérias primas são alimentos ou ingredientes alimentares ou mistura de ingredientes que possam ou não ter propriedades aromatizantes por si mesmos. É preciso que ao menos um contenha nitrogênio anímico e o outro seja um açúcar redutor, de forma a produzir aromas de fumaça. Esse é um tipo de preparação concentrada, utilizadas para conferir aroma de defumado aos alimentos.

Aromas e fragrâncias possuem elevada importância para as indústrias de cosméticos, alimentos, química e farmacêutica. Aproximadamente 80% dos aromas e fragrâncias usados no mercado global são produzidos sinteticamente, sendo visível a tendência nos últimos anos para a utilização de aromas naturais (CALASANS, 2012).

A demanda global de fragrância e sabores está projetada para crescimento anual de 4,4% chegando a movimentar cerca de 26.5 bilhões de dólares no ano de 2016. A divisão dessa demanda global está projetada da seguinte forma: América do Norte 30%, Ásia/Pacífico 30%, Oeste Europeu 24% e demais regiões 16% (THE FREEDONIA GROUP, 2012). Essa demanda de crescimento deve seguir a previsão média de crescimento global médio do mercado, sendo as áreas de cosméticos e artigos de higiene pessoal com o crescimento mais acelerado.

Em todos os mercados, o crescente interesse dos consumidores por produtos naturais irá impulsionar o valor de demanda, já que tais substâncias tendem a ter alto valor agregado. O aumento da produção de alimentos processados, devido, em grande parte, ao crescimento da renda nos países em desenvolvimento, irá aumentar o consumo de aromas e sabores, uma vez que alimentos processados requerem maior quantidade dessas substâncias para que as características organolépticas sejam mantidas. O crescimento de mercados emergentes também irá favorecer os ramos de higiene pessoal e limpeza, visto que cada vez mais pessoas possuem

condições de gastar com produtos que possuem fragrância como um de seus veículos comunicativos (THE FREEDONIA GROUP, 2012).

De 2017 a 2022, o Freedonia Group (2013) prevê o crescimento na indústria de aroma e fragrância devido à crescente preocupação das pessoas acerca de problemas de saúde e consequentemente com alimentos cada vez mais saudáveis. Problemas como obesidade, diabetes e pressão alta vêm aumentando a demanda de alimentos e bebidas com baixas concentrações de gordura, açúcar e sal. Com o objetivo de manter as características desses alimentos, a indústria aumentará a utilização de aromas e sabores de alto valor agregado, ajudando a impulsionar o setor. Outro fator importante para o crescimento deste mercado será, como comentado anteriormente, o ramo de higiene pessoal e limpeza. Devido aos esforços das indústrias desse ramo focarem na noção de “*Cleaning Experience*” – ou seja, fazer com que o processo de limpeza, após finalizado, gere sensações e sentimentos bons as pessoas que irão usufruir daquele espaço – o aumento na utilização de *blends* de fragrâncias, como um dos principais recursos para entrega dessa experiência, ajudará no crescimento da área.

No ano de 2013, as 12 maiores empresas de aromas e sabores do mundo configuravam uma porcentagem de 83,1% do valor total de mercado desse setor, enquanto todas as demais configuram os restantes 16,9%. A Tabela 1 apresenta como fica a divisão, assim como o valor total desse mercado.

Tabela 1: Empresas líderes de mercado de fragrâncias (FONTE: CALASANS, 2011)

Posição	Companhia	US\$ (milhões)	Cota do mercado(%)
1	Givaudan	4905,4	20,5
2	Firmenich	3314,4	13,9
3	IFF	2952,9	12,4
4	Symrise	2521,6	10,5
5	Takasago	1244,7	5,2
6	Wild Flavors	1233,2	5,2
7	Mane SA	996,3	4,2
8	Frutarom	674	2,8
9	SensientFlavors	~643,3	~2,7
10	Robertet SA	536,6	2,2
11	T. Hasegawa	428,4	1,8
12	HuabaoIntl.	408,5	1,7
Total das 12 primeiras companhias		19859,2	83,1
Demais companhias		4048,4	16,9
Total do mercado mundial		23907,6	100

A 6-Pentil-Alfa-Pirona é uma decalactona insaturada, também denominada de 6-pentil-2-pirona ou 6-n-pentil-2H-piran-2-ona. Essa substância possui aroma característico de coco e é encontrada naturalmente em frutas, e logo de grande interesse para a indústria de alimentos, assim como de cosméticos e produtos de limpeza como aromatizante natural. Também possui potente atividade fungicida, provavelmente relacionada com a capacidade de ser adsorvida pelas membranas hidrofóbicas das células (RAMOS et al, 2009), se apresentando como substância alternativa para o controle biológico de microrganismos fitopatogênicos e apresenta baixa toxicidade a mamíferos (CALASANS, 2012). Sua estrutura molecular assim como suas principais características físico-químicas podem ser encontradas abaixo (Figura 1 e Tabela 2).

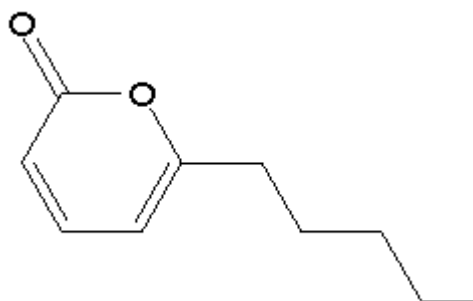


Figura 1. Estrutura da molécula 6-pentil-alfa-pirona (fonte: CHEMSYNTHESIS, 2015)

Tabela 2: Propriedades físico-químicas do aroma de coco (fonte: THEGOOD SCENT COMPANY, 2015)

Número CAS	27593-23-3
Aparência	Líquido incolor a laranja claro
Formula Química	C ₁₀ H ₁₄ O ₂
Peso Molecular	166,22
Densidade	1,004 g/cm ³
Entalpia de vaporização	52,68 KJ/mol
Pressão de vapor	0,002 mmHg (25°C)
Ponto de ebulição	285,0 a 286,00°C (760mmHg)
Tensão superficial	33,2 dina/cm
Volume molar	165,6 cm ³
Índice de refração	1,481

A obtenção da 6-PP pode ocorrer de 3 formas: extração, rota química e rota biossintética. Os métodos extrativos são os mais antigos e são baseados na extração direta da substância de interesse de plantas e frutas que a possuem. Dentre esses, as técnicas mais

conhecidas são extração com solvente, destilação a vapor e destilação extrativa (CALASANS, 2012).

Todos os métodos extrativos são considerados caros devido ao elevado custo dos solventes orgânicos utilizados, posterior separação do solvente da substância de interesse e condições de operações, que normalmente requerem elevadas temperaturas e pressões.

Em relação à rota química para a produção da 6-Pentil-alfa-Pirona, muito pouco é encontrado na literatura. Sarhy-Bagnon et al (2000) descrevem que a síntese química ocorre em sete etapas reacionais à temperatura de 490°C, porém maiores detalhes não são revelados pelo mesmo.

A bioprodução do aroma de coco foi primeiramente identificada em cultivo de *Trichoderma viride* e posteriormente obtido a partir de culturas de *Trichoderma harzianum* e *Arpergillus sp.* (CALASANS, 2012). Diversos fatores, entre químicos, físicos e biológicos, reconhecidamente influenciam na produção da 6-PP pelos microrganismos. As condições de temperatura e pH com o objetivo de produzir o aroma variam em torno de 25 a 30°C e 5 a 6, respectivamente, sendo que a biossíntese significativa ocorre na fase de crescimento do microrganismo (5 a 7 dias de cultivo) (RAMOS, 2006). Um outro fator importante é a escolha do microrganismo a ser utilizado. Diferentes espécies de *Trichoderma* e diferentes linhagens dentro da mesma espécie apresentam diferentes valores em relação a produção de 6-PP. Bonnarme et al. (1997) testou 108 linhagens diferentes da *Trichoderma viride* e apenas uma delas apresentou produção superior a 300mg/L.

Observa-se também que a produção dessa substância possui baixo rendimento, mesmo quando o meio de cultivo ainda possui quantidade significativa de carboidratos. Dessa forma, acredita-se que o bioaroma de interesse possui efeito inibitório no metabolismo de sua produção. Ensaio realizados com a 6-PP presente desde o início do processo fermentativo constataram a total inibição da produção da substância, comprovando a teoria acima (PRAPULLA et al, 1992).

Entre as diversas técnicas de fermentação, os processos em estado sólido demonstraram serem mais eficazes na produção do bioaroma. Acredita-se que isso ocorra porque a substituição de um meio líquido por um substrato sólido reduz a ação inibitória do metabolito secundário frente ao metabolismo do microrganismo (CALASANS, 2012). Trabalhos realizados com bagaço da cana obtiveram concentração de 3mg/gMS (matéria-seca) (CALASANS, 2012), enquanto com o suporte de pó da casca do coco verde atingiu-se concentração de 5,05mg/gMS (RAMOS, 2006). Resultados como os apresentados acima mostram o promissor potencial

fornecido pela utilização de resíduos da agroindústria como suportes sólidos para a biossíntese do aroma de coco.

2.1.2. Matéria-prima: Resíduo do processamento do açaí

O açaí é uma das mais importantes e abundantes frutas produzidas em território brasileiro. Proveniente do açazeiro (*Euterpe oleracea*), a fruta figura entre os principais alimentos para os habitantes da região Amazônica, sua terra nativa. Populações espontâneas desta palmeira também são encontradas nos estados do Amapá, Maranhão, Mato Grosso e Tocantins, mas é na região do estuário do rio Amazonas que se localizam as maiores e mais densas populações naturais da árvore (figura 2A), adaptada às condições elevadas de temperatura, chuva e umidade relativa do ar (NASCIMENTO, 2008).

Para que o açaí possa ser utilizado, extrai-se dele a polpa, ou simplesmente açaí, como é conhecido e representa 15% do peso total da fruta (figura 2B). Com ele, são fabricados sorvete, licores, doces e geleias, podendo ser aproveitado, também, para extração de corantes e antocianina, substância responsável pela circulação sanguínea e pelo combate de radicais livres, prevenindo o envelhecimento precoce. Os outros 85% são representados pelo caroço (figura 2C), do qual a borra é utilizada na produção de cosméticos, placas acústicas, compensados e indústria automobilística (HOMMA, 2006).

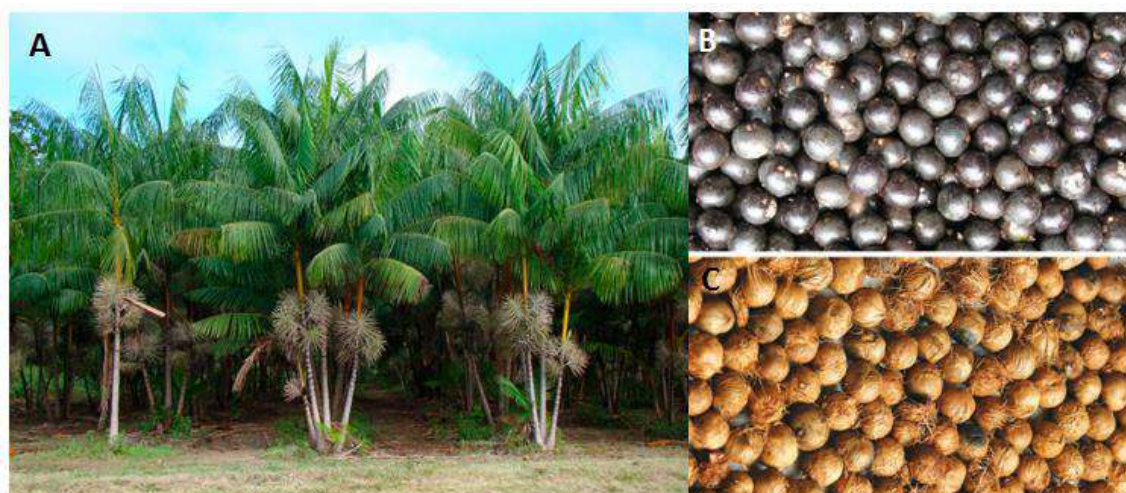


Figura 2: A: Açazeiro; B: Fruto Açaí; C: Caroço do Açaí (FONTES: AGEITEC e REVISTA GALILEU).

Em 2011, a produção de açaí no Brasil ultrapassou 215 mil toneladas, sendo o estado do Pará responsável por 85,6% desta produção (TURINI, 2013 e CARNEIRO et al, 2013).

Segundo o Ministério da Agricultura, deste açaí produzido no Pará, 60% fica no próprio estado, 30% é consumido no restante do Brasil e 10% é exportado, sendo o maior parceiro brasileiro os Estados Unidos, que importam 77% desta quantidade exportada (TURINI, 2013). O valor da fruta, pago aos extrativistas, em março de 2013 foi de R\$ 2,98/kg, representando um aumento de 43% em relação ao preço do ano anterior (R\$ 2,08/kg), evidenciando uma clara valorização do açaí em um ano.

De acordo com a Política Nacional de Resíduos Sólidos de 2012, os resíduos devem possuir uma destinação ambientalmente adequada, que seja a reutilização, reciclagem, compostagem, recuperação e aproveitamento energético ou outras destinações permitidas, entre elas a disposição final, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança, minimizando impactos ambientais adversos. Portanto, pelo fato de 85% em peso do açaí ser caroço e, conseqüentemente, rejeitado, há a oportunidade de reutilização deste caroço produzido para a fermentação em estado sólido em conjunto com o microrganismo *Trichoderma harzianum*, produzindo a decalactona 6-pentil-alfa-pirona, composto conhecido pelo seu aroma de coco.

Serrano-Carreon et al propuseram, em 1993, uma rota hipotética da metabolização do ácido linoleico para a produção da pirona. Schirmann, em 2009, quantificou a presença de ácidos graxos na composição do açaí e constatou a presença de 10,5% de ácido linoleico, além de ácidos oleico e palmítico. Essa quantificação torna plausível o crescimento do microrganismo em um meio composto pelo resíduo de caroço de açaí para a geração do produto desejado.

2.1.3. *Trichoderma harzianum*

Trichoderma sp. pertence ao reino Fungi, da classe Deuteromicetos, sub-classe hifomiceto, da ordem Moniales e família Moniaceae (CALASANS, 2012). O gênero *Trichoderma* apresenta-se com mais de 30 espécies, 100 subespécies e 400 cepas depositadas em órgãos oficiais (CALASANS, 2012).

Esse microrganismo consegue ser encontrado nos mais diversos tipos de solo naturais e substratos orgânicos, como madeira em decomposição. Por serem caracterizados como organismos oportunistas não virulentos e pela capacidade de se adaptar em diferentes condições ambientais, apresentam variadas interações heterotróficas, encontrando-se em simbiose, mutualismo e, eventualmente endofitismo, com diversos tipos de plantas ou sendo parasitas de outros tipos de fungos. As espécies mais representativas de gênero do microorganismo são

Trichoderma hamatum, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma pubescens*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens* e *Trichoderma viride* (CALASANS, 2012).

São fungos aeróbicos caracterizados por uma fase inicial em que possuem micélio de coloração branca. Posteriormente, durante processo de esporulação, passam a apresentar hifas septadas, abundantes conídios (esporos) verdes e conidiosporos pouco definidos (GUARRO, GENÉ e STCHIGEL, 1999). Suas colônias crescem e amadurecem rapidamente no período de 5 dias, sendo cultivadas em ágar de dextrose de batata (PDA) a 25°C (RIFAI, 1969). Para o seu cultivo as condições de pH ficam em torno de 4.5 – 5.5 e a temperatura entre 16 e 32°C, sendo o intervalo entre 20 e 28°C o ideal, sendo necessário um teor de umidade elevado (92% para crescimento vegetativo e 93 a 95% para esporulação)(HIDALGO, 1989; DOMSCH et al., 1993). Possuem capacidade de atuar em meios com elevada atividade microbiológica, pontualmente deficiente em oxigênio, sendo suas principais fontes de carbono a celulose e a lignocelulose, assimilando nitrogênio de fonte mineral em forma de nitratos, ainda que possam obtê-lo de forma orgânica (CALASANS, 2012).

Em seu ciclo de vida, a forma sexuada é conhecida como teleomórfica (produz meiosporos) e a forma assexuada, como anamórfica (produz motosporos). Como essas formas tem características morfológicas diferentes, é comum que o teleomorfo e o anamorfo de uma mesma espécie tenham nomes distintos (CHAMBERGO et al, 2002). Recombinação parasexual, mutações e outros processos genéticos são os responsáveis por gerar diferentes núcleos em um mesmo organismo, fazendo com que o processo evolutivo da *Trichoderma sp.* seja rápido e de fácil adaptabilidade a condições ambientais diversas, possuindo uma grande diversidade de fenótipos e genótipos.

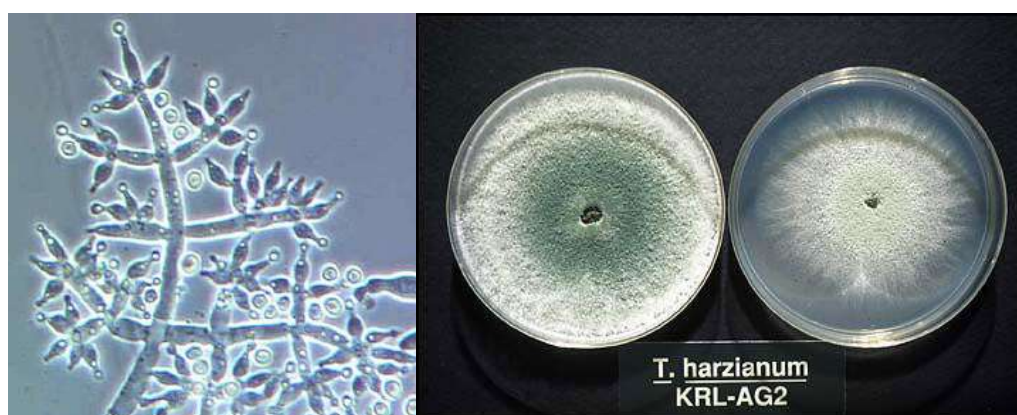


Figura 3: *Trichoderma harzianum*, aparências microscópica e macroscópica (FONTE: CORNELL UNIVERSITY)

Tais espécies de fungos apresentam uma grande importância comercial devido às suas mais diversas aplicações na indústria. Por exemplo, a espécie *Trichoderma harzianum* possui a capacidade de degradar substâncias biopoliméricas como celulose, hemicelulose e lignina. Isso ocorre devido a produção de enzimas que funcionam como catalisadores para as reações de hidrólise dessas macromoléculas. Essas enzimas, podem ser utilizadas como biocatalisadores de grande interesse para a indústria têxtil, de papel, produtora de alimentos e ração (MACH e ZEILINGER, 2003).

A espécie *Trichoderma sp.* possui caráter de controle biológico, agindo contra um amplo conjunto de fungos, bactérias, e em alguns casos, algumas infecções virais (KESWANI et al., 2013) e promotor de crescimento, sendo um agente direto ao desenvolvimento de plantas ao qual estão em simbiose e/ou mutualismo. Tais funções biológicas desenvolvidas por essas espécies de fungo são possíveis devido a diversos metabólitos secundários antibióticos voláteis e não voláteis com ação antifúngica (LIU e YANG, 2005) produzidos durante o processo de crescimento desses microrganismos.

Um outro ramo, em que os diferentes tipos de metabólitos produzidos pela espécie *Trichoderma* podem ser utilizados, é o de fragrâncias. Diversos desses metabólitos possuem aroma característico de frutas e podem ser vistos como fontes alternativas de matéria prima para a confecção de fragrâncias e compostos flavorizantes. Por serem obtidos por vias fermentativas, esses compostos, não só apresentam um custo operacional menor do que os compostos obtidos sinteticamente (menor complexidade de matéria prima, controle reacional e de separação), como também agregam a imagem de “Natural/Orgânico” aos produtos aonde serão utilizados. Como exemplos, é possível citar a própria 6-PP, 3-octatnona, que possui aroma herbal e paladar cetônico, 1-octan-3-ol e octan-3-ol, ambos com aroma terroso e vegetal e paladar terroso (KESWANI et al., 2013).

Serrano-Carreón et al (1993) propuseram uma rota metabólica para a produção do aroma de coco a partir de ácido linoleico, como mostra a Figura 3.

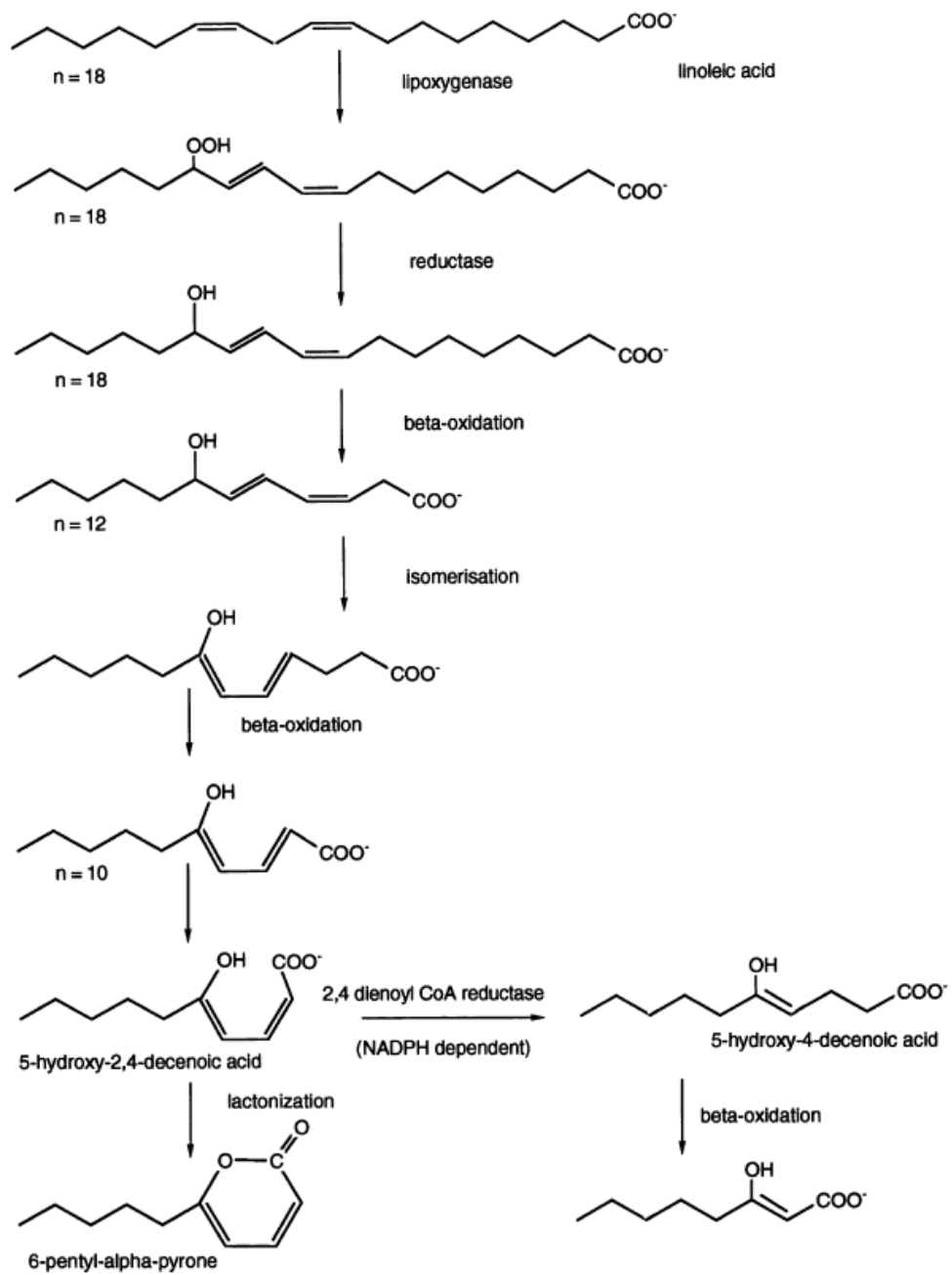


Figura 3: Rota metabólica para a produção da 6-PP a partir de ácido linoleico (fonte: SERRANO-CARREÓN ET AL, 1993).

Especificamente para a espécie *Trichoderma harzianum*, Keswani et al. (2013) fizeram um levantamento dos metabólitos secundários, que podem ser encontrados na tabela abaixo.

Tabela 3: Metabólitos secundários produzido por *Trichoderma harzianum* (fonte: KESWANI et al, 2013).

Metabólitos Secundários	Referencias
Ácido harziânico	Fujiwara et al. (1982), Baldwin et al. (1985), Rebuffat et al. (1989), Almassi et al. (1991), Claydon et al. (1991), Ghisalberti et al. (1992), Kobayashi et al. (1993), Ghisalberti and Rowland (1993), Sawa et al. (1994), Iida et al. (1994), Lee et al. (1995a,b), Iida et al. (1995), Rebuffat et al. (1995), Huang et al. (1995a, b), Qian-Cutrone et al. (1996), Lee et al. (1997), Tezuka et al. (1997), Parker et al. (1997), Amagata et al. (1998), Marfori et al. (2002)2002), Kawada et al. (2004), Combet et al. (2006), Vinale et al. (2006), Vinale et al. (2009a, b)
Ácido dimetil-harziânico	
Ácido homoharziânico	
1-hidroxi-3-metil-antaquinona	
1,8-dihidroxi-3-metil-antraquinona	
Harzianolide, Trichoharzin	
Harziandiona	
6-pentil-2H-piran-2-ona	
6-(1'-pentenil)-2-H-piran-2-ona	
Koninginin A, B e E	
Ciclonerodiol	
Harzianopiridona	
Melanoxadin	
Trichodenonas A, B e C	
Harzifilona	
Fleefilona	
T22azafilona	
Harzialactonas A e B	
R-mevalonolactona	
Harzianolide	
T39butenolide	
MR304A e MR566B	
Trichosetin	
Trichorzianinas A e B	
Trichokindins I- VII	
Harzianins HC	
Trichorozins I-IV	
15-hidroxiacorenona	
Isonitrin A e D	

A 6-Pentil-Alfa-Pirona, além de apresentar características antifúngicas e ser um vetor promotor de crescimento em plantas, também é associada ao aroma de coco. A utilização do microrganismo *Trichoderma harzianum* para produção via fermentação da lactona em questão vem sendo fortemente estudada por diversos motivos. Primeiramente, por ser um metabólito secundário do processo natural de crescimento do fungo, a quantidade de etapas e as condições para as mesmas são reduzidas em comparação as etapas e condições de temperatura da rota sintética. Outro ponto de vantagem da rota fermentativa ocorre quando comparada com a extração natural do aroma de coco. Como fonte de carbono, a *Trichoderma harzianum* pode utilizar tanto resíduo da indústria de coco, como da de açaí e cana de açúcar. Todas essas substâncias foram testadas como matéria-prima para o microrganismo em fermentação em

estado sólido e apresentaram uma concentração significativa do produto de interesse ao final do processo fermentativo, sendo o bagaço de açaí o que apresentou melhores resultados (ALVES, 2011).

2.1.4. Fermentação em Estado Sólido

A fermentação em estado sólido (*solid-state fermentation, SSF*) é definida como sendo o crescimento e/ou cultivo de microrganismos sob condições controladas na ausência de água livre para a produção de compostos de interesse. A maioria dos processos de SSF envolvem a utilização de fungos filamentosos, embora alguns processos utilizem bactérias ou leveduras. Exemplos de produtos produzidos por esta técnica incluem enzimas, combustíveis, antibióticos, entre outros. Há ainda o interesse do uso de microrganismos que se desenvolvem em condições desta fermentação para mediar processos como descoloração de corantes e biorremediação. Estes processos geralmente utilizam rejeitos ou subprodutos da agricultura ou do processamento de alimentos. Por isso, podem representar uma alternativa viável para a destinação destes rejeitos (PANDEY, 2003).

As condições a que o microrganismo é exposto na fermentação em estado sólido são diferentes das utilizadas na fermentação submersa, já muito difundida e consolidada industrialmente. Nela, a técnica SSF pode ser bastante estressante para o microrganismo devido à exposição ao ar, podem dessecar as hifas fúngicas e causar variação da temperatura durante o ciclo de crescimento do organismo, podendo atingir valores maiores que o ótimo necessário para o seu crescimento. Há também a dificuldade do controle e monitoramento de parâmetros importantes como pH, umidade, substrato e concentração da biomassa. (MIENDA, 2011)

Nesta técnica, há a possibilidade de contaminação de espécies indesejadas de fungos, embora a baixa disponibilidade de água possa diminuir a contaminação por bactérias e leveduras. Em larga escala, a engenharia e especificações científicas de biorreatores de SSF ainda não estão completamente estabelecidos e são escassas as informações sobre *design* e operação destes equipamentos em larga escala (MIENDA, 2011).

Apesar das desvantagens mencionadas, a fermentação em estado sólido também apresenta vantagens consistentes. As condições ambientais da fermentação são similares às geralmente encontradas em habitats naturais de fungos filamentosos, o que estimula seu crescimento, e a inoculação com esporos facilita a dispersão uniforme através do meio. Alguns compostos são produzidos em ainda maior quantidade utilizando a fermentação em estado sólido comparado com a submersa, como enzimas e pigmentos. Em larga escala, os biorreatores

requerem *design* simples e menos espaço devido à natureza concentrada dos substratos (MIENDA, 2011).

Alguns parâmetros são de fundamental importância para o entendimento e correta operação da fermentação em estado sólido. A umidade entra como um destes parâmetros por afetar diretamente a fermentação. A baixa umidade no substrato pode prejudicar o crescimento e o metabolismo do microrganismo, quando comparado com a fermentação submersa. Esta umidade está diretamente relacionada à atividade de água, A_w , e é definida como a razão entre a pressão de vapor de uma solução aquosa e a mesma pressão de vapor da água pura na mesma temperatura. O controle desta atividade pode ser útil para modificar a produção metabólica microbológica e sua excreção (BHARGAV, et al., 2008).

Igualmente importante, o pH pode afetar o metabolismo dos microrganismos responsáveis pela fermentação, ativando ou desativando suas enzimas, que dependem da acidez ou da alcalinidade do meio. Geralmente são usadas soluções-tampão na etapa de umidificação do substrato para evitar a grande variação de pH (CALASANS, 2012).

Esta técnica já é utilizada em escala industrial em setores econômicos como agricultura e agroindústria, com os principais processos sendo operados e comercializados em regiões do sudeste da Ásia, África e América Latina (RAIMBAULT, 1998). A Tabela 4 mostra as principais aplicações da fermentação em estado sólido em larga escala.

Tabela 4: Principais aplicações da fermentação em estado sólido (FONTE: RAIMBAULT, 1998)

Setor Econômico	Aplicação	Exemplos
Indústria Agrária e de Alimentos	Fermentações Tradicionais	Queijos fermentados
	Produção de cogumelos	Agaricus
	Bioconversão	Compostagem, Destoxicação
	Aditivos Alimentícios	Aromas, Gorduras, Ácidos orgânicos
Agricultura	Biocontrole, Bioinceticida	Trichoderma
	Crescimento de plantas, Hormônios	Gioberellins, Rhizobium
Fermentação Industrial	Produção de Enzimas	Amilases, Celulases, Proteases, Pectinases
	Produção de Antibióticos	Penicilina, Probióticos
	Produção de Ácidos Orgânicos	Ácido Cítrico, Ácido Fumárico, Ácido Lático
	Metabólitos Fúngicos	Hormônios Alcalóides

Para a produção da 6-pentil- α -pirona, a fermentação em estado sólido apresenta uma grande oportunidade para o aproveitamento de rejeitos provenientes do processamento de matérias-primas comumente encontradas em território brasileiro. Ramos et al, em 2006, analisou a produção do aroma de coco em pó da casca de coco verde por *Trichoderma harzianum*. Calasans, em 2012, e Fadel et al, em 2014, caracterizaram e quantificaram a lactona produzida por *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*, respectivamente, em bagaço de cana. Alves, em 2011, estudou a obtenção do composto por *Trichoderma harzianum* em suporte composto por resíduo de processamento do açúcar.

2.2. Metodologia

2.2.1. Preparação da fermentação e solução nutritiva

A metodologia para a condução da fermentação em estado sólido é apresentada a seguir. O processo fermentativo foi realizado em nove dias consecutivos com retirada de pontos triplicados de dois em dois dias, começando no primeiro dia, sendo o dia da inoculação o ponto 0. Foram pesados 8g de resíduo de caroço de açaí processado em 15 erlenmeyers de 250 mL. Este resíduo agroindustrial foi cedido pela EMBRAPA, moído e congelado a -18 °C. Para uso, o mesmo foi seco em estufa a 60 °C durante 24 horas, conforme Alves (2011). A solução nutritiva para o crescimento do microrganismo foi preparada de acordo com a otimização de nutrientes estudada por Alves (2011). Logo após a pesagem e preparação da solução, os frascos foram autoclavados a 121 °C e 1 atm por 15 minutos. Os nutrientes e suas respectivas concentrações estão discriminados na Tabela 5.

Tabela 5: Nutrientes e respectivas concentrações do meio nutritivo

Nutriente	Concentração (g/L)
Glicose	30
Extrato de Levedura	1,0
MgSO ₄	1,5
ZnSO ₄	0,001
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,94
FeSO ₄	0,01
CaCl ₂	0,008
KCl	0,5
KH ₂ PO ₄	1,0

2.2.2. Microrganismo fermentador

O microrganismo usado, responsável pela fermentação, foi o *Trichoderma harzianum* IOC4042, cedido pelo Departamento de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). A conservação das cepas foi feita em tubos de ensaio com gelose PDA (*potato dextrose agar*), que é preparada com extrato de batata (20% m/v), agar-agar (2% m/v), glicose (2% m/v), MgSO₄ (0,02% m/v) e CaCO₃ (0,02% m/v) conforme Martins (2003). Os tubos foram mantidos em geladeira, repicados mensalmente.

2.2.3. Preparação do inoculo e condições de cultivo

A suspensão de esporos foi preparada com a adição de solução salina estéril (NaCl 0,9%) em tubo de ensaio contendo o fungo *Trichoderma harzianum*, com agitação para a recuperação de maior quantidade de esporos. Utilizou-se suspensão de esporos com concentração inicial de $1,9 \times 10^8$ esporos/g de resíduo. A contagem de esporos foi realizada com o auxílio de microscópio ótico, utilizando a câmara de Neubauer.

Os erlenmeyers contendo o resíduo do processamento de açaí foram inoculados com a suspensão de esporos e impregnados com 20mL de solução nutritiva. A fermentação foi conduzida em estufa bacteriológica Fabbe Primar 216 com controle de temperatura (a 28°C) e sem agitação.

2.2.4. Análise de umidade e pH

Em cada amostra coletada da fermentação, foram realizadas análises de umidade e de pH da mistura fermentada. A umidade foi determinada com o auxílio da balança de umidade Shimadzer MOC63v, utilizando uma alíquota de 1 g do fermentado. Por fim, o pH foi determinado com a coleta de 1 g do fermentado em tubo de ensaio, seguida de adição de 5 mL de água destilada e agitação com o agitador de tubos Phoenix AP56 por 3 minutos. A mistura, então, teve pH avaliado pelo pHmetro Sensoglass SP1880.

2.3. Resultados e Discussões

A reprodução da fermentação em estado sólido com suporte de açaí e utilizando o fungo *Trichoderma harzianum* foi feita sem dificuldades e obteve resultados coerentes com os já disponíveis na literatura. A Figura 4 mostra o aspecto da mistura fermentada após 7 dias.



Figura 4: Aparência da fermentação no 7º dia

A figura mostra um grande crescimento do fungo, reforçando a boa reprodução da fermentação e indicando a produção do composto de interesse, 6-PP, que pode ser confirmada através de características olfativas, características estas que puderam ser notadas com a retirada da rolha de algodão.

A Figura 5 mostra os resultados da análise de pH do fermentado, ao longo dos dias de fermentação.

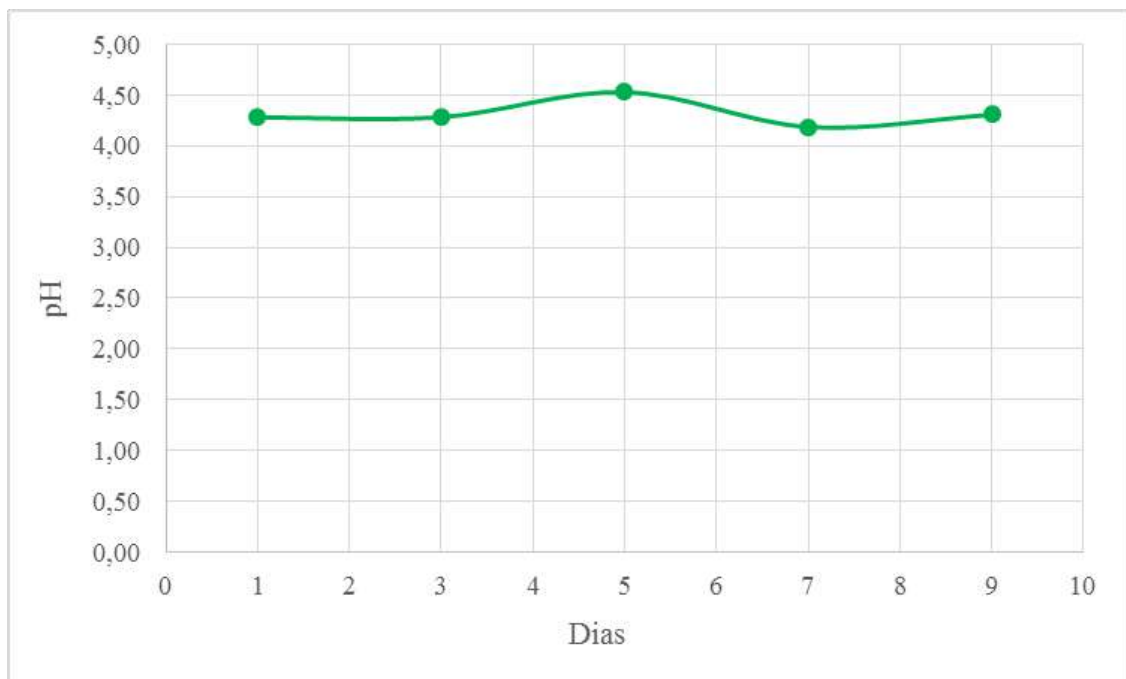


Figura 5: Evolução do pH ao longo da fermentação

Pelo gráfico é possível notar que o pH da fermentação não se alterou com a presença de atividade microbiana, se mantendo ácido. Este pH ácido se deve a componentes da solução nutritiva que contém este caráter, como os sulfatos de magnésio e cálcio. Além disso, a manutenção deste pH é fundamental já que este fator externo é de extrema importância para o crescimento microbiano. Kredics et al (2003) afirmam que o microrganismo pode crescer em um intervalo amplo de pH de 2,0 a 6,0, com seu ótimo em 4,0. Já Jackson et al (1991), encontraram produção de biomassa ótima para um intervalo de pH de 4,6 a 6,8. Portanto, a estabilidade do pH para o processo entre 4,25 e 4,50 estimula e não prejudica o crescimento do fungo.

A Figura 6 mostra os resultados de umidade do fermentado.

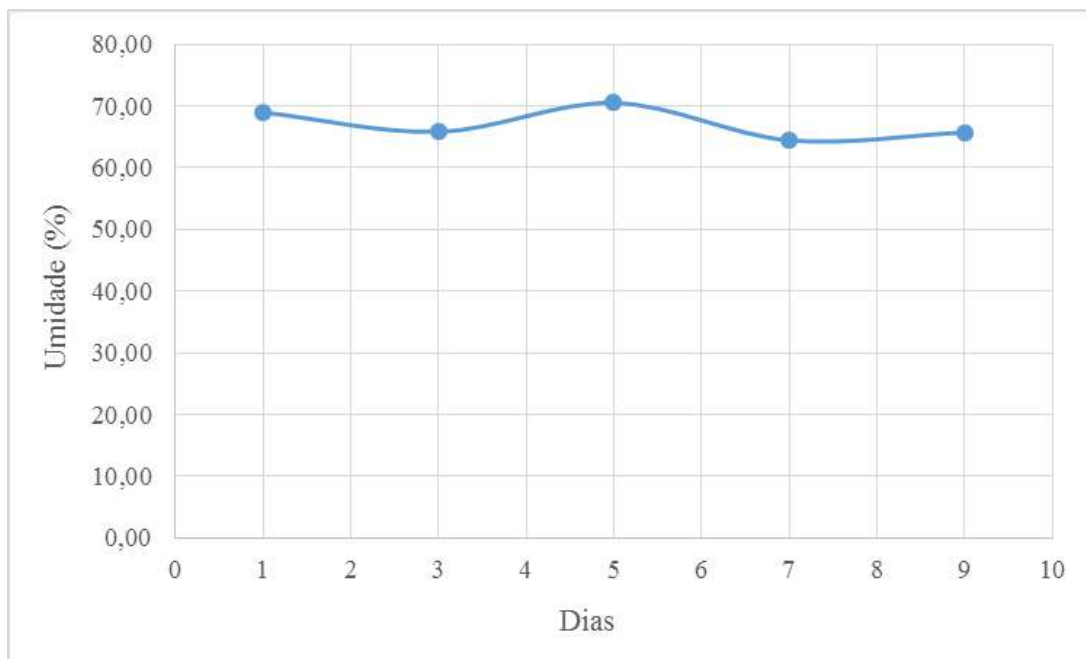


Figura 6: Evolução da umidade ao longo da fermentação

Os dados mostram que a umidade no fermentado oscilou entre 70% e 65% ao longo dos 9 dias de fermentação. Estes valores poderiam causar um impacto negativo na fermentação por prejudicar o metabolismo do fungo. Singhania et al (2009) afirma que fungos necessitam de baixa umidade para se desenvolverem, com valores entre 40 a 60%, porém a seleção do substrato depende de diversos fatores relacionados a, principalmente, disponibilidade e custo, possibilitando a seleção de resíduos agroindustriais que forneçam maior umidade ao processo.

É importante ressaltar que houve dificuldade na quantificação do 6-PP produzido por inexperiência na análise cromatográfica e por problemas do próprio equipamento e não foi possível sua realização. Portanto, para efeito de dimensionamento do processo nos capítulos seguintes, foram utilizados dados disponíveis na literatura, retirados de Alves (2011). Deste, foi possível a estimativa da taxa de produção de aroma pelo microrganismo através do gráfico de áreas de picos cromatográficos em conjunto com a curva padrão do aroma disponíveis no estudo, assim como a definição do tempo de fermentação e umidade ao longo da fermentação, conforme registrado na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros para dimensionamento da fermentação

Parâmetro	Valor (unidade)
Taxa de produção de 6-PP	289,1 mg/kgMS.dia
Tempo de fermentação	9 dias
Quantidade de resíduo seco	60%

3. Processo de Pervaporação

3.1. Revisão Bibliográfica

Um dos principais pontos que deve ser levado em conta no projeto de qualquer processo químico é a etapa de separação e purificação do produto de interesse. O grau de purificação, assim como o meio onde se encontra o produto são os principais fatores que irão determinar o tipo de processo de separação a ser utilizado (WANKAT, 2011).

Processos de separação como filtração, ciclones e hidrociclones, destilação e extração são muito bem definidos na literatura e amplamente utilizados ao redor do mundo em diferentes processos químicos. Com o aumento da competitividade entre as indústrias e a necessidade de processos mais específicos e seletivos para separação de determinados produtos, tornando a separação mais eficiente, faz com que o desenvolvimento de processo com a utilização de membranas vem sendo estudados e progressivamente utilizados nas indústrias, tornando a separação mais eficiente (WANKAT, 2011, e WYNN, 2001).

Estudos sobre membranas datam desde do século XVIII, quando Abbé Nolet cunhou a palavra 'osmose' para descrever a permeação de água através da membrana da bexiga de porco (BAKER, 2004). Até o início do século XX, as membranas eram quase que exclusivamente utilizadas em processos laboratoriais como ferramentas para o desenvolvimento de teorias da físico-química (BAKER, 2004). O primeiro grande avanço na utilização de membranas em escala industrial ocorreu nos anos 60, a partir do desenvolvimento de uma membrana ultrafina, com superfície seletiva em um suporte com microporos, mais permeáveis e com resistência mecânica para osmose inversa. Essa membrana, desenvolvida pelo processo de inversão de fases por Loeb-Sourirajan, apresentou fluxo dez vezes maior do que as membranas disponíveis até aquele momento e transformou a osmose inversa em um processo viável para dessalinização da água (BAKER, 2004). Atualmente, existem processos com membranas com tecnologia bem estabelecida, assim como os que ainda estão no estágio de desenvolvimento em laboratório (HABERT et al, 2006). O principal rumo de desenvolvimento para esse tipo de tecnologia se encontra na capacidade de fabricar módulos de membranas que sejam específicas para cada tipo de separação de interesse, garantindo qualidades intrínsecas ao tipo de separação assim como as condições de operação para o processo.

Por definição, uma membrana é uma estrutura ou material fino, que separa dois fluidos e permite uma troca de massa entre os mesmos. Na Engenharia Química, uma membrana pode ser definida como uma barreira seletiva entre duas fases, através da qual diferentes espécies

químicas são transportadas a diferentes velocidades (RIBEIRO JR., 2005). Esse processo de separação consiste na passagem da corrente de alimentação por um sistema de membranas que irá dividir esta corrente em duas novas: a corrente do permeado, a qual apresenta maior concentração dos compostos da corrente de alimentação que possuem maior permeabilidade a membrana, e a corrente do retido, que apresenta maior concentração os compostos com baixa permeabilidade à membrana. Esta permeabilidade é definida como o resultado das etapas de sorção e difusão, ou seja, a permeabilidade é expressa como o produto dos coeficientes de sorção e difusão na matriz polimérica e é expressa na unidade Barrer (10^{-10} cm³.cm/(cm².s.cmHg)) (HABERT et al, 2006). A Figura 7 ilustra um processo genérico de separação com a utilização de membrana (RIBEIRO JR., 2005):

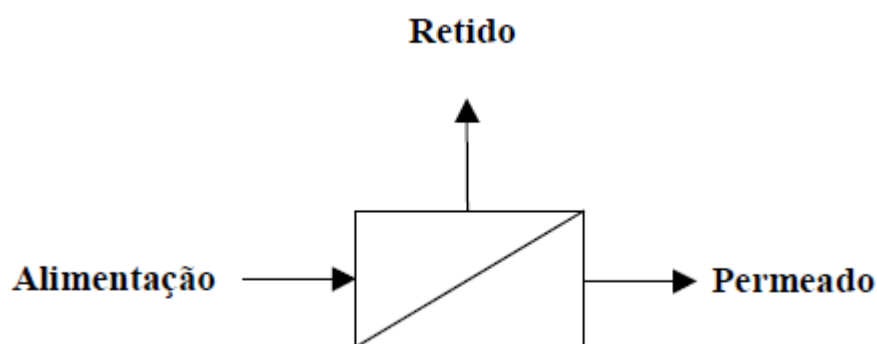


Figura 7: Processo genérico de separação por membrana

A principal característica desses processos está relacionada no fato da maioria das separações ocorrerem sem mudança de fase, sendo, portanto, energeticamente mais vantajosos, quando comparados com os processos térmicos tradicionais (HABERT et al, 2006).

Assim como a maioria dos processos com utilização de membranas, a permeação de vapor somente passou a ser utilizada em um ambiente industrial nos últimos 20 anos (BAKER, 2004). Sua primeira utilização industrial foi durante o projeto Manhattan para a separação de diferentes isótopos do hexafluoreto de urânio (BAKER, 2004), mas que por se tratar de uma aplicação única, não gerou desenvolvimento de longo prazo para o processo. O desenvolvimento de membranas anisotrópicas de alto fluxo, utilizadas inicialmente para osmose inversa, serviu de base para a tecnologia do processo de separação de gás por permeação. Atualmente tal tecnologia é empregada para a separação de gases, como oxigênio e nitrogênio, do ar atmosférico, desidratação de álcoois e remoção de compostos orgânicos voláteis de correntes de ar e nitrogênio (HABERT et al, 2006, e BAKER, 2004).

Seguindo a ilustração da Figura 7 para exemplificar os processos de separação com membrana, na permeação de gás, a corrente de alimentação é gasosa, gerando tanto uma corrente de retido como uma corrente de permeado em fase gasosa. Tal processo segue o modelo de solução-difusão, desenvolvido por Graham em 1860. Nele o transporte de uma espécie química do lado da alimentação para o lado do permeado ocorre devido a um gradiente de potencial químico para determinada espécie química, sendo essa a força motriz do processo (RIBEIRO JR., 2005). Nesse caso, o gradiente de potencial químico será gerado devido a uma diferença de pressão de vapor do componente de interesse.

Uma tendência promissora para a utilização das tecnologias com membranas está no ramo alimentício. Cada vez mais busca-se que as etapas de processamento dos alimentos interfiram o mínimo possível em suas características organolépticas. Uma dessas principais características que sofrem grandes mudanças e perdas ao longo das diversas etapas do processamento de alimentos é o aroma (CORREIA et al, 2008).

Dos tipos de separação com membranas, os processos correlatos de pervaporação (corrente de alimentação no estado líquido e corrente do permeado no estado vapor) e permeação de vapor (corrente de alimentação e permeado no estado vapor) têm sido amplamente estudados visando o objetivo de recuperação dos compostos responsáveis por aroma de um alimento específico. Borges et al, em 2006, fizeram um levantamento de estudos experimentais sobre a utilização do processo de pervaporação para recuperação de aroma em suco de frutas. A maioria dos trabalhos utiliza sistemas binários de compostos aromáticos; entre ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e lactonas, específicos devido a complexidade da composição dos aromas de sucos de frutas e da complexidade dos mecanismos de transferência de massa envolvendo misturas de multicomponentes. Diversas membranas, módulos e condições de operações também são mencionados, sendo em sua grande maioria, utilizado membranas de polidimetilsiloxano (PDMS).

Ribeiro Jr (2005) propôs um sistema de evaporação por contato direto e permeação de vapor para tratamento de sucos. Em seu trabalho foram estudados o efeito da vazão de alimentação de gás na recuperação de aroma, com soluções e acetato de etila em módulos de fibra oca de PDMS. Com o mesmo módulo de membrana também foram feitos ensaios com suco sintético com o objetivo de validar a rota proposta. Como resultado, a dependência da área da membrana utilizada no processo frente à vazão de gás pode ser observada, sendo esta área inversamente proporcional a vazão de gás utilizada. Também foi obtida a recuperação de até 98% de acetato de etila, evidenciando a adequação da técnica para a aplicação proposta.

Em 2006, testes para concentração e recuperação de aroma de abacaxi foram realizados por Cabral et al. Os testes foram realizados tanto com membranas de PDMS quanto de terpolímero eteno-propeno-dieno (EPDM) nas condições de 25 e 35°C, com posterior análise do pervaporado por cromatografia em fase gasosa acoplado a espectrometria de massa (GCMS). Os fluxos para as diferentes membranas nas diferentes temperaturas de operação foram comparados, podendo ser observada a maior seletividade da membrana de EPDM. Também foi comprovada a eficiência de contração dos aromas do processo, podendo ser notado pela detecção de mais compostos nos cromatogramas.

Assis et al, em 2007, utilizaram um sistema de pervaporação com membrana de PDMS com o objetivo de obter um extrato natural de aroma de caju diretamente da polpa da fruta. Nas condições de 25 e 35°C, altos fluxos mássicos foram obtidos (0,11 e 0,17 kg/h.m²), e o aumento no número de compostos detectados no cromatograma do permeado (em média 118 picos) frente ao retido (média de 41 picos) e a alimentação (média de 46 picos) indicam uma concentração dos componentes voláteis e aromáticos do suco.

Fora do segmento de sucos e aromas de fruta, um estudo feito em 2007 por Assis et al. buscou avaliar a viabilidade do processo de pervaporação para concentração e recuperação da bebida de café torrado e moído. Membrana de EPDM foi utilizada e o perfil aromático da bebida de café e do concentrado aromático foi caracterizado por cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massa. Obteve-se extrato concentrado dos componentes do aroma de café, indicando que a pervaporação é capaz de concentrar o aroma da bebida de café. A membrana constituída pelo terpolímero etileno-propileno-dieno apresentou bom desempenho nesse processo.

Como foi mencionado, os processos de permeação de vapor e pervaporação são similares e correlatos, com a diferença do estado da mistura de alimentação. É importante ressaltar que apesar das experiências em laboratório terem sido realizadas em sistema de pervaporação, o processo geral foi projetado como uma permeação de vapor, já que o produto já é excretado pelo microorganismo em fase gasosa.

3.2. Metodologia

3.2.1. Membrana

O material selecionado para a membrana foi o polidimetilsiloxano pela alta permeabilidade deste material a componentes orgânicos constituintes de aromas (Ribeiro). A membrana selecionada foi densa e na forma de fibras ocas (Medicone), com diâmetro interno e

externo de 0,5 e 1,0 mm, respectivamente, compondo uma área total de 200 cm² de contato. O módulo de permeação foi constituído de um feixe de 32 fibras com comprimento em torno de 20 cm. O feixe era disposto em alça, com as extremidades coladas por resina epóxi (Araldite) em uma conexão de PVC, possibilitando separar o lado do lúmen do lado externo das fibras.

3.2.2. Processo de Pervaporação

O procedimento para utilização do processo de pervaporação para a determinação da permeabilidade da substância 6-PP é descrito a seguir. Inicialmente, cerca de 600mL de uma solução de água com 1% m/m de etanol e 600 mg/L de aroma foi preparada. O objetivo do etanol é permitir a completa solubilização do aroma na água.

Após preparo, a solução foi adicionada em um Erlenmeyer de 500mL, o qual foi acoplado um módulo com membrana de PDMS na forma de fibras ocas. Para que o sistema possa funcionar de forma adequada as fibras devem estar submersas na solução.

O lúmen das fibras é, então, conectado a uma bomba de vácuo gerando a força motriz para o processo de permeação. A linha de vácuo apresenta dois cristalizadores em paralelo, que são utilizados em momentos distintos do processo: o primeiro é utilizado por um período que permita obter a condição de regime estabelecido no processo, e o segundo servirá para coleta de uma amostra do pervaporado. Antes de começar a operar o sistema, um dos cristalizadores é pesado para que se possa calcular o fluxo mássico dos componentes que permeiam a membrana.

A etapa de estabilização ocorre, aproximadamente, durante o período de 90 minutos. Após o estabelecimento do regime contínuo, o segundo cristalizador é acionado para que se possa iniciar a coleta do pervaporado. O término do processo de pervaporação irá ocorrer após 180 minutos do início do regime estacionário. Antes da bomba de vácuo outro cristalizador é adicionado para evitar que nenhuma substância seja transferida para a bomba. Todos os cristalizadores serão refrigerados por nitrogênio líquido, repostos de 30 em 30 minutos, ou por gelo seco triturado, sendo repostos de 20 em 20 minutos. A Figura 9 apresenta o sistema utilizado:

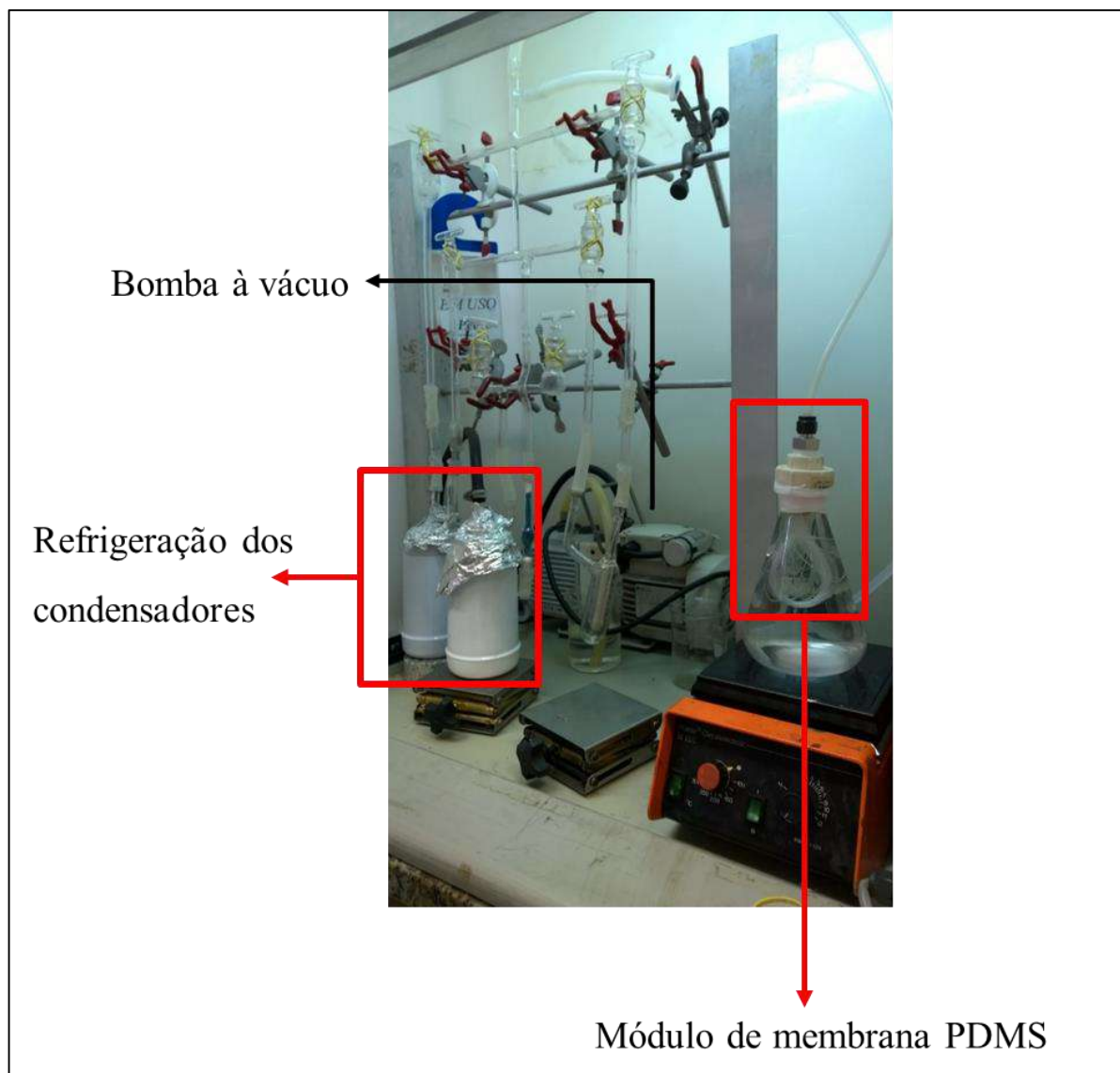


Figura 8: Sistema de Pervaporação

Após término do teste de permeação, o cristalizador utilizado na etapa continua e que contém o pervaporado é pesado para que se possa ser calculado o fluxo mássico pela membrana. O pervaporado coletado é analisado por cromatografia em fase gasosa. O teste com o aroma em questão foi realizado duas vezes.

3.2.3. Análise do Pervaporado por cromatografia em fase gasosa

O pervaporado coletado na etapa acima foi analisado por cromatografia em fase gasosa buscando-se dois objetivos: descobrir o que passou pela membrana e o quanto de cada substância conseguiu passar. Para que a análise possa ser feita, primeiramente deve ser realizado um processo de microextração em fase sólida (*solid phase micro extraction*– SPME)

do aroma, com o objetivo de separar o mesmo do pervaporado obtido e permitir sua leitura na cromatografia em fase gasosa.

A técnica de SPME consiste na remoção do aroma da fase líquida do pervaporado coletado. Tal processo utilizou 0,1 mL de pervaporado coletado, 15 mL de solução NaCl 25% p/v a temperatura de 79 °C durante 29 minutos sob agitação. O aroma extraído foi capturado por uma seringa de polidimetilsiloxano (PDMS) acoplada a recipiente utilizado para a realização da microextração. Na Figura 8 pode ser visto o sistema de micro extração montado.

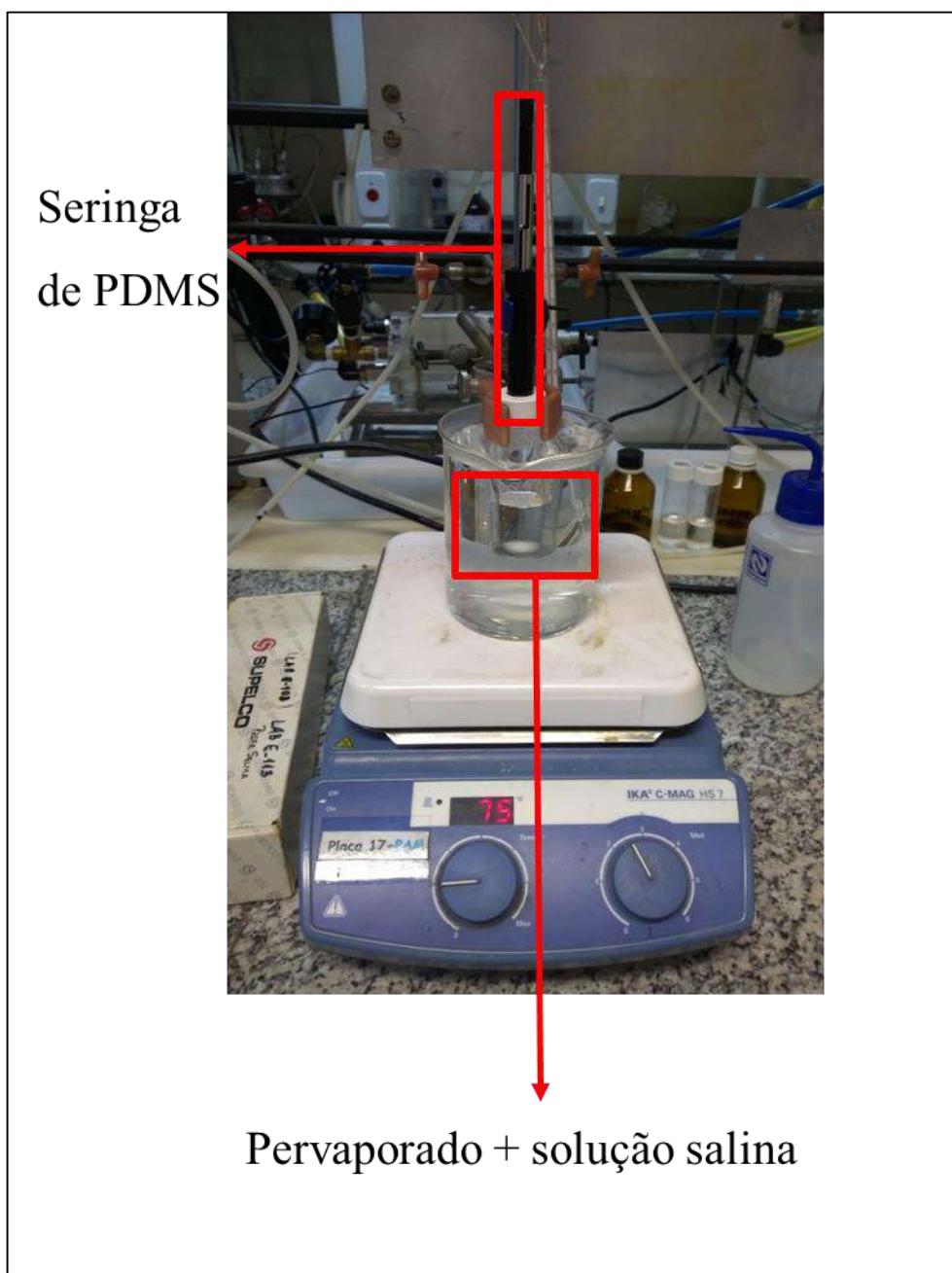


Figura 9: Micro Extração em Estado Sólido

Após término do processo de extração, a seringa foi introduzida no cromatógrafo Clarus 500 (Perkin Elmer) para realizar a análise. A análise tem duração de 15 minutos, sendo que nos 4 primeiros minutos a seringa permanece introduzida no cromatógrafo. As demais condições para a análise são: temperatura do injetor igual a 250°C, temperatura do detector de ionização de chama (FID) a 260°C, temperatura da coluna iniciando em 200 com aumento de 10 °C/minuto até chegar a 230°C, sendo mantido nesta temperatura por até o final da análise (15 minutos). A análise do pervaporado foi realizada em duplicata.

3.2.4. Curva de calibração para análise do pervaporado

Para determinar a quantidade do composto de interesse na amostra analisada por cromatografia gasosa foi necessária a confecção de uma curva de calibração. Novas soluções com 1% m/m de etanol e com diferentes concentrações de aroma (10, 30, 50, 70 e 100 mg/L) foram feitas e analisadas em duplicata por cromatografia em fase gasosa, sendo utilizadas as mesmas condições estabelecidas para a análise do pervaporado. Tais soluções também passaram pelo processo de SPME, sendo utilizado 1mL de solução ao invés de 0,1 como para o pervaporado. As demais condições do SPME também foram mantidas. As análises para cada concentração padrão foram realizadas em duplicata.

3.3. Resultados e Discussões

Primeiramente serão apresentados os resultados das análises para a confecção da curva de calibração do aroma para a cromatografia em fase gasosa. A correlação realizada para essa curva será entre a concentração de aroma presente em cada solução e a área de pico no cromatograma (Figura 10)

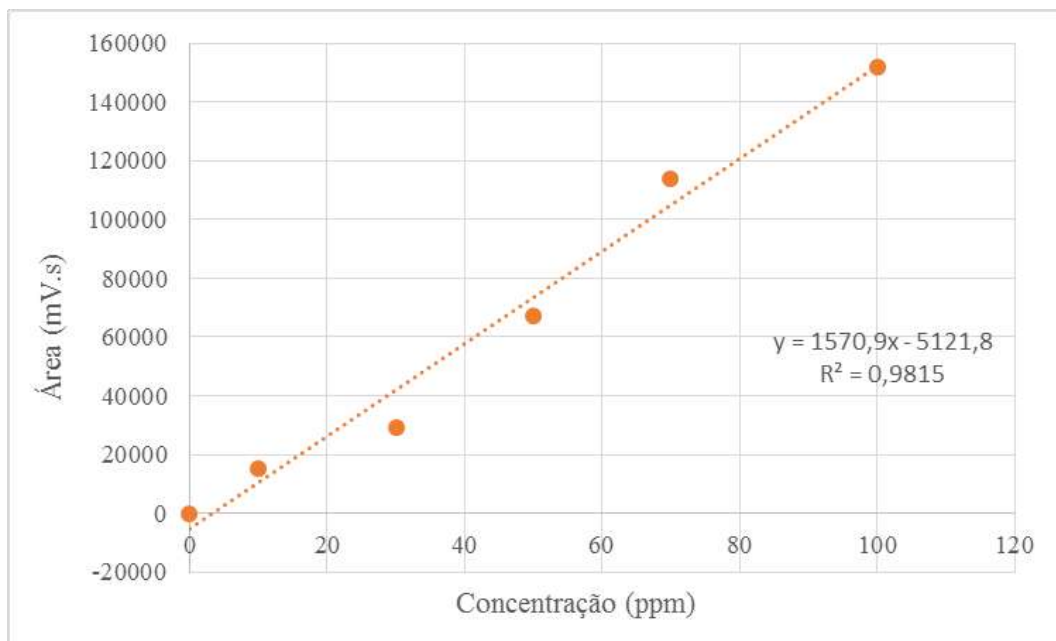


Figura 10: Curva padrão para quantificação de 6-PP em solução aquosa com etanol

Como pode ser observado na Figura 9, o valor do coeficiente de correlação (R^2) foi elevado (0,9815), podendo considerar adequado o ajuste da equação linear para os dados experimentais. Conclui-se que a curva de calibração obtida pode ser utilizada para a análise do pervaporado.

Para determinar o fluxo mássico da solução pelo sistema de membranas utilizou-se a diferença de massa do condensador de coleta do pervaporado antes e depois dos testes realizados. Os resultados podem ser vistos na tabela abaixo.

Tabela 7: Cálculos para Fluxo Mássico de solução pela Membrana

Corrida	Massa Inicial do Cristalizador (g)	Massa Final do Cristalizador (g)	Vazão Mássica (g/h)	Fluxo Mássico (g/h.m ²)
1	48,015	48,457	0,147	7,323
2	55,499	56,054	0,167	8,301

Os valores encontrados para os fluxos são coerentes entre si e correspondem aos dados encontrados na literatura para as membranas utilizadas (RIBEIRO JR., 2005), demonstrando que as corridas foram realizadas com sucesso. O uso do fluxo mássico obtido resultou em uma permeabilidade para a água de 77.752 Barrer. Dados na literatura para o PDMS fornecem para a permeabilidade da água o valor de 36.000 Barrer. A diferença observada pode estar

relacionada ao grau de reticulação do PDMS, ou mesmo a variações na estrutura do monômero utilizado na sua síntese.

Assim como ocorrido para o estudo da fermentação, dificuldades foram encontradas para a análise cromatográfica do pervaporado. Por mais que os picos para o composto 6-PP tenham sido obtidos nos cromatogramas da curva calibração o mesmo não ocorreu para a análise do pervaporado. Alguns dos motivos que podem ter contribuído são a possível volatilização do aroma e perda do produto nas paredes do cristalizador. Além disso, um outro fator importante foi possivelmente a baixa permeabilidade do composto na membrana. Dessa forma, para a análise da viabilidade econômica do processo proposto no próximo capítulo, a influência da permeabilidade do aroma na membrana será um dos parâmetros investigados.

Apesar de os resultados experimentais não terem permitido determinar a permeabilidade do composto de interesse, os testes realizados foram úteis para a determinação da permeabilidade da água, assim como para familiarização com o processo de separação.

4. Concepção do Processo

4.1. Rota Proposta

Este trabalho tem como objetivo elaborar um processo biotecnológico capaz de produzir e separar, de forma contínua, o composto químico 6-pentil-alfa-pirona (6-PP) dentro das condições e especificações do mercado atual. O processo possuirá um limite de bateria com seu interior separado em duas macro áreas: a Área 100, que conterà os equipamentos responsáveis pela fermentação e produção do bioaroma e a Área 200, que terá o necessário para separação do aroma até sua corrente final.

Na Área 100, a etapa de produção do 6-PP ocorrerá a partir da fermentação em estado sólido do bagaço do caroço de açaí. No capítulo 2 foram explorados todos os pontos acerca da fermentação, sendo esses desde condições de cultivo da *Trichoderma harzianum* até a otimização de matéria prima e solução nutritiva utilizada.

Com os resultados obtidos na literatura, o tempo de cultivo necessário para se chegar ao máximo de produção do aroma podem variar de sete até onze dias. Vale ressaltar, que por motivos ainda pouco esclarecidos, após esse tempo as concentrações dessa substância diminuem, sendo necessária sua remoção do sistema para evitar perdas de produção.

Para o processo em questão, decidiu-se operar a fermentação até o nono dia. O biorreator que será usado para a fermentação possuirá a forma de bandejas, pois respeitam as concepções da fermentação em estado sólido, além de permitir a disponibilidade de ar necessária para que a fermentação possa ocorrer sem problemas. Após o nono dia o aroma, que é produzido já em fase gasosa, será removido por uma corrente de ar paralela à superfície onde está ocorrendo o processo, como mostra a Figura 11. Esta corrente gasosa contendo o aroma, vapor de água e ar atmosférico é conduzida ao sistema de permeação (Área 200), onde ocorre a separação e purificação do aroma. Está sendo considerado um prazo de um dia para que possa ocorrer a retirada completa de todo o aroma produzido. Após dez dias, o material já fermentado será removido e descartado, o reator utilizado será limpo e um novo inóculo será realizado. Buscando a continuidade da produção, a etapa fermentativa irá considerar nove reatores trabalhando com um dia de diferença, para que sempre haja um reator no dia de maior concentração do aroma na produção (9º dia, como mostrado no Capítulo 2) para que ocorra a passagem de fluxo de ar e conseqüente retirada de produto. Dessa forma, o fluxo de ar para a alimentação do sistema de membrana sempre será contínuo.

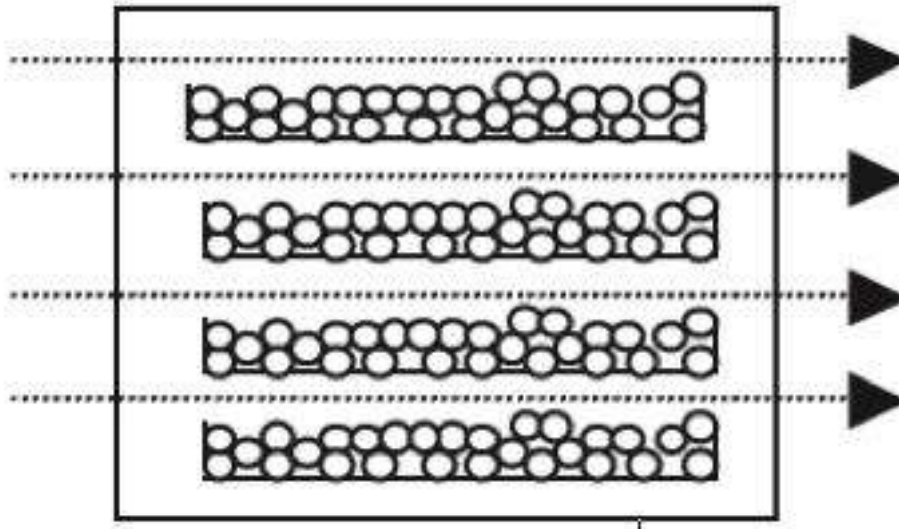


Figura 11: Esquema do biorreator em bandejas (FONTE: *Solid State Fermentation Bioreactors*)

Na Área 200 o processo de separação escolhido foi um sistema de membranas de PDMS que será responsável pela remoção do aroma da corrente de ar e concentração do mesmo na corrente do permeado. As variáveis desse processo, como descrito no capítulo 3, são as concentrações de aroma e vapor de água na corrente de alimentação, área disponível para permeação no sistema de membranas e permeabilidade do composto de interesse na membrana utilizada. A corrente retida da separação será recirculada para o fermentador, buscando-se a maior recuperação do aroma 6-PP.

A corrente do permeado enriquecida em aroma, contém vapor de água e ar atmosférico está com pressão reduzida (vácuo) e precisa passar por um sistema de condensação/cristalização para coleta e obtenção do produto final. Propõe-se a utilização de dois condensadores em série. O primeiro condensador opera em temperatura mais elevada, possibilitando a condensação preferencial da água. No segundo condensador a temperatura é reduzida e o aroma será condensado com elevado grau de pureza. O ar que permeou a membrana é continuamente eliminado pela bomba de vácuo. A concepção do processo proposto foi elaborada com o auxílio do programa Microsoft Visio e pode ser visto no fluxograma da Figura 12:

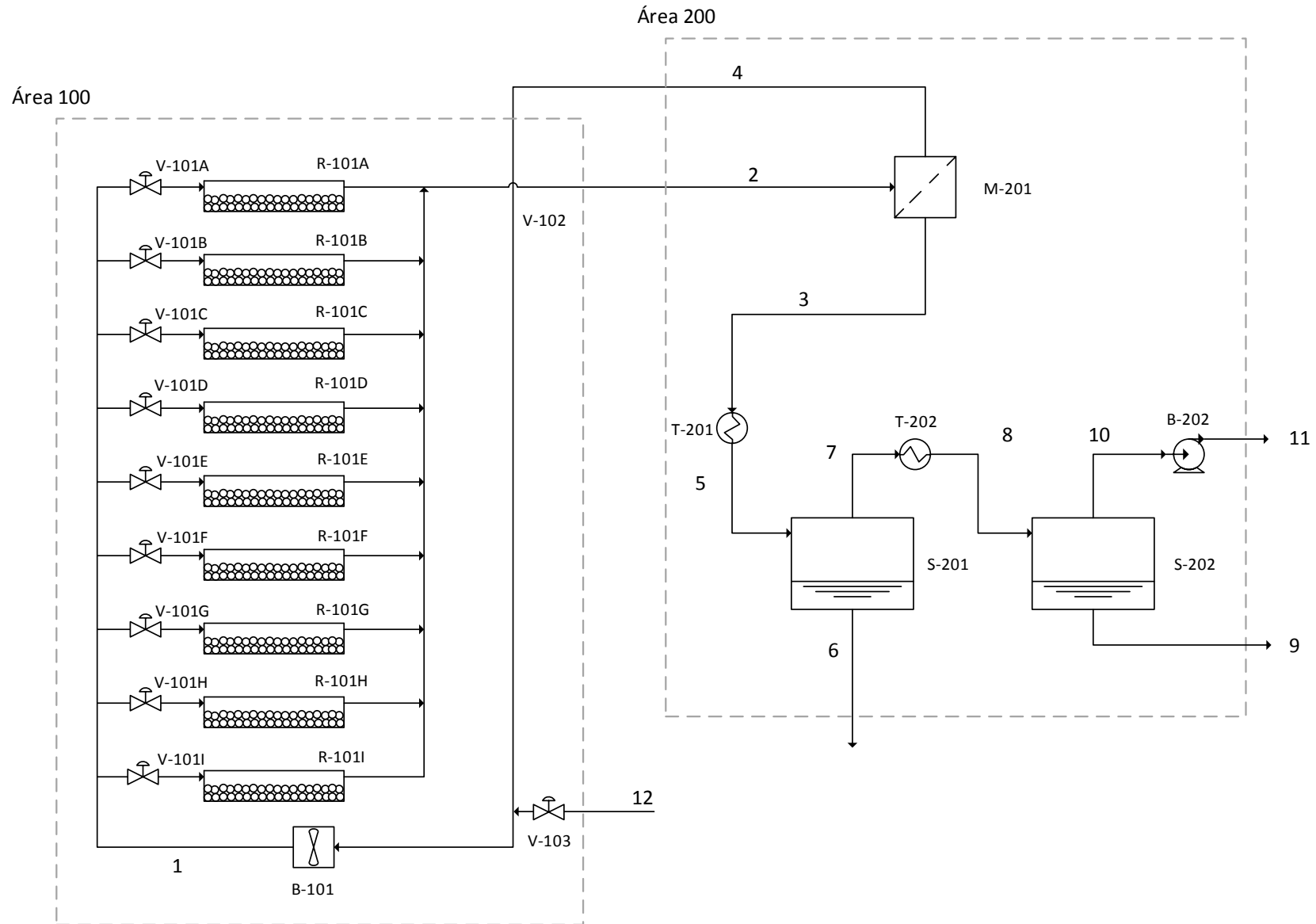


Figura 12: Fluxograma do processo proposto para produção, separação e purificação de aroma 6-PP.

As informações acerca dos equipamentos utilizados para a confecção do ISBL (*Inside Battery Limits* – Interior do Limite de Bateria) serão apresentados na Tabela 8, sendo identificados a partir de seus respectivos TAGs. Estes foram construídos com a primeira letra sendo o tipo de equipamento (R para reator, S para tanque de separação, V para válvula, T para trocador de calor, M para membrana e B para bombas e sopradores) e o primeiro dígito numérico sendo a área em que o equipamento se encontra.

Tabela 8: Lista de equipamentos

TAG	Quantidade	Equipamento
R-101A~I	9	Fermentador
S-201~2	2	Tanque de separação gás/líquido
V-101A~I	9	Válvulas de entrada no Fermentador
V-102	1	Válvulas de entrada de make-up de ar
T-201	1	Condensador de água
T-202	1	Condensador de aroma
M-201	1	Módulo de membrana
B-101	1	Sopradores de ar
B-202	1	Bomba de vácuo

Por fim, o OSBL (*Outside Battery Limits* – Exterior do Limite de Bateria) é composto pelas facilidades de suporte ao processo e possui os seguintes itens:

- Laboratório de microbiologia;
- Facilidade para produção da solução nutritiva;
- Sistema de Refrigeração para o condensador T-201;
- Sistema de armazenagem de nitrogênio líquido para o condensador T-202;
- Galpão de estocagem e processamento de resíduo de açai;
- Galpão de estocagem de produto;

- Facilidades administrativas.

4.2. Considerações e Modelagem do Balanço de Massa

O balanço de massa da unidade foi realizado considerando um processo contínuo de produção de aroma e sua retirada através da membrana. Assim, deve-se inferir que a massa de aroma que é produzida no biorreator será a mesma que deverá permear a membrana e, consequentemente, estará na corrente final do processo.

A descrição das hipóteses nas próximas seções e as equações geradas por elas utilizarão as variáveis que compõem o processo, discriminadas na Tabela 9. Os índices não numéricos A, B e C correspondem, respectivamente, aos componentes 6-PP, água e ar e os numéricos representam as correntes especificadas na Figura 12.

Tabela 9: Variáveis do processo

Variável	Significado	Unidade
Q_i	Vazão mássica da corrente i	kg/h
$x_{A,i}$	Frações de 6-PP na corrente i	Adimensional
$x_{B,i}$	Frações de água na corrente i	Adimensional
j_A, j_B, j_C	Fluxos mássicos através da membrana	mg/(h.m ²)
A	Área total da membrana	m ²
e	Espessura da membrana	cm
P_A, P_B, P_C	Permeabilidades através da membrana	Barrer
n	Número de bandejas do biorreator	Adimensional
p_A, p_B, p_C	Pressões parciais na corrente 2	cmHg
P	Pressão de operação	cmHg
r_A	Taxa de produção de 6-PP	mg/h

4.2.1. Equações Intrínsecas ao Sistema

Para o processo de permeação, Ribeiro Jr. (2005) mostra que o fluxo de um componente k (j_k) através de uma membrana pode ser descrito através da equação:

$$j_k = \frac{P_k}{e} (x_k^A P^A - x_k^P P^P) \quad (1)$$

Onde P_k é a permeabilidade do componente através da membrana, e é a espessura da parede da membrana, x_k^A e x_k^P são as composições do componente nas correntes de alimentação e permeada, respectivamente, e P^A e P^P são as pressões das correntes de alimentação e permeada, respectivamente. Como descrito anteriormente, a corrente permeada é anexada a uma bomba de vácuo e, portanto, a pressão na corrente permeada é muito inferior a de alimentação e as equações de fluxo para cada componente no sistema se tornam:

$$j_A = \frac{P_A}{e} (x_{A,2} P) \quad (2)$$

$$j_B = \frac{P_B}{e} (x_{B,2} P) \quad (3)$$

$$j_C = \frac{P_C}{e} (x_{C,2} P) \quad (4)$$

Nas equações (2) e (3) as frações do aroma e do vapor de água são obtidas pelos dados da fermentação e da condição de equilíbrio. A equação 4 utiliza a fração de ar na corrente 2, a qual é obtida pela limitação da soma das frações dos componentes desta corrente, que deve ser igual a 1.

$$x_{A,2} + x_{B,2} + x_{C,2} = 1 \quad (5)$$

Com o cálculo dos fluxos mássicos por componente através da membrana, é possível definir a vazão mássica da corrente 3 como o produto da área pela soma destes fluxos.

$$Q_3 = A \cdot (j_A + j_B + j_C) \quad (6)$$

Para o condensador T-201 a carga térmica foi calculada como o calor necessário para a corrente atingir a temperatura necessária para a condensação da água na condição de vácuo utilizada, somada com o calor necessário para condensar a água para que a corrente final de produto atinja 97% de pureza do aroma.

$$q_1 = Q_3 c_{p,3} \Delta T + Q_6 h'_{fg,B} \quad (7)$$

A capacidade calorífica (c_p) utilizada na equação 7 é considerada como uma média ponderada dos calores específicos de cada componente com a sua composição. É importante ressaltar que a disponibilidade de parâmetros físico-químicos do 6-PP na literatura é escassa e, portanto, buscou-se utilizar as propriedades do composto com composição de elementos mais próximos encontrados. Portanto, foram utilizados parâmetros do ácido decanóico como similares aos do aroma.

A temperatura de condensação da água na pressão de vácuo foi estimada pela equação de Antoine:

$$\ln P_{\text{sat}} = A - \frac{B}{T+C} \quad (8)$$

Onde P_{sat} é em kPa, T em °C e A, B e C são valores tabelados (para a água, A = 16,3872, B = 3885,7 e C = 230,17. Fonte: Tabela B.2 de Smith, Van Ness, *Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química*).

Para o condensador T-202 utilizou-se nitrogênio líquido como refrigerante para a condensação da totalidade do aroma. Portanto,

$$q_2 = Q_7 c_{p,7} \Delta T + Q_9 h'_{fg,A} \quad (9)$$

Novamente, o calor específico utilizado foi a média ponderada dos calores específicos com as respectivas composições na corrente 7 e o calor latente de vaporização foi considerado como sendo do ácido decanóico.

4.2.2. Variáveis Especificadas do Sistema

De todas as variáveis apresentadas do processo, algumas já possuem seus valores já determinados, seja através de resultados laboratoriais, hipóteses de simplificação ou modelagens específicas. Estas variáveis serão especificadas nesta seção para sua utilização nos cálculos do balanço de massa.

Como foi discutido nos resultados do Capítulo 2, os dados retirados da literatura referente à cinética de produção do 6-PP especificam o valor da taxa de produção por kg de resíduo igual a 289,1 mg/kgMS.dia. Além disso, faz-se necessário o dimensionamento prévio das bandejas do biorreator para ter conhecimento do volume disponível para passagem do ar de processo. O dimensionamento foi realizado fazendo um escalonamento proporcional comparando as dimensões do erlenmeyer utilizado em bancada de laboratório com uma bandeja quadrada de 2,0 m de comprimento e largura, totalizando uma área superficial disponível para o crescimento do fungo de 4,0 m². É de suma importância ressaltar que este escalonamento não considera uma série de fatores que devem ser levados em conta no *design* final do biorreator, como o aumento da dificuldade de remoção de calor e preocupação com a atividade da água no meio fermentado, descrito por Mitchell (2006). Logo, este escalonamento tem como objetivo o dimensionamento e análise preliminares do processo.

Ainda referenciando o Capítulo 2, em bancada de laboratório, os ensaios de fermentação foram realizados em erlenmeyers de 250 mL com 8 g de resíduo de açaí processado. Estes erlenmeyer possuem diâmetro de fundo de 8,0 cm com o resíduo formando um leito de 0,5 cm de altura. Considerando que a altura do leito na bandeja se mantenha, o escalonamento por proporção linear resulta na utilização de 6,37 kg de resíduo por bandeja do biorreator, com *headspace* de 198,94 L e, portanto, o cálculo da altura da bandeja resulta em 5,47 cm. Esta quantidade de resíduo que deverá ser utilizado em cada bandeja pode ser relacionada com a taxa obtida no capítulo 2, especificando, então, a taxa de produção de 6-PP (r_A) em 76,69 mg/h. Com as dimensões das bandejas, o cálculo do fluxo de ar pode ser realizado.

Este cálculo foi realizado com a aproximação de escoamento de fluidos para dutos não circulares (FOX et al, 2008). Esta aproximação se apresenta válida apenas se a razão altura/comprimento for menor que 3, o que é verdadeiro para as dimensões calculadas para a bandeja do biorreator. Portanto, a definição do número de Reynolds pode ser utilizada:

$$Re = \frac{D_h \cdot v \cdot \rho}{\mu} \quad (10)$$

onde D_h é o diâmetro hidráulico da bandeja, parâmetro definido para dutos não circulares, v é a vazão volumétrica do fluido, ρ é sua massa específica e μ , sua viscosidade. O diâmetro hidráulico é definido como:

$$D_h = \frac{4A}{P} \quad (11)$$

em que A é a área da seção transversal em que o fluido passa e P é o perímetro da parede onde ele encosta.

Para o sistema, é necessário que o fluxo de ar não seja turbulento de forma a não haver agitação no meio de cultivo para não prejudicar a fermentação. Para isso, escolheu-se o valor de 50 para o número de Reynolds, de forma a não só garantir que o escoamento na bandeja seja laminar, como impedir que o fluxo na bandeja seja tão grande que dilua o produto e prejudique a força motriz de permeação do aroma produzido. Com isso, pode-se determinar o fluxo de ar na bandeja (Q_2) como 3,43 kg/h ou 2,93 m³/h. Como forma de simplificação, foi feita a hipótese de que a produção do aroma é pequena comparada ao fluxo de ar que atravessa o biorreator e a vazão mássica total que entra nele pode ser aproximada para a vazão que sai. Portanto, o mesmo valor calculado para Q_2 é associado a Q_1 .

Como resultado no Capítulo 3, os ensaios de pervaporação geraram o valor de 77.752 Barrer para a permeabilidade da água (P_B). Além disso, dados da literatura (BAKER, 2004) fornecem valores de permeabilidade de oxigênio (O_2) e nitrogênio (N_2) de 500 e 250 Barrer, respectivamente. Foi considerada a composição do ar atmosférico de 21% de O_2 e 79% de N_2 para o cálculo de sua permeabilidade por média ponderada de 302,5 Barrer (P_C).

Além destas variáveis, o restante é especificado a partir de hipóteses. De acordo com Netto (1999), a 30 °C, a saturação de água no ar atmosférico é de 4% e este valor será adotado para as variáveis $x_{B,1}$ e $x_{B,2}$, como o máximo de água que a corrente de ar pode suportar, sendo considerado um cenário pessimista para o sistema. São considerados, também, especificados os valores da espessura da membrana igual a 0,1 cm (e) e a pressão de operação do sistema igual 1 atm ou 76 cmHg (P). Por fim, é fixada a concentração do aroma em 5% na corrente 2 ($x_{A,2}$), ou seja, a válvula para a passagem do ar pelo biorreator para a retirada do aroma produzido só abre quando esta concentração for atingida.

A Tabela 10 resume as variáveis que são especificadas e seus valores que serão utilizados para o cálculo do balanço de massa.

Tabela 10: Variáveis especificadas e seus valores

Variável	Valor (Unidade)
r_A	76,69 mg/h
Q_1 e Q_2	3,43 kg/h
P_B	77.752 Barrer
P_C	302,5 Barrer
$x_{B,1}$ e $x_{B,2}$	0,04
e	0,1 cm
P	76 cmHg
$x_{A,2}$	0,05

4.2.3. Equações do Balanço de Massa

De forma geral, as equações de balanço de massa possuem a forma:

$$\sum \left\{ \begin{array}{l} \text{vazões mássicas} \\ \text{que entram} \\ \text{no bloco ou nó} \end{array} \right\} - \sum \left\{ \begin{array}{l} \text{vazões mássicas} \\ \text{que saem} \\ \text{do bloco ou nó} \end{array} \right\} \pm \sum \left\{ \begin{array}{l} \text{gerado/} \\ \text{consumido} \end{array} \right\} = \{\text{acúmulo}\}$$

Entende-se por bloco um conjunto de uma ou mais operações unitárias que as correntes de processo entram ou saem e por nó um ponto de processo que ocorra mistura ou separação de correntes. Para o bloco composto pela Área 100 em conjunto com o módulo de membrana, a forma geral para cada componente toma a seguinte forma:

$$\left\{ \begin{array}{l} V \cdot \frac{dC_A}{dt} = n \cdot r_A - A \cdot j_A \end{array} \right. \quad (12)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} 0 = Q_{12} x_{B,12} - A \cdot j_B \end{array} \right. \quad (13)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} 0 = Q_{12} x_{C,12} - A \cdot j_C \end{array} \right. \quad (14)$$

Pela equação 12, no estado estacionário, $dC_A/dt = 0$ e, utilizando a definição de j_A da equação 2, mostra-se que:

$$A = \frac{n \cdot r_A}{\left(\frac{P^A}{e}\right) \cdot P \cdot x_{A,2}} \quad (15)$$

Assim, como variáveis de projeto para a determinação da área, que pode possuir grande impacto no custo do projeto, temos o número de bandejas e a permeabilidade do aroma, que sofrerão análises de sensibilidade no capítulo subsequente. Para o cálculo do balanço, então, serão usados valores médios do intervalo de variação destas variáveis, mais especificamente, 500 bandejas para n e 5.000 Barrer para P_A .

Com a área calculada, utilizam-se as equações 3 e 4 para calcular os fluxos mássicos através da membrana de água e de ar e, então, o uso da forma geral do balanço de massa para o biorreator, para a membrana e para o nó de entrada de make-up de ar são o suficiente para o cálculo do restante das variáveis. Para o reator, as equações de balanço global e por componente são:

$$\begin{cases} Q_1 = Q_2 & (16) \\ Q_2 x_{A,2} = Q_1 x_{A,1} + n \cdot r_A & (17) \\ Q_2 x_{B,2} = Q_1 x_{B,1} & (18) \end{cases}$$

Para o bloco composto pela membrana, temos:

$$\begin{cases} Q_2 = Q_3 + Q_4 & (19) \\ Q_2 x_{A,2} = Q_3 x_{A,3} + Q_4 x_{A,4} & (20) \\ Q_2 x_{B,2} = Q_3 x_{B,3} + Q_4 x_{B,4} & (21) \end{cases}$$

Para o nó de mistura na entrada do *make-up* de ar:

$$\begin{cases} Q_1 = Q_{12} + Q_4 & (22) \\ Q_1 x_{A,1} = Q_4 x_{A,4} & (23) \\ Q_1 x_{B,1} = Q_{12} x_{B,12} + Q_4 x_{B,4} & (24) \end{cases}$$

4.3. Resultados e Discussões

Os resultados dos cálculos do balanço de massa são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Balanço de Massa

Corrente	Pressão (cmHg)	Temperatura (°C)	Vazão Mássica (kg/h)	Fração Mássica		
				6-PP	H ₂ O	Ar
1	76.00	30.00	3.431	0.039	0.040	0.921
2	76.00	30.00	3.431	0.050	0.040	0.910
3	0.00	30.00	0.097	0.394	0.531	0.076
4	76.00	30.00	3.334	0.040	0.026	0.934
5	0.001	-61.35	0.097	0.394	0.531	0.076
6	0.001	-61.35	0.051	0.000	1.000	0.000
7	0.001	-61.35	0.047	0.818	0.025	0.157
8	0.001	-196.00	0.047	0.818	0.025	0.157
9	76.00	-196.00	0.040	0.970	0.030	0.000
10	0.001	-196.00	0.007	0.000	0.000	1.000
11	76.00	-196.00	0.007	0.000	0.000	1.000
12	76.00	30.00	0.097	0.000	0.531	0.469

Pode-se notar que a fração mássica do aroma na corrente permeada foi aumentada, chegando a concentração de 39%, o que era desejável. Como a concentração do aroma na corrente de alimentação é maior que da água, esta força motriz ajudou a impulsionar o aroma através da membrana, apesar de sua permeabilidade ser menor.

A equação 8, para a pressão de vácuo de 0,001 cmHg, resulta em uma temperatura de -61,35 °C de condensação do vapor de água. A quantidade de água no permeado, 51,7 g/h, implica numa necessidade energética para o condensador T-201 de 179,91 kJ/h ou 400,11 kWh/ano a serem retirados. Devido à temperatura baixa, é sugerida a utilização de refrigerante do tipo 134a (1,1,1,2-tetrafluoretano).

O mesmo pode ser observado para o condensador T-202, que possui a demanda de 0,18 kg/h de nitrogênio líquido. É importante ressaltar que, como os parâmetros utilizados para os cálculos foram estimados de um composto semelhante ao aroma, estudos de validação das

propriedades físico-químicas do 6-PP podem ser realizados para melhor avaliação destes resultados de demanda energética.

5. Avaliação Técnico-Econômica

5.1. Metodologia

O projeto tem o objetivo de avaliar a viabilidade econômica do processo proposto para a produção do bioaroma 6-PP via fermentação em estado sólido com *Trichoderma hazianum* e separação por permeação de vapor. Para isso, uma análise econômica preliminar foi realizada buscando-se entender os principais pontos do processo que irão interferir de maneira significativa na viabilidade do mesmo. Para tal avaliação, o método de Taxa Interna de Retorno será utilizado, visto que o mesmo é considerado o método mais utilizado para a avaliação de alternativas de investimentos (GITMAN, 2002). Para utilizar tal método, os conceitos de Valor Presente Líquido (VPL) e Taxa Mínima de Atratividade (TMA) também serão apresentados.

5.1.1. Valor Presente Líquido (VPL)

O Valor Presente Líquido é definido como o somatório dos valores presentes de entrada e saída do fluxo de caixa ao longo de um período determinado (LIN e NAGALINGAM, 2000). É o valor calculado a partir de todos os custos gerados, nesse caso, pelo processo (como investimentos em tecnologia, custos de matéria prima, operações, etc.) e todos os lucros gerados, calculado em relação a venda do bioaroma produzido. Tal fluxo de caixa deverá ser descontado a uma taxa constante, que representa o retorno mínimo exigido para o investimento em questão seja economicamente favorável (GUERRA, 2006). Tal valor poderá ser calculado pela expressão abaixo:

$$VPL = \sum_{a=1}^n \frac{LLDIR}{(1+i)^a} - I_{total} \quad (25)$$

Aonde VPL é o valor presente líquido do projeto, LLDIR é o lucro líquido depois do imposto de renda, I_{total} é o investimento total do projeto, a é o tempo de vida útil do projeto e i corresponde a taxa mínima de atratividade (TMA), que indica o mínimo esperado de ganho para o investimento no projeto vantajoso (EICK, 2010).

Primeiramente, foi calculado o valor de investimento total (também chamado de CAPEX – *Capital Expenditure*) que deve ser despendido para a implementação do processo. Tal valor corresponderá aos gastos feitos para compra de equipamentos, instalações, controle e facilidades do processo. Esses investimentos estão separados em fixo, de giro e de partida

(DI LUCCIO, 2001). O investimento fixo corresponderá à soma dos diretos e indiretos na planta. O investimento direto ficará dividido entre ISBL, que irá corresponder aos gastos necessários para aquisição dos equipamentos, válvulas, sistema de membranas, condensadores e instrumentação que interagem diretamente com o processo, acrescido de um fator, que levará em consideração os itens auxiliares. Todos os equipamentos contemplados dentro do cálculo do ISBL foram apresentados na Tabela 8. O OSBL, corresponde às facilidades auxiliares ao processo principal, como produção de vapor, torres de refrigeração, serviços, etc. que para a análise em questão, já foram descritos dentro do Capítulo 4 - Concepção do Processo. Para os investimentos indiretos, são considerados os gastos gerados para a instalação das facilidades gerais, além de uso de patentes, engenharia e outros. Tal valor foi calculado a partir de uma porcentagem em relação aos valores dos investimentos diretos. O investimento de giro corresponderá ao montante de capital necessário para operar a planta proposta e o investimento de partida o montante necessário para iniciar as operações. Tais investimentos correspondem, respectivamente, a uma porcentagem do investimento total da planta e ao investimento fixo. Abaixo, será apresentado em na Tabela 12 a relação para cálculo de cada fator. Tais valores foram os mesmos utilizados por Di Luccio (2001) cujo trabalho é baseado na utilização de membranas de forma semelhante ao trabalho em questão.

Tabela 12: Cálculo para investimento total do projeto

Investimento	Definição
Investimento Total (Itotal)	$I_f + I_g + I_p$
Investimento Fixo (If)	$I_d + I_{ind}$
Investimento Direto (Id)	ISBL + OSBL
<i>Inside Battery Limits</i> (ISBL)	$F_1 * \sum i_{equip}$
<i>Outside Battery Limits</i> (OSBL)	$0,45 * ISBL$
Investimento Indireto (Iind)	$0,25 * I_d$
Investimento de Giro (Ig)	$0,15 * IT$
Investimento de Partida (Ip)	$0,10 * I_f$

O lucro líquido após imposto de renda foi calculado a partir da renda gerada pela comercialização do bioaroma produzido, sendo descontados os custos gerais (OPEX – *Operational Expenditure*), que englobam custos com matérias primas, solução nutritiva, solução de esporos, além dos custos de utilidade com nitrogênio líquido, etileno glicol, mão de obra, manutenção, suprimentos, etc. Essa diferença irá resultar no lucro bruto gerado. Do lucro bruto, foi deduzido a depreciação - custo ou despesas geradas a partir do desgaste ou

obsolescência dos ativos imobiliários, e que será adicionado novamente ao lucro após dedução do imposto de renda – estimada para o processo analisado e a alíquota anual do imposto de renda. No final dessas deduções obtemos o valor do lucro líquido após imposto de renda (LLIR). Tais cálculos, dos custos gerais e do LLIR, são apresentados nas Tabela 13 e Tabela 14, respectivamente.

Tabela 13: Definição dos custos gerais para o projeto (FONTE: DI LUCCIO, 2001)

Custo	Definição
Custo geral (C _{geral})	C _{diretos} +C _{fixos}
Custos diretos (C _{diretos})	C _{mp} +C _{util} +C _{manut} +C _{sup} +C _{mo} +C _{adm}
Custos matéria-prima e utilidades	C _{mp} +C _{util}
Custos de manutenção (C _{manut})	0,04ISBL
Custos de suprimento (C _{sup})	0,006Ifixo
Custos de mão-de-obra (C _{mo})	0,20C _{total}
Custos de administração (C _{adm})	0,20C _{mo}
Custos fixos (C _{fixo})	0,03Ifixo

Tabela 14: Cálculo do lucro líquido após imposto de renda (FONTE: DI LUCCIO, 2001)

Componente	Definição
Lucro bruto (LB)	R-C _{total}
Lucro líquido antes do imposto de renda (LLAIR)	LB-DP
Depreciação (DP)	(1/n)*I _{direto}
Imposto de renda (IR)	0,35*LLAIR
Lucro líquido depois do imposto de renda (LLDIR)	LLAIR-IR+DP

5.1.2. Taxa Interna de Retorno (TIR)

Após a apresentação dos cálculos de VPL, a taxa interna de retorno (TIR) pode ser definida como a taxa de desconto que faz com que o VPL de uma oportunidade de investimento iguale-se a zero (GITMAN, 2002). Conforme Guerra (2006), a taxa interna de retorno iguala, no final do período de análise, o fluxo de caixa com o investimento total inicial implementado. Matematicamente pode ser definida pela equação abaixo:

$$I_{\text{total}} = \sum_{a=1}^n \frac{\text{LLIR}}{(1+\text{TIR})^a} \quad (26)$$

A TIR é muito utilizada para avaliar investimentos (EICK, 2010) e pode ser utilizada para tirar algumas conclusões sobre o projeto analisado (Bruni e Famá, 2003). Por exemplo, pode-se considerar que durante o prazo de análise do projeto, todos os retornos gerados serão reinvestidos no valor da taxa interna de retorno. Outra opção é considerar que o valor de todas as saídas é igual ao valor presente de todas as entradas do fluxo de caixa do projeto, neste caso a TIR é uma medida da rentabilidade do projeto de investimento.

Segundo Tracy (2004), as empresas devem preferir os investimentos com TIR alta, desde que todos os outros fatores permaneçam constantes. Por essa razão, as empresas não devem aceitar investimentos com TIR inferior a TMA (taxa mínima de atratividade). Outra maneira de dizer isso é que uma empresa não deve realizar um investimento com VPL negativo.

Dentro da indústria química, foi levantado por Rudd (1968) que a TMA esperada por investidores varia entre 8 e 18%. Por se tratar da proposta de um processo novo sem referências na literatura, decidiu-se optar pelo cenário mais conservador de análise adotando um valor de TMA de 18%

5.1.3. Análise de Sensibilidade

Buscando-se entender quais são os principais elementos do processo em questão que irão influenciar na viabilidade de sua implementação, uma análise de sensibilidade foi realizada. Tal análise, busca entender o comportamento do VPL e da TIR frente à variação das variáveis intrínsecas aos cálculos econômicos descritos acima. Para isso foi necessário definir quais seriam os parâmetros passíveis de variação para realização da análise descrita.

A permeabilidade da 6-PP e o número de bandejas, por terem sido definidas como variáveis de projeto no capítulo 4, serão dois dos parâmetros utilizados para sensibilidade. A permeabilidade do aroma irá variar desde valores baixos, como 100 Barrer, até valores de 10.000 Barrer (valores relatados para compostos orgânicos em membranas similares a utilizada neste trabalho). Para o número de bandejas, decidiu-se variar o mesmo entre 100 e 1000.

Outros valores utilizados foram o do preço de compra do metro quadrado da membrana utilizada e o preço por quilo de venda do aroma. O primeiro foi variado de R\$10 até R\$500, enquanto o segundo foi variado de U\$100 até U\$500 (AKACHA e GARGOURI, 2014). Na Tabela 15 são apresentadas as variáveis e os valores levados em consideração na análise. Vale ressaltar que para cada variação realizada, os valores dos demais parâmetros foram fixados nos valores médios já apresentados no capítulo 4.

Tabela 15: Variáveis e valores utilizados na análise de sensibilidade

Permeabilidade do Aroma (Barrer)	Preço da área de membrana (R\$)	Preço do aroma (U\$)	Número de bandejas (n)
100	10	100	100
500	50	200	200
1000	100	300	300
2000	200	400	400
3000	250	500	500
4000	300		600
5000	400		700
6000	500		800
7000			900
8000			1000
9000			
10000			

5.2. Considerações para análise econômica

Dentro dos cálculos de VPL e TIR alguns valores são fixos independente das variações realizadas para os parâmetros escolhidos dentro da análise de sensibilidade. Esses valores abrangem desde custos com equipamentos, que serão utilizados para cálculo dos valores de CAPEX, até custo por quilo de material fermentável, valor agregado ao OPEX do projeto. Todos esses valores fixos são apresentados nos tópicos baixos.

5.2.1. Custo de equipamentos

Os equipamentos considerados dentro do cálculo do ISBL e descritos na Tabela 8 foram cotados por empresas relacionadas ao ramo industrial. Os melhores valores foram escolhidos e são apresentados na Tabela 16:

Tabela 16: Custos com Equipamentos (Σ equip)

Equipamento	TAG	Preço Unitário
Fermentador	R-101A~I	R\$ 10.000,00
Tanque de separação gás/líquido	S-201~2	R\$ 5.000,00
Válvulas de entrada no Fermentador	V-101A~I	R\$ 370,00
Válvulas de entrada de make-up de ar	V-103	R\$ 550,00
Condensador de água	T-201	R\$ 3.610,00
Condensador de aroma	T-202	R\$ 3.610,00
Sopraadores de ar	B-101	R\$ 1.049,00
Bomba de vácuo	B-202	R\$ 7.526,93

Dos valores apresentados acima vale ressaltar dois pontos: o primeiro é que não se conseguiu cotar o valor de um fermentador correspondente ao proposto no capítulo 4, logo, estimou-se o mesmo baseado nos valores de fermentadores industriais de aço para a indústria cervejeira. O segundo ponto é que os valores relacionados ao preço do metro quadrado da membrana não são apresentados, justamente pelo mesmo se tratar e uns dos parâmetros utilizados na análise de sensibilidade para o sistema e ser variado ao longo dos cálculos.

5.2.2. Custo de matéria prima e utilidades

Dentro dos custos de matéria prima, foram considerados dois pontos: o primeiro corresponde ao processamento do bagaço de açaí até as condições próprias para fermentação. Dentro desse processamento estão sendo considerados os gastos com transporte, moagem e estocagem do material. A estimativa obtida foi de R\$0,03/kg de material.

O segundo ponto corresponde ao gasto por litro de solução nutritiva necessária para a fermentação proposta. Os valores para cada material necessário para o preparo da solução nutritiva, descrito na Tabela 5, foram cotados tanto por fornecedores nacionais e internacionais e a soma dos melhores valores resultaram em um preço de R\$0,02/L.

Para as utilidades do processo, que correspondem a fluido refrigerante nos condensadores T-201 e T202, foram considerados respectivamente os compostos R134A (1,1,1,2 – Tetrafluoretano) e nitrogênio líquido. O preço por kWh para a regeneração do fluido R134A corresponde a R\$ 0,4038 e o preço por litro do nitrogênio líquido, fornecido pela Air Liquide (2015), é de R\$8,47.

5.3. Resultados e Discussão

Após a definição da metodologia utilizada para a análise de viabilidade do projeto e da definição dos parâmetros que irão influenciar em seus cálculos, assim como os parâmetros escolhidos para realizar a análise de sensibilidade, alguns casos foram estudados e serão apresentados nas sessões subsequentes.

5.3.1. Análise dos parâmetros médios, ótimos e péssimos

Primeiramente foram analisados a viabilidade do sistema considerando os cenários para elaboração do balanço de massa do sistema, descrito no capítulo 4, assim como o cenário ideal, em que se obtêm os maiores lucros e são desprezados os menores valores para investimento e custos, e o cenário não ideal, no qual é gerado o menor lucro e são desprezados os maiores valores de gastos.

Para os parâmetros médios, o projeto conseguiu gerar uma TIR de 5,17%. Tal valor ocorre devido ao relativo investimento alto que se deve realizar para implementar o processo (cerca de R\$ 1,3 Milhões) e o um lucro bruto relativamente baixo gerado (cerca de R\$ 180 mil). Dessa forma, o projeto só passará a possuir um fluxo de caixa positivo entre o décimo e décimo primeiro ano. Dessa forma, consideramos que a condição acima não é viável economicamente.

Para o cenário ideal foi considerado o máximo de produção de aroma, com 1000 bandejas por reator, maior preço para venda do aroma (U\$ 500,00), maior permeabilidade para o aroma (10.000 Barrer) e menor preço de área para membrana (R\$10,00), a TIR obtida foi de 72,89%. Tal cenário é extremamente positivo frente a TMA estipulada para a comparação, porém sua possibilidade real de implementação é muito baixa. Para o cenário não ideal, menor número de bandejas (100), menor preço para venda do aroma (U\$100,00), menor permeabilidade (100 Barrer) e maior preço de área para a membrana (R\$500,00) não foi possível obter um valor de TIR. Isso ocorre pelo fato de necessitar um alto valor de investimento total (cerca de R\$3,7 milhões), além dos custos gerais anuais serem maiores do que a receita gerada (cerca de R\$ 340 mil e R\$ 105 mil, respectivamente), resultado em um lucro bruto negativo.

5.3.2. Análise de sensibilidade frente ao preço por metro quadrado de membrana

O primeiro parâmetro estipulado a sofrer a análise de sensibilidade foi o preço por metro quadrado de compra da membrana. O resultado da análise pode ser visto no gráfico abaixo

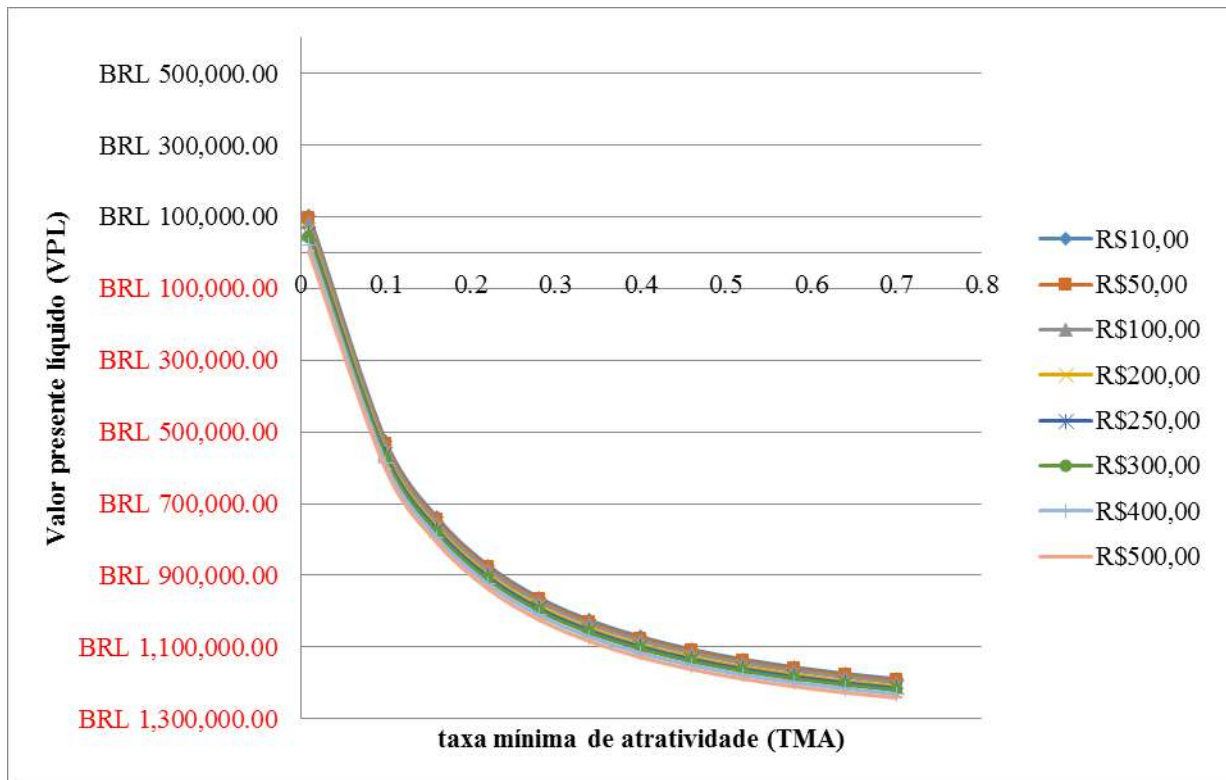


Figura 13: Análise de custo frente sensibilidade do preço da área (m²) de membrana

Pelo gráfico acima percebe-se que o preço de compra do metro quadrado da membrana não influencia de forma significativa na TIR do projeto. Para o valor de R\$10,00 a TIR obtida foi de 2,05% enquanto para o valor de R\$500,00 foi de 1,02%, gerando uma variação de aproximadamente 1%. Isso ocorre pelo fato do preço dos fermentadores ser a principal contribuição para o cálculo dos investimentos totais, amortecendo a variação causada pelo aumento do investimento para a membrana.

5.3.3. Análise de sensibilidade frente ao número de bandejas do fermentador

O próximo parâmetro estudado foi a influência do número de bandejas frente aos valores de TIR para o projeto. Os resultados estão no gráfico abaixo

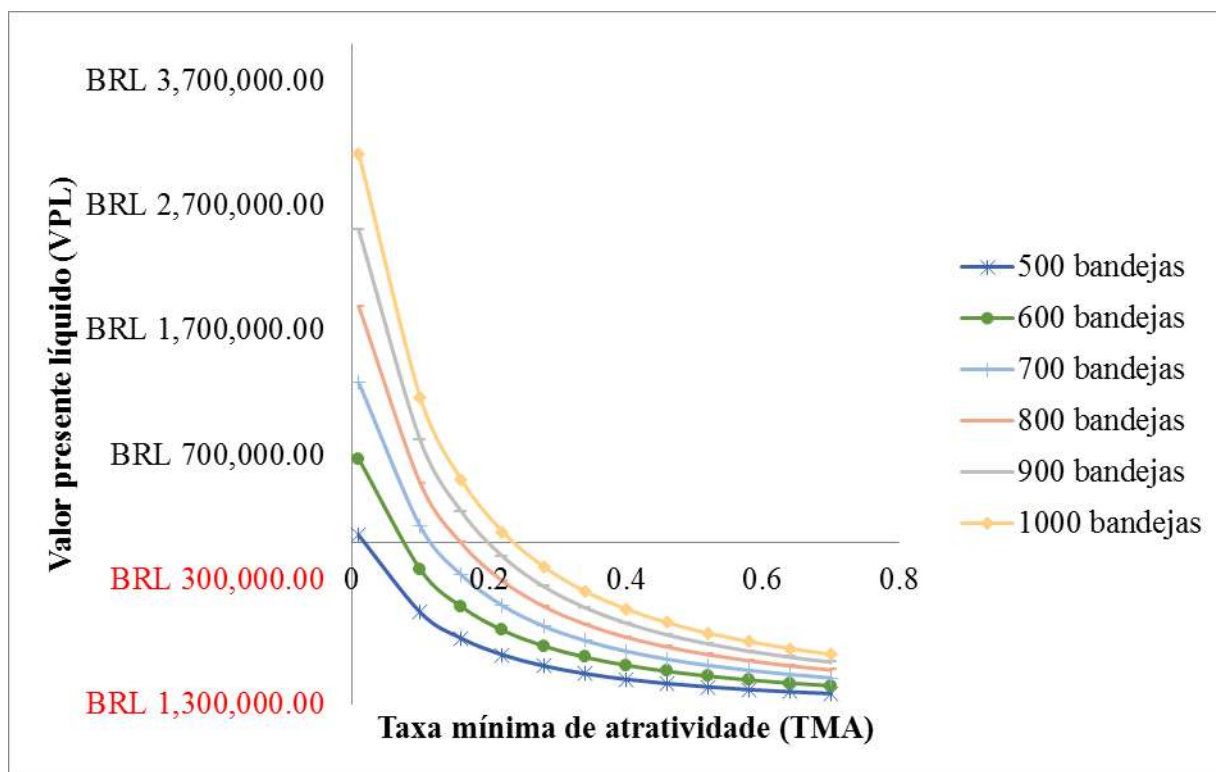


Figura 14: Análise de custo frente à sensibilidade do número de bandejas

Primeiramente, não foi possível obter resultado para o número de 100, 200, 300 e 400 bandejas. Isso ocorre pelo fato de uma quantidade pequena de aroma ser produzido, devido a uma quantidade baixa de material fermentável está disponível. Essa baixa produção de aroma acaba gerando uma baixa receita comparada ao custo despendido, gerando lucro bruto negativo, como ocorreu na análise do cenário não ideal.

Para valores de bandejas entre 500 e 1000 a TIR varia entre 1,54% e 23,57%, sendo que a partir do número de 900 bandejas a TIR para o projeto passa a ser superior ao TMA estipulado, tornando o mesmo viável de implementação econômica. Dessa forma, a influência desse parâmetro, que altera diretamente a receita obtida é um fator importante e deverá ser levado em consideração para a viabilidade do processo proposto. Vale ressaltar que a viabilidade técnica do mesmo não está sendo levada em consideração e que estudos mais

específicos precisam ser realizados para se descobrir a real possibilidade da implementação de fermentadores com números de bandejas superior a 900.

5.3.4. Análise de sensibilidade frente ao preço de venda do aroma

A Figura 15 mostra os resultados da variação do preço do aroma no custo do projeto.

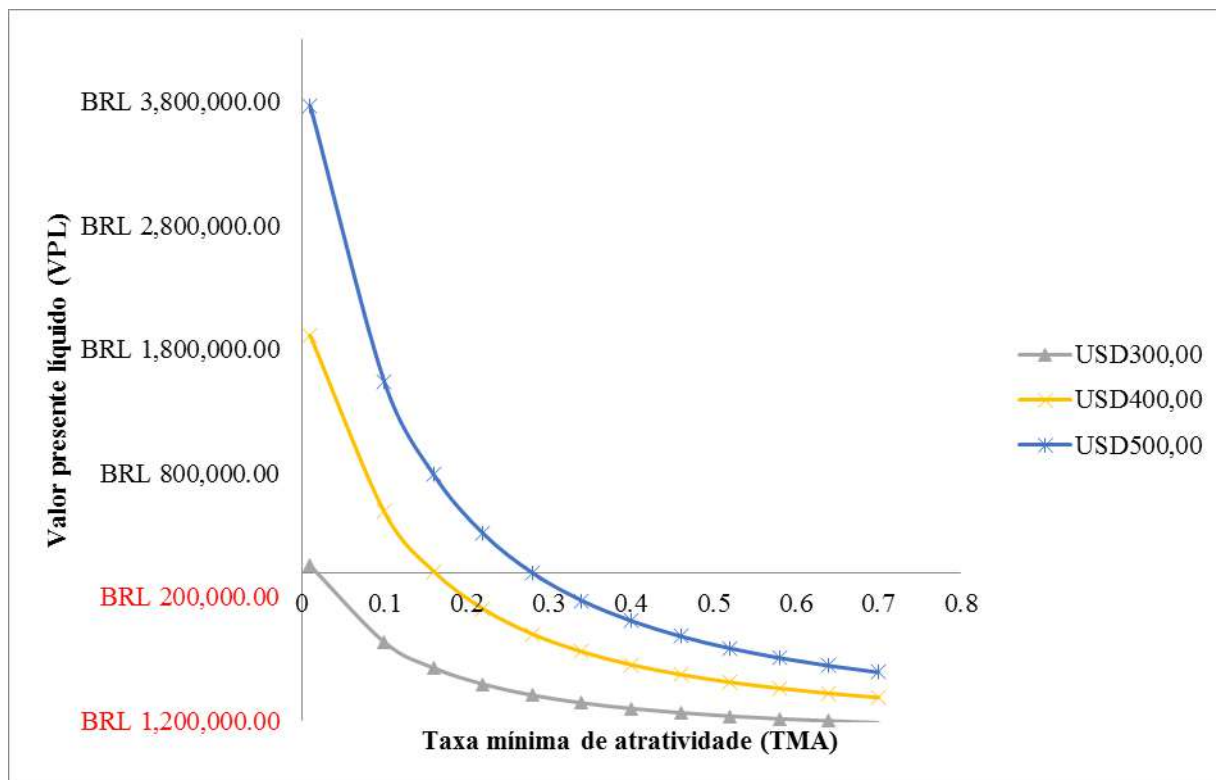


Figura 15: Análise de custo frente à sensibilidade do preço do aroma

Como se pode ver, a variação do preço final do aroma é extremamente significativa para a viabilidade do projeto. Conforme mostrado no Capítulo 2, o preço de mercado para um bioaroma gira em torno de USD 100,00 a USD 500,00 dólares por kg. Enquanto o preço de USD 300,00/kg gera uma TIR menor que 2%, a venda do produto a USD 500,00/kg já viabiliza o projeto com uma TIR de 27.9%, fazendo com que o produto seja competitivo com os bioaromas já disponíveis no mercado.

5.3.5. Análise de sensibilidade frente à permeabilidade do aroma

A Figura 16 apresenta a parametrização da permeabilidade do aroma e seu impacto no VPL.

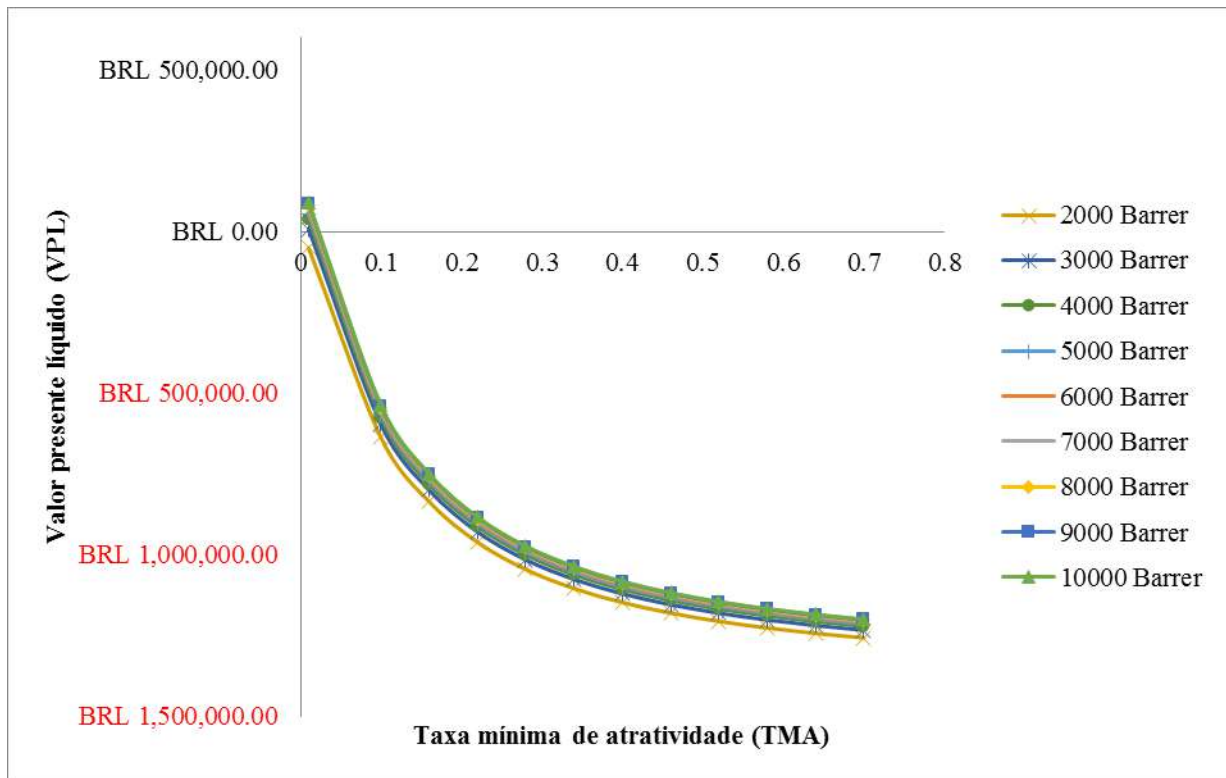


Figura 16: Análise de custo frente à sensibilidade da permeabilidade do aroma

É possível notar, pelos resultados obtidos, que a permeabilidade de 2000 Barrer possuirá uma TIR quase nula ao longo do projeto, mas como o aroma se trata de um composto orgânico, é razoável supor que sua permeabilidade em PDMS tenha uma maior ordem de grandeza. Valores mais altos de permeabilidade não impactam no TIR e o máximo valor obtido, como mostra o gráfico, não chega a 2%, inviabilizando o projeto.

Esta análise, entretanto, levou em consideração valores conservadores e elevados para o custo do fermentador, como foi discutido na análise de sensibilidade do preço da membrana. Portanto, no cenário em que os custos com fermentador sejam diminuídos, é possível que tanto a permeabilidade do aroma quanto o preço da membrana tenham maiores impactos no custo do projeto, podendo até torná-lo viável. Neste cenário, estudos não só pela obtenção do valor exato deste parâmetro de transporte, como pesquisas de materiais poliméricos que possuam maiores permeabilidades devem ser considerados.

6. Considerações Finais

O processo proposto de produção do bioaroma de coco por fermentação em estado sólido e separação por permeação de vapor se apresenta, hoje, como uma alternativa sustentável para a produção do composto e para o reaproveitamento de resíduos agroindustriais que eram simplesmente descartados. Apesar da técnica de fermentação em estado sólido ainda ser pouco explorada em larga escala, sua utilização se apresentou viável no processo proposto, com a utilização de bandejas de fermentação em paralelo, aumentando a produção de forma significativa, sendo capaz de gerar força motriz para a permeação na membrana.

A técnica de permeação de vapor se mostrou capaz de concentrar o aroma no lado permeado apesar de que a permeabilidade do 6-PP considerada tenha sido estimada. Entretanto, como dados na literatura sugerem que a permeabilidade de compostos orgânicos em membranas de PDMS possam atingir a ordem de grandeza de 1.000 a 10.000 Barrer, é seguro afirmar que esta permeação é viável de ser realizada.

Pela análise econômica foi possível entender como cada variável de projeto influencia na viabilidade de implementação do mesmo. Foi possível identificar que em condições de alta taxa de produção da 6-PP, ou seja, com maior número de bandejas, e valores mais altos dentro da faixa de venda do mesmo geram TIR com valores maiores do que a TMA adotada.

Dificuldades devido à falta de informações de parâmetros físico-químicos do produto de interesse atrapalharam a análise final do processo. Como se trata de um sistema ainda pouco estudado na literatura, estes parâmetros devem ser os mais precisos possíveis para uma análise de acurácia elevada. Portanto, para a melhoria do projeto realizado, as seguintes oportunidades de estudo podem ser consideradas:

- Determinação experimental das propriedades físico-químicas do 6-PP como pressão de vapor nas temperaturas utilizadas, massa específica de sua fase vapor, calores específico e latente;
- Determinação da permeabilidade do 6-PP não só na membrana utilizada no processo (PDMS) como em outras possíveis matrizes poliméricas;
- Futuras otimizações nas condições de crescimento do microorganismo e das condições de cultivo da fermentação, buscando-se a melhor taxa de produção possível para a produção do bioaroma;
- Consideração de fatores importantes para a fermentação em estado sólido, como o aumento da dificuldade de remoção de calor e preocupação com a atividade da água no meio fermentado no dimensionamento final do biorreator;

- Cálculo e dimensionamento dos trocadores de calor utilizados para as condensações de água e aroma;
- Definição de forma mais precisa dos parâmetros fixos utilizados para cálculo de VPL e TIR como equipamentos utilizados, preço de materiais para preparo de solução nutritiva, estimativa do preço de transporte e processamento de resíduo de açaí, preço das utilidades de refrigeração.

7. Referências Bibliográficas

ANVISA. RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes.

AKACHA, N.; GARGOURI, M. Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: Synthesis, recovery modeling, and bioprocesses. Food and Bioproducts Processing. Elsevier. 2014.

ALVES, R. C. B. Utilização de rejeitos da indústria de beneficiamento de açaí (*Euterpe oleracea*) para obtenção de aroma por *Trichoderma harzianum*. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2011.

ASSIS, A.; BIZZO, H.; MATTA, V.; CABRAL, L. Recuperação e concentração de componentes do aroma de caju (*Anacardium occidentale* L.) por pervaporação. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27, abr.-jun. 2007.

ASSIS, A.; SARAIVA, S.; MATTA, V.; BIZZO, H.; CABRAL, L. RECUPERAÇÃO DOS COMPONENTES DO AROMA DA BEBIDA DE CAFÉ POR PERVAPORAÇÃO. B.CEPPA, Curitiba v. 27, n. 1, p. 1-10 jan./jun. 2009.

BASTOS, D.; FRANCO, M.; DA SILVA, M.; JANZANTTI, N.; MARQUES, M. COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS E PERFIL DE AROMA E SABOR DE MÉIS DE EUCALIPTO E LARANJA. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 22, maio-ago. 2002

BAKER, R. Membrane Technology and Applications. John Wiley & Sons, Ltd. 2ed. 2004.

BHARGAV, S.; PANDA, B.; ALI, M.; JAVED, S. Solid-state Fermentation: An Overview. Chem. Biochem. Eng. Q. 2008.

CABRAL, L.; CARVALHO, R.; PALÁCIO, D.; MONTEIRO, F.; BIZZO, H.; MATTA, V. Recuperação e Concentração dos Componentes do Aroma do Abacaxi por Pervaporação. Comunicado Técnico 99, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dezembro, 2006.

CALASANS, P. N. Produção de aroma de coco por *Trichoderma harzianum* utilizando bagaço de cana. Universidade Federal de Sergipe. São Cristovão, 2012.

CARNEIRO, J.; CAVALCANTE, B.; SILVA, M.; SILVA, R. Estudo de viabilidade do aproveitamento energético da queima de caroços de açaí produzidos no município de Castanhal-PA. Amazônia em Foco. Castanhal, 2013.

CHAMBERGO, F.S ; BONACCORSI, E. D. ; FERREIRA, A. J.S. ; RAMOS, A. S.P. ; FERREIRA JUNIOR, J. R. ; ABRAHAO-NETO, J. ; FARAHA, J. P. S. ; EL-DORRY, H. . Patterns of glucose-dependent regulation of gene transcription in *T. reesei* revealed by EST analysis and cDNA microarrays. In: XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2002, Caxambu, MG.. XXXI Reunião Anual da SBBq Programa e Resumos, 2002. v. 1. p. 85-85.

CHEN, L.; YANG, X.; RAZA, W.; LUO, J.; ZHANG, F.; SHEN, Q. Solid-state fermentation of agro-industrial wastes to produce bioorganic fertilizer for the biocontrol of Fusarium wilt of cucumber in continuously cropped soil. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 3900–3910, 2011.

CORREIA, L.; FARAONI, A.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. Efeitos do Processamento Industrial de Alimentos Sobre a Estabilidade de Vitaminas. v.19, n.1, p. 83-95, jan./mar. 2008

DI LUCCIO, M. Produção de Etanol e Frutose em Biorreator Integrado a Processos com Membranas. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do RJ. 2001.

DOMSCH, K. H., W. Gams and T. Anderson. 1993. *Compendium of soil fungi*. IHV-Verlag, 859 Pp.

EICK, G. Viabilidade Econômica e Financeira de uma Pequena Central Hidrelétrica no Brasil. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2010.

FADEL, H.; MAHMOUD, M.; ASKER, M.; LOTFY, S. Characterization and evaluation of coconut aroma produced by *Trichoderma viride* EMCC-107 in solid state fermentation on sugarcane bagasse. *Electronic Journal of Biotechnology*. Valparaíso, 2014.

FOX, R. W.; PRITCHARD, P. J.; MCDONALD, A. T. *Introdução à Mecânica dos Fluidos*. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

GITMAN, Lawrence J. *Princípios de Administração Financeira*, 7ª ed. São Paulo: HARBRA, 2002. 841 p.

HABERT, A.; BORGES, C.; NOBREGA, R. *Processos de Separação por Membranas*. Rio de Janeiro, E-papers, 2006.

HIDALGO A. 1989. Comparación de dos métodos para la selección de aislamientos de *Trichoderma* para el combate biológico de *Fusarium* y *Rhizoctonia* en clavel. Tesis para optar por el grado de Licenciado en Agronomía. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 89 pp.

HOMMA, A. Sistema de Produção do Açaí. 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/index.htm>. Acesso em: 02/03/2015.

HOMMA, A. SENA, A. SANTOS, J. Estatísticas de Produção. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/acai/arvore/CONT000gbjedm6m02wx5ok07shnq98b59mh1.html>>. Acesso em: 02/03/2015.

INCROPERA, F. P.; DEWITT, D. P.; BERGMAN, T. L.; LAVINE, A. S. *Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa*. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC. 2008.

JANSSENS, L.; DE POOTER, H.; SCHAMP, N.; VANDAMME, E. production of Flavours by Microorganisms. *Process Biochemistry*. 27, 195-215, 1992.

KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B.; SINGH, S.; SIMGH, H. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014.

KREDICS, L.; ANTAL, Z.; MANCZINGER, L.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* Strains with Biocontrol Potential. *Food Technol. Biotechnol*. 41, 2003.

MACH, R.L.; ZEILINGER, S. Regulation of gene expression, in industrial fungi: *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 60, p. 515-522, 2003.

MARTÍNEZ, B.; INFANTE, D.; REYES, Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg*. Vol. 28 No. 1. 2013.

MIENDA, B.; IDI, A.; UMAR, A. Microbiological Features of Solid State Fermentation and its Applications – An Overview. *Research in Biotechnology*. 2011.

MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. BEROVIC, M. Solid-State Fermentation Bioreactors. 1^a ed. Alemanha: Springer. 2006.

MUKHERJEE, P.; HORWITZ, B.; KENERLEY, C. Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiology*, 2012.

NASCIMENTO, R.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. *Revista Brasileira de Fruticultura*. SciELO, 2008.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. Elsevier. 13, 2003.

PEREIRA, C.; RIBEIRO JR, C.; BORGES, C. Pervaporative recovery of volatile aroma compounds from fruit juices. 2002.

PEREIRA, W.; ALMEIDA, L. MÉTODO MANUAL PARA CÁLCULO DA TAXA INTERNA DE RETORNO.

POLING, B. E.; THOMSON, G. H.; FRIEND, D. G.; ROWLEY, R. L.; WILDING, W. V. Perry's Chemical Engineers' Handbook Section 2: Physical and Chemical Data. 8^a ed. Estados Unidos: McGraw-Hill. 2008.

PRAPULLA S.G., KARANTH N.G., ENGEL K.H., Tressl R. Production of 6-pentyl- α -pyrone by *Trichoderma viride*. *Flavour Fragr J* 1992;7:231–4.

RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 1. N° 3. 1998.

RAMOS, A.; MARTINS, P.; FIAUX, S.; LEITE, S. Microextração em fase sólida de 6-pentil- α -pirona produzida por fermentação em estado sólido. *Ciência e tecnologia de Alimentos*. 29, 2009

REETHA, S.; BHUVANESWARI, G.; SELVAKUMAR, G.; THAMIZHINIYAN, P.; PATHMAVATHI, M. Effect of temperature and pH on growth of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Chemical, Biological and Physical Science*. 4, 2014.

RIBEIRO, C. Produção e Consumo de Açaí no Brasil. 2013. Disponível em: <<http://www.cpt.com.br/cursos-agroindustria-biocombustivel/artigos/producao-e-consumo-de-acai-no-brasil>>. Acesso em: 02/03/2015.

RIBEIRO JR, C. P. Desenvolvimento de um Processo Combinado de Evaporação por Contato Direto e Permeação de Vapor para Tratamento de Sucos de Fruta. COPPE/UFRJ. Rio de Janeiro. 2005.

RIFAI, M. A 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 116: 1156.

ROMERO-ARENAS, O.; LARA, M.; HUATO, M.; HERNÁNDEZ, F.; VICTORIA, D. CARACTERÍSTICAS DE *Trichoderma harzianum*, COMO AGENTE LIMITANTE EN EL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES. 2009.

SARHY-BAGNON, V.; LOZANO, P.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G. Production of 6-pentyl- α -pyrone by *Trichoderma harzianum* in liquid and solid state cultures. *Process Biochemistry*. 36, 103–109. 2000.

SCHIRMANN, G. Composição em ácidos graxos do açaí (*Euterpe edulis*) de diversas regiões de Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

SERRANO-CARREON, L.; HATHOUT, Y.; BENSOUSSAN, M.; BELIN, J-M. Metabolism of Linoleic Acid or Mevalonate and 6-Pentyl- α -Pyrone Biosynthesis by *Trichoderma* Species. *Applied and Environmental Microbiology*. 59, 1993.

SINGHANIA, R.; PATEL, A.; SOCOOL, C.; PANDEY, A. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. Elsevier. 44, 2009.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C. ABBOTT, M. M. Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC. 2007.

SPEZIALI, M. DE AROMAS E PERFUMES, O MERCADO DA INDÚSTRIA DO “CHEIRO”. *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 4, 861-864, 2012.

THE FREEDONIA GROUP. World Flavors & Fragrances: Industry Study with Forecasts for 2016 & 2021. Study #2952, Cleveland, OH, 2012. Disponível em: <<http://www.freedoniagroup.com/brochure/29xx/2952smwe.pdf>>. Acesso em 21 de Janeiro de 2015.

THE FREEDONIA GROUP. World Flavors & Fragrances: US Industry Study with Forecasts for 2014 & 2019. Study #2732, Cleveland, OH, 2011. Disponível em: <<http://www.freedoniagroup.com/brochure/27xx/2732smwe.pdf>>. Acesso em 21 de Janeiro de 2015.

THE FREEDONIA GROUP. World Flavors & Fragrances: US Industry Study with Forecasts for 2017 & 2022. Study #3044, Cleveland, OH, 2013. Disponível em: <<http://www.freedoniagroup.com/brochure/30xx/3044smwe.pdf>>. Acesso em 21 de Janeiro de 2015.

TURINI, E. Conjuntura Mensal. 2013.

VALENTE, A.; AUGUSTO, F. MICROEXTRAÇÃO POR FASE SÓLIDA. QUÍMICA NOVA. 23, 2000.