



Bioenergia em Revista: Diálogos

Bioenergia em Revista: Diálogos

ano 9 | n. 2 | jul.2019 /dez.2019 | ISSN: 2236-9171

Bioenergia em Revista: Diálogos

ISSN: 2236-9171

Bioenergia em Revista: Diálogos | publicação semestral | Piracicaba
ano 9 | n. 2 | jul. / dez. 2019



Sumários.org

Governador do Estado de São Paulo

João Doria Jr.

Secretario de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia

Patrícia Ellen da Silva

Diretora Superintendente do Centro “Paula Souza”

Laura Laganá

Diretor do CESU

Rafael Ferreira Alves

Diretor da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”

José Alberto Florentino Rodrigues Filho

Editoria

Filomena Maria Formaggio

Suzana Comin – estagiária

Fabiano Trindade F. Santos - estagiário técnico-informática

Editores de Seção

Prof^ª Dr^ª Filomena Maria Formaggio – Fatec Piracicaba

Prof. Dr. Luis Fernando Sanglade Marchiori – ESALQ-USP e Fatec Piracicaba

Prof. Dr. Paulo Cesar Doimo Mendes – Fatecs de Piracicaba e Itapetininga, EEP

Prof. Dr. Fernando de Lima Camargo – Fatec Piracicaba, EEP

Prof. Msc. Fabio Augusto Pacano – Fatec Piracicaba, CNEC Capivari-SP

Prof^a Msc. Luciana Fischer – Fatec Piracicaba e PUCCampinas-SP

Prof^ª Dra. Érika Gutierrez – Fatec Piracicaba

Prof^ª Msc. Angela de F. Kanesaki Correia – Fatec Piracicaba, UNIMEP

Bel. e Tecnólogo Mauricio D. C. Pinheiro – Fatec Piracicaba

Comissão Editorial

Filomena Maria Formaggio - Fatec Piracicaba

Vanessa de Cillos Silva - Fatec Piracicaba

Paulo Cesar Doimo Mendes - Fatec Piracicaba

Marcia Nalesso Costa Harder - Fatec Piracicaba

Fabio Augusto Pacano - Fatec Piracicaba

Maria Helena Bernardo

Bioenergia em Revista: Diálogos • Rua Diácono Jair de Oliveira, 651 • Bairro Santa Rosa

CEP: 13.414-155 • Piracicaba / SP • Telefone: [+55 19] 3413-1702

e-mail: bionergia.r.dialogos@gmail.com

www.fatecpiracicaba.edu.br/revista

Conselho Editorial

José Alberto Florentino Rodrigues Filho – Fatec Piracicaba
Daniela Russo Leite – Fatec Araraquara
Gisele Gonçalves Bortoleto - Fatec Piracicaba
Eliana Maria G. Rodrigues de Siqueira – Fatec Piracicaba
Daniela Defavari do Nascimento – Fatec Piracicaba
Regina Movio de Lara – IESCAMP/SP
Siu Mui Tsai Saito - Cena – USP
Raffaella Rossetto - APTA - polo regional Centro-Sul
Ada Camolesi - FIMI Mogi Mirim
Marly T. Pereira - ESALQ-USP
Vitor Machado – UNESP Bauru
Adolfo Castillo Moran - Cordoba, Ver. Mexico
Gregorio M. Katz - San Miguel de Tucuman Argentina
Guilherme A. Malagolli - Fatec Taquaritinga
Murilo Melo - ESALQ-USP
Angelo Luis Bortolazzo – Centro Paula Souza
Jorge Corbera Gorotiza - San Jose de Las Lajas - La Habana - Cuba

Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN 2236-9171) é uma publicação eletrônica semestral vinculada a Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Dep. Roque Trevisan” e a Faculdade de Tecnologia de Araçatuba (Fatecs).

Objetivo: publicar estudos inéditos, na forma de artigos e resenhas, nacionais e internacionais, que contribuam ao debate acadêmico-científico, além de estimular a produção acadêmica nos níveis da graduação e pós-graduação.

Os artigos são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitida sua reprodução, total ou parcial, desde que seja citada a fonte.

Bioenergia em Revista: Diálogos / Fatec - Faculdade de Tecnologia de Piracicaba /
Faculdade de Tecnologia de Araçatuba. - - Piracicaba / Araçatuba, SP: a Instituição, desde 2011.
v. Semestral - ISSN 2236-9171

1. Ciências Aplicadas / Tecnologia- periódico I.

Bioenergia em Revista: Diálogos II. Fatec -

Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Dep. Roque Trevisan” / Faculdade de Tecnologia de Araçatuba

Bioenergia em Revista: Diálogos • Rua Diácono Jair de Oliveira, 651 • Bairro Santa Rosa
CEP: 13.414-155 • Piracicaba / SP • Telefone: [+55 19] 3413-1702

E-mail: bionergia.r.dialogos@gmail.com

www.fatecpiracicaba.edu.br/revista

Apresentação

Bioenergia em Revista: Diálogos, publicação da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” oferecer à comunidade acadêmico-científica mais um número objetivando a apresentação e discussão de temas atinentes à pesquisa, inovação e ao diálogo com todas as áreas do conhecimento, elementos imprescindíveis e constituidores à formação científico-tecnológica.

A Revista está classificada como B4 e B5 no sistema Qualis/CAPES e encontra-se associada aos indexadores *Latindex*, *IBICT*, *Sumários.org* e *CNEN60*.

A presente edição conta com duas seções: ENERGIA, que apresenta os artigos “Produção do biodiesel a partir de microalgas *Scenedesmus subspicatus*”; “Operações Unitárias envolvidas na purificação de óleo de fritura”; “Avaliação da fermentação de leveduras visando produção de etanol de segunda geração”; Recuperação de enzimas celulolíticas por sistema de duas fases aquosas” e “Análise comparativa do biodiesel produzido a partir de óleo de algodão não refinado e refinado via rotas metílica e etílica”.

A segunda seção GESTÃO EMPRESARIAL apresenta os artigos “Implantação de ferramentas de qualidade 5S e USM numa linha de produção em uma indústria metal mecânica na região de Piracicaba – estudo de caso” e “Logística interna do processo de localização de documentos: um estudo de caso em empresa do ramo de equipamentos eletrônicos”.

Lembrando que nossa proposta é igualmente a disseminação do conhecimento, o periódico Bioenergia em Revista: Diálogos possui inserção nacional e internacional e conta com a participação de pesquisadores de diversas instituições de ensino e pesquisa. O recebimento dos artigos é pelo sistema de fluxo contínuo e a periodicidade é semestral.

Boa leitura!

Chamada de artigos

A Revista Bioenergia em Revista: Diálogos convida pesquisadores, docentes e demais interessados das áreas de Bioenergia, Gestão Empresarial, Agroindústria, Alimentos e áreas afins, a colaborarem com artigos científicos, de revisão e/ou resenhas para a próxima edição deste periódico.

As normas de submissão e análise estão disponíveis em nosso site – www.fatecpiracicaba.edu.br/revista. Os trabalhos serão recebidos por via eletrônica em **fluxo contínuo**, e os autores poderão acompanhar o progresso de sua submissão através do sistema eletrônico da revista.

Os dados apresentados, bem como a organização do texto em termos de formulação e encadeamento dos enunciados, das regras de funcionamento da escrita, das versões em língua **inglesa e espanhola** dos respectivos resumos, bem como o respeito às Normas da ABNT são de **inteira responsabilidade dos articulistas**.

Sumário

6 Apresentação

7 Chamada de Artigos

9 Produção de biodiesel a partir de microalgas *Scenedesmus subspicatus*

Taufemback, W. F. ; Geremias, R.; Angioletto, E.; Serafim, A. S.; Cardoso, W. A.; Batti, J. C. B.

23 Operações Unitárias envolvidas na purificação de óleo de fritura

GOMES, Winston Pinheiro Claro; ALVES, Rita de Cassia Malho; BENETOLE, Bianca Martins; PAZETTI, Manoela Camargo; HARDER, Marcia Nalesso Costa

35 Avaliação da fermentação de leveduras visando produção de etanol de segunda geração

Silva, Fabio Sousa Guedes; Gomes, Winston Pinheiro Claro; Nascimento, Daniela Defávári do

62 Recuperação de enzimas celulolíticas por sistema de duas fases aquosas

Eliana Maria Gonçalves Rodrigues

72 Análise comparativa do biodiesel produzido a partir de óleo de algodão não refinado e refinado via rotas metílica e etílica

Silva, Fabio Sousa Guedes; Santos, Heurilen Reis dos; Carvalho, Jucélio de Oliveira Silveira, Luis Ricardo Nascimento da; Palmer, Tiago Motta; Bortoleto, Gisele Gonçalves

95 Implantação de ferramentas de qualidade 5s e vsm numa linha de produção em uma indústria metal-mecânica na região de Piracicaba – estudo de caso

Alexandre Witier Mazzonetto; Alex Bragaia Martins

115 Logística interna do processo de localização de documentos: um estudo de caso

Evandro Marinelli de Almeida; Heloísa Cristina Barbosa de Lima; Vanessa de Cillos Silva

Produção de biodiesel a partir de microalgas *Scenedesmus subspicatus*

Taufemback, W. F.
Geremias, R.
Angioletto, E.
Serafim, A. S.
Cardoso, W. A.
Batti, J. C. B.

Resumo

A produção de combustíveis a partir de fontes renováveis tem sido uma importante demanda na atualidade. O presente estudo teve por objetivo utilizar microalga *Scenedesmus subspicatus* como fonte alternativa para a produção de biodiesel. Para tanto, foram executados testes preliminares em pequena escala e experimentos em média escala de crescimento de microalga *S. subspicatus*, extração da fração lipídica (óleo) da biomassa e sua conversão em biodiesel. Ao final dos experimentos em média escala, foram realizados os cálculos de rendimento do biocombustível. Os resultados em pequena escala revelaram o aumento de quantidades de células ($1,49 \times 10^5$ para $2,66 \times 10^7$ células mL⁻¹) e da biomassa (0,469 para 6,066 g L⁻¹) em função do tempo de cultivo. Nos experimentos em média escala, foi observado o crescimento celular na fase inicial, seguida de um regime estacionário. Também se constatou o crescimento de biomassa durante todo o tempo de cultivo. Os rendimentos obtidos de biomassa seca total, óleo e biodiesel corresponderam a 25 g, 0,13 mL e 0,020 mL, respectivamente. Concluiu-se que é necessário ajustes nas condições de cultivo, bem como na extração e conversão do óleo em biodiesel para que a microalga em estudo se torne promissora na produção de biocombustíveis.

Palavras-chave: Biodiesel; Microalga *Scenedesmus subspicatus*; Energia renovável.

Abstract

Currently, the production of fuels from renewable sources has been an important demand. The present study aimed to use microalgae *Scenedesmus subspicatus* as an alternative source for the production of biodiesel. Small-scale preliminary tests and medium-scale experiments of growth of *S. subspicatus* microalgae, extraction of the lipid fraction (oil) of the biomass and its conversion into biodiesel were carried. At the end of medium-scale experiments, were performed the biofuel yield calculations. The results on a small-scale revealed an increase cell numbers (1.49×10^5 to 2.66×10^7 cells mL⁻¹) and biomass as a function of culture time. In the experiments on medium-scale, was observed the growth of the microalgae in the initial phase followed by a steady state. Biomass growth was also observed throughout the culture time. The results of total dry biomass, oil and biodiesel were 25 g, 0.13 mL and 0.020 mL, respectively. It was concluded that it is necessary to adjust the conditions of culture, extraction and conversion of the oil into biodiesel so that the microalgae in study becomes promising in the production of biofuels.

Keywords: Biodiesel; Microalgae *Scenedesmus subspicatus*; Renewable energy sources.

Resumen

La producción de combustibles a partir de fuentes renovables ha sido una demanda importante en la actualidad. El presente estudio tuvo como objetivo utilizar las microalgas *Scenedesmus subspicatus* como

fuelle alternativa para la producción de biodiesel. Para esto, se realizaron pruebas preliminares a pequeña escala y experimentos a mediana escala del crecimiento de microalgas *S. subspicatus*, extracción de la fracción lipídica (aceite) de la biomasa y su conversión a biodiesel. Luego de los experimentos a mediana escala, se realizaron cálculos de rendimiento de biocombustibles. Los resultados a pequeña escala revelaron un aumento en las cantidades de células ($1,49 \times 10^5$ a $2,66 \times 10^7$ células mL⁻¹) y biomasa (0,469 a 6,066 g L⁻¹) en función del tiempo de cultivo. En experimentos a mediana escala, se observó crecimiento celular en la fase inicial, seguido de un estado estacionario. El crecimiento de biomasa también fue observado a lo largo del tiempo de cultivo. Los rendimientos obtenidos de la biomasa seca total, el aceite y el biodiesel correspondieron a 25 g, 0,13 mL y 0,020 mL, respectivamente. Se concluyó que es necesario ajustar las condiciones de cultivo, así como la extracción y conversión del aceite en biodiesel para que las microalgas en estudio se vuelvan promisorias en la producción de biocombustibles.

Palabras clave: Biodiesel; Microalga *Scenedesmus subspicatus*; Energía renovable.

INTRODUÇÃO

O aproveitamento da biomassa vem sendo apontado como uma alternativa para suprir a crescente demanda por fontes de energia. A biomassa é definida como qualquer material biológico, vivo ou morto, que pode ser usado como fonte de energia. Basicamente, a mesma é um conversor natural de energia luminosa para uma forma em que pode ser armazenada, transportada e utilizada (AYDIN, 2019; FRANCO et al., 2013; MORAIS et al., 2018; NATOWITZ; NGÔ, 2016; PINTO et al., 2005; REIS, 2011; TESTER et al., 2005).

A biomassa pode ser utilizada como fonte de energia por meio da sua queima direta. Além disso, a mesma pode ser convertida em biocombustíveis gasosos ou líquidos, através de processos químicos, tais como, a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais ou gorduras de origem animal. Estes óleos e gorduras são compostos, basicamente, por triglicerídeos, os quais são constituídos de ésteres de ácidos graxos e de glicerina e podem ser convertidos para biodiesel a partir da transesterificação com álcoois de cadeia curta, produzindo ésteres monoalquílicos de ácidos graxos de cadeia longa. O biodiesel apresenta a vantagem de ser biodegradável, renovável e não tóxico, podendo ser adicionado ao diesel fóssil em qualquer proporção, de acordo com os parâmetros físico-químicos desejados (CAHEN; GINLEY, 2012; DRAPCHO; NHUAN; WALKER, 2008; FRANCO et al., 2013; LOBO; FERREIRA, 2009; GOH et al., 2019; MACEDO; MACEDO, 2014; MOTA; MONTEIRO, 2013; PEREIRA et al., 2012; RAMOS et al., 2011; SUAREZ; MENEGHETTI, 2007; SURESH; JAWAHAR; RICHARD, 2018).

Estudos recentes vêm sugerindo a viabilidade da produção de biodiesel a partir de microalgas, dada sua qualidade lipídica, viabilidade de manipulação genética, rápido crescimento, independência de sazonalidades, boa produtividade em relação a culturas terrestres, pouca ocupação de espaço, dentre outras características. Entretanto, para que se obtenha uma produção satisfatória de biomassa de microalgas, há a necessidade da realização de testes sob diferentes condições de cultivo, com o controle de diversas variáveis e a otimização das etapas envolvidas no processo (DEMIRBAS; DEMIRBAS, 2010; DRAPCHO; NHUAN; WALKER, 2008; GOH et al., 2019; LUQUE; MELERO, 2012; MENEZES et al., 2013; ORTENZIO et al., 2015; PEREIRA et al., 2012; SUAREZ; PINTO, 2011; TAVARES et al., 2017).

As microalgas do gênero *Scenedesmus* são consideradas as mais comuns e cosmopolitas das algas verdes. Elas apresentam elevado teor lipídico, além de perfil adequado de ácidos graxos e rendimento aceitável de biomassa (SHUBA; KIFLE, 2018). Srinuanpan e colaboradores (2018) descreveram uma concentração de lipídeos de $34,15 \pm 0,02\%$, sendo 94% constituída por ácidos graxos C16 e C18, e com produtividade de $0,98 \pm 0,03 \text{ g L}^{-1}$.

Dentre as suas espécies, encontra-se a *Scenedesmus subspicatus*, que é uma alga planctônica, representante dos produtores primários nos ecossistemas de água doce. Na natureza, é encontrada em colônias de até seis células, enquanto que no cultivo em laboratório, normalmente, é unicelular (BICUDO; MENEZES, 2006; KNIE; LOPEZ, 2004).

Muito embora, a microalga *S. subspicatus* exiba características potencialmente adequadas para a produção de biodiesel, ainda são poucos os trabalhos descritos na literatura para este fim. Neste contexto, faz-se necessária a realização de pesquisas voltadas ao cultivo e produção de biocombustíveis a partir desta microalga.

Partindo destes pressupostos, o presente trabalho teve como objetivo efetuar testes preliminares com microalga *S. subspicatus*, com vistas à produção de biomassa, extração da fração lipídica e sua conversão em biodiesel, além de cálculos de rendimento do biocombustível.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de microalgas e preparação do meio de cultivo

Amostra em meio líquido da microalga *Scenedesmus subspicatus* foi obtida no banco de cultura do Laboratório de Ecotoxicologia, do Parque Científico e Tecnológico (I-Parque) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). A microalga foi então cultivada em meio de cultura CHU (Tabela 1), seguindo-se o protocolo descrito por Knie e Lopes (2004) e com a utilização material previamente esterilizado.

Tabela 1 - Solução estoque para meio de cultivo CHU (1 Litro).

Reagente	Massa
NaNO ₃	25 g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	2,5 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	7,5 g
K ₂ HPO ₄	7,5 g
KH ₂ PO ₄	17,5 g
NaCl	2,5 g
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ N ₂ O ₈ . 2H ₂ O	50 g

KOH	31 g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	4,98 g
H ₃ BO ₃	11,42 g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,82 mg
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,44 mg
MoO ₃	0,71 mg
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	1,57 mg
Co(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0,49 mg

Fonte: Adaptado de Knie e Lopes (2004).

Testes preliminares em pequena escala

Os testes preliminares em pequena escala foram realizados com o intuito de estabelecer as melhores condições de pH, temperatura, taxa de crescimento, luminosidade e o tempo de cultivo que poderiam ser, posteriormente, aplicadas nos experimentos em média escala. Para tanto, foram utilizados quatro erlenmeyers de vidro vedados como biorreatores, sendo adicionados 450 mL de água mili-Q, 250 mL de meio de cultivo *CHU* e 27,7 mL de alga ($1,49 \times 10^5$ células mL⁻¹) em cada frasco. O cultivo se deu em um sistema fechado, por 15 dias, à temperatura ambiente (23 ± 2 °C), pH ajustado em 7,1, aeração (0,2 L min⁻¹) e iluminação artificial (1500 lúmens) constantes. Alíquotas de 1,5 mL da microalga foram coletadas em cabine de fluxo laminar (Trox[®] Technik, Classe II, Tipo B2), em ambiente axênico, no início e após 6 e 15 dias de cultivo, para a determinação fotométrica da absorbância luminosa no comprimento de onda de 685 nm, como indicado por Knie e Lopes (2004). Os 3 períodos de coletas foram definidos de forma que representassem o perfil nas fases inicial, intermediária e final dos testes.

Para o cálculo da concentração celular, utilizou-se os resultados dos estudos realizados por Almeida (2012), o qual estabeleceu uma regressão linear que relaciona absorbância no comprimento de onda de 685 nm com a concentração de células obtidas, por meio da contagem em câmara de Neubauer, obtendo-se a Equação de calibração 1, onde $X_{Cél}$ é a concentração de células (cél mL⁻¹), A é a absorbância em 685 nm e o coeficiente de regressão linear é $R^2=0,992$.

$$X_{Cél} [cél mL^{-1}] = \frac{A - 1,730 \times 10^{-2}}{9,336 \times 10^{-8}} \quad (1)$$

Para o cálculo de biomassa seca, também foram utilizados os resultados de Almeida (2012), que realizou uma regressão linear da concentração da biomassa seca em função da concentração de células contadas em câmara de Neubauer, obtendo assim a Equação de calibração 2, onde X_{Bms} é a concentração da biomassa seca ($mg mL^{-1}$), $X_{Cél}$ é a concentração de células ($cél mL^{-1}$) obtida na equação 1 e o coeficiente de regressão linear é $R^2=0,998$.

$$X_{Bms} [mg mL^{-1}] = 2,116 \times 10^{-7} \cdot X_{Cél} + 4,369 \times 10^{-1} \quad (2)$$

Experimentos em média escala

Os experimentos em média escala foram realizados com o objetivo de se obter biomassa em quantidade suficiente para produção de biodiesel. Esta etapa foi realizada com base nas condições descritas nos testes preliminares em pequena escala, uma vez que as mesmas se mostraram adequadas, conforme descrito na seção de Resultados e Discussão.

Para tanto, foram utilizados três aquários, sendo adicionados 27,8 L de água mili-Q, 2,2 L de meio de cultivo *CHU* e 140 mL de alga em cada um deles, totalizando um volume de 30,14 L por aquário. O cultivo se deu em sistema aberto por 20 dias em temperatura ambiente (23 ± 2 °C), pH ajustado em 7,1, aeração (0,2 L/min.) e iluminação artificial (1500 lúmens) constantes. Alíquotas 1,5 mL de microalga foram retiradas no início e a cada dois dias para a determinação do crescimento celular e da biomassa seca pela medida fotométrica da absorbância luminosa em 685 nm, utilizando-se as equações 1 e 2.

Ao final do cultivo, as culturas provenientes dos três aquários foram misturadas em uma única amostra, para a obtenção de biomassa suficiente para as etapas de extração da fração lipídica (óleo) e sua conversão em biodiesel. Esta amostra passou por processo de autodecantação, sem uso de floculante, e posterior secagem em estufa (Quimis[®], 631M-53) à temperatura de 60 ± 2 °C, até a obtenção de peso constante (72 h), sendo calculado o rendimento do processo em termos de biomassa seca total.

A amostra seca total foi macerada de forma manual usando um almofariz e, posteriormente, teve sua fração lipídica (óleo) extraída em equipamento Soxhlet, utilizando hexano como solvente extrator, com fluxo aproximado de 180 gotas por segundo, à temperatura constante de 60°C, perfazendo um tempo total de extração de 6 horas, com 8 sifonagens por hora. A fração lipídica foi filtrada para retirada de biomassa residual e colocada em evaporador rotativo para a evaporação de todo o solvente. O recipiente contendo óleo extraído foi mantido

em estufa a 100 °C por 24 horas para remoção do solvente residual. Em seguida, fez-se a medida da massa de óleo obtida para cálculo do rendimento $R_{\text{Óleo}}$ (%) através da Equação 3, onde M_{Bms} corresponde à biomassa seca (g) e $M_{\text{Óleo}}$ (g) à massa de óleo obtida.

$$R_{\text{Óleo}} [\%] = \left(1 - \frac{M_{\text{Bms}} - M_{\text{Óleo}}}{M_{\text{Bms}}}\right) \times 100 \quad (3)$$

Para a produção do biodiesel, o óleo obtido foi aquecido à, aproximadamente, 55 °C e misturado em solução de NaOH/metanol para promover a reação de transesterificação, sendo essa solução mantida em repouso por 24 horas para a separação do biodiesel e glicerol. Após a separação, o biodiesel foi submetido a lavagens com água destilada, com adição de sulfato de sódio para remoção da água remanescente. Posteriormente, foi determinado a sua massa e seu volume.

Os resultados obtidos de crescimento de microalga e acumulação de biomassa seca nesta etapa foram tabulados com auxílio do software OriginPro 9.0, que também foi utilizado para representação gráfica e ajuste polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes preliminares em pequena escala

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos de crescimento celular e de biomassa seca da microalga *Scenedesmus subspicatus* nos testes em pequena escala. É possível observar o aumento de quantidades de células e dos valores biomassa em função do tempo. Constata-se também a correlação entre crescimento celular e a produção de biomassa. Semelhante perfil também foi observado nos testes realizados por Almeida (2012). Os resultados permitiram indicar que as condições de cultivo se mostraram adequadas, podendo ser reproduzidas nos experimentos em média escala.

Tabela 2 - Concentração celular e de biomassa seca de microalga *Scenedesmus subspicatus* em função do tempo de cultivo nos testes em pequena escala. Resultados expressos em Média \pm Desvio Padrão.

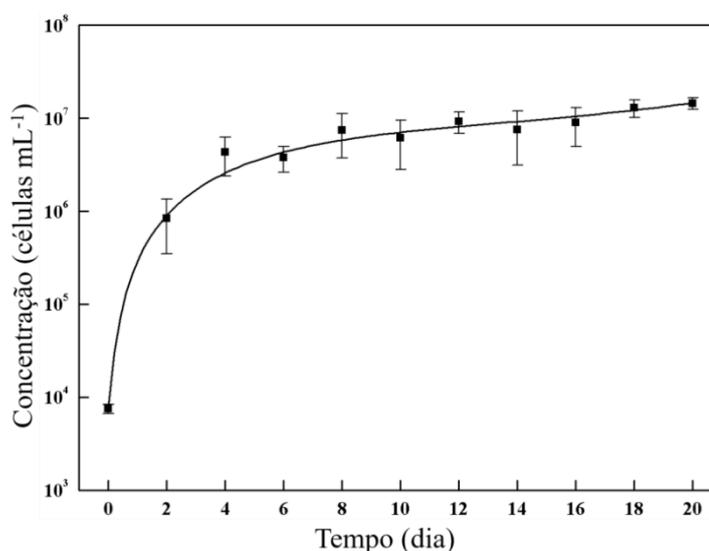
Tempo (dias)	Concentração de células (células mL ⁻¹) 1)	Biomassa seca (g L ⁻¹)
0	$1,49 \times 10^5 \pm 1,50 \times 10^5$	$0,469 \pm 0,032$
6	$3,69 \times 10^6 \pm 2,34 \times 10^6$	$1,218 \pm 0,496$

Experimentos em média escala

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos de crescimento logarítmico da microalga nos experimentos em média escala, bem como um ajuste polinomial de $R^2=0,9882$. Nele é visível uma taxa de crescimento maior até o 4º dia, apresentando um regime estacionário após tal período.

Este perfil se mostrou semelhante ao obtido por Feltrin e colaboradores (2013), os quais utilizaram microalga *Scenedesmus subspicatus* também cultivadas em meio de cultura CHU com diferentes valores de pH e temperatura, sendo observado que a melhor condição de trabalho obtida foi na temperatura de 23 °C, pH=7,0 e iluminação constante, no qual apresentou taxa de crescimento elevada nos dias iniciais, vindo posteriormente a adquirir um estágio estacionário.

Figura 1 - Concentração celular de microalga *Scenedesmus subspicatus* em função do tempo de cultivo nos experimentos em média escala. Resultados expressos em Média \pm Desvio Padrão.



Em estudo descrito por Filho e colaboradores (2010), utilizando a microalga *Scenedesmus subspicatus* em cultivo mais longo (40 dias) foi constatado um crescimento acelerado até o 16º dia, sendo esse período definido como ótimo para a coleta. A concentração máxima obtida neste último estudo foi de $6,53 \times 10^6$ cél mL⁻¹ no 24º dia, quando o número de células passou a se manter constante.

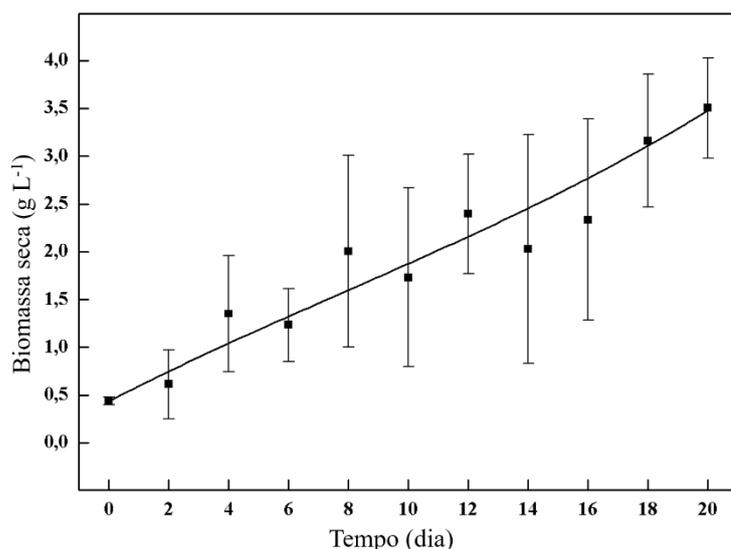
Dean e colaboradores (2010), em testes de cultivo com a microalga *Scenedesmus subspicatus* em meio de cultura Jaworski, observaram um crescimento exponencial até o 22º dia, passando então a apresentar uma concentração aproximadamente constante de $18,8 \times 10^6$ cél mL⁻¹.

Em outro estudo de cultivo da mesma espécie, Junior (2008) utilizou efluentes humanos e suínos em diferentes diluições com a água. Com uso de efluentes humanos, o melhor resultado se deu com uma proporção de 10% de efluente diluído em água, onde o crescimento máximo ocorreu até o 4º dia. Para efluentes suínos, a melhor resposta foi com uma proporção de 1% de efluente em água, com o crescimento máximo tendo ocorrido até o 3º dia. Nestes experimentos, não se observou o desenvolvimento de todas as fases, mas sim crescimentos exponenciais em determinadas situações.

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos de biomassa nos testes em média escala, bem como um ajuste polinomial de $R^2=0,9179$. Pode-se constatar um contínuo crescimento de biomassa durante todo o tempo de cultivo, conforme também constatado por Feltrin e colaboradores (2013) em testes semelhantes usando microalga *Scenedesmus subspicatus* durante 16 dias de cultivo.

De acordo com Lourenço (2006), o crescimento celular pode ser caracterizado como exponencial e é proporcional ao da biomassa seca, tal como observado no presente estudo. Conforme Becker (1994), nos primeiros dois dias de cultivo, o crescimento celular, assim como o de biomassa seca, pode ser considerado pouco significativo devido à uma adaptação inicial das células ao novo ambiente, numa fase de indução ao crescimento.

Figura 2 - Biomassa seca de microalga *Scenedesmus subspicatus* em função do tempo de cultivo nos experimentos em média escala. Resultados expressos em Média \pm Desvio Padrão.



Os resultados obtidos nos parâmetros de rendimento dos experimentos em média escala estão descritos na Tabela 3. Com base nestes resultados, foi possível observar que os valores de biomassa seca, óleo e biodiesel não foram tão satisfatórios. Este perfil também foi observado por

Almeida (2012) em experimentos com condições semelhantes de cultivo e extração do óleo, nos quais obteve um rendimento de 2,09%. Já Cardoso e Colaboradores (2014), também em condições semelhantes de cultivo, porém utilizando extração do óleo por ultrassom, obtiveram um rendimento de 32%, sugerindo a superioridade de tal método em relação ao realizado em Soxhlet, o que também é confirmado por Ranjan e Colaboradores (2010).

Tabela 3 - Rendimento de biomassa seca total de microalga *Scenedesmus subspicatus*, da extração de fração lipídica (óleo) e de sua conversão em biodiesel nos experimentos em média escala após o tempo final de cultivo.

Parâmetro	Resultados
Biomassa seca total	25,0 g
Volume de óleo	0,13 mL
Volume do biodiesel	0,020 mL

Portanto, estes resultados sugerem a necessidade de alterações na metodologia, de forma a se obter uma maior produção de biomassa, com conseqüente aumento no rendimento do óleo e do biodiesel. Dentre às alterações, pode-se propor o cultivo em maior escala e/ou em diferentes condições de pH, temperatura e luminosidade, uso de maiores concentrações de inóculos, cultivo em fotoperíodo claro/escuro para evitar fotoinibição do crescimento das algas, uso de agentes floculantes para diminuir as perdas de extração da biomassa em solução, além de processos mais eficientes na extração e conversão do óleo em biodiesel.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que as condições utilizadas nos testes preliminares em pequena escala e nos experimentos em média escala foram capazes de promover o crescimento celular e produção de biomassa de microalga *Scenedesmus subspicatus* em função do tempo de cultivo. Entretanto, se faz necessário ajuste nos procedimentos metodológicos para que se obtenha valores mais significativos no rendimento de biomassa, da fração lipídica (óleo) e de sua conversão em biodiesel, de forma a tornar promissora a utilização deste organismo na produção de biocombustíveis.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, W. B. *Estudo da obtenção de biomassa e extração de óleo da microalga Scenedesmus subspicatus*. Trabalho de Conclusão de Curso (obtenção do grau de Engenheiro Químico) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.
- AYDIN, M. The effect of biomass energy consumption on economic growth in BRICS countries: A country-specific panel data analysis. *Renewable Energy*, v. 138, p. 620-627, 2019.
- BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Nova York, EUA: Cambridge University Press, 1994.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições*. 2 ed. São Carlos, SP: RiMa, 2006.
- CAHEN, D.; GINLEY, D. S. (org.). *Fundamentals of materials for energy and environmental sustainability*. Nova York, EUA: Cambridge University Press, 2012.
- CARDOSO, W. A. et al. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. *Revista iniciação científica*, v. 12, p. 1678-7706, 2014.
- DEAN, A. P. et al. Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 4499-4507, 2010.
- DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, F. M. *Algae energy: Algae as a new source of biodiesel*. Reino Unido, Londres: Springer, 2010.
- DRAPCHO, C. M.; NHUAN, N. P.; WALKER, T. H. *Biofuels engineering process technology*. EUA: McGraw-Hill, 2008.
- FELTRIN, A. C. et al. *Estudo cinético do crescimento de biomassa da microalga Scenedesmus subspicatus, utilizando o modelo de Gompertz*. In: 4ª Semana de Ciência & Tecnologia da UNESC, 2013.
- FILHO, S. M. P. et al. Matéria-prima do biodiesel com curto tempo de coleta: microalga (*Scenedesmus subspicatus*). In: II Seminário Biodiesel Fonte de Energias das Oleaginosas em Pernambuco: Evolução do cenário e novas perspectivas no Brasil. *Anais eletrônicos...* Recife, 2010.
- FRANCO, et al. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Química Nova*, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013.
- GOH, B. H. H. et al. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 107, p. 59-74, 2019.
- JUNIOR, S. O. N. *Potencial de aproveitamento de microalgas Chlorella vulgaris e Scenedesmus subspicatus como matéria prima para a obtenção de biodiesel*. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2013.
- KNIE, J. L. W; LOPES, E. W. B. *Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis: FATMA, 2004.

LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

LOURENÇO, S. O. *Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações*. São Carlos, SP: RiMa. 2006.

LUQUE, R.; MELERO, J. A. (org.). *Advances in biodiesel production: Process and technologies*. Sawston, Reino Unido: Woodhead, 2012.

MACEDO, G. A.; MACEDO, J. A. Produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais. *Biotecnologia, ciência e desenvolvimento*, v. 7, n. 32, p. 38-46, 2004.

MENEZES, R. S. et al. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel. *Química Nova*, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 10-16, 2013.

MORAIS, K. D.; et al. Estabilidade à oxidação do biodiesel de soja com adição do antioxidante do resíduo da indústria cervejeira. *Bioenergia em revista: diálogos*, v. 8, n. 2, p. 39 - 63, 2018.

MOTA, C. J. A. M.; MONTEIRO, R. Química e sustentabilidade: novas fronteiras em biocombustíveis. *Química Nova*, v. 36, n. 10, p. 1483-1490, 2013.

NATOWITZ, J. B.; NGÔ, C. *Our Energy Future: resources, alternatives and the environment*. 2. ed. Nova Jersey, EUA: Wiley & Sons, 2016.

ORTENZIO, Y. T.; et al. Cultivo de microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de biocombustíveis: perspectivas e desafios. *Bioenergia em revista: diálogos*, v. 5, n. 1, p. 58-65, 2015.

PEREIRA, C. M. P. et al. Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. *Química Nova*, São Paulo, v. 35, n.10, p. 2013-2018, 2012.

PINTO, A.C. et al. Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v. 16, p. 1313-1330, 2005.

RAMOS, L. P. et al. Tecnologias de produção de biodiesel. *Revista Virtual de Química*, v. 3, n. 5, p. 385-405, nov. 2011.

RANJAN, A.; PATIL, C.; MOHOLKAR, S. V. Mechanistic Assessment of Microalgal Lipid Extraction. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 49, p. 2979-2985, 2010.

REIS, L. B. *Matrizes energéticas: conceitos e usos em gestão e planejamento*. Barueri-SP: Manole, 2011.

SHUBA, E. S.; KIFLE, D. Microalgae to biofuels: 'Promising' alternative and renewable energy, review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 81, p. 743-755, 2018.

SRINUANPAN, S.; CHEIRSILP, B.; PRASERTSAN, P. Effective biogas upgrading and production of biodiesel feedstocks by strategic cultivation of oleaginous microalgae. *Energy*, v. 148, p. 766-774, 2018.

SUAREZ, P.A.Z., MENEGHETTI, S.M.P. 70º aniversário do biodiesel em 2007: evolução histórica e situação atual no Brasil. *Química Nova*, v. 30, n. 8, p. 2068-2071, 2007.

SUAREZ, P. A. Z.; PINTO, A. C. Biodiesel de algas: promessa ou futuro? *Química Nova*, v. 22, n. 11, p. 2023-2026, 2011.

SURESH, M.; JAWAHAR, C. P.; RICHARD; A. A review on biodiesel production, combustion, performance, and emission characteristics of non-edible oils in variable compression ratio diesel engine using biodiesel and its blends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 92, p. 38-49, 2018.

TAVARES, E. A.; et al. Isolamento, identificação e caracterização de microalgas de água doce como fonte potencial para a extração de óleo. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 6, n. 1. p. 74-81, 2017.

TESTER, J. W.; et al. *Sustainable Energy: Choosing Among Options*. 2. ed. Londres, Inglaterra: The MIT Press, 2012.

1 William Francisconi TAUFEMBACK. É graduando em Engenharia de Energia pela Universidade Federal de Santa Catarina. william.taufemback@grad.ufsc.br

2 Reginaldo GEREMIAS. Possui graduação em Filosofia pela Universidade do Sul de Santa Catarina (1986), graduação em Direito pela Universidade do Extremo Sul Catarinense (2004), graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Catarina (1998), mestrado em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Catarina (2002) e doutorado em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina (2008). Atualmente é professor na Universidade Federal de Santa Catarina. Realiza pesquisas na área de Energia e Sustentabilidade. regicrici@gmail.com

3 Elídio ANGIOLETTO. Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Maria (1995), mestrado (1998) e doutorado (2003) em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Santa Catarina. Atualmente é professor titular da Universidade do Extremo Sul Catarinense atuando no Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia dos Materiais e em diversos cursos de graduação. Como função administrativa é Diretor da Empresa Biorosam Biotecnologia LTDA. Tem experiência na área de Engenharia de Materiais e Metalúrgica, e desenvolve pesquisas nos seguintes temas: zeólitas, caldeiras, troca iônica, nitretação gasosa, nitretos, atividade antimicrobiana, recuperação ambiental e purificação de gases. ean@unesc.net

4 Amanda da Silva SERAFIM. É graduanda em Engenharia Química pela Universidade do Extremo Sul Catarinense. amandasserafim@hotmail.com

5 Willian Acordi CARDOSO. Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade do Extremo Sul Catarinense (2017). Atualmente é mestrando em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina. wyllyan_ac@hotmail.com

6 Julia Cesino Bez BATTI. Possui graduação em Engenharia de Energia pela Universidade Federal de Santa Catarina (2018). juliabezbatti@gmail.com

Operações Unitárias envolvidas na purificação de óleo de fritura

Gomes, Winston Pinheiro Claro
Alves, Rita de Cassia Malho
Benetole, Bianca Martins
Pazetti, Manoela Camargo
Harder, Marcia Nalesso Costa

Resumo

Operações unitárias envolvem ações físicas no que tange o processamento industrial. Existem processos de separação que são importantes na indústria, pois é a partir deles que se obtém a purificação e a separação de componentes. Entre esses processos pode-se citar a filtração simples, utilizada em mistura heterogênea, e a adsorção, utilizada com conceitos de transferências de massa. Este estudo teve como objetivo demonstrar a importância das operações unitárias e seus conceitos envolvidos na área de alimentos através da prática experimental de purificação de óleo de fritura. Utilizou-se o teste de Kreis como metodologia, qualitativo para a medição do índice de ranço de óleos e gorduras. O resultado do teste de Kreis para o óleo comercial foi negativo, o que já era esperado por se tratar de uma amostra controle. Já a amostra de óleo de fritura, apresentou a coloração vermelha ou rósea, dando assim positivo neste teste, quando as amostras, óleo comercial, óleo de fritura, óleo de fritura após 5 minutos, óleo de fritura após 10 minutos e óleo de fritura após 15 minutos, passaram por agitação e com a adição de silicato de magnésio em diferentes intervalos de tempo. Em algumas, óleo de fritura, óleo de fritura após 5 minutos e óleo de fritura após 10 minutos, não houve a alteração de deterioração do óleo, mas a última, óleo de fritura após 15 minutos, chegou bem próxima à do controle em contrapartida. Conclui-se assim que as análises de purificação de óleo com silicato de magnésio em diferentes tempos de uso mostraram-se satisfatórias, pois é possível utilizar esse recurso de reaproveitamento de óleo em diversas áreas, pois a utilização do silicato de magnésio diminuiu a coloração, indicando diminuição no nível de acidez.

Palavras-chave: Operações unitárias, separação, purificação, óleo.

Abstract

Unit operations involved in physical processes in industry. There are selection processes that are important in the industry, as it is from them that purification and component selection are obtained. These processes include simple filtration, used in heterogeneous mixing and adsorption, used with mass transfer concepts. This study aimed to demonstrate the importance of unit operations and their concepts involved in the food area through the experimental practice of frying oil purification. Use the Kreis test as a qualitative methodology for oil and fat content. The Kreis test result for commercial oil was negative, or was already expected by a sample control test. It has tried a frying oil sample, it shows a red or black tint, giving the same result in this test when using oil, commercial oil, frying oil, frying oil after 5 minutes, frying oil after 10 minutes and oil after 15 minutes, it was stirred and added with magnesium silicon at different time intervals. In some, frying oil, frying oil after 5 minutes and frying oil after 10 minutes, did not change in oil deterioration, but the latter, frying oil after 15 minutes, came very close to control in return. It is concluded that if satisfactory magnesium silicon oil purification analyzes at different times of use, it is possible to use this oil reuse feature in various areas after the use of reduced color magnesium silicon, reduced level limit of acidity.

Keywords: Physical processes, separation, purification, oil.

Resumen

Operaciones unitarias involucradas en procesos físicos en la industria. Existen procesos de selección que son importantes en la industria porque de ellos se obtiene la purificación y la selección de componentes. Estos procesos incluyen filtración simple, usada en mezcla heterogénea y adsorción, usada con conceptos de transferencia de masa. Este estudio tuvo como objetivo demostrar la importancia de las operaciones de la unidad y sus conceptos involucrados en el área de alimentos a través de la práctica experimental de la purificación de aceite para freír. Utilice la prueba de Kreis como una metodología cualitativa para el contenido de aceite y grasa. El resultado de la prueba de Kreis para el aceite comercial fue negativo, o era esperado por una prueba de control de muestra. Ha probado una muestra de aceite para freír, muestra un tinte rojo o negro, dando el mismo resultado en esta prueba al usar aceite, aceite comercial, aceite para freír, aceite para freír después de 5 minutos, aceite para freír después de 10 minutos y aceite. Después de 15 minutos, se agitó y se añadió con silicio de magnesio a diferentes intervalos de tiempo. En algunos, el aceite para freír, el aceite para freír después de 5 minutos y el aceite para freír después de 10 minutos, no cambiaron en el deterioro del aceite, pero este último, el aceite para freír después de 15 minutos, estuvo muy cerca del control a cambio. Concluya si los análisis de la purificación de aceite de magnesio y silicio en diferentes momentos de uso, si son satisfactorios, son posibles de utilizar esta función de reutilización de aceite en varias áreas después del uso de silicio de magnesio de color reducido, límite bajo de acidez.

Palabras claves: Procesos físicos, separación, purificación, aceite.

INTRODUÇÃO

Conforme relatado por Peçanha (2014), o conceito de operações unitárias foi criado por Arthur Dehon Little (1863-1935) ao enviar um documento para o presidente do *Massachusetts Institute of Technology* (MIT). Para este autor as operações unitárias envolviam os processos físicos e químicos, mas com o tempo a definição acabou evoluindo e apenas representando os fenômenos físicos.

Matos (2015) menciona que os métodos de separação são importantes operações unitárias, através das quais se obtém a síntese de produtos, a purificação, e a separação de subprodutos e resíduos, já que essas separações ensejam a comercialização de produtos de alto valor agregado. Esses métodos consistem em separar misturas homogêneas (miscíveis) e heterogêneas (imiscíveis), como o caso da purificação do óleo de fritura, para a reutilização na indústria alimentícia.

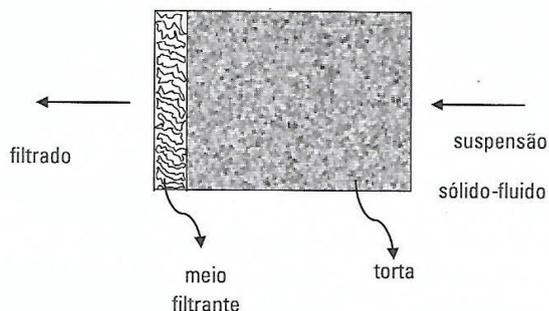
De acordo com Maskan (2003) durante o processo de fritura o óleo passa por algumas alterações, como a mudança da cor amarelo claro para laranja amarronzado e o aumento da viscosidade, como resultado da polimerização, mudanças químicas e, principalmente, da oxidação, que podem prejudicar o alimento através da indução da reação de Maillard, além de aumentar o tempo de cozimento e de dourar o alimento, aumentar a absorção de óleo, o que demonstra a importância do processo de purificação do óleo de fritura na indústria alimentícia.

Entre os métodos pode-se citar a filtração simples, que é um método de separação mecânica de misturas heterogêneas, e a adsorção, que é um método de separação por transferência de massa (CREMASCO, 2010).

A filtração consiste em realizar a separação de particulados presentes num fluido que possua a capacidade de atravessar uma membrana porosa e permeável devido à diferença de tamanho entre a partícula que fica retida e os poros do filtro. É considerada uma separação de suspensões sólido-fluido (CREMASCO, 2010; MATOS, 2015 & PEÇANHA, 2014). A filtração pode ser feita por dois mecanismos:

- Filtração em superfície: neste caso os particulados em suspensão ficam retidos na superfície do meio poroso, formando a “torta” ou “bolo”, que são os materiais retidos, conforme visto na Figura 1.

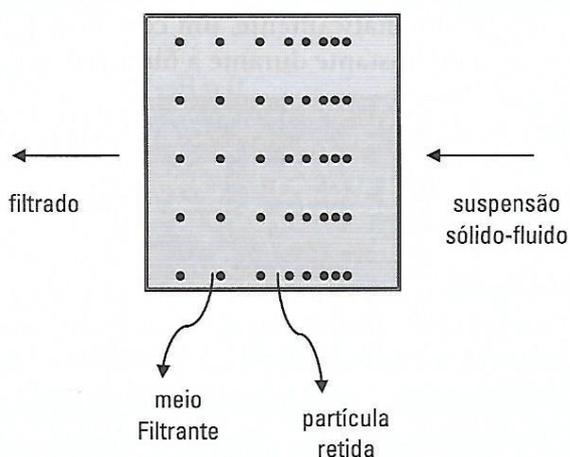
Figura 1 - Mecanismo da filtração em superfície.



Fonte: Peçanha (2014).

- Filtração em profundidade: por este mecanismo os filtros são mais porosos e mais grossos e, desta forma, o material que ficará retido penetra mais profundamente no filtro, conforme Figura 2. E o processo irá parar devido com a obstrução dos poros, impondo a necessidade da substituição do filtro. Este processo é conhecido como colmatação. E vários mecanismos podem estar envolvidos, não sendo exclusivamente dependente das características do filtro e sim das características químicas do fluido, do sólido, e do meio filtrante (PEÇANHA, 2014).

Figura 2 - Mecanismo da filtração em profundidade.



Fonte: PEÇANHA (2014).

Enquanto a adsorção consiste na transferência da massa de um ou mais constituintes presente no fluido para a superfície do material adsorvente. Esse processo ocorre devido às afinidades que ocorrem entre os materiais, sendo que essas afinidades podem ocorrer devido à força de *Van der Waals* ou troca iônica, no qual o componente ficara retido com o material adsorvente, devido a carga que ele apresente (FOUST et al, 1982; Coulson & Richardson, 1982 apud PICCIN et al, 2015). Na Tabela 1, podemos notar as diferenças entre a adsorção física e química.

Tabela 1 - Diferenças entre a adsorção física e química.

ADSORÇÃO FÍSICA	ADSORÇÃO QUÍMICA
Causada por forças de Van der Waals	Causada por forças eletrostáticas e ligações covalentes
Não há transferência de elétrons	Há transferência de elétrons
Calor de adsorção < 40 kJ mol⁻¹	Calor de adsorção > 80 kJ mol⁻¹
Fenômeno geral para qualquer espécie	Fenômeno específico e seletivo
A camada adsorvida pode ser removida por aplicação de vácuo à temperatura de adsorção	A camada adsorvida só é removida por aplicação de vácuo e aquecimento à temperatura acima da de adsorção
Formação de multicamada abaixo da temperatura crítica	Há somente formação de monocamadas
Lenta ou rápida	Acontece também há altas temperaturas
Adsorvente quase não é afetado	Instantânea
	Adsorvente altamente modificado na superfície

Fonte: BARROW, CASTELLAN & TAMBOSI (1982, 1986, 2008 apud ANTUNES, 2011).

Além disso, existem três mecanismos distintos, conforme explica DO (1998 apud NASCIMENTO et al 2014):

- Estérico: os poros do material adsorvente possuem dimensões características, as quais permitem que determinadas moléculas possam entrar, excluindo as demais.
- Equilíbrio: têm-se as habilidades dos diferentes sólidos para acomodar diferentes espécies de adsorvatos, que são adsorvidos, preferencialmente, a outros compostos.

- Cinéticos: está baseado nas diferentes difusividades das diversas espécies nos poros adsorventes.

Maskan & Magci (2003) mencionam que o silicato de magnésio é muito utilizado como adsorvente no processo de purificação do óleo de fritura devido as suas propriedades de redução da viscosidade, cujo aumento é um indicativo da formação de polímeros, e da recuperação da cor original do óleo usado.

Desta forma, este estudo teve como objetivo demonstrar a importância dos estudos das operações unitárias e seus conceitos envolvidos na área de alimentos através da prática experimental, purificação de óleo de fritura, já que ela possui, conforme relatado por Uchôa (2012), supra importância na construção do conhecimento científico, pela observação dos processos envolvidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Deputado Roque Trevisan, na cidade de Piracicaba/SP, com as atividades desenvolvidas nos Laboratórios de Química, e será detalhado a seguir:

Reagentes e materiais

Utilizou-se os seguintes reagentes: silicato de magnésio P.A, floroglucinol, álcool etílico absoluto P.A, ácido clorídrico P.A. Os seguintes materiais foram utilizados: tubos de ensaio, balão volumétrico de 25 mL, funil de vidro com haste curta, haste de ferro, argola, agitador magnético, pipeta graduada 1 mL, béqueres de 100 mL, pipeta graduada 5 mL, pipeta graduada 10 mL, 01 balança analítica com precisão de 0,1 mg e óleo de fritura antigo que estava disponível no laboratório. Além disso, adquiriu-se 1 litro de óleo de soja como amostra controle.

Métodos

- a) Preparação das soluções

A solução de floroglucinol foi preparada com 8,3 mL de ácido clorídrico, 0,3375 g de floroglucinol e avolumou no balão de 25 mL com álcool etílico absoluto, sendo mantida em ambiente escuro até o seu uso.

b) Teste de Kreis

Para aplicação das operações unitárias de filtração simples e adsorção, utilizou-se o teste de Kreis, que é um método qualitativo para medição do índice de ranço de óleos e gorduras descrito por Araújo (2001), com adaptação da substituição do uso do éter etílico pelo álcool etílico absoluto, e com o aparecimento da coloração vermelha ou rósea (pois a intensidade da cor aumenta com a deterioração do lipídeo) devido a reação do floroglucinol com produtos da degradação do peróxido em meio ácido ou produtos de oxidação do óleo ou da gordura.

Segundo Lutz (1985 apud Guimarães, 2016) o método é válido para avaliação lipídica em estado líquido, em que o aparecimento da coloração vermelha ou rósea se dá devido à presença de aldeído malônico ou epidrínico.

c) Procedimento experimental

No primeiro momento da parte experimental, utilizou-se 2 tubos de ensaios, onde se colocou 1 mL de amostra do óleo novo em um tubo de ensaio, e em outro igual quantia de óleo de fritura, adicionando-se em ambos: 5 mL de ácido clorídrico, depois, 0,5 mL da solução de floroglucinol e ao final, agitando-os vigorosamente por alguns segundos e aguardando-se o repouso por 1 minuto.

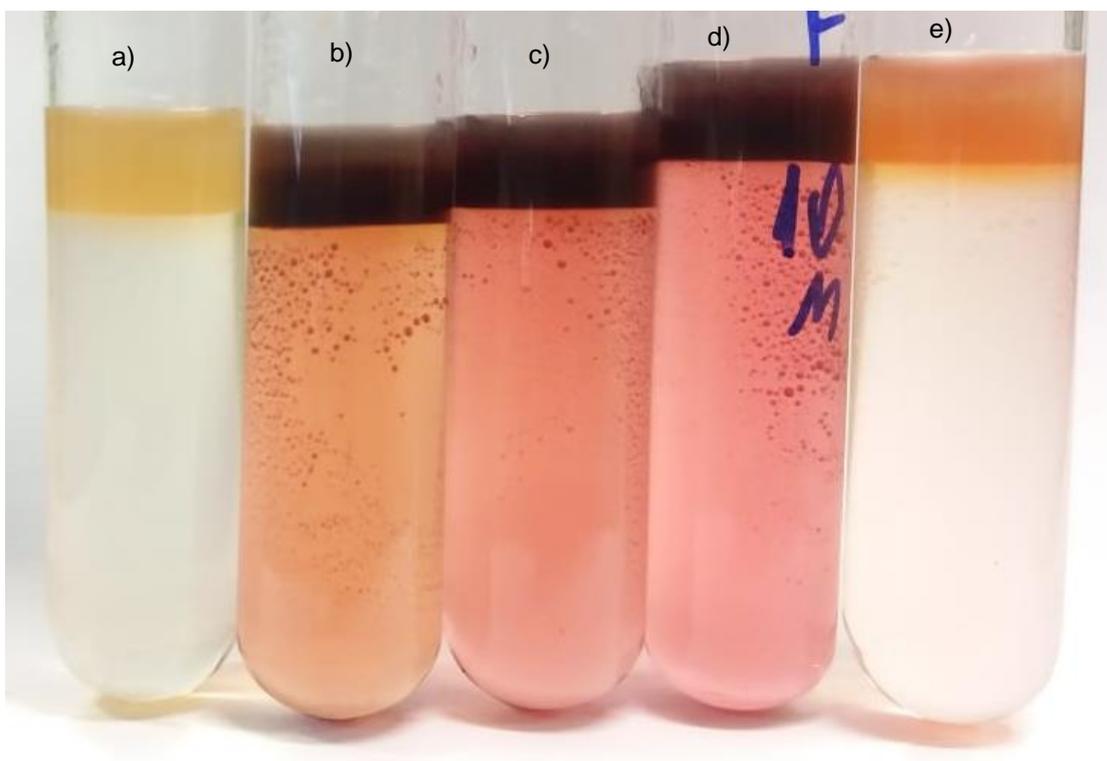
No segundo momento da parte experimental, colocou-se em 3 béqueres 50 mL do óleo de fritura em cada, adicionando-se depois 5 g de silicato de magnésio e deixando-se em agitação por 5 minutos, 10 minutos e 15 minutos, respectivamente.

Por fim realizou-se a filtração simples de cada béquer, seguindo-se procedimento idêntico à etapa inicial da parte experimental. Isto é, retirou-se 1 mL de cada béquer, formando mais três tubos de ensaios e nos quais foram agora adicionados 5 mL de ácido clorídrico e 0,5 mL da solução de floroglucinol, procedendo-se a agitação e deixando-os em seguida em repouso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao realizar o teste de Kreis, conforme a Figura 3, constatou-se que o óleo novo (Figura 3.a) teve ausência da coloração vermelha ou rósea, dando assim negativo para o teste de Kreis o que era esperado, já que é amostra controle. Já as amostras 3.b, 3.c, 3.d e 3.e apresentaram a coloração vermelha ou rósea, significando positivo para o teste. Na amostra 3.b pode-se observar que a coloração é bem mais intensa que as outras amostras. E isso se explica pelo fato de ser ela de óleo de fritura. Nas amostras 3.c e 3.d a alteração de cor é quase imperceptível mostrando que a utilização do silicato de magnésio sobre agitação para purificar na aplicação de 5 e 10 minutos (respectivamente), não altera as características de deterioração do óleo.

Figura 3 - Reação de Kreis. a) Óleo comercial; b) Óleo de fritura; c) Óleo de fritura após 5 minutos; d) Óleo de fritura após 10 minutos; e) Óleo de fritura após 15 minutos.



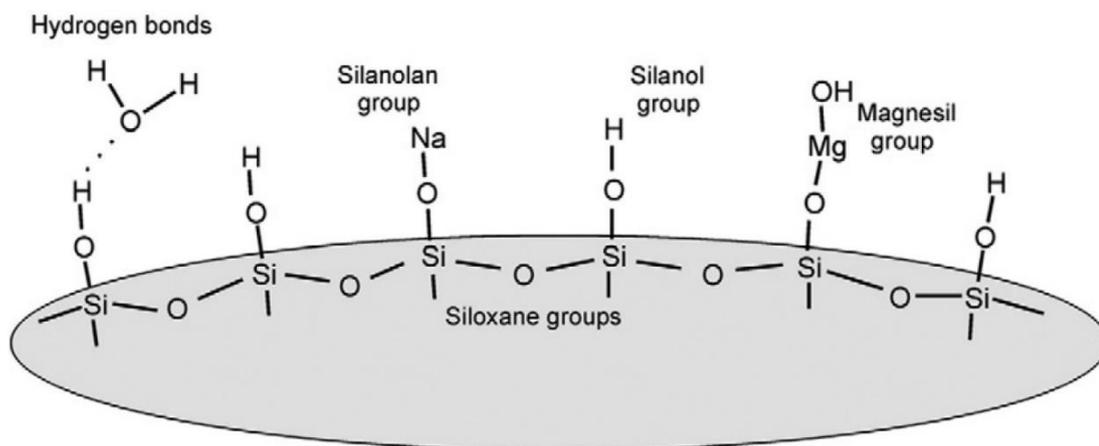
Fonte: Autores

Por fim, na amostra 3.e, pode-se observar que a intensidade da coloração é bem menor que amostra 3.b, chegando próximo da amostra controle (Figura 3.a), o que evidencia que a purificação do óleo de fritura deve ser superior aos 15 minutos em agitação e contato com o silicato de magnésio. No caso específico, houve a adição de silicato de magnésio na proporção de

10% da massa de óleo, mas que se recomenda pelo menos a adição na proporção de 1% da massa, segundo ensina Manique (2011), observando-se porém que não basta a mera adição e, portanto, que é imprescindível o tempo de agitação para um contato mais íntimo das substâncias que serão adsorvidas na superfície do silicato de magnésio.

Conforme relatado por Rashid et al (2011) a eficiência do silicato de magnésio se dá devido aos grupos de hidroxilas livres, que são grupos altamente reativos, proporcionando a adsorção com compostos orgânicos, permitindo que aja reações facilmente com vários substitutos desses radicais, assim permitindo um grande potencial de modificação da superfície, conforme visto na Figura 4. Devido essa gama de sítios ativos que o silicato de magnésio possui, ele permite ser usado para regeneração de óleos de frituras e purificação de biodiesel. E é amplamente utilizado para adsorver componentes orgânicos, lipídios e cor.

Figura 4 - Funcionalidades da superfície do silicato de magnésio.



Fonte: RASHID et al (2011).

CONCLUSÃO

Conclui-se, com o emprego de operações unitárias para as análises realizadas, que é possível a purificação do óleo de fritura com a aplicação do silicato de magnésio a partir do tempo mínimo de quinze minutos - sujeita ainda a avaliação quantitativa do índice de acidez e da proporção desse reagente em relação à massa a ser purificada.

As análises mostraram-se satisfatórias, indicando ser possível se utilizar desse recurso de reaproveitamento de óleo em diversas áreas. Elas apresentaram diminuição na coloração, indicando diminuição do nível de acidez. Não foram realizados testes quantitativos para o nível de acidez, notadamente em relação ao que seria adequado para consumo humano, podendo servir, para outros fins, como por exemplo, a fabricação do sabão líquido ou em pedra.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, M. *Utilização do bagaço da uva isabel para a remoção de diclofenaco de sódio em meio aquoso*. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Materiais, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/xmlui/bitstream/handle/11338/707/Dissertacao%20Marjore%20Antunes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 de maio de 2019.
- ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos – Teoria e Prática*. Viçosa: UFV, Impr. Univ. 2001. p. 415.
- CREMASCO, M. A. *Vale a pena estudar engenharia química*. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2010.
- FOUST, A. S. et al. *Princípios das operações unitárias*. 2. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1982. P. 670.
- GUIMARÃES, P. V. *Caracterização de embalagens pet com aditivos absorvedores de raios UV*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2016. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/bitstream/tede/1058/5/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Paulo%20Vitor%20Guimar%C3%A3es%202016.pdf>. Acesso em: 05 de junho de 2019.
- MANIQUE, M. C. *Caracterização e utilização da cinza de casca de arroz como adsorvente na purificação de biodiesel de óleo de fritura*. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/30830/000780706.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 05 de junho de 2019.
- MASKAN, M. Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*, 218 (1), 20–25. 2003.

MASKAN, M.; BAGCI, H. Effect of different adsorbents on purification of used sunflower seed oil utilized for frying. *European Food Research and Technology*, 217 (3), 215–218. 2003.

MATOS, S. P. de. *Operações Unitárias: fundamentos, transformações e aplicações dos fenômenos físicos e químicos*. 1. Edição. São Paulo: Érica, 2015.

NASCIMENTO, R. F. do et al. *Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais*. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. P. 256. Disponível em: http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/10267/1/2014_liv_rfdnascimento.pdf. Acesso em: 19 de maio de 2019.

PEÇANHA, R. P. *Sistemas particulados#*: operações unitárias envolvendo partículas e fluidos. 1ª edição, p. 424. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

PICCIN, J. S. et al. *Purificação de biodiesel por adsorventes: uma revisão*. *Vetor*, Rio Grande, v. 25, n. 2, p. 68-75, 2015. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vetor/article/view/4893>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

RASHID, I. et al. Magnesium Silicate. In: BRITTAIN, Harry G. (Orgs.). *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. V. 36. Elsevier, 2011. Cap.7, p. 241-285. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387667-6.00007-5>. Acesso em: 12 de junho de 2019.

UCHÔA, A. M. et al. Passando um “cafezinho”: misturas e separação de misturas a partir de experimento com materiais do cotidiano. *Vivências*, v. 8, n. 14: p. 181–191, 2012. Disponível em: http://www2.reitoria.uri.br/~vivencias/Numero_014/artigos/artigos_vivencias_14/n14_17.pdf. Acesso em: 05 de junho de 2019.

1 Winston Pinheiro Claro GOMES é Graduando em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiário no Laboratório de Cromatografia sendo que no período de agosto de 2018 até dezembro de 2018 teve a orientação da MSc. Fabiana Yoshinaga e Dra. Ana Lúcia Piedade Sodero Martins Pincelli e a partir de fevereiro de 2019 passa a ser orientado pela Dra. Gisele Gonçalves Bortoleto, onde a partir de agosto de 2019 passar se aluno de Iniciação Científica no projeto "Análise de álcoois superiores em cervejas artesanais por Cromatografia Gasosa empregando Headspace" e também é estagiário no Laboratório de Biotecnologia, orientado pela Dra. Daniela Defavari do Nascimento. Graduado em Tecnologia Têxtil pela Faculdade de Tecnologia de Americana - Centro Paula Souza, em dezembro de 2010, com o título "Como ter uma confecção de toalha de mesa e pano de prato, eficiente e com o maior retorno possível em pequeno prazo", onde foi bolsista pelo "Programa de Iniciação Científica e Tecnológica para Micro e Pequenas Empresas - BITEC" na Europa Indústria Têxtil LTDA no período de julho de 2008 à fevereiro de 2009 em Americana, SP. Atualmente é professor nos cursos técnico na Faculdade de Americana – FAM.

2 Rita de Cassia Malho Alves é discente do curso de Tecnologia de Alimentos – FATEC Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” – Centro Paula Souza.

3 Bianca Martins Benetole é discente do curso de Tecnologia de Alimentos – FATEC Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” – Centro Paula Souza.

4 Manoela Camargo Pazetti é discente do curso de Tecnologia de Alimentos – FATEC Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” – Centro Paula Souza.

5 Marcia Nalesso Costa Harder possui graduação em Engenharia Agrônômica pelo Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal (2002), mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade de São Paulo (2005) e doutorado em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura) pela Universidade de São Paulo (2009). Atualmente é coordenadora da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba e professor de ensino superior PIII do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza. Tem experiência na área de Agronomia, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Análise Sensorial, Técnicas de Conservação e Processamento de Alimentos, Operações Unitárias, Aplicações Industriais de Radioisótopos, Biocombustíveis, atuando principalmente nos seguintes temas: biocombustíveis, bioetanol/açúcar, análise sensorial e suas aplicações, irradiação de alimentos, processamento e conservação de alimentos, operações unitárias, plantas medicinais e alimentos funcionais, ecossustentabilidade.

Avaliação da fermentação de leveduras visando produção de etanol de segunda geração

Silva, Fabio Sousa Guedes
Gomes, Winston Pinheiro Claro
Nascimento, Daniela Defávári do

Resumo

A preocupação das nações em reduzir a dependência de combustíveis fósseis incentiva a busca por fontes renováveis, como o etanol de segunda geração (2G). Esta pesquisa objetivou avaliar a fermentação de leveduras na presença de xilose, pentose presente no mosto de etanol 2G. Cepas de leveduras conservadas a -80°C foram reativadas e multiplicadas em dois meios de crescimento: a partir de cana de açúcar (CCA) e YPX. Em seguida, foram inoculadas, de acordo com a densidade óptica nos meios, em tubos de ensaio contendo meios de fermentação com 0, 7,5 ou 15% (m/v) de xilose e tubos de *Durham* invertidos. Ao longo da fermentação avaliou-se a altura da camada gasosa (CO_2) formada no interior dos tubos de *Durham* e ao fim quantificou-se o etanol por cromatografia gasosa. Antes e após a fermentação, determinou-se a viabilidade celular e células viáveis mL^{-1} , por contagem direta em microscópio. Observou-se que as leveduras que cresceram em YPX apresentaram menor número de células viáveis mL^{-1} e viabilidade celular antes da fermentação, em comparação com crescimento em CCA. Entretanto, apresentaram tanto melhor rendimento na fermentação quanto maior número de células viáveis mL^{-1} e viabilidade celular após a fermentação. Notou-se que, no meio de fermentação, quanto maior a concentração de xilose, menor é o rendimento da fermentação. Portanto, sugere-se que a presença de xilose (YPX) no meio de crescimento promove melhor rendimento na fermentação, porém sua presença no meio de fermentação afeta o rendimento de produção de etanol.

Palavras-chave: xilose; *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus*, leveduras selvagens.

Abstract

The concern of nations to reduce dependence on fossil fuels encourages the search for renewable sources, such as second-generation (2G) ethanol. This research aimed to evaluate yeast fermentation in the presence of xylose, pentose present in the ethanol 2G wort. Yeast strains conserved at -80°C were reactivated and multiplied in two growth mediums: from sugarcane (CCA) and YPX. Then, they were inoculated, according to the optical density in the mediums, into test tubes containing 0, 7.5 or 15% (m/v) xylose fermentation mediums and inverted *Durham* tubes. Throughout the fermentation the height of the gas layer (CO_2) formed inside the *Durham* tubes was evaluated and the ethanol was quantified by gas chromatography. Before and after the fermentation, cell viability and viable cells mL^{-1} were determined by direct microscopic counting method. Yeasts that grew on YPX were found to have a fewer number of viable cells mL^{-1} and cell viability prior to fermentation, compared to growth in CCA. However, they presented better fermentation yield as well as superior number of viable cells mL^{-1} and cell viability after fermentation. It was noted that, in the fermentation medium, the higher the xylose concentration, the lower the fermentation yield. Therefore, it is suggested that the presence of xylose (YPX) in the growth medium promotes a better yield in the fermentation, however its presence in the fermentation medium affects the yield ethanol production.

Keywords: xylose, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus*, wild yeasts.

Resumen

La preocupación de las naciones en reducir la dependencia de combustibles fósiles incentiva la búsqueda de fuentes renovables, como el etanol de segunda generación (2G). Esta investigación objetivó evaluar la

fermentación de levaduras en presencia de xilosa, pentosa presente en el mosto del etanol 2G. Las cepas de levaduras conservadas a -80°C fueron reactivadas y multiplicadas en dos medios de crecimiento: a partir de caña de azúcar (CCA) y YPX. Em seguida, fueron inoculadas, de acuerdo con la densidad óptica en los medios, en tubos de ensayo que contenían medios de fermentación con 0, 7,5 o 15% (m / v) de xilosa y tubos de *Durham* invertidos. Durante la fermentación se evaluó la altura de la capa gaseosa (CO_2) formada en el interior de los tubos de *Durham* y al final se cuantificó el etanol por cromatografía gaseosa. Antes y después de la fermentación, se determinó la viabilidad celular y las células viables mL^{-1} , por cuenta directa al microscopio. Se observó que las levaduras que crecieron en YPX presentaron menor número de células viables mL^{-1} y viabilidad celular antes de la fermentación, en comparación con el crecimiento en CCA. Sin embargo, presentaron tanto mejor rendimiento en la fermentación cuanto mayor número de células viables mL^{-1} y viabilidad celular después de la fermentación. Se observó que, en medio de fermentación, cuanto mayor es la concentración de xilosa, menor es el rendimiento de la fermentación. Por lo tanto, se sugiere que la presencia de xilosa (YPX) en el medio de crecimiento promueve mejor rendimiento en la fermentación, pero su presencia en el medio de fermentación afecta el rendimiento de producción de etanol.

Palabras clave: xilosa, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus*, levaduras selvajes.

INTRODUÇÃO

O Renovabio, Política Nacional de Biocombustíveis, teve sua lei sancionada pelo governo brasileiro em 2017, ajudando a definir uma tática que garanta o papel estratégico dos biocombustíveis, especialmente no que se trata à segurança energética e à diminuição de emissões de gases causadores do efeito estufa, de maneira a garantir a expansão sustentável do mercado de biocombustíveis no país (BRASIL, 2017a). O Brasil pretende, até 2030, obter 45% de energias renováveis em sua matriz energética, sendo que as metas incluem aumento na produção de etanol de primeira geração para aproximadamente 50 bilhões de litros e incremento de maneira significativa na síntese de etanol de segunda geração a partir de 2023, para atingir 2,5 bilhões de litros (BRASIL, 2017b).

A tendência do país é que o consumo de fontes não renováveis para geração de energia decaia em 4% de 2017 até 2027, e paralelamente a isso, a participação das fontes renováveis aumente 4% (BRASIL, 2018). Para que isso aconteça, é importante o estudo de novas tecnologias na geração de fontes renováveis, como os biocombustíveis, considerando o aumento da sustentabilidade no processo de geração de energia através dos recursos já existentes, sem aumentar a exploração do ambiente. O etanol de segunda geração (2G), também conhecido como etanol celulósico, se enquadra nessas condições, e foi o responsável por incentivar o desenvolvimento desta pesquisa.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Etanol

O etanol é responsável por desempenhar um importante papel na economia do Brasil, uma vez que é empregado como combustível nos veículos flex-fuel (etanol hidratado) ou em mistura com a gasolina, a fim de tornar mais barato o combustível, elevar sua octanagem e diminuir a emissão de poluentes (etanol anidro), além de ser utilizado na fabricação de tintas, vernizes, solventes etc (CONAB, 2018). De acordo com a CONAB (2019), Companhia Nacional de Abastecimento, em seu quarto levantamento da safra brasileira 2018/19 de cana-de-açúcar, produziu-se 33,14 bilhões de litros de etanol total, isto é, etanol hidratado e anidro, aumentando 21,7% ao comparar com a safra passada.

A produção de etanol é realizada através da conversão microbiológica de materiais de biomassa por fermentação. Esse processo consiste basicamente em: (1) converter biomassa em açúcares fermentescíveis; (2) fermentar açúcares em etanol; (3) separar e purificar o etanol. A princípio, a fermentação gera etanol com uma quantidade considerável de água. Por meio da destilação, remove-se a maior parte de água e obtém-se uma mistura com cerca de 95% de etanol puro, denominando-se etanol hidratado. Se a água residual for retirada, denomina-se o produto como etanol anidro, tornando-o adequado para ser misturado com gasolina (ZUURBIER; VOOREN, 2008).

Etanol de segunda geração (2G)

Ao produzir etanol partindo da cana-de-açúcar como matéria-prima, emprega-se, atualmente, a fermentação etanólica da sacarose. Frente à possibilidade da síntese de etanol celulósico, tanto o etanol advindo da sacarose quanto o proveniente do amido de milho, como nos Estados Unidos, tem sido reportado como etanol de primeira geração. Dessa maneira, a produção de etanol celulósico através dos polissacarídeos da parede celular vegetal gera um produto conhecido como etanol de segunda geração (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2010).

No Brasil, a produção do etanol celulósico, advindo da palha e do bagaço da cana-de-açúcar, é capaz de aumentar em até 50% a produção de álcool no país, enfatizando a importância tanto econômica quanto ambiental dessa possibilidade, responsável por transformar resíduo em recurso (ARANTES, 2018). O novo paradigma do etanol de segunda geração pode aumentar de forma significativa a produção de etanol por hectare-ano, transformando os atuais 6000 litros no patamar projetado de 12000 litros (BONOMI, 2010).

A síntese de etanol utilizando materiais lignocelulósicos (2G) engloba os seguintes passos principais: hidrolisar a hemicelulose, hidrolisar a celulose, fermentar, separar a lignina, recuperar e concentrar o etanol e realizar o tratamento da água residual. Basear o processo na hidrólise enzimática e na fermentação torna-o na opção considerada atualmente a mais próspera para converter carboidratos – polissacarídeos – de materiais lignocelulósicos até etanol (GALBE; ZACCHI, 2010).

Assim sendo, a produção de etanol de segunda geração (2G), através da hidrólise química ou enzimática da fibra – celulose e hemicelulose – a fim de obter açúcares fermentescíveis e produzir combustíveis líquidos, já vem sendo produzido no Brasil por duas empresas, uma

localizada em São Miguel dos Campos-AL e a outra em Piracicaba-SP (DAROS; OLIVEIRA; BARBOSA, 2015).

Biomassa lignocelulósica

A conversão em etanol é muito mais difícil de se realizar nos materiais lignocelulósicos ao comparar com açúcares, amidos e óleos. A lignocelulose é o material fibroso responsável por formar a parede celular da arquitetura da planta e sua composição consiste em três principais substâncias: a celulose, que tipicamente participa em cerca de 40% da massa da lignocelulose; a hemicelulose, que usualmente contribui com aproximadamente 25%; e a lignina, que participa com cerca de 20% (QUINTERO-RAMIREZ, 2010).

Um impedimento relevante que surge ao tentar a síntese de etanol a partir de materiais lignocelulósicos é a resistência na conversão de pentoses, como a xilose, a etanol. A xilose, no que se diz respeito à abundância na biomassa, ocupa a segunda posição entre os açúcares em maiores quantidades, alcançando, como por exemplo no caso do bagaço de cana-de-açúcar, 33% da totalidade de açúcares fermentescíveis (EMBRAPA, 2016).

Portanto, a produção de bioetanol utilizando biomassa como matéria-prima e empregando microrganismos fermentadores necessita de eficiência na metabolização de xilose. Assim sendo, para aplicação biotecnológica é relevante que se estude leveduras que sejam capazes de assimilar esta pentose, bem como realizar a conversão deste açúcar em etanol e a outros produtos que interessem a indústria (CAMPOS, 2015).

Metabolização da xilose

Apesar das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* possuírem alta tolerância ao álcool etílico e apresentarem certa tolerância aos inibidores produzidos durante o pré-tratamento da biomassa, como comprovado, ela realiza a fermentação de apenas hexoses, isto é, glicose, manose e, em certas situações, galactose. Dessa maneira, esse microrganismo é incapaz de fermentar pentoses, como a xilose e a arabinose, os principais constituintes da maior parte das hemiceluloses (GALBE; ZACCHI, 2010).

Diante disso, há uma procura por linhagens de leveduras que sejam capazes de realizar a fermentação da xilose, destacando-se as seguintes duas estratégias: identificar linhagens naturalmente hábeis para fermentar xilose e desenvolver linhagens recombinantes da levedura

Saccharomyces cerevisiae, a qual é um microrganismo empregado mundialmente na indústria a fim de produzir etanol (EMBRAPA, 2016).

A síntese de álcool etílico, partindo da xilose, é realizada em três etapas, tanto em bactérias quanto em leveduras ou fungos filamentosos. Primeiramente, a xilose é convertida a xilulose 5-P. No caso das bactérias isso é realizado por uma reação de isomerização, enquanto em leveduras e fungos filamentosos primeiramente acontece a redução da xilose em xilitol através da ação da enzima xilose redutase NADPH-dependente, sendo o xilitol oxidado posteriormente a xilulose através da atuação da enzima xilitol desidrogenase NAD^+ -dependente. Assim sendo, acontece a incorporação da xilulose à via das pentoses-fosfato e origina gliceraldeído 3-P e frutose 6-P. Após isso, é realizado a conversão de ambos a piruvato pela via glicolítica, responsável por originar o etanol por meio de duas reações sequenciais – descarboxilação e redução (CGEE, 2010).

METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Faculdade de Tecnologia (FATEC) de Piracicaba, Deputado Roque Trevisan (22°41'33.7" S; 47°37'30.7" W e altitude 512 m). As atividades foram desenvolvidas nos Laboratórios de Química, Microbiologia e Cromatografia, de acordo com a metodologia empregada. A execução da pesquisa envolveu diferentes procedimentos, os quais serão descritos separadamente em detalhes, a saber: preparo de meios de cultura de multiplicação e fermentação; seleção, inoculação e multiplicação de leveduras; avaliação e acompanhamento da fermentação; análise de viabilidade celular e determinação do rendimento alcóolico da fermentação.

Meios de cultura de multiplicação

Foram preparados três meios de cultura para a multiplicação das leveduras, sendo que um apresentou consistência sólida e os demais consistência líquida. O meio de cultura sólido é designado de YPD, cuja composição (m/v) é extrato de levedura 1%, peptona 2% e dextrose (glicose) 1%. Os meios de cultura líquidos apresentaram diferente composição, sendo que um foi preparado a partir de caldo de cana-de-açúcar (6°Brix) (CCA) e o outro é designado YPX, isto é, extrato de levedura 1%, peptona 2% e xilose 1%; m/v.

Meios de cultura de fermentação

Os meios de cultura de fermentação foram obtidos através de caldo de cana-de-açúcar e D-xilose. Foi necessário a utilização de água destilada para a diluição das soluções, sacarose P.A. para o acerto do °Brix, com a utilização de um refratômetro portátil (Homis modelo VBR-32 T), e ácido clorídrico (HCl) 0,1 e 1 N para ajuste do pH mensurado em medidor de pH - pHmetro microprocessado de bancada (Quimis modelo Q400MT).

Dessa maneira, obteve-se três meios de culturas de fermentação, com pH 4,5 e 16 °Brix, diferindo entre si pela concentração (m/v) de xilose: 0, 7,5 ou 15%. Por fim, as soluções preparadas foram esterilizadas com calor úmido, por meio de uma autoclave (Primatec modelo CS) durante 15 minutos a 120°C e 1 kgf/cm².

Seleção, inoculação e multiplicação de leveduras

Selecionou-se oito linhagens de leveduras disponíveis no mini banco de germoplasma da FATEC Piracicaba, caracterizando oito tratamentos (T), conforme a Tabela 1, conservadas em ultra freezer (-80°C) e glicerina (15%, v/v), que foram previamente plaqueadas para a obtenção de culturas puras e caracterizadas através de eletroforese em gel de agarose em trabalhos anteriores.

Tabela 1. Identificação e especificações das leveduras estudadas

Identificação	Nome	Gênero	Tipo
T1	B2	Levedura selvagem	Industrial indígena
T2	B3	Levedura Selvagem	Industrial indígena
T3	WLP002 English Ale-3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cervejeira
T4	S23 France Lager-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cervejeira
T5	T58 Belga-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cervejeira
T6	Diamond-2	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Cervejeira
T7	Diamond-3	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Cervejeira
T8	Yndhira	Levedura selvagem	Cervejeira indígena

Fonte: Autores.

Em seguida, após descongelamento das cepas, foram estriadas em uma placa de Petri contendo o meio de cultura sólido de multiplicação (YPD), com o auxílio de uma alça de platina e tomando os cuidados de assepsia, utilizando capela de fluxo laminar vertical (Pachane modelo PA 050) e na presença de calor advindo de bico de Bünsen. Após inoculação das cepas de leveduras, foram mantidas à cerca de 28°C em uma estufa (Nova Ética) para crescimento.

Após obtenção de biomassa considerável de cada linhagem no meio de cultura sólido (YPD), a próxima etapa foi inocular estes microrganismos nos meios de cultura líquidos de multiplicação, sendo que cada linhagem foi transferida para cada um dos dois meios, CCA e YPX. Para isso, primeiramente cada meio líquido teve 5 mL transferidos individualmente com um pipetador automático (Discovery) em 8 tubos de ensaio, totalizando 16 tubos, então com auxílio de uma alça de platina e manuseio asséptico na capela de fluxo laminar vertical, os tubos de ensaio contendo as soluções receberam uma alçada da biomassa de levedura cultivada no meio de cultura sólido (YPD).

Assim sendo, os tubos de ensaio foram vedados com filme de PVC e submetidos à agitação em uma incubadora shaker de bancada (Cientec modelo CT-712) à 250 rpm e 28-30 °C para multiplicação. Conforme a produção de biomassa, a suspensão de cada tubo de ensaio foi transferida para frascos de erlenmeyers individuais, além de ser adicionado mais 5 mL do meio de cultura líquido equivalente, totalizando 10 mL. Após isso, os frascos foram vedados com tampão de algodão e submetidos novamente à agitação nas mesmas condições de agitação e temperatura anteriores, de maneira a continuar sua reprodução até a próxima fase. Ressalta-se que os materiais utilizados nesta etapa também foram esterilizados previamente em autoclave.

Acompanhamento e avaliação da fermentação

Para avaliar a capacidade de fermentação, de maneira a selecionar as linhagens que mais se demonstraram adaptadas às condições de teste, realizou-se primeiramente a transferência individual de 10 mL de cada meio de cultura de fermentação (3 meios), com auxílio de uma pipeta automática (Discovery) para tubos de ensaio tampados.

Esses tubos de ensaio continham em seu interior tubos de *Durham* invertidos (AUGUSTO et al., 2018; BARROS et al., 2015; ABREU et al., 2010; VIELMO et al., 2016; BUZANELLO et al., 2008).

Para isso, utilizou-se uma pipeta automática, caracterizando delineamento experimental com os seguintes fatores: 8 linhagens x 2 meios de cultura líquido de multiplicação x 3 meios de cultura de fermentação x 3 repetições = 144 amostras. Por fim, ressalta a utilização de materiais esterilizados em autoclave.

A próxima etapa foi realizar a adição dos meios de cultura líquidos de crescimento contendo os microrganismos, entretanto, para saber a quantidade de levedura a ser adicionada, de maneira a manter homogeneidade entre os tratamentos quanto ao número de células, realizou-se previamente a análise de densidade óptica em espectrofotômetro UV-VIS (Nova modelo

2100UV), através da medição da absorvância das amostras (SANDRI et al., 2018; VIANA, 2017) em comprimento de onda de 600 nm (DO_{600nm}).

Com esses resultados, obtidos tanto para as linhagens que cresceram quanto em CCA quanto YPX, foi possível determinar a quantidade dos meios de cultura líquido de multiplicação que deveria ser inoculada para cada linhagem. Portanto, com o auxílio de uma pipeta automática, realizou-se a adição da suspensão com as leveduras em cada tubo de ensaio de acordo com o tratamento.

Dessa maneira, após inoculação dos microrganismos, realizou-se a homogeneização das amostras e retirada do ar presente nos tubos de *Durham*. Após o início deste teste, avaliou-se a quantidade de gás formado no interior dos tubos de *Durham* sendo mensurado com auxílio de uma régua a altura da camada gasosa formada, e ao atingir a capacidade máxima dos tubos ou próximo a isso, realizou-se o procedimento de retirada do gás formado, a fim de permitir mais captura deste produto. A avaliação deste parâmetro foi realizada 8 vezes, sendo que se deram após 12, 19, 24, 35, 41, 49, 59 e 68 horas após a inoculação dos microrganismos. Após o término das medidas, a fim de confirmar que o gás formado era o dióxido de carbono (CO_2) advindo da fermentação etanólica, verificou-se o odor resultante do processo, com a expectativa de ser característico deste tipo de fermentação (alcoólica).

Análise de viabilidade celular

O procedimento de viabilidade celular empregado foi contagem em câmara de Neubauer, descrito por Lee, Robinson e Wang (1981), citado por Mongelo (2012), o qual é um método padronizado que as usinas adotam (MONGELO, 2012). Foi realizado tanto para as leveduras presentes nos meios de cultura líquidos de multiplicação, isto é, antes da fermentação, quanto para as leveduras presentes nos tubos de ensaio após a avaliação do processo fermentativo, sendo possível estabelecer uma comparação entre o antes e o depois da fermentação. Para isso, realizou-se a contagem manual em câmara de Neubauer espelhada (Optik Labor) em um microscópio óptico (Olympus modelo BX41) com câmara digital (Olympus modelo DP72) e adaptador de câmera (Olympus modelo U-TV0.63XC). Entretanto, primeiramente realizou-se adição do corante azul de metileno (1%, m/v)/citrato de sódio (2%, m/v) sobre a amostra a ser analisada em uma diluição de 1:1 sobre a malha de leitura da câmara de Neubauer. Dessa maneira, realizou-se a análise em três quadrantes para cada amostra, com auxílio do microscópio óptico em um aumento de 400 vezes, responsável por projetar a imagem em um computador acoplado a ele.

A contagem direta ao microscópio permitiu calcular a viabilidade celular, indicando a porcentagem de células que estão em atividade na população de leveduras em questão (CECCATO-ANTONINI, 2011), e pôde ser calculada da seguinte maneira (FUGITA, 2010; CECCATO-ANTONINI, 2011):

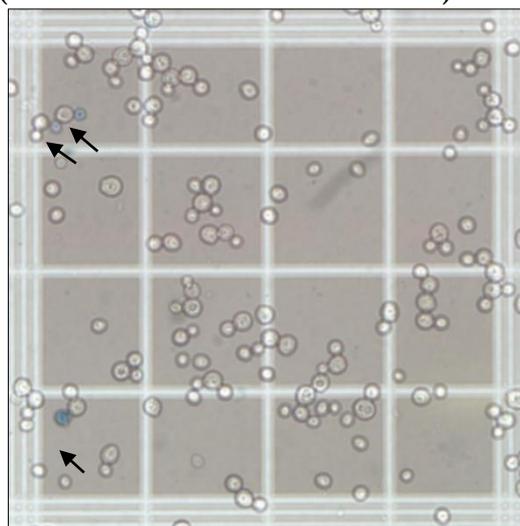
$$\text{Viabilidade (\%)} = \frac{(\text{Número de células vivas})}{(\text{Número de células vivas} + \text{células não viáveis})} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Considerando que a profundidade da lamínula até a malha de leitura corresponde à 0,1 mm e que a área de cada quadrante corresponde a 0,04 mm², é possível determinar o volume por quadrante, que resulta em 0,004 mm³. Assim sendo, o volume de cada quadrante corresponde a 0,000004 mL ou 0,004 µL. Então, sabendo que a diluição da amostra com o corante ocorreu na proporção 1:1 (fator de diluição igual a 1/2), é possível estimar o número de leveduras viáveis por mL de amostra, conforme demonstra a Equação 2.

$$\text{células viáveis/mL} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células viáveis}}{\text{volume do quadrante} \times \text{fator de diluição}} \quad \text{Equação 2}$$

As células viáveis possuem enzimas que são capazes de reduzir o azul de metileno que penetrou no seu interior até compostos incolores, enquanto essas enzimas estão inativas nas células não viáveis e ficam coradas com azul (COLORAÇÃO, 2003). Diante disso, é possível diferenciá-las pela coloração resultante das leveduras, segregando as células viáveis das não viáveis, conforme demonstra a Figura 1

Figura 1. Análise de viabilidade celular de levedura em câmara de Neubauer (as setas indicam as células não-viáveis)



Fonte: Autores.

Determinação do rendimento alcóolico da fermentação

Para determinação da quantidade de etanol gerada após o processo de avaliação da fermentação nos tubos de ensaio utilizou-se cromatografia gasosa (CG). Para isso, primeiramente realizou-se a diluição de uma alíquota de cada tratamento, na proporção 1:100, com auxílio de balões volumétricos, pipeta volumétrica e pipetas automáticas (Discovery e Kasvi). Dessa maneira, com auxílio de uma pipeta automática (Gilson), foram transferidos 3 mL das soluções preparadas anteriormente para vials, a fim de quantificar o etanol por CG, totalizando 48 análises.

As análises por CG foram realizadas em cromatógrafo gasoso (PerkinElmer modelo Clarus 600), acoplado a um detector de ionização de chama (FID) e utilizando uma curva analítica preparada com 5 soluções aquosas de etanol de diferentes concentrações: 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 e 0,10% (v/v). Utilizou-se uma coluna capilar (PerkinElmer modelo Elite-WAX) com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 μm . O gás de arraste utilizado foi nitrogênio a uma vazão de 1,20 mL min^{-1} . A injeção foi executada com um amostrador automático (Combpal, modelo CTC Analytics, Pal System), com o forno para *headspace*. O volume de injeção da amostra foi de 500 μL a uma velocidade de 250 $\mu\text{L s}^{-1}$, a qual foi incubada anteriormente a 80°C por 5 min. A temperatura inicial do forno foi de 45°C, seguida por uma rampa de aquecimento de taxa de 9°C min^{-1} , até 153°C, permanecendo nesta temperatura por 1,5 min. O tempo total de corrida foi de 15 min. O injetor foi operado a 150°C e o detector a 300°C.

Análise estatística

Os resultados de densidade óptica ($\text{DO}_{600\text{nm}}$), viabilidade celular e células viáveis durante o crescimento e após avaliação da fermentação, altura do gás formado nos tubos de *Durham* e rendimento alcóolico, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ou análise de regressão, a 5% de probabilidade. Esses procedimentos foram realizados utilizando o software Sistema de Análise Estatística (SANEST) (PIMENTEL-GOMES; GARCIA, 2002), desenvolvido por Elio Paulo Zonta e Amauri Almeida Machado no Departamento de Física da ESALQ/USP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro parâmetro que disponibilizou informações relevantes referentes às leveduras estudadas foi a avaliação da densidade óptica ($\text{DO}_{600\text{nm}}$) das amostras no meio de cultura líquido de multiplicação (CCA e YPX), sendo responsável por fornecer a quantidade de alíquota que

deveria ser inoculada nos tubos de ensaio contendo os tubos de *Durham* e os meios de cultura de fermentação, de maneira a ser adicionada a mesma quantidade de células por tratamento.

Conforme observado na Tabela 2, nota-se que as leveduras tiveram seu crescimento desacelerado em meio YPX, uma vez que a média da DO_{600nm} dos tratamentos que cresceram nesse meio (0,661) diferiram estatisticamente das leveduras que cresceram em CCA (1,582). Isso indica que as alíquotas dos inóculos para as leveduras crescidas no meio de fermentação preparado a partir de caldo de cana a 6° Brix (CCA) foi menor do que aquelas crescidas em YPX, revelando que havia mais células por unidade de área no primeiro caso do que no segundo e que, com o propósito de adicionar a mesma quantidade de células por amostra, houve variação no volume das alíquotas. Assim sendo, sugere-se que a presença de xilose no meio YPX dificultou o crescimento das leveduras. A dificuldade que as leveduras tiveram na fase de crescimento em YPX, ao comparar com CCA, também foi confirmada ao avaliar a viabilidade celular e quantidade de células viáveis mL^{-1} antes da fermentação, conforme será discutido a seguir.

Tabela 2. Densidade óptica das leveduras que cresceram em YPX ou CCA

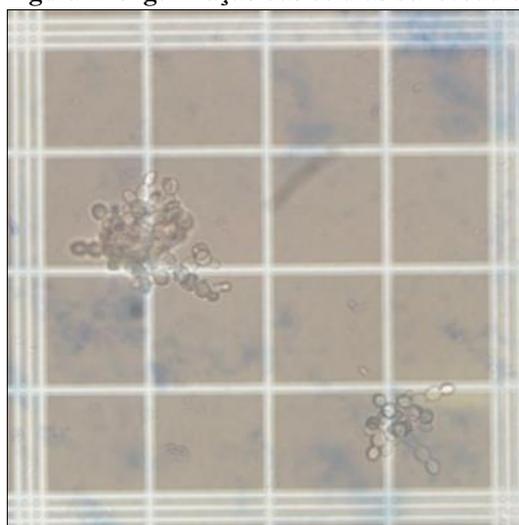
Tratamentos	Densidade óptica*
CCA	1,582 a
YPX	0,661 b
Valor F	88,8**
Prob. > F	0,00001
CV (%)	17,4

*:Densidade óptica a 600 nm (DO_{600nm}); **: valor F altamente significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; Prob.: probabilidade. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: Autores.

Com relação à análise de viabilidade celular e células viáveis mL^{-1} , não foi possível avaliar os resultados referentes à levedura do T2, uma vez que a organização de suas células (Figura 2) impossibilitou a contagem manual no microscópio.

Figura 2. Organização das células da levedura T2



Fonte: autores.

Com relação aos demais tratamentos no parâmetro viabilidade celular, conforme a Tabela 3, ao avaliar a interação entre o fator tipo levedura e o fator crescimento em CCA ou YPX, não foi observado diferença entre as linhagens de leveduras durante a fase de crescimento em CCA, indicando que todas as leveduras estudadas apresentaram bom desenvolvimento nessas condições, com viabilidade celular acima de 94%, enquanto na presença de xilose (YPX) algumas leveduras tiveram seu desenvolvimento afetado e as leveduras T1, T3 e T4 foram as que apresentaram melhor viabilidade, 90,4, 97,9 e 87,7%, respectivamente. Ao avaliar como fator o crescimento nos diferentes meios de culturas líquidos (CCA ou YPX), nota-se que as leveduras que cresceram em CCA apresentaram melhor viabilidade celular (97,5%) que as que cresceram em YPX (77,2%), diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 3. Análise de viabilidade celular e células viáveis mL⁻¹ das leveduras durante a fase de crescimento

Viabilidade celular (%)		
Leveduras ^[1]	Interação entre fator leveduras e fator crescimento em CCA ou YPX	
	Crescimento em CCA	Crescimento em YPX
T1	99,4 a	90,4 ab
T2	-	-
T3	96,5 a	97,9 a
T4	97,3 a	87,7 ab
T5	94,1 a	61,7 d
T6	99,5 a	81,3 bc
T7	97,8 a	73,7 c
T8	97,8 a	47,6 e
CV (%)	----- 7,70 -----	-----
Valor F	----- 10,96* -----	-----
Prob. >F	----- 0,00002 -----	-----
Fator crescimento em CCA ou YPX		
CCA	97,5 a	
YPX	77,2 b	
CV (%)	----- 7,70 -----	

Valor F	----- 95,5* -----
Prob. >F	----- 0,00001 -----

[1]: T1: B2; T2: B3; T3: WLP002 English Ale-3; T4: S23 France Lager-2; T5: T58 Belga-2; T6: Diamond-2; T7: Diamond-3; T8: Yndhira; *: valor F altamente significativo (prob.<0,01); CV: coeficiente de variação; Prob.: probabilidade. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: autores.

Com relação às células viáveis mL⁻¹, conforme a Tabela 4, as leveduras T1, T6 e T7 na fase de crescimento em CCA obtiveram os melhores resultados, 1,58 10⁸, 2,14 10⁸ e 2,18 10⁸, respectivamente, enquanto durante a fase de crescimento em YPX destacaram-se as leveduras T1, T3, T5 e T7, com valores de, respectivamente, 2,37.10⁷, 2,80.10⁷, 1,25.10⁷ e 1,45.10⁷. Ao avaliar o fator crescimento em CCA ou YPX, sem considerar a linhagem de levedura, nota-se diferença significativa no número de células viáveis por mL, sendo que o crescimento em CCA proporcionou maior valor.

Tabela 4. Análise de viabilidade celular e células viáveis mL⁻¹ das leveduras durante a fase de crescimento

Células viáveis mL ⁻¹		
Interação entre fator leveduras e fator crescimento em CCA ou YPX		
Leveduras ^[1]	Crescimento em CCA	Crescimento em YPX
	----- 10 ⁸ -----	----- 10 ⁷ -----
T1	1,58 b	2,37 ab
T2	-	-
T3	0,78 d	2,80 a
T4	0,63 d	0,70 b
T5	0,72 d	1,25 ab
T6	2,14 a	0,78 b
T7	2,18 a	1,45 ab
T8	1,38 c	0,58 b
CV (%)	----- 13,3 -----	----- 13,3 -----
Valor F	----- 65,75* -----	----- 1562* -----
Prob. >F	----- 0,00001 -----	----- 0,00001 -----
Fator crescimento em CCA ou YPX		
CCA	1,38 10 ⁸ a	
YPX	1,42 10 ⁷ b	
CV (%)	----- 13,3 -----	
Valor F	----- 1562* -----	
Prob. >F	----- 0,00001 -----	

[1]: T1: B2; T2: B3; T3: WLP002 English Ale-3; T4: S23 France Lager-2; T5: T58 Belga-2; T6: Diamond-2; T7: Diamond-3; T8: Yndhira; *: valor F altamente significativo (prob.<0,01); CV: coeficiente de variação; Prob.: probabilidade. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: autores.

Partindo agora para a avaliação da fermentação no experimento com tubos de *Durham*, notou-se que todos os tubos de ensaio apresentavam odor característico de etanol, corroborando com a ideia de que a fermentação responsável por liberar gás (CO₂) foi a etanólica. De acordo com a Tabela 5, nota-se que, ao avaliar primeiramente a interação entre os três fatores estudados

– leveduras, crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose na fermentação – não houve valor F significativo.

Entretanto, ao comparar os resultados do fator crescimento em CCA ou YPX das leveduras, sugere-se que a presença de xilose (YPX) durante a fase de crescimento ajudou no rendimento da fase de fermentação, indicando pré-adaptação das células a esta pentose na fase de crescimento, uma vez que houve diferença significativa na altura da camada gasosa (CO₂) das leveduras que cresceram em YPX (14,8 cm) em relação ao meio que não possuía xilose na fase de crescimento (CCA) (8,79 cm).

Porém, ao avaliar a concentração de xilose durante o período de fermentação, a Tabela 5 indica que conforme aumenta a concentração dessa pentose no meio, 0, 7,5 e 15% (m/v), o rendimento da fermentação decresce em sentido linear, 13,0, 12,5 e 9,8 cm, respectivamente, com um bom ajuste da linha de tendência da regressão linear (R²=0,88).

Tabela 5. Análise da altura de gás formado nos tubos de *Durham* durante o período de fermentação das leveduras

Altura do gás formado (cm)						
Interação entre fatores leveduras, crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose na fermentação						
Leveduras ^[1]	----- Crescimento em CCA -----			----- Crescimento em YPX -----		
	----- Concentração de xilose na fermentação -----					
	0%	7,5%	15%	0%	7,5%	15%
T1	9,5	11,5	7,0	13,9	14,5	13,8
T2	11,6	7,4	8,6	17,6	15,5	16,5
T3	12,0	7,8	5,5	17,0	13,7	8,4
T4	6,1	3,0	3,6	14,4	16,4	11,6
T5	10,1	11,6	7,4	24,2	17,4	13,5
T6	12,0	10,0	8,3	12,4	20,3	10,5
T7	9,5	10,2	7,5	10,0	13,2	12,7
T8	12,6	10,9	7,3	15,8	15,9	14,8
CV (%)	----- 31,7 -----					
Valor F	----- 1,10 ^{NS} -----					
Prob. >F	----- 0,37 -----					
Fator crescimento em CCA ou YPX						
CCA	8,79 b					
YPX	14,8 a					
Valor F	92,0*					
Prob. >F	0,00001					
Fator concentração de xilose na fermentação						
0%	13,0					
7,5%	12,5					
15%	9,8					
Valor F	10,3*					
Prob. >F	0,00001					
Valor F: RL	18,2*					
Prob. >F: RL	0,0002					
Valor F: RQ	2,43 ^{NS}					
Prob. >F: RQ	0,12					
CD (R ²): RL	0,88					

RL

$$Y = -0,22x + 13,4$$

[1]: T1: B2; T2: B3; T3: WLP002 English Ale-3; T4: S23 France Lager-2; T5: T58 Belga-2; T6: Diamond-2; T7: Diamond-3; T8: Yndhira; *: valor F altamente significativo ($p < 0,01$); NS: não significativo ($p > 0,05$); Prob.: probabilidade; CV: coeficiente de variação; RL: regressão linear, RQ: regressão quadrática; CD: coeficiente de determinação. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: Autores.

De acordo com a Tabela 6, a qual agrega os valores referentes à variável teor de etanol obtidos por cromatografia gasosa, nota-se novamente diferença significativa entre o crescimento das leveduras estudadas em CCA ou YPX, em relação ao rendimento da fermentação, sugerindo mais uma vez que a presença de xilose (YPX) durante a fase de crescimento fez com que gerasse mais quantidade de etanol durante a fermentação (4,34%, v/v), em relação ao crescimento em CCA (1,83%, v/v). Prompt (2012) ao estudar seis cepas de leveduras do gênero *Spathaspora*, fermentadoras de xilose, notou que, apesar de todas elas serem capazes de sintetizar etanol a partir de glicose ou xilose durante o crescimento aeróbico, elas apresentaram, com exceção de uma cepa, rendimento na produção de etanol superior durante o crescimento em xilose como fonte de carbono, ao comparar com o crescimento em glicose.

Contudo, conforme demonstra a Tabela 6, durante o período da fermentação, a presença de xilose neste trabalho afetou seu rendimento, produzindo menos álcool etílico, e observa-se também que, assim como na Tabela 5, ao aumentar a concentração desta pentose durante este período, mais o rendimento das leveduras é afetado, sendo que a concentração dessa xilose em 0, 7,5 e 15% (m/v) resultou em teores alcoólicos, respectivamente, de 5,61, 4,31 e 3,10% (v/v), demonstrando significância para regressão linear e quadrática ao nível de 5% de probabilidade, porém com melhor ajuste na linha de tendência na equação de regressão linear ($R^2=1,00$).

Tabela 6. Análise do rendimento alcoólico da fermentação das leveduras

Teor de etanol [% (v/v)]	
Fator crescimento em CCA ou YPX	
CCA	1,83 b
YPX	4,34 a
CV (%)	15,0
Valor F	354*
Prob. >F	0,00001
Fator concentração de xilose na fermentação	
0%	5,61
7,5%	4,31
15%	3,10
CV (%)	15,0
Valor F	91,6*

Prob. >F	0,00001
Valor F: RL	118,2*
Prob. >F: RL	0,00001
Valor F: RQ	0,05**
Prob. >F: RQ	0,81
CD (R ²): RL	1,00
RL	Y = -0,17x + 6,0

*: valor F altamente significativo (prob.<0,01); **: valor F significativo a 5% de probabilidade; Prob.: probabilidade; CV: coeficiente de variação; RL: regressão linear, RQ: regressão quadrática; CD: coeficiente de determinação. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: Autores.

De acordo com Prompt (2012), para ocorrer a fermentação da biomassa lignocelulósica, é necessário que os microrganismos sejam hábeis em fermentar vários açúcares. Assim sendo, essa habilidade que as leveduras estudadas neste trabalho apresentaram de realizar fermentação em mosto contendo sacarose, glicose, frutose e, principalmente xilose (7,5 ou 15%), é uma característica importante para a produção de etanol de segunda geração. Entretanto, seria interessante averiguar o consumo de açúcares, para avaliar qual dessas fontes de carbono está sendo metabolizada pelas leveduras e a quantidade consumida, conforme realizado por Prompt (2012).

Apesar da grande maioria das linhagens naturalmente ocorrentes de *Saccharomyces cerevisiae* não serem capazes de metabolizar xilose (CGEE, 2010), é importante a descoberta de linhagens capazes de realizar fermentação de glicose a etanol na presença de xilose, diante da possibilidade de linhagens *Saccharomyces cerevisiae* recombinantes, com auxílio de ferramentas de engenharia genética. Assim sendo, segundo CGEE (2010), têm sido realizada a inserção de genes que codificam para o catabolismo de xilose em linhagens selvagens de *Saccharomyces cerevisiae*.

Prompt (2012), ao estudar novas espécies fermentadoras de xilose do gênero *Spathaspora*, avaliou se estas são capazes de (1) contribuir na produção de etanol a partir de co-fermentações xilose/glicose e (2) realizar fermentação de hidrolisados enzimáticos de biomassa lignocelulósica, a partir de bagaço de cana-de-açúcar.

Com relação à (1), a autora verificou produção de etanol até cerca de 17 g L⁻¹ e que o consumo de glicose ocorreu primeiro, sendo a xilose consumida após a glicose ter sido fermentada pelas células. Ainda, Prompt (2012) notou uma diferença entre as leveduras quanto aos produtos da fermentação, como a concentração de etanol e xilitol. A autora observou levedura que produziu quantidade maior de xilitol em relação ao etanol, vice-versa ou praticamente a mesma quantidade e explica que o xilitol foi produzido apenas durante o consumo da xilose, sugerindo que ocorre um desvio na via de produção de etanol em direção à produção de xilitol, e possivelmente uma implicação direta do desbalanço de cofatores entre a xilose

redutase (geralmente NADPH-dependente) e xilitol desidrogenase (geralmente NAD⁺-dependente).

No que se refere à (2), Prompt (2012) observou que o consumo da xilose pelas leveduras ocorreu mais lento do que o consumo da glicose e que a produção máxima de etanol, em 8 horas de fermentação, foi de cerca de 8 g L⁻¹. Assim sendo, a autora conclui que seus resultados obtidos de fermentação com hidrolisados enzimáticos de bagaço de cana sugerem que, as novas espécies de leveduras capazes de fermentar xilose, sendo estudadas mais profundamente, possam ser no futuro utilizadas na síntese de bioetanol, partindo diretamente da biomassa lignocelulósica.

De acordo com Fugita (2010), o xilitol, além de ser um produto intermediário da via que realiza fermentação da xilose, é também fonte de carbono para certas espécies de leveduras. O autor, ao avaliar a capacidade fermentativa em hidrolisado hemicelulósico concentrado e sintético de bagaço de cana-de-açúcar das estirpes de leveduras metabolizadoras de xilose J10, J19.1 e CG, respectivamente, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula minuta* e *Candida guilliermondii*, observou produção de xilitol apenas no hidrolisado hemicelulósico concentrado sintético, sendo possível que as leveduras tenham metabolizado os açúcares por diferentes vias metabólicas, com síntese de etanol partindo da glicose e produção de xilitol partindo da xilose. Com relação ao hidrolisado hemicelulósico concentrado, o autor sugere que também tenha sido possível a produção de xilitol, entretanto ele pode ser sido consumido pelas leveduras a fim de sintetizar etanol.

Segundo CGEE (2010), a maioria dos açúcares presentes nos hidrolisados são glicose e xilose - com quantidades inferiores de arabinose, galactose e manose – e os esforços iniciais têm sido focalizado, ao construir um microrganismo etanologênico, na co-fermentação de glicose e xilose. Nesse contexto, genes que codificam para que a xilose seja catabolizada têm sido implantados em linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, e tem sido construído linhagens recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* capazes de co-fermentar glicose e xilose, pela inserção de genes *Pichia stipitis* (XYL₁ e XYL₂) responsáveis por codificar para xilose redutase NADPH-dependente e xilitol desidrogenase NAD⁺-dependente, assim como para aumentar a expressão de xiluloquinase (CGEE, 2010).

Ao utilizar a linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae* PE-2, a qual é condicionada ao processo de produção de etanol 1G no Brasil, como plataforma de inserção de genes pertinentes a via de consumo de xilose, Santos (2017) construiu linhagens aplicando as duas vias conhecidas para converter xilose - via Xilose Redutase – Xilitol Desidrogenase (XR-XDH) e via Xilose Isomerase (*xyIA*). Assim sendo, com os procedimentos de engenharia metabólica e evolutiva, foram construídas diversas linhagens eficientes em converter xilose a etanol, atingindo rendimentos de até 0,46 g etanol/g xilose.

Com relação aos valores referentes à viabilidade celular após o processo fermentativo deste trabalho, também não foi possível analisar os resultados deste parâmetro e de células viáveis mL⁻¹ para a levedura T2, pelo mesmo motivo já apresentado. No que se refere aos demais tratamentos, conforme a Tabela 7, nota-se que não houve interação entre os três fatores estudados – tipo de levedura, crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose na fermentação.

Entretanto, houve interação entre os fatores crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose durante a fermentação, sendo que a análise de variância demonstrou valor F significativo para essa interação, enquanto a análise de regressão demonstrou significância para o valor F apenas no crescimento em YPX, com melhor ajuste quadrático na linha de tendência ($R^2 = 1,00$).

Ao considerar a concentração de xilose no meio de fermentação, 0, 7,5 ou 15% (m/v), os maiores valores de viabilidade celular para as leveduras foram alcançados com a concentração intermediária de xilose, tanto em YPX (95,7%) quanto em CCA (93,0%), enquanto o valor mais baixo encontrado foi quando a concentração da pentose no meio de fermentação era de 15% (m/v), demonstrando que somente esta concentração afetou a viabilidade celular das leveduras.

Tabela 7. Análise de viabilidade celular das leveduras após a avaliação da fermentação

Viabilidade celular (%)						
Interação entre fator leveduras, crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose						
Leveduras ^[1]	-- Crescimento em CCA --			--- Crescimento em YPX ---		
	----- Concentração de xilose na fermentação -----					
	0%	7,5%	15%	0%	7,5%	15%
T1	97,4	100,0	96,7	89,9	98,3	90,5
T2	-	-	-	-	-	-
T3	91,5	93,5	86,6	93,8	94,8	84,8
T4	84,3	85,2	94,6	88,4	93,7	93,5
T5	99,6	96,6	96,4	97,0	97,3	75,7
T6	88,5	88,0	93,1	93,0	97,5	85,2
T7	93,6	96,3	89,3	95,9	90,9	82,3
T8	91,4	91,4	85,7	93,6	97,4	96,8
CV (%)	----- 7,71 -----					
Valor F	----- 0,93 ^{NS} -----					
Prob. >F	----- 0,52 -----					
Interação entre fator crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose						
Concentração de xilose na fermentação	Crescimento em CCA			Crescimento em YPX		
0%	92,3			93,1		
7,5%	93,0			95,7		
15%	91,8			87,0		
Valor F	----- 3,15* -----					
Prob. >F	----- 0,05 -----					
Valor F: RL	0,07 ^{NS}			7,83**		
Prob. >F: RL	0,79			0,006		

Valor F: RQ	0,25 ^{NS}	8,89**
Prob. >F: RQ	0,62	0,004
CD (R ²): RL	-	0,47
RL	-	$y = -0,41x + 95,0$
CD (R ²): RQ	-	1,00
RQ	-	$y = -0,10x^2 + 1,10x + 93,1$

[1]: T1: B2; T2: B3; T3: English 3; T4: S23 2; T5: T58 2; T6: Diamond 2; T7: Diamond 3; T8: Yndhira; *: valor F significativo a 5% de probabilidade; **: valor F altamente significativo (prob.<0,01); NS: não significativo (p>0,05); Prob.: probabilidade; CV: coeficiente de variação; RL: regressão linear, RQ: regressão quadrática; CD: coeficiente de determinação.

Fonte: Autores.

Fugita (2010), desta vez ao avaliar a capacidade fermentativa em hidrolisado hemicelulósico original e sintético de bagaço de cana-de-açúcar das estirpes J10, J19.1 e CG, observou que a viabilidade celular se manteve acima de 94%, sendo que houve uma pequena redução deste parâmetro a partir de 6 horas de fermentação, decorrente provavelmente do esgotamento do meio. Porém, essa redução manteve acima de 92% durante as 12 horas de fermentação, não afetando negativamente o processo.

A característica positiva que essas leveduras apresentaram de manter a viabilidade celular alta durante a fermentação também foi observada pelas leveduras avaliadas neste trabalho, uma vez que as leveduras que tiveram seu crescimento em CCA mantiveram a viabilidade em cerca de 92%, sendo que no início do processo esse valor era quase 98%, sugerindo, assim como observou Fugita (2010), redução da viabilidade celular devido ao esgotamento do meio.

Entretanto, as leveduras que cresceram em YPX, apresentaram viabilidade celular de cerca de 92% após a fermentação, enquanto antes de iniciar o processo esse valor era de 77%. Nesse caso, pode ser que as leveduras estavam sob condições de estresse durante a fase de crescimento em YPX, devido à presença de xilose, porém, durante a fermentação, essas leveduras demonstraram-se mais adaptadas a essa pentose do que aquelas que cresceram no meio que não possuía xilose (CCA).

A alta viabilidade celular durante a fermentação também indica que as leveduras estudadas apresentaram tolerância ao etanol produzido, sendo esta uma característica almejada nos processos fermentativos, uma vez que, de acordo com BNDES e CGEE (2008), o processo de fermentação mais empregado nas destilarias do Brasil é o Melle-Boinot, cuja principal característica é a recuperação das leveduras do vinho através de sua centrifugação, possibilitando, após a fermentação, a recuperação e tratamento das leveduras para novo uso.

Sandri et al. (2018), ao avaliar o efeito de diferentes concentrações de etanol – 0, 20, 40 e 60 g/L de etanol – sobre a fermentação de xilose pela levedura recombinante *Saccharomyces cerevisiae* MDS 130 em meio YPX – 1% extrato de levedura, 2% peptona e 2% xilose; m/v – observou que esta cepa sofreu expressiva influência do etanol, apresentando limite extremamente

baixo de tolerância, em torno de 20 g/L, demonstrando a levedura recombinante ser menos resistente aos efeitos nocivos do etanol, ao comparar com as leveduras selvagens comumente empregadas nos processos fermentativos industriais.

Assim sendo, Sandri et al. (2018) concluíram que concentrações inferiores a 20 g/L de etanol no meio não inibe ou apresenta toxicidade sobre o metabolismo das células, mesmo com exposição prolongada ao etanol, uma vez que até 120 horas de avaliação o perfil da velocidade de fermentação não apresentou alterações significativas. Ao avaliar a viabilidade celular ao final das fermentações para o meio YPX sem suplementação de etanol e nas concentrações de 20, 40 e 60 g/L, os autores notaram, respectivamente, valores de viabilidade de 98, 97, 88 e 33%, sendo o efeito nocivo do etanol, em concentrações superiores, sobre as células, corroborado pela densidade ótica mensurada também ao final das fermentações, com valores de 3,10, 2,32, 2,08 e 0,3 em ordem crescente da suplementação de álcool etílico no meio.

Com relação à avaliação das células viáveis mL⁻¹ após o término de avaliação da fermentação (Tabela 8), nota-se valor maior deste parâmetro nas células que tiveram seu crescimento na presença de xilose (YPX). Partindo disso, ao considerar agora também a concentração de xilose durante a fermentação, nota-se um valor próximo deste parâmetro entre 0% (3,18.10⁻⁷) e 7,5% (3,16.10⁻⁷) de xilose (m/v), indicando que a concentração de xilose de 7,5% (m/v) pouco afetou a quantidade de células viáveis mL⁻¹, diferentemente de 15% (m/v) de xilose (2,51.10⁻⁷). Portanto, os melhores resultados para este parâmetro, dentro das leveduras que cresceram na presença de xilose (YPX) durante a fase de crescimento e realizaram fermentação na presença de 7,5% (m/v) de xilose, foram T3, T5 e T6.

Tabela 8. Análise de células viáveis mL⁻¹ das leveduras após a avaliação da fermentação

Células viáveis mL ⁻¹ (10 ⁷)						
Interação entre fator leveduras, fator crescimento em CCA ou YPX e concentração de xilose						
Leveduras ^[1]	----- Crescimento em CCA -----			----- Crescimento em YPX -----		
	----- Concentração de xilose na fermentação -----					
	0%	7,5%	15%	0%	7,5%	15%
T1	1,92 bcd	0,53 b	0,83 b	2,85 b	2,65 cd	1,63 d
T2	-	-	-	-	-	-
T3	3,90 a	1,68 a	1,28 b	3,68 b	3,58 abc	1,97 bcd
T4	1,27 d	0,45 b	2,87 a	2,82 b	2,47 d	1,70 cd
T5	3,78 a	0,97 ab	1,35 b	4,75 a	3,68 ab	2,63 abc
T6	2,83 b	0,88 ab	1,45 b	3,67 b	4,52 a	3,38 a
T7	2,40 bc	0,67 b	1,10 b	1,57 c	2,25 d	2,90 ab
T8	1,48 cd	0,65 b	0,80 b	2,92 b	2,97 bcd	3,37 a
CV (%)	----- 24,2 -----					
Valor F	----- 4,00* -----					
Prob. >F	----- 0,0002 -----					
Fator crescimento em CCA ou YPX ^[2]						

CCA	1,58 b	
YPX	2,95 a	
Valor F	197,3	
Prob. F	0,00001*	
Interação entre fator crescimento em CCA ou YPX^[1] e concentração de xilose		
Concentração de xilose na fermentação	---- Crescimento em CCA ----	----- Crescimento em YPX ^[1] ----
0%	2,51	3,18
7,5%	0,83	3,16
15%	1,38	2,51
Valor F	----- 3,15** -----	
Prob. >F	----- 0,05 -----	
Valor F: RL	44,4*	15,5*
Prob. >F: RL	0,0001	0,0004
Valor F: RQ	57,7*	4,59**
Prob. >F: RQ	0,0001	0,033
CD (R ²): RL	0,44	0,77
RL	$y = -250794x + 7134921$	$y = -148148x + 10944444$
CD (R ²): RQ	1,00	1,00
RQ	$y = 66032x^2 - 1241270x + 8373016$	$y = -18624x^2 + 131217x + 10595238$

[1]: T1: B2; T2: B3; T3: English 3; T4: S23 2; T5: T58 2; T6: Diamond 2; T7: Diamond 3; T8: Yndhira; *: valor F altamente significativo (prob.<0,01); **: valor F significativo a 5% de probabilidade; NS: não significativo (p>0,05); Prob.: probabilidade; CV: coeficiente de variação; RL: regressão linear, RQ: regressão quadrática; CD: coeficiente de determinação. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Por fim, Moraes (2012) avaliou a fermentação das linhagens de leveduras RL1 e RL5, extraídas da casca de uva rubi, variando a concentração de xilose no meio ou o potencial hidrogeniônico (pH). A autora notou, no que se refere à tolerância dos diferentes teores de xilose (2, 3, 4 e 5%), que quanto maior a concentração desta pentose, maior foi a produção de etanol, variando de 2,0 (2% xilose) a 6,2 g/L (5% xilose), entretanto nem sempre o maior teor de xilose representou melhor rendimento da conversão de substrato a etanol.

No presente estudo, notou-se, como discutido, resultado inverso ao obtido por Moraes (2012), uma vez que quanto maior foi a concentração de xilose no meio, menor foi o rendimento etanólico, demonstrando que a xilose promoveu certa inibição no metabolismo fermentativo das leveduras estudadas, porém não anulou a síntese de álcool. Assim sendo, ressalta-se a importância da condução de novos estudos, em que se avalie, além de 0, 7,5 e 15% (m/v) de xilose, outras concentrações dentro deste intervalo. Sugere-se que, a concentração da pentose avaliada não ultrapasse 15%, já que alguns estudos conduzidos com hidrolisado de materiais lignocelulósicos (PROMPT, 2012; FUGITA, 2010), indicaram que este mosto, caso preparado a partir de bagaço, não ultrapassa a concentração de xilose em 7% (m/v).

Com relação ao potencial hidrogeniônico, Moraes (2012) observou, ao avaliar dez distintos valores de pH, variando de 3,5 a 6,0, que houve alteração nos valores iniciais deste parâmetro ao final de 48 horas de fermentação, com exceção do pH 6,0, que se manteve. A autora concluiu que os pHs iniciais testados de 3,5 a 5,5 não eram os ideais para que as leveduras avaliadas fermentassem xilose, já que elas alteram estes valores iniciais. Entretanto, alcançou-se bons resultados com pH 6,0, sendo este valor que as leveduras consumiram mais xilose. Assim sendo, o presente estudo foi conduzido com pH 4,5, sendo sugerido a condução de novos experimentos em pH 6,0, a fim de avaliar se esta modificação é capaz de aprimorar a atuação das leveduras na produção de etanol.

CONCLUSÃO

As leveduras estudadas não tiveram seu metabolismo fermentativo inibido pela presença de xilose, de forma que o crescimento prévio delas em YPX (1% xilose) melhorou a eficiência fermentativa, sugerindo que a presença de xilose (YPX) na fase de crescimento permita uma pré-adaptação das leveduras a esta pentose na etapa de fermentação. Entretanto, a presença de xilose no mosto de fermentação afetou o rendimento da produção de etanol, sendo que quanto maior sua concentração (7,5 e 15%, m/v), menor é a produção de álcool.

As leveduras estudadas não apresentaram diferença significativa na produção de etanol por fermentação, sendo possível selecionar as mais eficientes pela viabilidade celular e células viáveis mL⁻¹ antes e após a fermentação. Entretanto, é necessário avaliar para cada variável do experimento, como o crescimento em CCA ou YPX e a concentração de xilose (0, 7,5 ou 15%, m/v) na fase de fermentação, uma vez que as leveduras apresentaram diferentes comportamentos de acordo com as variáveis em que foram submetidas.

REFERÊNCIAS

ABREU, E. S. et al. Eficácia dos métodos de higienização de utensílios em restaurantes comerciais. *Rev. Simbio-Logias*, v. 3, n. 5, 2010. Disponível em: http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Educacao/Simbio-Logias/eficacia_metodos_higienizacao_utensilios.pdf. Acesso em: 10 mar. 2019.

ARANTES, J. T. Descoberta na Amazônia enzima-chave para obtenção do etanol de segunda geração. *Agência FAPESP*, 11 maio 2018. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/descoberta-na-amazonia-enzima-chave-para-obtencao-do-etanol-de-segunda-geracao/27778/>. Acesso em: 19 jan. 2019.

AUGUSTO, M. et al. Teste de assimilação e fermentação de seis isolados utilizando a xilose. In: Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão, 5.; ENEPE UFGD, 12.; EPEX UEMS, 9., 2018, Dourados. *Anais...* Disponível em: <http://eventos.ufgd.edu.br/enepex/anais/arquivos/3076.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2019.

BARROS, D. F. et al. Avaliação microbiológica do suco de laranja *in natura* comercializado em via pública na zona central de São Paulo-SP. *Revista Univap*, São José dos Campos, v. 21, n. 37, p. 50-56, 2015. Disponível em: <https://revista.univap.br/index.php/revistaunivap/article/viewFile/175/264>. Acesso em: 10 mar. 2019.

BNDES; CGEE (Org.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável*. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

BONOMI, A. Workshop hidrólise de material lignocelulósico. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher, 2010. P. 679-695.

BRASIL. *Entenda o que é e como funciona o RenovaBio*. 2017a. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2017/12/entenda-o-que-e-e-como-funciona-o-renovabio>. Acesso em: 24 fev. 2019.

BRASIL. *Plano Decenal de Expansão de Energia 2027*. Ministério de Minas e Energia. Empresa de Pesquisa Energética. Brasília: MME/EPE, 2018. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-332/PDE%202027.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2018.

BRASIL. *RenovaBio: Biocombustíveis 2030*. Ministério de Minas e Energia. Empresa de Pesquisa Energética. Rio de Janeiro: MME/EPE, 2017b. (Nota Técnica: Papel dos biocombustíveis na matriz). Disponível em: http://www.mme.gov.br/documents/10584/7948692/EPE_NT1_PAPEL+DOS+BIOCOMBUST%20VEIS.pdf/779d7ffd-4169-4e10-a1a1-9a93184f6209;jsessionid=BC69E6F175F98A700035966D239A65BA.srv154. Acesso em: 24 fev. 2019.

BUCKERIDGE; M. S.; SANTOS, W. D.; SOUZA, A. P. As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher, 2010. P. 365-380.

BUZANELLO, E. B. et al. Determinação de coliformes totais e termotolerantes na água do lago municipal de Cascavel, Paraná. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 6, supl. 1, p. 59-60, 2008. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/1087/811>. Acesso em: 10 mar. 2019.

CAMPOS, V. J. *Caracterização fisiológica de leveduras fermentadoras de xilose*. 2015. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/10016/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 23 jan. 2019.

CECCATO-ANTONINI, S. R. *Microbiologia da fermentação alcoólica: a importância do monitoramento microbiológico em destilarias*. São Carlos: EdUFSCar, 2011. (Coleção UAB-UFSCar).

CGEE – Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. *Química verde no Brasil: 2010-2030*. Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2010. Disponível em: https://www.cgее.org.br/documents/10195/734063/Livro_Quimica_Verde_9560.pdf. Acesso em: 23 jan. 2019.

COLORAÇÃO com azul-de-metileno. *Revista Interna Técnica do Vinho*, p. 1, 2003. Disponível em: <https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto14401-01-1.pdf>. Acesso em 19 nov. 2018.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. *Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar*, v. 5 – Safra 2018/19, n. 3 – Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-71, dez. 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. Acesso em: 28 dez. 2018.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. *Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar*, v. 5 – Safra 2018/19, n. 4 – Quarto levantamento, Brasília, p. 1-75, abril 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. Acesso em: 25 maio 2019.

DAROS, E.; OLIVEIRA, R. A.; BARBOSA, G. V. S. (Org.). *45 anos de variedades RB de cana-de-açúcar: 25 anos de Ridesa*. Curitiba: Graciosa, 2015.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Genômica funcional, transcriptômica e metabolômica, de leveduras fermentadoras de xilose para aumento da eficiência na produção de etanol de segunda geração*. [site institucional que contém informação sobre o projeto desenvolvido pela empresa]. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/204338/genomica-funcional-transcriptomica-e-metabolomica-de-leveduras-fermentadoras-de-xilose-para-aumento-da-eficiencia-na-producao-de-etanol-de-segunda-geracao>. Acesso em: 23 jan. 2019.

FUGITA, T. P. L. *Desempenho de leveduras que metabolizam xilose para produção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana*. 2010. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/m/83722.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2019.

GALBE, M; ZACCHI, G. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher, 2010. P. 697-716.

MONGELO, A. I. *Validação de método baseado em visão computacional para automação da contagem de viabilidade de leveduras em indústrias alcooleiras*. 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande. Disponível em: <http://www.gpec.ucdb.br/pistori/orientacoes/dissertacoes/arnaldo2012.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2019.

MORAES, D. C. *Seleção de micro-organismos fermentadores de xilose em etanol a partir de diferentes variedades da casca de uvas (vitis spp)*. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88389/moraes_dc_me_sjrp.pdf?sequence=1. Acesso em: 28 abril 2019.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. *Estatística aplicada a experimentos agrônomicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos*. Piracicaba, FEALQ, 2002.

PROMPT; A. H. *Análise da fermentação de glicose e xilose por leveduras Spathaspora isoladas de madeira em decomposição*. 2012. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/100823/315055.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 23 jan. 2019.

QUINTERO-RAMIREZ, R. Hidrólise da biomassa lignocelulósica. In: CORTEZ, L. A. Moraes B. (Coord.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher, 2010. P. 717-731.

SANDRI, J. P. et al. Fermentação da xilose por *S. Cerevisiae* recombinante: tolerância ao etanol. In: Congresso brasileiro de Engenharia Química, 22., 2018, São Paulo; Encontro brasileiro sobre o ensino de engenharia química, 17., 2018, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Blucher, 2018. P. 3394-3397. Disponível em: <http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2018/PT.0897.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2019.

SANTOS, L. V. dos. *Da ciência à indústria – engenharia metabólica e evolutiva de Saccharomyces cerevisiae para a produção de etanol de segunda geração*. 2017. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/331434>. Acesso em: 25 maio 2019.

VIANA, N. C. *Caracterização morfológica e molecular de isolados de fermentação alcoólica*. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-04082017-151130/pt-br.php>. Acesso em: 23 mar. 2019.

VIELMO, N. I. C. et al. Presença de coliformes, fungos e leveduras em méis de abelhas africanizadas comercializados sem fiscalização. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 25.; CIGR Section IV Internacional Technical Symposium, 10., 2016, Gramado. *Anais...* Porto Alegre: FAURGS. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/1474.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2019.

ZUURBIER, P; VOOREN, J. V. D. Introduction to sugarcane ethanol contributions to climate change mitigation and the environment. In: ZUURBIER, P; VOOREN, J. V. D (Ed.). *Sugarcane ethanol: Contributions to climate change mitigation and the environment*. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2008. P. 19-27.

1 Fabio Sousa Guedes SILVA concluiu o Ensino Médio e a Educação Profissional Técnica de Nível Médio em Química na ETEC Coronel Fernando Febeliano da Costa, em Piracicaba/SP. Atualmente está cursando Ensino Superior, graduação em Tecnologia em Biocombustíveis (3º ano) pela Faculdade de Tecnologia (FATEC), em Piracicaba/SP, estagiando no laboratório de físico-química da Mérieux Nutriscience, no mesmo município. Cursa inglês no nível B1+ na Achieve Languages, em Piracicaba/SP.

2 Winston Pinheiro Claro GOMES é Graduando em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiário no Laboratório de Cromatografia sendo que no período de agosto de 2018 até dezembro de 2018 teve a orientação da MSc. Fabiana Yoshinaga e Dra. Ana Lúcia Piedade Sodero Martins Pincelli e a partir de fevereiro de 2019 passa a ser orientado pela Dra. Gisele Gonçalves Bortoleto, onde a partir de agosto de 2019 passar se aluno de Iniciação Científica no projeto "Análise de álcoois superiores em cervejas artesanais por Cromatografia Gasosa empregando Headspace" e também é estagiário no Laboratório de Biotecnologia, orientado pela Dra. Daniela Defavari do Nascimento. Graduado em Tecnologia Têxtil pela Faculdade de Tecnologia de Americana - Centro Paula Souza, em dezembro de 2010, com o título "Como ter uma confecção de toalha de mesa e pano de prato, eficiente e com o maior retorno possível em pequeno prazo", onde foi bolsista pelo "Programa de Iniciação Científica e Tecnológica para Micro e Pequenas Empresas - BITEC" na Europa Indústria Têxtil LTDA no período de julho de 2008 à fevereiro de 2009 em Americana, SP. Atualmente é professor nos cursos técnico na Faculdade de Americana - FAM.

3 Daniela Defavari do NASCIMENTO possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade de São Paulo (1997), graduação em Licenciatura Em Ciências Agrárias pela ESALQ/USP (1998), mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP (2000) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela ESALQ/USP (2005). Especialista (MBA) em Agronegócios pelo PECEGE/ESALQ/USP (2012). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: cultura de tecidos, micropropagação de plantas, clonagem gênica, transformação genética de plantas (Tabaco, Arabidopsis, Eucalipto e cana-de-açúcar), análises moleculares. Desde 2010 é professora concursada por prazo indeterminado para as disciplinas: Biotecnologia dos cursos de Graduação em Biocombustíveis e em Alimentos, e Bioquímica de Alimentos do curso de Graduação em Alimentos todos da FATEC Piracicaba.

Recuperação de enzimas celulolíticas por sistema de duas fases aquosas

Rodrigues, Eliana Maria Gonçalves

Resumo

Enzimas são proteínas que catalisam com grande eficiência as reações biológicas, são biocatalisadores que têm como principal função degradar as macromoléculas presentes no meio ambiente. No entanto, quando obtidas por processos fermentativos encontram-se bastante diluídas no meio de cultivo, sendo, a sua separação e purificação um fator crítico. O estudo de técnicas que visem à redução desses custos torna-se necessário à medida que se deseja obter produtos competitivos e viáveis comercialmente. O sistema de duas fases aquosas, principalmente o sistema com PEG e sal, tem sido amplamente utilizado nos processos de biosseparação, em virtude do seu baixo custo, baixa ocorrência de desnaturação e fácil ampliação de escala. Este trabalho teve como objetivo verificar a influência das variáveis pH, concentração de PEG 6000 e concentração de NaCl sobre a recuperação da celulase pelo sistema de duas fases. A metodologia aplicada foi a produção das enzimas celulolíticas pela fermentação em meio sólido, utilizando como substrato bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo; a atividade enzimática foi determinada em papel de filtro, pelo método proposto por Ghose (1987) adaptado e os resultados foram analisados estatisticamente através do Programa Action Stat. Os resultados das análises demonstraram um modelo linear, com um rendimento máximo em atividade enzimática estimado de 68%, nos valores de pH 7,5 e concentração de NaCl 10%.

Palavras-chave: enzima, sistema de duas fases aquosas, polietileno glicol.

Abstract

Enzymes are proteins that catalyze biological reactions with great efficiency, they are biocatalysts whose main function is to degrade macromolecules in the environment. However, when obtained by fermentation processes they are quite diluted in the culture medium, and their separation and purification is a critical factor. The study of techniques aimed at reducing these costs becomes necessary as one wants to obtain competitive and commercially viable products. The aqueous two-phase system, mainly the PEG and salt system, has been widely used in bioseparation processes due to its low cost, low denaturation and easy scaling. The objective of this work was to verify the influence of pH, PEG 6000 concentration and NaCl concentration on cellulase recovery by two - phase system. The applied methodology was the production of cellulolytic enzymes by fermentation in solid medium, using sugarcane bagasse and wheat bran as substrate; Enzyme activity was determined on filter paper by the method proposed by Ghose (1987) adapted and the results were statistically analyzed using the Action Stat Program. The results of the analyzes demonstrated a linear model, with an estimated maximum enzyme activity yield of 68% at pH 7.5 and 10% NaCl concentration.

Key words: enzyme, two-phase aqueous system, polyethylene glycol.

Resumen

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones biológicas con gran eficacia, son biocatalizadores cuya función principal es degradar las macromoléculas en el medio ambiente. Sin embargo, cuando se obtienen mediante procesos de fermentación, están bastante diluidos en el medio de cultivo, y su separación y purificación es un factor crítico. El estudio de técnicas destinadas a reducir estos costos se hace necesario a medida que uno desea obtener productos competitivos y comercialmente viables. El sistema acuoso de dos fases, principalmente el PEG 6000 y el sistema de sal, se ha utilizado ampliamente en procesos de bioseparación debido a su bajo costo, baja desnaturalización y fácil ampliación. El objetivo de este trabajo fue verificar la influencia del pH, la concentración de PEG y la concentración de NaCl en la recuperación de celulasas mediante un sistema de dos fases. La metodología aplicada fue la producción de enzimas celulolíticas por fermentación en medio sólido, utilizando bagazo de caña de azúcar y salvado de trigo como sustrato; La actividad enzimática se determinó en papel de filtro mediante el método propuesto por Ghose (1987) adaptado y los resultados se analizaron estadísticamente utilizando el Programa de estadísticas de acción. Los resultados de los análisis demostraron un modelo lineal, con un rendimiento máximo estimado de actividad enzimática del 68% a pH 7,5 y una concentración de NaCl al 10%.

Palabras clave: enzima, sistema de dos fases acuosas, polietileno glicol.

INTRODUÇÃO

A utilização de enzimas aumenta a especificidade e eficiência de processos industriais, reduzem os gastos, melhoram as características sensoriais nas indústrias alimentícias e elevam o valor nutricional, além da transformação do caldo da cana-de-açúcar em vinho para a produção de bioetanol, são naturais, não tóxicas e específicas. Sua produção é um mercado promissor, crescendo a cada ano, porém, o número de indústrias que utilizam enzimas é superior às que produzem, demonstrando carência de competidores (ALBANO, 2012).

Uma das alternativas para a redução do custo na produção das enzimas está no emprego de subprodutos agroindustriais para o cultivo de microrganismos em estado sólido, pois contém uma grande quantidade de compostos como celulose e hemicelulose, não necessitando de grande complementação nutricional para o crescimento do microrganismo (SILVA, 2014).

O isolamento de enzimas produzidas por microrganismos consiste em uma tarefa desafiante, pois os aspectos técnicos e econômicos podem representar até 90% dos custos totais de produção. A purificação de uma proteína em um meio fermentado pode envolver a combinação de várias técnicas que separam as proteínas de acordo com seu tamanho, carga, hidrofobicidade ou habilidade de se ligar a outros compostos (GOLUNSKI et al., 2011).

Desenvolver processos de purificação simples é um grande problema, pois devem ser seguros e baratos, além de atingir altos graus de purificação e seletividade. A extração utilizando o sistema de duas fases aquosas, empregando polímeros e sais, proporciona um ambiente favorável à separação de enzimas devido à presença de água em ambas as fases do processo, fator importante na manutenção de um meio adequado e não agressivo para a purificação de materiais biológicos (COIMBRA e TEIXEIRA, 2009). Pode ser facilmente ampliado sem causar mudanças significativas na natureza ou eficiência do processo. Além disso, quando comparada com outras técnicas de recuperação, apresenta diversas vantagens, tais como: operação rápida e contínua, altos rendimentos, fácil ampliação de escala, baixo custo dos materiais, reciclagem dos polímeros, minimização da desnaturação de proteínas e facilidade de separar materiais particulados (SILVA e FRANCO, 2000).

O sistema de duas fases aquosas tem sido uma alternativa eficiente na recuperação de diversas biomoléculas. Ho et al. (2017) utilizaram um sistema PEG/citrato na purificação parcial da carboximetilcelulase e obtiveram rendimento de aproximadamente 89% com um fator de purificação de 4,8. Já Souza et al. (2016) estudaram a recuperação e purificação das celulasas produzidas por *Trichoderma reesei* LCB 48 na fermentação semissólida da biomassa da palma forrageira, utilizando PEG 4000 e citrato

de sódio e conseguiram resultados promissores como uma etapa inicial de um processo de recuperação e purificação das celulases. Fischer et al. (2015), utilizaram o sistema de duas fases aquosas com PEG de massa molar entre 2000-6000 g/mol e citrato de sódio na purificação do complexo enzimático celulolítico e obtiveram os melhores resultados com o PEG 2000 em concentração de 22% e pH 7,0, observaram também que a purificação não ocorreu de forma homogênea para todas enzimas do complexo e que, entre as enzimas β -glicosidase, endoglucanase e exoglucanase, a endoglucanase apresentou maior fator de purificação (FP=2).

Sendo assim, no presente trabalho, foram realizados ensaios com o intuito de se verificar a influência das variáveis pH, concentração de PEG 6000 e concentração de NaCl sobre a recuperação de enzimas celulolíticas, a partir da técnica de duas fases aquosas, tendo em vista sua simplicidade de execução, baixa ocorrência de desnaturação e a ampla aplicação deste método no fracionamento de proteínas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produção de celulases

Os ensaios foram conduzidos em Erlenmeyer, mantendo 50% de proporção entre o bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo. Para o preparo do meio foi adicionado ao substrato tampão citrato de sódio 50mM pH 4,8 e 2% de solução nutriente (3,5 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 g/L KH_2PO_4 , 0,5g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L CaCl_2) e 0,1% Tween. Em seguida foi feita a esterilização em autoclave a 121°C por 20 minutos. Posteriormente, a inoculação do fungo *Trichoderma reesi* e a incubação a 30°C por 72 horas e agitação de 100rpm em incubadora de agitação orbital (“shaker”).

Determinação da atividade enzimática total em papel de filtro

A atividade foi determinada pelo método de Ghose (1987) adaptado. Foi colocada uma tira de papel no tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de tampão citrato de sódio pH 4,8. Os tubos foram deixados em banho-maria à temperatura de 50°C por alguns minutos, adiciona-se 0,5mL do caldo enzimático em cada tubo, e estes foram deixados no banho-maria por 60 minutos, sendo agitados em intervalos de 10 minutos. Foram realizados ensaios em branco substituindo o caldo enzimático por tampão citrato de sódio pH 4,8.

Após o término do tempo de inoculação, procedeu-se a determinação do AR e calculou-se a atividade enzimática.

Delineamento Experimental da Recuperação de Celulase por um Sistema de Duas Fases Aquosas

As variáveis estudadas foram: pH (A), concentração de PEG 6000 (B) e concentração de NaCl (C).

O delineamento experimental para verificação das variáveis sobre a recuperação da celulase por um sistema de duas fases aquosas foi realizado segundo um esquema fatorial completo do tipo 2³. A matriz do planejamento projeto fatorial e os níveis dos fatores utilizados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Matriz do planejamento fatorial completo 2³

Ensaio	A	B	C
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

A = pH (-1 = 6,5; 1 = 7,5); B = Concentração de PEG 6000 (%) (-1 = 26; 1 = 30); C = Concentração de NaCl (%) (-1 = 0; 1 = 10)

Análise Estatística

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente, de acordo com planejamentos predeterminados, para verificar o nível dos efeitos dos fatores em estudo.

A análise estatística dos resultados foi realizada através do Programa Action Stat, onde foram feitas estimativas dos efeitos das variáveis e suas interações, considerando um nível de significância de 95%. Os resultados foram expressos em tabelas de estimativa de efeitos, teste t de “Student” e ainda em tabelas de análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando a otimização da recuperação da celulase, por meio de um sistema de duas fases aquosas utilizando polietilenoglicol (PEG) 6000 e tampão fosfato de potássio, foi realizado um planejamento experimental, através do estudo das variáveis: pH, porcentagem de PEG 6000 e porcentagem de NaCl e suas interações. As condições experimentais de cada ensaio, juntamente com os resultados de rendimento em atividade são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Esquema da matriz utilizada no planejamento fatorial completo 2³

Ensaio	A	B	C	Rendimento em AR (%)
1	-1	-1	-1	0
2	+1	-1	-1	40
3	-1	+1	-1	0
4	+1	+1	-1	54
5	-1	-1	+1	38
6	+1	-1	+1	66
7	-1	+1	+1	41
8	+1	+1	+1	57

A = pH (-1 = 6,5; 1 = 7,5); B = Concentração de PEG 6000 (%) (-1 = 26; 1 = 30); C = Concentração de NaCl (%) (-1 = 0; 1 = 10)

Ao comparar os ensaios 1 e 8 (Tabela 2), onde temos todas as variáveis no menor e maior nível, respectivamente, pode se observar que houve um aumento do rendimento da atividade em torno de 60% quando se trabalhou no maior nível das variáveis. Já ao comparar os ensaios 1 e 3 (Tabela 2), onde temos os menores valores em rendimento em atividade, a única variável que se alterou foi a concentração de PEG 6000, entretanto comparando os ensaios 1 e 6, onde tivemos o menor e maior valor de rendimento em atividade, respectivamente, observa-se que as variáveis pH e concentração de NaCl, passaram dos menores para o maior nível. Estes resultados indicam que as variáveis pH e concentração de NaCl podem ser significativas. Todavia, se mantém inalterado o valor da concentração de PEG 6000, o que pode indicar que a variável não seja significativa. Estas observações podem ser comprovadas pela análise estatística dos resultados, apresentadas na Tabela 3. Os resultados comprovam as observações anteriores,

ou seja, as variáveis pH e concentração de NaCl apresentam realmente efeitos significativos. O mesmo não acontece com a concentração de PEG 6000.

Tabela 3: Efeitos estimados, valores do teste t de “Student” obtidos no planejamento fatorial completo 2³

Efeitos e interações	Estimativas	T	P
Média	37,00	-	-
A	17,25	4,60*	0,03*
B	1,00	0,27	0,81
C	13,50	3,60*	0,05*
AB	0,25	0,07	0,95
AC	-6,25	1,67	0,22
BC	-2,5	0,67	0,56
ABC	-3,25	0,87	0,47

A = pH; B = Concentração PEG 6000 (%); C = Concentração de NaCl (%); *Significativos ($t_{4,0,95} = 2,77$)

As variáveis significativas, pH e concentração de NaCl apresentam sinais positivos, o que indica que, para haver aumento do rendimento em atividade, será preciso aumentar os valores destas variáveis. Estas observações podem ser comprovadas através da Tabela 4.

Tabela 4: Análise da variância para o estudo da recuperação de celulase por sistema de duas fases aquosas, no planejamento fatorial completo 2³

Efeitos	QM	F	P
A	2380,5	21,27	0,009*
B	8	0,07	0,802
C	1458	13,03	0,022*

$R^2 = 0,90$; A = pH; B = Concentração de PEG 6000 (%); C = Concentração de NaCl (%); QM = Média Quadrática;

*Significativos ao nível de 95% de confiança

Como os resultados das análises demonstraram que o modelo se ajusta a um linear, então podemos representar o processo de recuperação de celulase por um sistema de duas fases aquosas, considerando os termos que realmente influenciam no rendimento em atividade, pela Equação 1:

$$Y = 37 + 17,25A + 13,5C \quad (1)$$

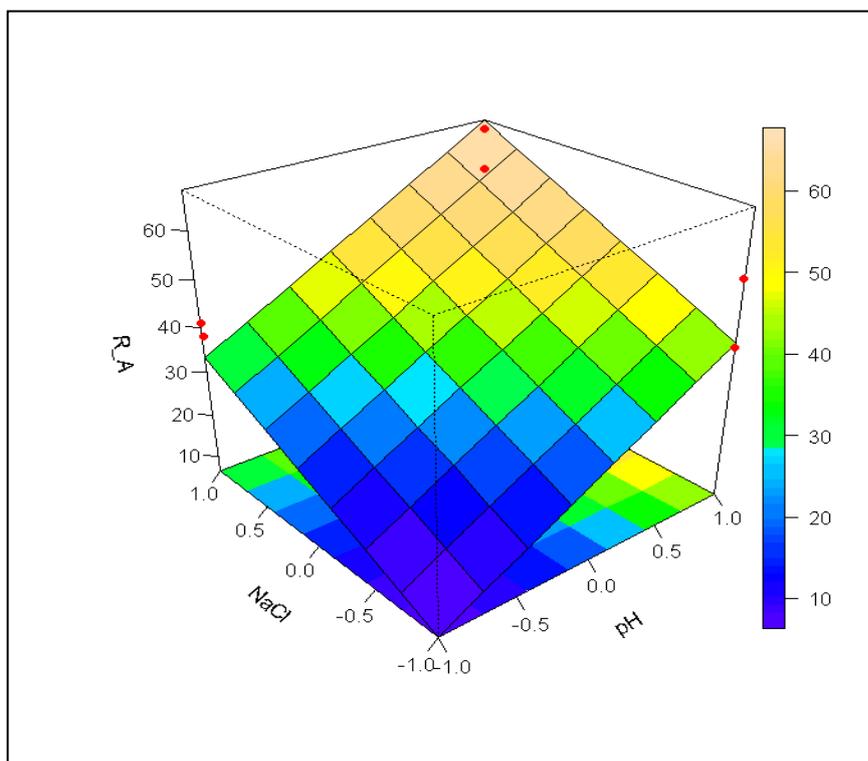
Sendo que Y representa o rendimento em atividade, A o pH e C a concentração de NaCl.

A metodologia da superfície de resposta foi utilizada para otimizar as condições da recuperação da celulase por um sistema de duas fases aquosas, fornecendo um modelo matemático adequado para a resposta em rendimento em atividade (BARROS NETO et al., 2010).

A partir deste modelo, obtiveram-se melhores resultados de recuperação em atividade quando se utilizou os valores de 7,5 para o pH e 10% para a concentração de NaCl. Nessas condições o rendimento máximo estimado pelo modelo foi de 68%.

A superfície de resposta do modelo e as linhas de contorno estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1: Superfície de resposta descrita pelo modelo da Equação 1, que representa a recuperação da celulase por um sistema de duas fases aquosas



CONCLUSÃO

Através do estudo da metodologia da superfície de resposta, foi possível otimizar as condições de recuperação da enzima celulase utilizando um sistema de duas fases aquosas, obtendo um modelo matemático linear adequado para a resposta de rendimento em atividade, onde as variáveis significativas foram pH e concentração de NaCl. A partir deste modelo, o rendimento máximo obtido foi de 68% quando utilizou-se os valores de 7,5 para o pH e 10% para a concentração de NaCl.

REFERÊNCIAS

- ALBANO, M. *Comparação da produção de celulases e xilanases por fungos filamentosos em fermentação submersa e estado sólido*. 2012. 64 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2012.
- BARROS NETO, B.; BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S. *Como fazer experimentos – Aplicações na ciência e indústria*. 4. Edição, Porto Alegre: Bookman, 2010.
- COIMBRA, J.S.R.; TEIXEIRA, J. *Engineering Aspects of Milk and dairy Products*. Boca -Raton, CRC Press, 2009.
- FISCHER, J.; LOPES, V. S.; SANTOS, E. F. Q.; GUIDINI, C. Z.; RAMADAN, L.; FILHO, U. C.; CARDOSO, V. L.; "PURIFICAÇÃO DE COMPLEXO CELULOLÍTICO DE *Aspergillus niger* USANDO SISTEMA AQUOSO DE DUAS FASES COM PEG-CITRATO", p. 532-539. In: *Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014* [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]. São Paulo: Blucher, 2015.
- GHOSE, T.K. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, v. 59, p. 257-268, 1987.
- GOLUNSKI, S.; ASTOLFI, V.; CARNIEL, N.; OLIVEIRA, D.; DILUCCIO, M.; MAZUTTI, M.A.; TREICHEL, H. Ethanol precipitation and inulinases from *Kluyveromyces marxianus*. *Separation and Purification Technology*. V. 78, n. 3, p. 261-265, 2011.
- HO, S.L. et al Aqueous biphasis system for the partial purification of *Bacillus subtilis* carboxymethyl cellulase. *Process Biochemistry*, v. 58, n. 1, p. 276-281, 2017.
- SILVA, M. E.; FRANCO, T. T. Liquid-liquid extraction of biomolecules in downstream processing, a review paper. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 17, p. 1-17, 2000.
- SILVA, M. J. da. *Produção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas por Trichoderma reesei rut c-30 em meios com diferentes capacidades de indução*; Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas; Recife; 2014.
- SOUSA, C. A. B.; SEGUNDO, V. A. G.; SANTIAGO, A. M.; CONRADO, L. S. et al. Aplicação de SABS formados por PEG e citrato de sódio na purificação de celulases produzidas por *Trichoderma reesei* LCB 48. In: *ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA*, 2016, Anais eletrônicos. Campinas, GALOÁ, 2018. Disponível em: <<https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2016/papers/aplicacao-de-sabs-formados-por-peg-e-citrato-de-sodio-na-purificacao-de-celulases-produzidas-por-trichoderma-reesei-lcb>> Acesso em: 07 nov. 2019.

1 Eliana Maria Gonçalves RODRIGUES possui graduação em Engenharia Industrial Química pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Mestrado em Biotecnologia Industrial pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena na área de Microbiologia Aplicada e Genética de Microrganismos, Doutorado em Engenharia Química na área de Processos Biotecnológicos pela Universidade Estadual de Campinas e Pós-Doutorado pela USP. Atualmente é Professor Ensino Superior, Referência III, da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. Roque Trevisan. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Purificação de Enzimas, atuando principalmente nos seguintes temas: microrganismos, enzimas, fermentação e extração líquido-líquido.

Análise comparativa do biodiesel produzido a partir de óleo de algodão não refinado e refinado via rotas metílica e etílica

Silva, Fabio Sousa Guedes
Santos, Heurilen Reis dos
Carvalho, Jucélio de Oliveira
Silveira, Luis Ricardo Nascimento da
Palmer, Tiago Motta
Bortoleto, Gisele Gonçalves

Resumo

O biodiesel é um biocombustível, advindo de óleos vegetais e gordura animal. Sendo obtido através de óleos renováveis, torna-se uma alternativa aos derivados de petróleo, representando uma importante fonte energética para o Brasil. Deste modo, no presente estudo foi avaliado o processo de produção de biodiesel metílico e etílico de algodão, realizando um comparativo entre seu óleo não refinado e refinado como matéria-prima. Realizou-se análise das duas matérias-primas com relação à densidade, viscosidade, potencial hidrogeniônico (pH), índice de acidez, umidade e índice de saponificação, bem como, com exceção da umidade, dos biodieseis gerados após a reação de transesterificação. Por fim, avaliou-se o teor de metanol residual nos biodieseis, o rendimento percentual da produção e teor de ésteres, para comprovar sua síntese. Foi possível obter biodiesel somente a partir da rota metílica. Não houve diferença significativa entre os biodieseis advindos do óleo de algodão refinado e não refinado para os parâmetros avaliados, sugerindo que a etapa de refino do óleo de algodão pode ser desnecessária para a produção de biodiesel.

Palavras-chave: biocombustíveis, fontes renováveis, análises físico-químicas.

Abstract

Biodiesel is a biofuel, derived from vegetable oils and animal fat. Being obtained through renewable oils, it becomes an alternative to petroleum derivatives, representing an important energy source for Brazil. Thus, in the present study, the production process of methyl and ethyl biodiesel from cotton was evaluated, comparing its unrefined and refined oil as raw material. The two raw materials were analyzed for density, viscosity, hydrogenation potential (pH), acidity index, moisture content and saponification index, as well as, except for moisture, the biodiesel generated after the transesterification reaction. Finally, the residual methanol content in the biodieseis, the percentage yield of the production and the content of the esters, were evaluated to prove their synthesis. It was possible to obtain biodiesel only from the methyl route. There was no significant difference between the biodiesel obtained from refined and unrefined cotton oil for the parameters evaluated, suggesting that the refining stage of the cotton oil may be unnecessary for biodiesel production.

Key Words: biofuels, renewable sources, physicochemical analyzes.

Resumen

El biodiesel es un biocombustible, proveniente de aceites vegetales y grasa animal. Siendo obtenido a través de aceites renovables, se convierte en una alternativa a los derivados del petróleo, representando una importante fuente energética para Brasil. De este modo, en el presente estudio se evaluó el proceso de

producción de biodiésel metílico y etílico de algodón, realizando un comparativo entre su aceite no refinado y refinado como materia prima. Se realizó un análisis de las dos materias primas con relación a la densidad, viscosidad, potencial hidrogenico (pH), índice de acidez, humedad e índice de saponificación, así como, con excepción de la humedad, de los biodiesel generados después de la reacción de transesterificación. Por último, se evaluó el contenido de metanol residual en los biodiesel, el rendimiento porcentual de la producción y el contenido de ésteres, para comprobar su síntesis. Fue posible obtener biodiesel solamente a partir de la ruta metílica. No hubo diferencia significativa entre los biodiesel provenientes del aceite de algodón refinado y no refinado para los parámetros evaluados, sugiriendo que la etapa de refinación del aceite de algodón puede ser innecesaria para la producción de biodiesel.

Palabras-clave: biocombustibles, fuentes renovables, análisis físico-químicos.

INTRODUÇÃO

Segundo Biodieselbr (2006a): “O biodiesel é um combustível para ser utilizado nos carros ou caminhões com motores diesel, feito a partir das plantas (óleos vegetais) ou de animais (gordura animal)”. Este tem como objetivo de substituir os combustíveis de origem fóssil. Desta maneira, os óleos vegetais são extraídos principalmente de oleaginosas e gorduras animais, como algodão, pinhão-manso, soja, dendê, babaçu, canola etc.

De acordo com a Lei 11.097 de 13 de janeiro de 2005, biocombustível é combustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna ou, conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (BRASIL, 2005).

Atualmente, no Brasil, são cultivados mais de 1.519 mil hectares de algodão. Por ser uma importante cultura para o agronegócio brasileiro, esta cultura se caracteriza pela alta produtividade que vem aumentando no Brasil a cada ano (ABRAPA, 2019). Com produção de 2.664 toneladas de pluma na safra 2018/19 (ABRAPA, 2019), o Brasil é o 5º maior produtor de algodão do mundo (AMIPA, 2019).

No território brasileiro, a planta é a segunda maior cultura oleaginosa plantada, porém o cultivo do algodão tem como principal objetivo a fibra para a indústria têxtil. Desta planta, tem-se que entre 40% e 60% são formados pelo caroço, e enquanto a fibra é enviada para indústria, do caroço é extraído o óleo, que tem na produção de biodiesel um bom nicho de mercado, além do já tradicional farelo para a ração animal (BIODIESELBR, 2006b).

O biodiesel é equivalente ao diesel de petróleo em igualdade, pois possuem as mesmas propriedades, além do biodiesel apresentar algumas vantagens, como na sua queima por exemplo onde produzem menos gases durante a sua exaustão, possui um alto ponto de fulgor que permite um bom armazenamento e pode ser também um excelente lubrificante (ANPPAS, 2004).

Para tanto, este trabalho tem como principal intuito, avaliar comparativamente a viabilidade da produção de biodiesel utilizando-se o óleo de algodão não refinado e refinado, evidenciando as possibilidades de produção do biodiesel pela rota metálica ou etílica a partir dessas matérias-primas.

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

BIODIESEL

No final de 2004, governo federal brasileiro lançou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com finalidade inicial de incluir o biodiesel na matriz energética do país, de forma a promover inclusão social e desenvolvimento regional, sendo o principal resultado desse primeiro momento definir um arcabouço legal e regulatório. Atualmente, este biocombustível já se tornou realidade no Brasil, garantindo-o posição destacada em comparação ao resto do mundo, e fortalecendo, juntamente com o bioetanol, participação dos biocombustíveis na matriz energética brasileira e valorizando a imagem do país com relação à variedade de fontes energéticas (ANP, 2016).

De acordo com a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, ANP (2019), o biodiesel é um biocombustível, proveniente de fontes renováveis que pode ser gerado a partir de gorduras de animais e espécies vegetais tais como a soja, palma, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso, sendo a soja, atualmente no Brasil, a matéria-prima mais usada.

ALGODÃO

No território brasileiro, uma das culturas oleaginosas mais cultivadas é o algodão, sendo que a partir do seu caroço é retirado o óleo, sendo utilizado para produção do biodiesel. Este óleo se mostra muito atraente para o mercado de biodiesel, pelo seu baixo preço. Hoje em dia é considerada a terceira matéria-prima mais utilizada para produção de biodiesel no país, porém é um óleo impuro que necessita de um pré-tratamento (BIODIESELBR, 2006c).

Segundo pesquisa da agência Embrapa, dentre as variedades de algodão, no processo de extração obtém-se teores de óleo variando entre 15,21% e 26,01%, também gerando aproximadamente 5,5% de linter, 47,5% de torta, 25,7% de casca e 5% de resíduos de elaboração (ARAUJO *et al.*, 2004).

Partindo-se da premissa de que o óleo foi extraído mecanicamente (prensa) ou quimicamente (solventes), o resultado obtido é conhecido como óleo bruto de algodão. Para se ter o refinamento desse óleo são realizados os seguintes processos: neutralização alcalina - na qual ocorre a redução do teor de ácidos graxos livres -, decomposição, remoção do gossipol -

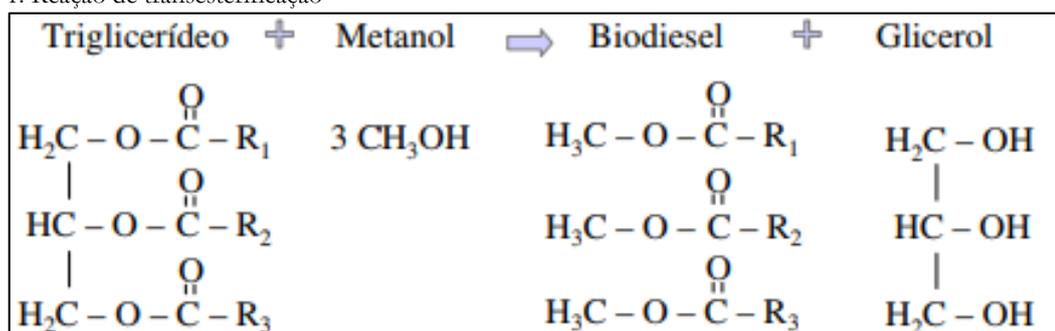
composto polifenólico que confere a cor amarela ao óleo -, que, por sua vez, auxilia no desempenho da terra clarificante (branqueamento) (GRIMALDI, 2017). Em seguida, passa pela centrifuga, depois pela lavagem, branqueamento, e por último é realizada a fase de filtragem, obtendo-se finalmente o óleo refinado (NASCIMENTO, 2007).

TRANSESTERIFICAÇÃO

De acordo com Barros e Jardine (2019), os óleos de origem vegetal são constituídos por uma molécula de glicerol ligada a três de ácido graxo, chamados de triglicerídeos e ácidos graxos livres. No método de transesterificação, para conseguir o biodiesel, os triglicerídeos contidos no óleo sofrem alcoólise, resultando em moléculas menores de ésteres de ácido graxo (biodiesel) a partir de um agente transesterificante (álcool primário) e um catalisador (alcalino, ácido) (BARROS; JARDINE, 2019).

Durante o processo de transesterificação, conforme demonstrado na Figura 1, o triglicerídeo reage com um álcool simples, podendo ser o álcool etílico ou álcool metílico, formando ésteres, metílico ou etílico, que são constituintes do biodiesel, e glicerol (ENCARNAÇÃO, 2007).

Figura 1: Reação de transesterificação



Fonte: Encarnação (2007).

A reação pode ser catalisada por bases, as mais comuns são hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH), por ácidos tais como ácido clorídrico (HCl) ou ácido sulfúrico (H₂SO₄), ou por meio de lipases (enzimas). Na presença de catalisador alcalino (base) a reação ocorre com maior velocidade em comparação com o catalisador ácido, considerando um maior rendimento e seletividade, e ainda se nota que causa menores danos em relação à corrosão dos equipamentos. Desta forma os catalisadores básicos KOH e NaOH são mais eficientes e mais utilizados comercialmente (ENCARNAÇÃO, 2007).

Além do catalisador, outro fator importante para se elevar o rendimento da reação é a temperatura e agitação nos parâmetros ideais, uma vez que em excesso pode implicar em diversos fatores como o gasto energético ser maior do que os ganhos com a velocidade da reação e o excesso de reação que pode provocar a coalescência mais lenta do glicerol (GARCIA, 2006).

No processo de transesterificação pode ser usado o etanol e o metanol, porém metanol domina a produção industrial de biodiesel no país apesar de seu uso oferecer algumas desvantagens como sua alta toxicidade, podendo causar cegueira e ou até mesmo provocar a morte do técnico que o manipula no laboratório. O metanol também é um produto importado, dessa forma diminui o seu custo-benefício. Apesar de apresentar essas desvantagens, o metanol se mostra mais atraente que o etanol pelo simples fato de que é muito mais simples fazer biodiesel com álcool metílico (SUAREZ, 2008). Segundo Garcia (2006), o etanol mesmo que o anidro implica em muitas dificuldades na separação do glicerol.

O álcool metílico se mostra mais eficiente independentemente do catalisador ou das condições em que realize a transesterificação, sempre terá uma velocidade e rendimento final da reação elevado em comparação ao álcool etílico. É possível fazer biodiesel com etanol, porém para se conseguir grandes rendimentos, é preciso uma maior quantidade de álcool, maior temperatura e maior tempo, onerando o processo de produção. O etanol também facilita a formação de emulsões no final da reação, na qual é necessário destilar o álcool para se obter uma boa separação da glicerina, o que torna a purificação do biodiesel um processo mais caro e complicado (SUAREZ, 2008).

METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido nos laboratórios da Faculdade de Tecnologia (FATEC) de Piracicaba, Deputado Roque Trevisan (22°41'33.7" S; 47°37'30.7" W e altitude de 512 m). A execução do estudo foi dividida em três etapas, conforme a seguir: caracterização das matérias-primas – óleo de algodão refinado e não-refinado - obtenção e caracterização dos biodieseis.

O óleo de algodão não-refinado - Figura 2(a) - possui finalidade para uso estético, em que o produto foi extraído da semente de algodão por prensagem à frio e adquirido em uma loja virtual de produtos naturais, enquanto o óleo de algodão refinado tipo 1 - Figura 2(b) - foi obtido em uma rede de supermercados, com sua principal finalidade como produto alimentício.

Figura 2: Matérias-primas – óleos de algodão



2(a) Não refinado



2(b) Refinado

Fonte: Autores.

As análises realizadas nas matérias-primas foram: densidade, viscosidade, potencial hidrogeniônico (pH), índice de acidez, umidade e índice de saponificação; sendo essas análises, com exceção da umidade, também realizadas nos biodieséis produzidos. Por fim, foi realizado a análise do teor de metanol residual no biodiesel, seu rendimento percentual e teor de ésteres, para confirmar sua produção.

POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

A determinação do pH foi realizada utilizando tira universal de pH- marca Kasvi, conforme a Figura 3.

Figura 3: Determinação do pH em óleo de algodão com tira universal de pH.

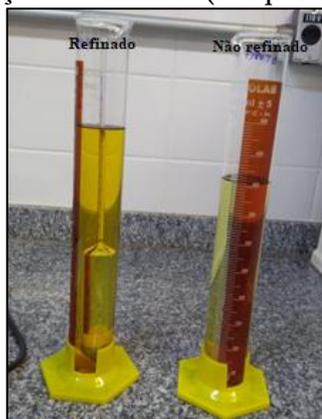


Fonte: Autores.

DENSIDADE

A determinação da densidade foi realizada utilizando densímetro para peso específico (0,850-0900 g. mL⁻¹ – marca Rivaterm - e 0,900-0,950 g mL⁻¹ – marca HG), conforme a Figura 4.

Figura 4: Determinação da densidade (à esquerda) de óleo de algodão



Fonte: Autores.

VISCOSIDADE

A análise de viscosidade foi realizada utilizando um viscosímetro Cup-Ford, segundo metodologia adaptada de Almeida et al. (2011). A nivelção do aparelho foi conferida utilizando um nível de bolha. Assim sendo, o orifício (número 4) foi fechado manualmente, e o copo preenchido até o nível mais elevado. Então, o excesso foi removido. Simultaneamente, o orifício foi aberto, iniciando-se a contagem de tempo no cronômetro.

O tempo foi anotado em segundos ao se notar a primeira interrupção do fluxo de escoamento. Para determinar a viscosidade cinemática (ν), foi utilizado a expressão de acordo com a Tabela 1, segundo o orifício escolhido (Equação 1, Equação 2 e Equação 3), sendo os resultados de viscosidade expressos em mm² s⁻¹.

Tabela 1: Cálculo da viscosidade cinemática para diferentes orifícios do viscosímetro cup-ford		
Orifício	Expressão da viscosidade cinemática (ν)	
2	$\nu = 2,388t - 0,007t^2 - 57,008$	Equação 1
3	$\nu = 2,314t - 15,200$	Equação 2
4	$\nu = 3,846t - 17,300$	Equação 3

Fonte: Almeida et al. (2011).

UMIDADE

A análise do teor de água baseou-se no método sugerido pela AOCS Bc 2 – 49 (AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY, 1985, citado por OLIVEIRA et al., 2015). Dessa maneira, cápsulas de porcelana lavadas foram submetidas à secagem em estufa por 1 hora, a 105°C. Em seguida, foram esfriadas em dessecador e pesadas, a fim de se obter a massa inicial (M1). Após esta etapa, adicionou-se cerca de 5 g da amostra (MA) nas cápsulas, sendo repetido o processo de aquecimento na mesma temperatura e durante o mesmo tempo utilizados anteriormente. Assim sendo, as amostras foram esfriadas no dessecador e pesadas, obtendo-se o peso final (M2). O cálculo para determinação da umidade (U%) foi realizado conforme a Equação 4.

$$U\% = \frac{(M1 + MA) - M2}{A} \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

ÍNDICE DE ACIDEZ

Foram dissolvidos 10 g da amostra em 10 mL de isopropanol, utilizando 3 gotas de fenolftaleína como indicador e titulando com hidróxido de potássio 0,1 N padronizado até a viragem para coloração rósea (BORTOLETO et al., 2017). Realizou-se o mesmo procedimento sem a adição da amostra. Assim sendo, obteve-se a massa de amostra (MA), o volume em mL gasto na titulação da amostra (VA) e na titulação do branco (VB), bem como a concentração real da solução de hidróxido de potássio (N), sendo o índice de acidez (IA) calculado segundo a Equação 5, expresso em mg KOH/g de amostra.

$$IA = \frac{(VA - VB) \cdot N \cdot 56,1056}{MA} \quad \text{Equação 5}$$

ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

A determinação do índice de saponificação foi realizada segundo Silva e Neto (2013) e AOCS (1993), citado por Oliveira et al. (2015). Pesou-se 2 g da amostra em um balão de fundo redondo e adicionou-se 20 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) 4% (m/m).

O próximo passo foi submeter o balão em um condensador de refluxo, aquecendo a mistura até que ocorra ebulição, e mantendo nessas condições por 30 minutos. Após este tempo, retirou-se o balão do condensador, transferiu-se a amostra para frascos Erlenmeyers, adicionou-se duas gotas do indicador fenolftaleína e realizou-se titulação a quente com ácido clorídrico (HCl) 0,5 mol/L padronizado até que a coloração rosa desaparecesse. Para realizar o branco, desenvolveu-se o mesmo procedimento, entretanto sem adicionar amostra.

Assim sendo, obteve-se as seguintes informações: diferença entre o volume em mL de HCl 0,5 mol/L gasto na titulação da amostra e o do branco (V), fator de correção do HCl 0,5 mol/L (f) e a massa em gramas da amostra (m). Dessa maneira, com a Equação 6, calcula-se o índice de saponificação (IS), expresso em mg KOH/g de amostra (SILVA; NETO, 2013).

$$IS = \frac{V \cdot f \cdot 28}{m}$$

Equação 6

PRODUÇÃO DOS BIODIESEIS

Primeiramente, realizou-se a secagem dos óleos estudados em estufa a 105°C, durante 24 horas, a fim de garantir que não houvesse presença de água nas matérias-primas, podendo interferir na reação de formação de biodiesel, em seguida, foram esfriados em dessecador. Assim sendo, a produção dos biodieseis a partir do óleo de algodão refinado e não refinado já caracterizados na etapa anterior, utilizando metanol como reagente alcoólico, e metilato de sódio como catalisador, foi realizada com base no procedimento adotado por Bortoleto et al. (2017).

Pesou-se em distintos frascos Erlenmeyers, 150 mL de cada óleo e adicionou-se 6 mL do catalisador metilato de sódio dissolvidos em 60 mL do reagente metanol. As misturas foram levadas a um agitador magnético com aquecimento, durante 60 minutos, na faixa de 55-65°C, em capela de exaustão de gases. Assim sendo, foram transferidas para distintos funis de separação, as quais ficaram em repouso durante pelo menos 24 horas, a fim de que houvesse a separação entre as fases. Para a produção de biodiesel utilizando etanol como reagente alcoólico, adaptou-se o procedimento de Batista, Maynart e Suffredini (2008), adotando-se o mesmo processo utilizado com o metanol, com a substituição deste álcool por 90 mL de etanol e mantendo as quantidades de óleo e de catalisador.

Cada reação, utilizando óleo de algodão refinado e não refinado e alterando o reagente alcoólico foi realizado em duplicata, caracterizando o seguinte delineamento experimental: 2

óleos de algodão (refinado e não refinado) x 2 reagentes alcoólicos (etanol e metanol) x 2 repetições = 8 amostras.

A purificação dos biodieseis foi realizada por meio de lavagem em água, segundo Geris et al. (2007) citado por Salvador et al. (2016). Dessa forma realizaram-se pelo menos três lavagens com água destilada à 90°C na proporção 1:1, até que, conforme realizado por Oliveira et al. (2015), o pH da água de lavagem fosse neutro, mensurado em fita universal de pH. Então, conforme proposto por Salvador et al. (2016), secou-se o biodiesel em estufa, a fim de retirar toda sua umidade resultante do processo de lavagem. A secagem foi realizada a 105°C durante 24 horas, conforme proposto por Bortoleto et al. (2017).

RENDIMENTO PERCENTUAL

O rendimento percentual (%R) dos biodieseis sintetizados foi determinado a partir da massa de óleo ($M_{\text{Óleo}}$) empregada na produção de cada biodiesel e a massa final de biodiesel ($M_{\text{Biodiesel}}$) sintetizada, conforme a Equação 7 (OLIVEIRA et al. 2015; CARTONI, 2009):

$$\%R = \frac{M_{\text{Biodiesel}} \cdot 100\%}{M_{\text{Óleo}}} \quad \text{Equação 7}$$

TEOR DE ÉSTERES

A determinação do teor de ésteres (%) foi realizada baseando-se em Soares, Melchert e Rocha (2017). Foram utilizados tubos Eppendorf de 1,5 mL para misturar 500 µL da amostra: etanol (1:50), 60 µL de solução de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) e 300 µL de hidróxido de sódio (NaOH). Passado 15 minutos da mistura, adicionou-se 200 µL de sulfato ferroso mono hidratado [$\text{Fe}_2(\text{SO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$] em ácido nítrico (HNO_3) para formação do complexo violeta. Utilizou-se etanol absoluto como branco, para diluir as amostras de biodiesel 1:50 (v/v), para o preparo das soluções de referência com 4 concentrações de biodiesel/éster (0, 10, 20 e 30%) e para diluição em 50 vezes das soluções de referências.

As medidas foram tratadas como radiação refletida, obtendo-se os valores referentes aos canais RGB (*green, red, blue*) através do aplicativo PhotoMetrix, sendo utilizadas apenas informações do canal G, por ser o canal mais sensível e a cor complementar do complexo violeta. A reflexão total (255) e absorção total (0) são referentes, respectivamente à captura de uma superfície branca e violeta intenso.

DETERMINAÇÃO DE METANOL

A determinação de metanol (CH_3OH) residual nos biodieseis foi realizada por cromatografia gasosa (CG). Para isso, foram transferidos 3 mL da amostra em vial. As análises por CG foram realizadas em cromatógrafo gasoso (PerkinElmer modelo Clarus 600), acoplado a um detector de ionização de chama (*flame ionization detector* - FID) e utilizando uma curva analítica preparada com 8 soluções padrões de metanol, expressas em m/v (massa em gramas do analito e 100 mL de solução), com as seguintes concentrações: 0,0396, 0,0792, 0,1188, 0,1584, 0,1980, 0,2376, 0,2772 e 0,3168%.

Utilizou-se uma coluna capilar (PerkinElmer modelo Elite-WAX) com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 μm . O gás de arraste utilizado foi nitrogênio a uma vazão de 1,20 mL min^{-1} , enquanto a vazão do hidrogênio foi 45 mL min^{-1} e do ar sintético 450 mL min^{-1} . A injeção foi executada com um amostrador automático (Combpal, modelo CTC Analytics, Pal System), com o forno para *headspace*, onde a amostra foi incubada anteriormente à injeção a 60°C por 5 min e com agitação de 500 rpm. O volume de injeção da amostra foi de 300 μL a uma velocidade de 250 $\mu\text{L s}^{-1}$, empregando-se o *split* de 1:10. A temperatura do forno foi de 100°C por 5 minutos. O injetor foi operado a 150°C e o detector a 300°C.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de viscosidade, índice de acidez, índice de saponificação e rendimento percentual foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. Esses procedimentos foram realizados utilizando o pacote Laercio versão 1.0-1 (SILVA, 2010) no software do programa R versão 3.5.1 (R CORE TEAM, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção e purificação do biodiesel foi possível somente utilizando metanol como reagente alcoólico, uma vez que houve formação demasiada de sabão durante a lavagem do

biodiesel ao substituir este reagente por etanol, independente da matéria-prima – óleo de algodão não refinado - Figura 5(a) - e refinado - Figura 5(b).

Figura 5: Lavagem dos biodieseis produzidos a partir de etanol como reagente alcoólico e óleo de algodão não refinado (esquerda) e refinado (direita)



5(a) Não refinado



5(b) Refinado

Fonte: Autores.

De acordo com Batista, Maynard e Suffredini (2008), a utilização de etanol é um fator de resistência, uma vez que este combustível apresenta características higroscópicas e forma um azeótropo com a água, favorecendo que parte da reação de transesterificação por catálise alcalina homogênea resulte em sabões, por conta da presença de água. Ainda, os autores destacam que a utilização de etanol como reagente alcoólico facilita a formação de uma emulsão estável entre o glicerol e o biodiesel, dificultando a separação dos produtos.

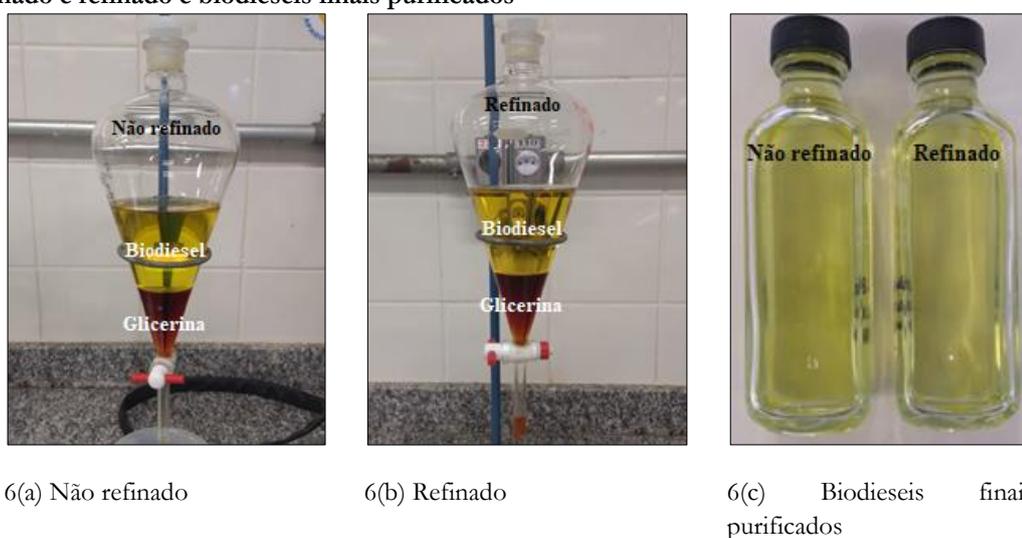
Ao utilizar a rota etílica alcalina convencional, Batista, Maynard e Suffredini (2008) avaliou a síntese de biodiesel a partir de óleo de soja comum, etanol como reagente alcóólico e hidróxido de sódio como catalisador. Conforme esperado, os autores observaram que o glicerol não se separou do biodiesel, sendo necessário a adição externa de glicerol para a separação. Entretanto, os autores também avaliaram *blends* de etanol e metanol como reagentes alcoólicos e concluíram que o limite para que haja separação eficiente dos produtos seja de pelo menos 10% de metanol em 90% de etanol (v/v).

Jesus et al. (2012) ao estudar a produção de biodiesel a partir de óleos de girassol bruto, desodorizado e parcialmente refinado, empregando etanol como reagente alcoólico e hidróxido de sódio como catalisador, observou que o óleo bruto apresentou rendimento de síntese entre os mais baixos, havendo uma maior tendência de rendimento para o óleo degomado e em seguida para o óleo neutralizado, porém os autores destacam que o rendimento de síntese é um

parâmetro que necessita avaliar também a presença de triglicerídios, glicerídios parciais e ácidos graxos livres (AGL).

Com relação à reação de transesterificação partindo de metanol, observou-se a separação das fases – biodiesel e glicerina – independente da matéria-prima – óleo de algodão não refinado - Figura 6(a) - e refinado - Figura 6(b), bem como os biodieseis finais purificados a partir dessas matérias-primas - Figura 6(c). O rendimento da produção dos biodieseis partindo deste reagente alcoólico pode ser observado na Tabela 2.

Figura 6: Produção de biodiesel produzido a partir de metanol como reagente alcoólico e óleo de algodão não refinado e refinado e biodieseis finais purificados



Fonte: Autores.

Tabela 2: Rendimento da produção de biodiesel produzido a partir de metanol como reagente alcoólico e óleo de algodão não refinado e refinado

Tratamentos	Rendimento (%)
Biodiesel de óleo não refinado	91,78
Biodiesel de óleo refinado	96,22
CV (%)	4,48
Valor F	1,11 ^{NS}
Prob. >F	0,40

NS: não significativo ($p > 0,05$); CV: coeficiente de variação; Prob.: probabilidade.

Fonte: Autores.

Conforme observado na Tabela 2, não houve diferença significativa no rendimento da reação ao utilizar como matéria-prima óleo de algodão não refinado (91,78%) ou refinado (96,22%), sugerindo que a etapa de refino do óleo para produção de biodiesel não é necessária. Oliveira et al. (2015), ao avaliar a produção de biodiesel a partir de óleo de soja ou de algodão, metanol como reagente alcoólico e KOH como catalisador, obtiveram rendimento de 88% para o biodiesel proveniente do óleo de algodão e 92,47% no caso do óleo de soja. Esses resultados se assemelharam aos obtidos neste trabalho. No que se refere aos resultados obtidos para o teor de ésteres dos biodieseis de óleo de algodão refinado e não refinado obtidos pela rota metílica, encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3: Teor de éster nos biodieseis produzidos a partir de metanol como reagente alcoólico

Tratamentos	Teor de éster (%)
Biodiesel de óleo não refinado A	>96,5
Biodiesel de óleo não refinado B	>96,5
Biodiesel de óleo refinado A	>96,5
Biodiesel de óleo refinado B	>96,5

Fonte: Autores.

Conforme observado na Tabela 3, o teor de éster obtido para as repetições de cada tratamento – biodiesel de óleo de algodão não refinado e refinado – foi acima de 96,5%. Fernandes (2011), ao produzir biodiesel metílico (com metóxido de potássio) e etílico (com etóxido de potássio) partindo de óleo de algodão refinado, obteve respectivamente, teor de ésteres de aproximadamente 99,6 e 99,5%. De acordo com Fernandes (2011), a legislação proposta pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabelece um teor mínimo de ésteres de 96,5%, indicando que tanto os biodieseis produzidos pelo autor quanto do presente estudo foram obtidos com reações de conversão de forma satisfatória, encontrando-se em conformidade com a legislação.

Mediante ao insucesso da produção de biodiesel a partir de etanol, foi realizada a caracterização somente do biodiesel a partir de metanol, conforme será discutido a seguir. Os valores obtidos de pH e densidade para as matérias-primas e biodieseis a partir de metanol encontram-se na Tabela 4, bem como o teor de água – umidade - para o óleo de algodão não refinado e refinado. No caso dos biodieseis apresenta-se a média dos valores obtidos da duplicata do processo de produção, enquanto no caso dos óleos a única medida realizada.

Tabela 4: Densidade e pH dos óleos e biodieseis produzidos a partir de metanol como reagente alcoólico e umidade dos óleos

Tratamentos	pH	Densidade (kg m ⁻³)	Umidade (%)
Óleo não refinado	6	915,0	0,0694
Óleo refinado	6	913,5	0,0229
Biodiesel de óleo não refinado	6	886,8	-
Biodiesel de óleo refinado	6	875,5	-

Fonte: Autores.

O pH das matérias-primas – óleos – e dos biodieseis apresentaram característica levemente ácida (pH 6). Com relação à densidade, observou-se que houve um decréscimo deste parâmetro nos biodieseis em relação aos óleos. Oliveira et al. (2015) obtiveram densidade de 874,8 e 875,2 kg m⁻³ para os biodieseis obtidos de, respectivamente, óleo de algodão e soja, sendo estes valores mais semelhantes ao biodiesel obtido neste trabalho a partir de óleo de algodão refinado (875,5 kg m⁻³) do que óleo de algodão não refinado (886,8 kg m⁻³). De acordo com Oliveira et al. (2015), a Resolução ANP n° 45 estabelece que a densidade deve apresentar entre 850 – 900 kg m⁻³, ficando os biodieseis dentro desta faixa.

Com relação à umidade, observa-se baixo teor de água nos óleos estudados, sendo 0,0694% para o óleo de algodão não refinado e 0,0229% para o óleo de algodão refinado. Essa característica é importante no processo de produção de biodiesel, uma vez que, de acordo com Serqueira (2014), a alta umidade provoca reação de saponificação, justificando o fato de ter sido realizado a secagem dos óleos antes da produção de biodiesel. Ao avaliar a umidade de óleos refinados de soja, canola, milho e girassol, Fuentes (2011) obtiveram valores que não ultrapassaram 0,07%. Fernandes (2011) também obteve baixo teor de água para o óleo de algodão refinado, cerca de 0,0004%

No que se refere às análises de viscosidade, índice de acidez e índice de saponificação, encontra-se na Tabela 5 os resultados obtidos tanto para os óleos quanto para os biodieseis a partir de metanol.

Tabela 5: Viscosidade, índice de acidez e índice de saponificação dos óleos e biodieseis produzidos a partir de metanol como reagente alcoólico

Tratamentos	Viscosidade (mm ² s ⁻¹)	Índice de acidez (mg KOH g ⁻¹ amostra)	Índice de saponificação (mg KOH g ⁻¹ amostra)
-------------	---	--	---

Óleo não refinado	93,47 a	0,13	144,16 b
Óleo refinado	96,10 a	0,08	143,45 b
Biodiesel de óleo não refinado	39,87 b	1,45	175,45 a
Biodiesel de óleo refinado	39,32 b	0,57	181,76 a
CV (%)	5,39	110,44	5,92
Valor F	155,30*	2,13 ^{NS}	9,73**
Prob. >F	1,4 10 ⁻⁴	0,24	0,03

*: altamente significativo ($p < 0,01$); **: significativo a 5% de probabilidade; NS: não significativo ($p > 0,05$); CV: coeficiente de variação; Prob.: probabilidade. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Duncan.

Fonte: Autores.

De acordo com Silva e Neto (2013), a viscosidade cinemática refere-se à medição da resistência ao escoamento sob ação da gravidade de certa massa de fluido em relação ao seu volume, correspondendo ao atrito interno dos fluidos por ocasião basicamente das interações intermoleculares. Nesse contexto, nota-se na Tabela 5 que os valores de viscosidade de ambos óleos de algodão estudados – não refinado ($93,47 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) e refinado ($96,10 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) – não diferiram estatisticamente, bem como ambos biodieseis produzidos a partir destas matérias-primas - $39,87 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ para o biodiesel sintetizado a partir de óleo de algodão não refinado e $39,32 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ para o biodiesel sintetizado a partir de óleo de algodão refinado - entretanto os óleos diferiram estatisticamente dos biodieseis.

Com relação ao índice de acidez, caracteriza-se como a massa de hidróxido de potássio (KOH) em miligramas necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes e um grama de amostra de óleo (SILVA; NETO, 2013). No caso do óleo de algodão não refinado, o baixo índice de acidez sugere que, apesar de ele não ter passado pelo processo de refino, ele passou por um processo de correção de acidez durante sua fabricação.

Esse baixo índice de acidez apresentado tanto pelo óleo de algodão não refinado ($0,13 \text{ mg KOH g}^{-1}$ amostra) quanto pelo óleo de algodão refinado ($0,08 \text{ mg KOH g}^{-1}$ amostra) é uma característica importante, pois, segundo Silva e Neto (2013), a utilização de matérias-primas com índice de acidez elevado é um dos grandes problemas enfrentado pela produção de biodiesel por transesterificação – rota convencional – restringindo a utilização desta rota a alguns poucos óleos vegetais, uma vez que pode ocasionar formação de sabão e prejudicar o rendimento da reação por ocasião do consumo do catalisador básico. Ao avaliar o índice de óleo de algodão refinado,

Fernandes (2011) obteve valor equivalente à 0,52 mg KOH g⁻¹ amostra, enquanto para o biodiesel metílico e etílico partindo desta matéria-prima, valores de, respectivamente, 0,17 e 0,16 mg KOH g⁻¹ amostra.

A Resolução ANP nº 42 (ANP, 2008) estabelece que o índice de acidez não deve ultrapassar 0,80 mg KOH g⁻¹ amostra, portanto somente o biodiesel sintetizado a partir de óleo de algodão refinado se enquadrou nesta resolução. Com relação ao biodiesel sintetizado com óleo de algodão não refinado, o alto coeficiente de variação (110,44%) explica este resultado, sendo que a realização da síntese de biodiesel a partir desta matéria-prima além de duas vezes (duplicata) poderia esclarecer os resultados, pois uma repetição se enquadrou na resolução enquanto a outra não.

Ao avaliar o índice de saponificação (IS), observa-se que o óleo não refinado (144,16 mg KOH g⁻¹ amostra) não diferiu estatisticamente do óleo refinado (143,45 mg KOH g⁻¹ amostra), enquanto esses valores diferiram dos resultados obtidos para os biodieseis a partir tanto do óleo não refinado (175,45 mg KOH g⁻¹ amostra) quanto refinado (181,76 mg KOH g⁻¹ amostra), sendo que no caso dos biodieseis a matéria-prima não influenciou no índice de saponificação. Por outro lado, Fernandes (2011) obteve valor inferior de índice de saponificação para óleo de algodão refinado, equivalente à 170 mg KOH g⁻¹ amostra.

Segundo Oliveira et al. (2015), o IS é definido como a massa em miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para neutralizar – saponificar – um grama de ácidos graxos – gordura. Os autores, ao sintetizar biodiesel, obtiveram biodieseis com IS mais semelhantes ao obtidos com o biodiesel a partir de óleo de algodão refinado neste trabalho, sendo que os valores foram de 97,14 mg KOH g⁻¹ amostra o biodiesel sintetizado com óleo de algodão e 96,69 mg KOH g⁻¹ amostra com óleo de soja.

Com relação ao teor de metanol residual nos biodieseis sintetizados utilizando metanol como reagente alcoólico, encontra-se na Tabela 6 os valores mensurados para cada matéria-prima (óleo não refinado e refinado) e repetição (repetição A e repetição B).

Tabela 6: Teor de metanol residual nos biodieseis produzidos a partir de metanol como reagente alcoólico

Tratamentos	Teor de metanol % (m/v)
Biodiesel de óleo não refinado A	0,0494
Biodiesel de óleo não refinado B	<0,0396
Biodiesel de óleo refinado A	<0,0396
Biodiesel de óleo refinado B	<0,0396

Fonte: Autores.

A Resolução ANP nº 42 (ANP, 2008) estabelece que o teor máximo de metanol no biodiesel seja 0,5% (m/m). Considerando a densidade de cada tratamento (biodiesel) da Tabela 6, o teor de biodiesel de óleo refinado é equivalente a 0,0552% (m/m), enquanto para os demais tratamentos este valor não ultrapassa 0,0454% (m/m). Portanto, os biodieseis obtidos estão em conformidade com esta resolução.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante os resultados obtidos entre os biodieseis sintetizados a partir do óleo de algodão não refinado e refinado pela rota metílica, conclui-se que o objetivo do trabalho foi atingido, não sendo observada diferença significativa quanto aos parâmetros avaliados entre essas matérias-primas na produção de biodiesel, sugerindo que a etapa de refino do óleo de algodão pode ser desnecessária para a produção de biodiesel. Essa etapa de refino dependerá das características da matéria-prima, o que pode agregar valor ao processo como um todo. Segue para estudos posteriores a produção de biodiesel utilizando a rota etílica, pois não apresentou os resultados esperados, indicando que a etapa de purificação do biodiesel com água não foi eficiente, sendo recomendado a utilização de outras formas de purificação, como a utilização de materiais adsorventes.

AGRADECIMENTOS

Ao estagiário Evandro, professora Ana Lúcia e funcionários do laboratório Fernanda e Ariel.

REFERÊNCIAS

ABRAPA – Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. *Algodão no Brasil*. 2019. Disponível em: <https://www.abrapa.com.br/Paginas/dados/algodao-no-brasil.aspx>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ALMEIDA, J. K. P. de et al. Caracterização físico-químicas de óleos vegetais utilizados para produção de biodiesel com metodologias alternativas simples. *In: Encontro nacional de engenharia de produção*, 31., 2011, Belo Horizonte. *Anais... ABEPRO*, 2011. p. 1-14. Disponível em: http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2011_TN_STP_135_855_18349.pdf. Acesso em: 2 mar. 2019.

AMARAL, F. P. *Estudo das características físico-químicas dos óleos da amêndoa e polpa da macaúba [Acronomia aculeata (Jacq.) Lodd. Ex Mart]*. 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/90468/amaral_fp_me_botfca.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 02 mar. 2019.

AMIPA – Associação Mineira dos Produtores de Algodão. *Produção Eficiente do Algodão Brasileiro*. Disponível em: <https://amipa.com.br/sobre-o-algodao/producao>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ANPPAS – Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Ambiente e Sociedade. *As oleaginosas como fonte energética renovável e incentivo a produção dos biocombustíveis no estado do Pará*. 2004. Disponível em: <http://www.anppas.org.br/encontro5/cd/resumos/GT17-548-510-20100524232339.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. *Resolução ANP nº 42*. 2008. Disponível em: <http://legislacao.anp.gov.br/?path=legislacao-anp/resol-anp/2004/novembro&item=ranp-42--2004>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Biodiesel**. 2016. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em: 10 nov. 2019.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Biodiesel**. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/biodiesel/simp-biodisel>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ARAUJO, A. E. et al. *Algodão*. Brasília: Embrapa, 2004. Disponível em: <http://mais500p500r.sct.embrapa.br/view/pdfs/90000001-ebook-pdf.pdf>. Acesso em: 4 mar. 2019.

BARROS, E.; MEDEIROS, J. F.; PEREIRA, N. C. Análise das propriedades físico-químicas do óleo de soja degomado visando à produção de biodiesel. *In: Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar*, 8., 2013, Maringá. *Anais...* Maringá: Editora CESUMAR. Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Janaina_Fernandes_Medeiros_02.pdf. Acesso em: 02 mar. 2019.

BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. **Matérias-primas e produtos**. *Agência Embrapa de Informação Tecnológica*. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj0847od02wyiv802hvm3juldruvi.html>. Acesso em: 24 jun. 2019.

BATISTA, T. N.; MAYNART, M. C.; SUFFREDINI, H. B. Separação eficiente de glicerol e biodiesel utilizando-se *blends* de metanol e etanol. *In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 31., 2008, Águas de Lindóia. *Anais...* Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/31ra/resumos/T0762-1.pdf>. Acesso em: 20 maio 2019.

BIODIESELBR. *Algodão*. 2006b. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/plantas/algodao/algodao>. Acesso em 23 de junho de 2019.

BIODIESELBR. *Algodão*. 2006c. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/plantas/algodao/algodao>. Acesso em: 03 mar. 2019.

BIODIESELBR. *O que é o Biodiesel?*. 2006a. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel>. Acesso em: 23 jun. 2019.

BORTOLETO, G. G. et al. Produção de biodiesel a partir de resíduos gordurosos de frango. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, v. 7, n. 2, p. 77-97, 2017. Disponível em:

<http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/237/150>. Acesso em: 07 mar. 2019.

BRASIL. *Câmara dos deputados*: Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2005/lei-11097-13-janeiro-2005-535383-normaatualizada-pl.html>. Acesso em: 23 jun. 2019.

CARTONI, C. R. *Avaliação de catalisadores alcalinos na produção de biodiesel metílico derivado do óleo de soja: análise técnica, econômica e ambiental*. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97136/tde-20082013-090453/publico/EQD09005.pdf>. Acesso em: 20 maio 2019.

ENCARNAÇÃO, A. P. G. *Geração de Biodiesel pelos Processos de Transesterificação e Hidroesterificação, Uma Avaliação Econômica*. 2007. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.tpqb.eq.ufrj.br/download/biodiesel-via-trans-e-hidroesterificacao.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2019.

FERNANDES, D. M. *Obtenção e caracterização físico-química dos biodieseis metílico e etílico de algodão*. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/17343>. Acesso em: 24 jun. 2019.

FUENTES, P. H. A. *Avaliação da qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento*. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/95494>. Acesso em: 24 jun. 2019.

GARCIA, C. M. *Transesterificação de óleos vegetais*. 2006. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade estadual de Campinas, Campinas, 2006. Disponível em: <http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtls000386845.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2019.

GERIS, R. et al. Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. *Quím. Nova*, v. 30, n. 5, p. 1369-1373, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n5/a53v30n5>. Acesso em: 03 mar. 2019.

GRIMALDI, R. **Óleo de Algodão – Composição e Refino**. *Editora Stilo*, 2017. Disponível em: <https://www.editorastilo.com.br/oleo-de-algodao-composicao-e-refino/>. Acesso em: 03 mar. 2019.

JESUS, F. F. et al. Influência do refino de óleo de girassol na síntese de biodiesel etílico. *In*: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 5.; Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 8., 2012, Salvador. *Anais...* Lavras: UFLA, 2012, p. 799-800. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65053/1/2012-085.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2019.

NASCIMENTO, R. A. *O óleo de algodão como fonte para o biodiesel*. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/cba6/palestras/1507.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2019.

OLIVEIRA, M. A. B. et al. Síntese e caracterização de biodiesel de algodão e soja. *In: Congresso Nacional de Engenharia de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis*, 1.; Workshop de Engenharia de Petróleo, 3., 2015, Campina Grande. *Anais...* Editora Realize. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conepetro/trabalhos/Modalidade_4datahora_08_04_2015_21_54_11_idinscrito_1120_8ffa0c9459ba370fa993f866fcd91.pdf. Acesso em: 17 fev. 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Áustria, Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 12 out. 2018.

SALVADOR, P. M. et al. Estudo de diferentes catalisadores para produção de biodiesel: viabilidade dos catalisadores heterogêneos. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, v. 6, n. 2, p. 31-46, 2016. Disponível em: www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/183/127. Acesso em: 02 mar. 2019.

SERQUEIRA, D. de S. *Avaliação da estabilidade oxidativa de misturas binárias de biodieseis metálicos obtidos a partir de óleos de soja, algodão, canola, girassol, milho e residual*. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/17401>. Acesso em: 24 jun. 2019.

SILVA, L. S. da. *Laercio*: Duncan test, Tukey test and Scott-Knott test. R package version 1.0-1, 2010.

SILVA, T. A. R.; NETO, W. B. Estudo da redução da acidez do óleo residual para a produção de biodiesel utilizando planejamento fatorial fracionado. *Rev. Virtual Quím.*, Uberlândia, v. 5, n. 5, p. 828-839, 2013. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v5n5a05.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2019.

SOARES, S.; MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. A flow-based procedure exploiting the lab-in-syringe approach for the determination of ester content in biodiesel and diesel/biodiesel blends. *Talanta*, v. 174, p. 556-561, 2017.

SUAREZ, P. **Metanol ou Etanol: algumas considerações**. *Biodieselbr*, 2008. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/colunistas/suarez/metanol-ou-etanol-consideracoes-20-02-08>. Acesso em: 23 jun. 2019.

Piracicaba/SP, estagiando no laboratório de físico-química da Mérieux Nutriscience, no mesmo município. Cursa inglês no nível B1+ na Achieve Languages, em Piracicaba/SP.

2 Heurilen Reis dos SANTOS possui curso Técnico profissionalizante em Química pela ETEC “Cel. Fernando Febeliano da Costa” – Centro Paula Souza (2014) e Ensino Médio pela EE. “Pedro de Mello” (2012). Atualmente é estagiário na APTA – Polo Regional Centro Sul – Piracicaba-SP. Tem experiência na área de Biotecnologia.

3 Jucélio de Oliveira CARVALHO discente da FATEC Piracicaba, curso de Tecnologia em Biocombustíveis.

4 Luis Ricardo Nascimento da SILVEIRA discente da FATEC Piracicaba, curso de Tecnologia em Biocombustíveis.

5 Tiago Motta PALMER discente da FATEC Piracicaba, curso de Tecnologia em Biocombustíveis.

6 Gisele Gonçalves BORTOLETO Bacharel em Química pelo IQ- UNICAMP (2001), licenciada em Química pela Faculdade de Educação da UNICAMP (2003), mestre em Química Analítica pelo IQ-UNICAMP (2003) e doutora em Ciências pelo IQ-UNICAMP (2007), realizou pós doutoramento no Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA-USP (2007-2008). É professora dos cursos de Alimentos e de Biocombustíveis da FATEC Piracicaba - Centro Paula Souza desde 2008 e coordena o curso de Tecnologia em Biocombustíveis. Atualmente é membro do Conselho Técnico do Parque Tecnológico de Piracicaba, membro do Conselho Municipal de Educação e Representante de Curso do Conselho Regional de Química.

Implantação de ferramentas de qualidade 5s e vsm numa linha de produção em uma indústria metal-mecânica na região de Piracicaba – estudo de caso

Mazzonetto, Alexandre Witier
Martins, Alex Bragaia

Resumo

As empresas tentam aperfeiçoar suas produções e seus recursos produtivos, para se tornarem mais competitivos e ampliar seus lucros. O *lean manufacturing* trabalha para reduzir as perdas de recursos na produção, como processos obsoletos e/ou dispendiosos, bem como enxugar etapas que não agregam valor ao produto final. Este trabalho foi um estudo de caso em uma empresa metalmeccânica, onde se implantaram as ferramentas 5S e VSM. Foram analisadas e propostas melhorias no processo de usinagem e constataram-se alguns pontos a serem melhorados, juntamente com a implantação das ferramentas, pois a empresa estudada tinha muito potencial para melhorias nos processos, por isso as implantações das ferramentas propostas foram bem aceitas pela direção da empresa. Foi sugerida a divisão do pátio fabril em células, para melhorar o controle da produção, foi criado um sistema para mensuração dos retrabalhos e refugos gerados durante a produção. Os resultados obtidos foram positivos, como aumento na produtividade, relocação de mão-de-obra para novos projetos e redução do tempo de ciclo.

Palavras chave: *Lean manufacturing*; 5S; VSM, melhorias, produtividade.

Abstract

Companies try to improve their productions and productive resources to become more competitive and increase their profits. Lean manufacturing works to reduce the loss of production resources, such as obsolete and / or costly processes, as well as streamline steps that do not add value to the end product. This work was a case study in a metalworking company, where 5S and VSM tools were implemented. Improvements in the machining process were analyzed and proposed, and some points to be improved were found, along with the implementation of the tools, as the company studied had a lot of potential for process improvements, so the proposed tool deployments were well accepted by management. from the company. It was suggested to divide the factory yard into cells to improve production control, and to create a system for measuring rework and scrap generated during production. The results were positive, such as increased productivity, relocation of labor to new projects and reduction of cycle time.

Keywords: Lean Manufacturing; 5S; VSM, improvements, productivity

Resumen

Las empresas intentan mejorar sus producciones y recursos productivos para ser más competitivas y aumentar sus ganancias. La fabricación ajustada trabaja para reducir la pérdida de recursos de producción, como procesos obsoletos y / o costosos, así como simplificar los pasos que no agregan valor al producto final. Este trabajo fue un estudio de caso en una empresa metalúrgica, donde se implementaron herramientas 5S y VSM. Se analizaron y propusieron mejoras en el proceso de mecanizado y se

encontraron algunos puntos a mejorar junto con la implementación de las herramientas, ya que la compañía estudiada tenía mucho potencial para mejoras en el proceso, por lo que las implementaciones de las herramientas propuestas fueron bien aceptadas por la gerencia. la empresa. Se sugirió dividir el patio de la fábrica en celdas para mejorar el control de la producción y crear un sistema para medir el retrabajo y los desechos generados durante la producción. Los resultados fueron positivos, como el aumento de la productividad, la reubicación de la mano de obra a nuevos proyectos y la reducción del tiempo del ciclo

Palabras clave: *Lean manufacturing*; 5S; VSM, mejoras, productividad.

INTRODUÇÃO

Segundo o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas - SEBRAE (2017), a economia brasileira vem passando por uma das maiores recessões de sua história. A indústria nacional é um dos setores que mais sofreu com essa retração econômica e tenta articular ações, que recuperem seus prejuízos, retomem níveis de produção saudáveis e aumente a confiança do empresário, para que direcione investimentos para seus negócios.

A qualidade da produção é uma estratégia para que as empresas consigam reduzir custos, diminuir ou eliminar desperdícios em seus processos produtivos e de serviços. O conceito qualidade é desenvolvido junto aos colaboradores desde a admissão, a fim de envolvê-los nesta cultura organizacional.

A produtividade considera a relação entre o produto/serviço e o custo total (insumos mais mão-de-obra) para produzi-lo. Então, a produtividade depende essencialmente do *output*, ou seja, o numerador da fração, e do *input*, isto é, o denominador (MARTINS, 2015).

Pensando nesse cenário, ferramentas como 5S e VSM (*Value Stream Mapping*), trazem em sua essência mudanças culturais de grande importância para as organizações que desejam melhorar e/ou aumentar sua competitividade.

O objetivo deste trabalho foi implantar as ferramentas 5S e VSM para melhorar a produtividade da empresa, reduzir o *lead time* e mensurar o retrabalho e refugo, após as implementações.

REVISÃO DE LITERATURA

Conforme *Joint Comission Resources* (2013), a origem do processo do pensamento *lean*, conhecido como Sistema Toyota de Produção (STP), tem o Japão como cenário. Em 1902, Sakichi Toyoda, fundador do Grupo Toyota, inventou um tear que parava imediatamente de funcionar se algum dos filamentos se rompesse.

O conceito do *Lean Manufacturing* ou produção enxuta é definido como um sistema sócio técnico integrado, cujo objetivo principal consiste em gerar melhorias a um processo produtivo eliminando desperdícios e aumentando sua eficiência. Este método não consiste somente na implantação de novas ferramentas no processo produtivo, mas também no foco no lado humano, encontrando um meio em que os funcionários e gestores colaborem com a implantação do sistema enxuto (HASLE; BOJESEN; JENSEN; BRAMMING, 2012).

Liker (2013) impressionou o mundo com a produção enxuta e suas características simples e eficazes. Melhoria contínua, redução de desperdícios, gestão visual e envolvimento dos funcionários são alguns dos elementos básicos desse sistema de gestão que possibilitam que a organização entregue mais qualidade e flexibilidade com um tempo de resposta muito curto.

As operações do *Lean Manufacturing* permitem a redução de desperdícios cortando processos que são ineficientes e melhoram o valor da cadeia de atividades, abordando um sistema que cria operações eficientes juntamente com os melhores conceitos e práticas. Esses conceitos incluem produção puxada, gestão da qualidade, melhoria contínua planejamento e metodologia de resolução de problemas (JADHAV, MANTHA e RANE, 2013).

De acordo com o *Lean Enterprise Institute* (LEI, 2018) há cinco processos básicos para a implementação do *Lean Manufacturing*, são eles:

- i- Especificar o valor da família de produtos de acordo com o ponto de vista do cliente final;
- ii- Identificar todos os passos no mapa do fluxo de valor de cada família de produtos, eliminando todos os possíveis passos que não agregam valor;
- iii- Garantir que no mapa de valor cada etapa ocorra na sequência correta estabelecida chegando ao cliente no menor tempo possível;
- iv- Estabelecer a produção puxada de acordo com as necessidades do cliente;
- v- Com os valores especificados, desperdícios eliminados, e o conceito de fluxo introduzido, o processo torna-se contínuo até atingir o estado de perfeição onde não haja nenhum desperdício.

Examinar toda a cadeia produtiva e dividir os processos em três tipos: aqueles que efetivamente geram valor, aqueles que não geram valor, mas são importantes para a manutenção dos processos e da qualidade e, por fim, aqueles que não agregam valor, devendo ser eliminados imediatamente. A característica da eliminação de estoque (estoque zero) é inserida nessa filosofia por meio deste princípio, pois não deve haver produção se não houver pedidos, o que por consequência, eliminará peças em estoque. As empresas devem canalizar seus esforços para tentar alcançar o estado ideal, utilizando a melhoria contínua, em processos claros e que os membros da cadeia em sua totalidade, conheçam os processos profundamente e possam se comunicar para buscar incessantemente, as melhores formas para agregar e criar valor (LEAN INSTITUTE, 2018).

Kaizen utiliza questões estratégicas com base no tempo. Nesta estratégia, os postos-chave para a produção ou processos produtivos são: a qualidade (como melhorá-la), os custos

(como reduzi-los e controlá-los), e a entrega pontual (como garanti-la). O fracasso de um destes três pontos significa perda de competitividade e sustentabilidade nos atuais mercados globais (IMAI, 2018). A Figura 1 ilustra como realizar o *kaizen*.

Figura 1. *Kaizen*: como realizar o *kaizen*



Fonte: Maltoni (2018).

Segundo Liker e Convis (2013), o *lean* foi desenvolvido para tornar os desperdícios visíveis, a fim de desafiar as pessoas e com isso proporcionar-lhes a oportunidade de crescimento. Na linguagem da engenharia industrial consagrada pela Toyota, perdas (*Muda*, em japonês) são atividades completamente desnecessárias que geram custos, e não agregam valor, e que devem ser eliminadas imediatamente. A classificação das perdas em sete grandes grupos, a saber:

- i. Perda por superprodução: produção em excesso ou precocemente;
- ii. Perda por espera: períodos de ociosidade de pessoas peças e informações;
- iii. Perda por transporte: movimentos em excesso, de pessoas peças e informações;
- iv. Perda no próprio processamento: utilização inadequada de máquinas e sistemas;
- v. Perda por estoque: armazenar em excesso e falta de informação;
- vi. Perda por movimentação: ambiente de trabalho desorganizado;
- vii. Perda por fabricação de produtos defeituosos: produtos com defeitos.

Para Corrêa e Corrêa (2017) não é possível que uma empresa continue competitiva sem que busque novas formas de realizar os seus processos. A busca sempre será no que tange a melhoria das atividades, onde independentemente do número de vezes que um processo foi melhorado, sempre será possível realizar novas melhorias, diminuindo tempo, erros, espaço e esforços.

Em decorrência do acirramento da competitividade, empresas e indústrias têm procurado priorizar ganhos de produtividade, eficiência e qualidade nas suas operações. Neste contexto,

sistemas de produção com alta confiabilidade têm sido apontados como fator crítico para a construção de vantagem competitiva na indústria (SINGH et al., 2014). Para tanto, a manufatura deve ser suportada por estratégias de manutenção que sejam eficientes e efetivas. Com isto, a manutenção tem se tornado fator relevante na estratégia de competição de empresas industriais (AHUJA, 2012).

O uso de ferramentas específicas que são de fácil entendimento e implementação tem grande impacto no aumento do nível de internalização da qualidade, e isso influencia positivamente para uma melhor concepção dos componentes dessa gestão (TARÍ; PEREIRA e HERAS-SAIZARBITORIA, 2013).

Algumas ferramentas da qualidade são:

- *Brainstorming*: Consiste em um método para colher um grande volume de idéias, sem críticas e em um espaço curto de tempo, as pessoas emitem suas ideias de forma não processual, ou seja, as ideias podem ser simples ou muito bem elaboradas (SEBRAE, 2017).
- Controle estatístico do processo (CEP): Consiste em um método de controle da variabilidade média e desvio padrão de uma certa grandeza fazendo uso das cartas de controles. A intenção é que os limites dos processos sejam atendidos (CARVALHO; PALADINI, 2012).
- Diagrama de *Ishikawa*: O método consiste em uma representação gráfica que permite a organizar as informações por semelhança a partir de seis eixos principais (método, material, máquinas, meio ambiente, mão de obra e medição), com isso possibilita identificar as possíveis causas de uma determinada discrepância, ou efeito, de forma específica e direcionada (MONTGOMERY, 2013).
- Fluxograma: Esse método consiste numa representação sequencial das atividades e dos processos, esse método possibilita a identificação dos problemas e sua causa raiz (MONTGOMERY, 2013).
- Gráfico de Pareto: É método de representação gráfica e estatística que tem por objetivo organizar e identificar os dados conforme a necessidade, como por exemplo, índice de refugo em linha de produção (MONTGOMERY, 2013).
- Histograma: O histograma é uma ferramenta estatística que, em forma de gráfico de barras, ilustra a distribuição de frequência (MONTGOMERY, 2013).
- *Poka Yoke*: O conceito dessa ferramenta é mitigar as discrepâncias por meio de mecanismos simples “à prova de erros” (ENDEAVOR, 2018).

- PDCA: Segundo Martins e Laugeni (2015) o PDCA é uma [ferramenta da Qualidade](#) utilizada no controle de processos, que tem como foco a solução de problemas. Sua aplicação consiste em quatro fases:

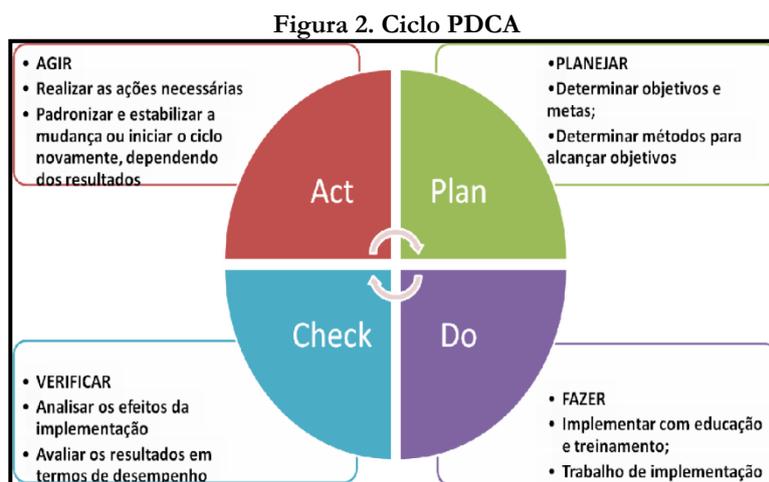
- P (*plan*: planejar): seleção de um processo, atividade ou máquina que necessite de melhoria e elaboração de medidas claras e executáveis, sempre voltadas para obtenção dos resultados esperados;

- D (*do*: fazer): implementação do plano elaborado e acompanhamento de seu progresso;

- C (*check*: verificar): análise dos resultados obtidos com a execução do plano e, se necessário, reavaliação do plano;

- A (*act*: agir): caso tenha obtido sucesso, o novo processo é documentado e se transforma em um novo padrão.

O PDCA é apresentado pela Figura 2.



Fonte: *Lean Institute* (2018).

Conforme Lee (2017), após a implantação dos 5S, a taxa de redução dos riscos de acidente devido à organização e padronização é de 70% a melhora no *layout* interno reduz entre 5 a 60%, e por consequência o aumento da produtividade é de 15 a 50%, a melhora é diretamente relacionada quanto ao envolvimento e ao comprometimento, a movimentação que não agrega valor ao produto ou a movimentação excessiva, é eliminada, a disciplina é o ponto máximo para busca de novas melhorias.

De acordo com o Serviço Nacional da Indústria - SENAI (2018) o programa 5S provém das iniciais de cinco palavras japonesas e as mesmas possuem significados distintos: *Seiri*, *Seiton*, *Seiso*, *Seiketsu* e *Shitsuke*, sobre cada senso um dos cinco sentidos:

Seiri (utilização) – nomear os materiais, objetos, maquinários, ferramental, com informações, como, necessário ou desnecessário, desfazendo ou refugando os itens que não são necessários ou dando outro destino aos mesmos;

Seiton (ordenação) – nomear os objetos, padronizar a utilização e determinar a localização apropriada para guarda-los e no caso de refugos descartá-los em locais apropriados, o objetivo é que todos obedeçam ao procedimento, retirar do local apenas quando for ser utilizado e devolver após o uso na localização correta e guarda-los nas mesmas condições em que foram retiradas;

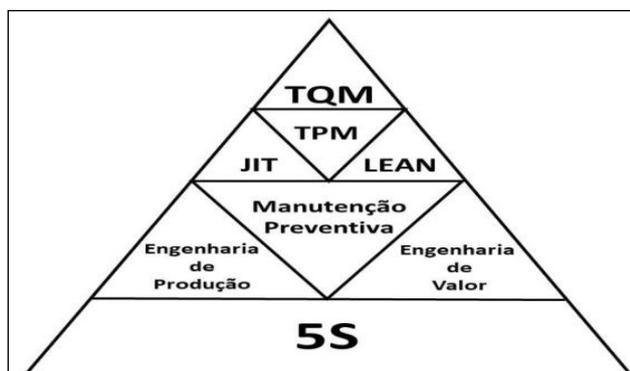
Seiso (limpeza) – esse senso relaciona-se ao ato de realizar limpeza e identificar os focos de sujeira, deve-se pensar em estratégias para sanar os problemas e evitar que ocorram novamente, salientando que um ambiente limpo evita acidentes.

Seiketsu (saúde) – esse senso é conhecido também como senso de asseio, está diretamente ligado a manutenção dos 3 sentidos anteriores, porém é acrescentado as tarefas diárias, a questão da higiene pessoal e sua segurança profissional.

Shitsuke (autodisciplina) – esse senso está vinculado a manutenção do programa, ou seja, a disciplina é fundamental para que o programa 5S funcione e atenda as expectativas.

Randhawa e Ahuja (2017) afirmam que o 5S é o suporte para a implantação de inúmeras ferramentas de produção enxuta e da qualidade tais como JIT, *Kaizen*, TPM (*Total Productive Maintenance – Manutenção Produtiva Total*), TQC (*Total Quality Control - Controle de Qualidade Total*), SMED (*Single Minute Exchange of Die – Troca rápida de Ferramentas*), *Kanban* e *Poka-Yoke*. A Figura 3 apresenta a relação do 5S com outras ferramentas.

Figura 3. A ligação do 5S com outras ferramentas da produção enxuta



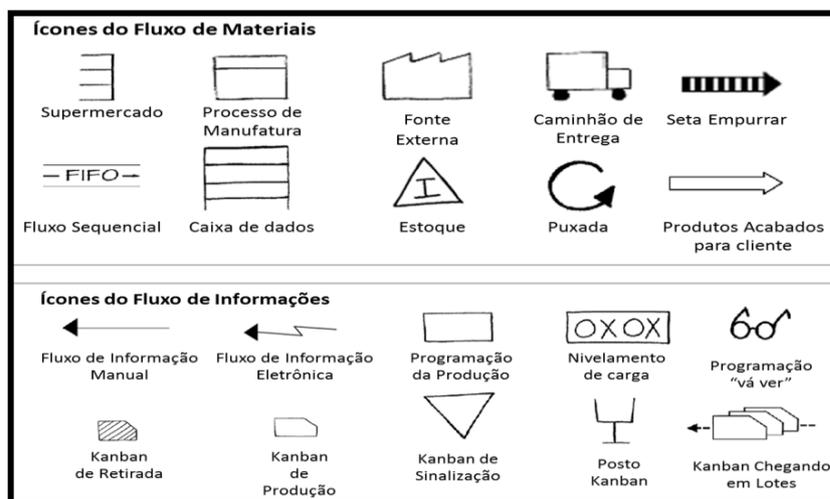
Fonte: Randhawa e Ahuja (2017).

Value Stream Mapping (VSM) ou Mapa de fluxo de valor (MFV)

A visualização por meio da técnica do MFV teve seu início na Toyota Motor Company®, onde era utilizada inicialmente como uma forma de conhecer melhor os processos de fabricação. Com o passar dos anos ela se disseminou pelo mundo e sendo muito utilizada pelas empresas com muito êxito na melhoria dos processos e operações, reduzindo tempos e custos por meio da redução de perdas e desperdícios (LIKER, 2013).

Através da ferramenta VSM os processos ficam muito mais fáceis de serem visualizados e explicados, com isso todos os níveis da empresa passam a conhecer e entender todos os processos da empresa. O VSM tem como objetivo visualizar o fluxo de produção para que seja identificado de forma ágil os desperdícios e suas causas. O mapa de fluxo de valor consegue unir o fluxo de informação com o fluxo de materiais para identificar a família de produtos, considerando desde a entrada com fornecedores até a entrega com o cliente. O VSM não precisa cálculos completamente exatos, desde que representem o fluxo e o valor agregado. Como vantagem e para melhor compreensão, os autores estabelecem uma série de figuras padronizadas (Figura 4) para apresentar os elementos de processos produtivos, com o objetivo de manter uma comunicação simples do processo (ROTHER e SHOOK, 2012).

Figura 4. Série de figuras padronizadas utilizadas no VSM



Fonte: Rother; Shook (2012).

METODOLOGIA

De acordo com Instituto de Pesquisas e Planejamento de Piracicaba – IPPLAP (2015), o setor da indústria de Piracicaba, que abrange o segmento metal-mecânico está inserido, representa 27 % do Produto interno bruto – PIB da cidade.

A empresa escolhida para realização do projeto foi empresa do setor metalmeccânico, prestadora de serviços no segmento de usinagem de precisão, que está situada em Piracicaba – SP e possui aproximadamente 280 funcionários.

As ferramentas implantadas foram 5S e VSM, por possibilitarem maiores mudanças nas rotinas e baseiam-se nas boas práticas da produção.

Foi acompanhada a família de um determinado produto, desde a chegada da matéria-prima até a entrega da peça finalizada, estando essa em conformidade com as especificações do cliente, também foram desenhados mapas de fluxo do estado inicial e fluxo do estado final, sendo que nesse último teve a descrição das melhorias realizadas no processo de fabricação.

Foram mensurados os índices de retrabalho e refugo, pois a empresa não os mensurava. Toda peça que foi refugada na linha de produção, passava para o inspetor da qualidade responsável pela linha de produção. Para os casos de retrabalhos constatados pela inspeção final, era preenchido um relatório de retrabalho pelo inspetor responsável pelo lote de peças.

Realizou-se um estudo no pátio fabril da empresa, onde se constatou que seria necessário diminuir a área de atuação da linha de comando.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No mês de setembro de 2017, ocorreu outra reunião onde foi apresentado para o Diretor, que o plano seria implantar a ferramenta 5S nas seções dos tornos e na inspeção final e que seria realizado o mapa de fluxo de valor atual e posteriormente o mapa de fluxo de valor futuro, em uma determinada família de produtos. A ideia foi prontamente aceita pelo Diretor.

No mês de outubro de 2017, foi realizado o treinamento da ferramenta 5S para os funcionários dos setores dos tornos e inspeção final, a implantação foi iniciada no mesmo mês. Os colaboradores tiveram uma excelente recepção ao treinamento, o que facilitou a implantação.

No mês de novembro de 2017, iniciou-se o acompanhamento do mapa de fluxo atual da família de produtos escolhida, constando-se os pontos que não agregavam valor ao produto.

Esses pontos foram apresentados para o Diretor no mês de janeiro de 2018, foi apresentado também o mapa de fluxo de valor futuro, onde imediatamente o Diretor, solicitou aos setores envolvidos que realizassem as melhorias necessárias, para que o mapa de fluxo de valor futuro entrasse em vigor no próximo lote de peças da família estudada, que seriam usinadas.

No mês de dezembro de 2017, foi realizada a auditoria do programa 5S, onde foi constatado que o a implantação estava completa e gerando frutos, principalmente na questão organização. No mês de fevereiro de 2018, foram auditados novamente os setores; verificou-se que o 5S fazia parte da rotina desses setores, considerando que o programa foi implantado com sucesso.

No mês de março de 2018, foi acompanhado novamente o mapa de fluxo da família de produtos estudada, com as melhorias realizadas para atender o mapa de fluxo de valor futuro, onde ficaram constatado os ganhos em relação ao *lead time* e tempo de processamento das peças.

Durante o estudo foi possível identificar pontos que poderiam ser melhorados, como por exemplo, a questão de que a o pátio fabril da empresa, não possuía divisão das seções, e mediante a isso foi sugerido que o pátio fabril fosse dividido em células, para facilitar as questões de planejamento e também de auxílio aos funcionários, foi apresentada a ideia para o diretor no mês de janeiro de 2018 e no mês de fevereiro, teve início a implantação das células no pátio fabril.

Antes da implantação o pátio fabril, possuía apenas um supervisor e um gerente, após a implantação o pátio fabril, ficou dividido em sete células e foram promovidos mais seis (6) encarregados, para melhorar as questões de planejamento e também para aumentar o auxílio aos operadores.

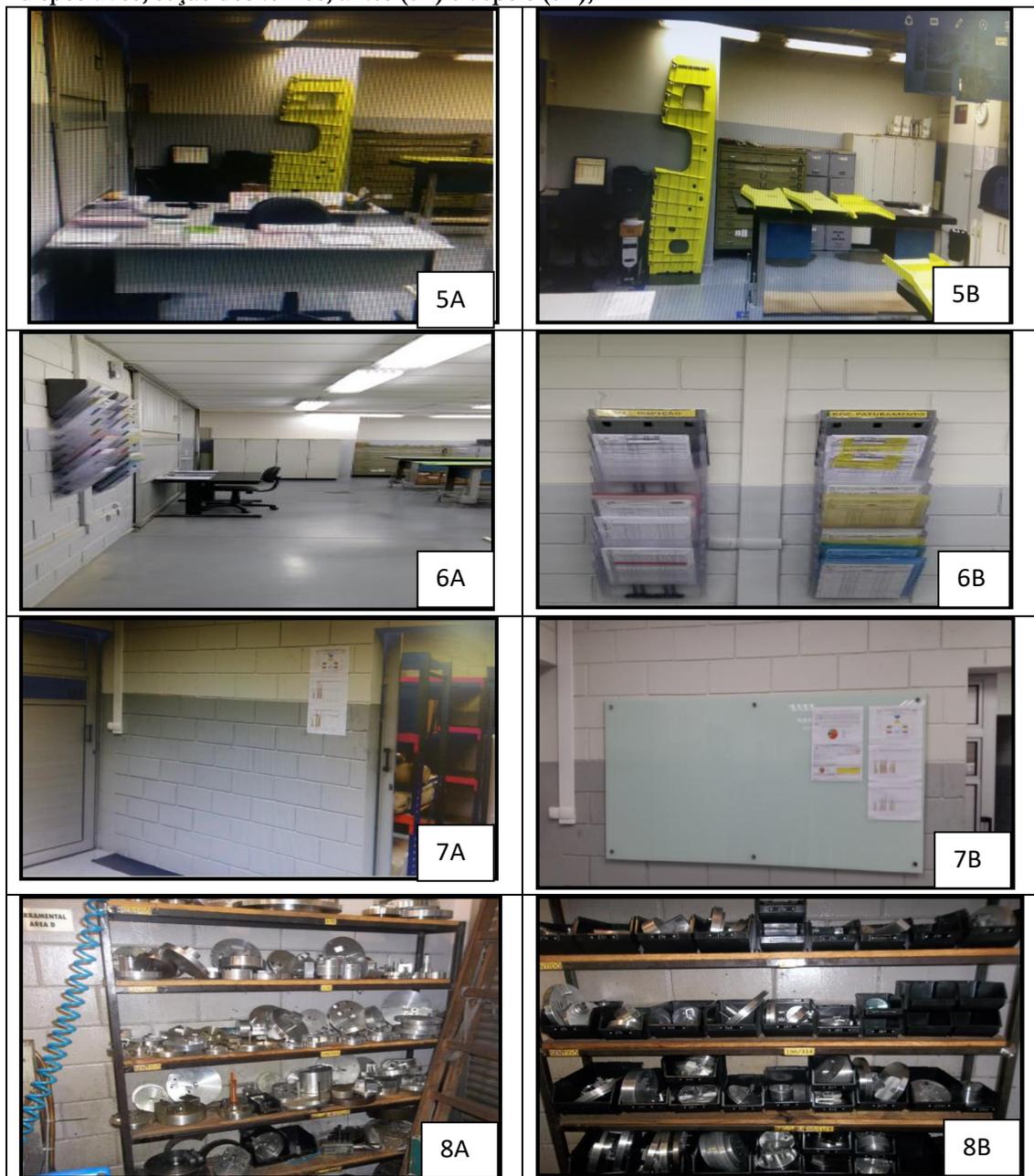
A quantidade de máquinas era muito elevada para que apenas três pessoas comandassem e distribuíssem os serviços, gerando confusão entre os operadores que não sabiam quais as melhores sequências das operações deveriam ser realizadas. Por vezes os operadores deixavam as máquinas paradas aguardando um dos responsáveis para indicar qual serviço deveria ser executado. O levantamento foi apresentado para o Diretor da empresa, para que a empresa fosse dividida em células, para facilitar e melhorar o controle da produção.

Aplicação do programa 5S

Foi adotado o programa 5S inicialmente para dois setores, a inspeção final e a seção dos turnos. Os resultados apresentados foram satisfatórios, conforme as Figura 5A a 10B mostram. Houve treinamento sobre o programa 5S junto aos funcionários do setor da inspeção final.

A Figura 5A apresenta a sala da inspeção final, onde se pode notar uma desorganização; não existe local certo para as documentações nem para colocar as peças que estão em inspeção.

Figuras: 5 - Sala inspeção antes (5A) e final (5B); 6 - Inspeção final, antes (6A) organização dos documentos – Depois (6B); 7 – Outra vista da sala de inspeção, antes (A) e depois (B); 8 – Armário de dispositivos, seção dos tornos, antes (8A) e depois (8B);



Fonte: Autores

Na seção dos tornos igualmente a seção da inspeção final, foi realizado o treinamento do programa 5S, as fotos mostram o antes e o depois do treinamento.

Após o treinamento sobre o programa 5S, é possível notar técnicas do programa 5S sendo aplicadas no armário onde são guardados os dispositivos dos tornos, os dispositivos foram

acondicionados em caixas, e as mesmas estão identificadas pela numeração dos desenhos, ou seja, os operadores não precisam perder tempo procurando os dispositivos.

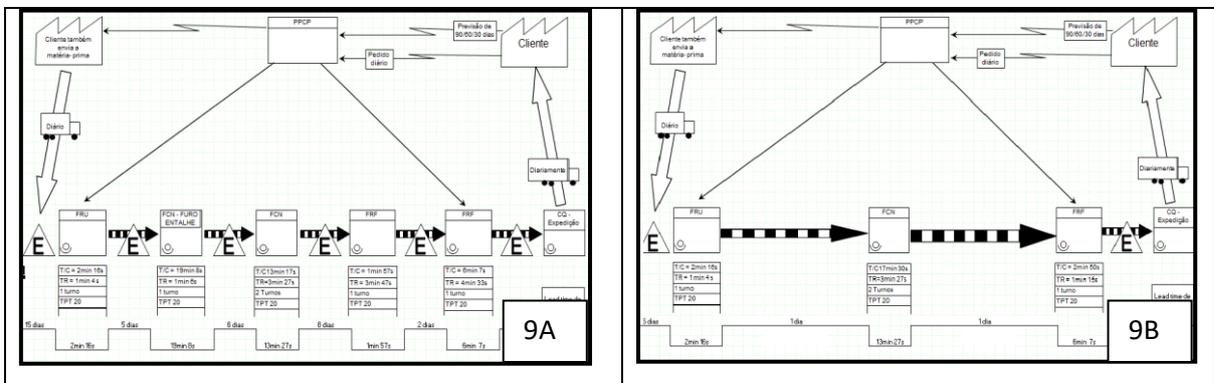
O programa foi eficiente, principalmente na questão organização, gerando um aspecto visual muito melhor e principalmente por não se perder tempo em procurar os dispositivos, como pode ser visto nas Figuras de 5 a 8,

Ferramenta Value Stream Mapping (VSM) ou Mapa de fluxo de valor (MFV) sendo aplicado

O mapa de fluxo de valor representou o fluxo de informações e de materiais, conforme a ferramenta proposta por Rother e Shook (2012).

A Figura 9A apresenta o mapa de fluxo de valor do estado inicial, esse mapa é referente à família de produtos estudada, e nesse mapa é possível identificar o fluxo, desde a chegada da matéria-prima na empresa, até a saída da peça acabada, ou seja, no mapa é possível identificar todo processo produtivo no qual as peças necessitam passar, também é possível identificar todo tempo em que as peças ficam paradas, aguardando o processamento

Figuras: 9A - VSM estado inicial; 9B – como deverá ficar

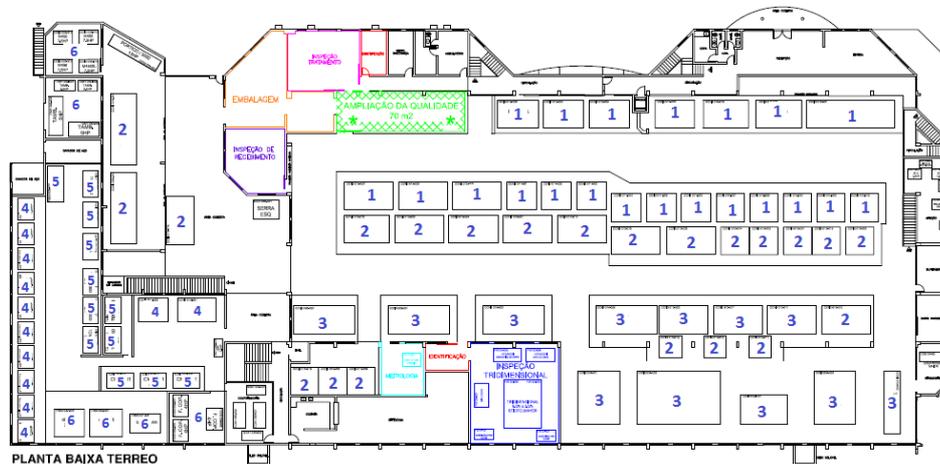


Fonte: Autores

A Figura 9 B apresenta o mapa de fluxo de valor do estado atual, da família de produtos estudada, com propostas de mudanças realizadas, nesse mapa atual é possível identificar as mudanças realizadas, foram eliminadas as operações FCN – Furo Entalhe e uma das operações de FRF, com isso foi possível diminuir o tempo de processamento e diminuir o *lead time*.

Utilizando os conceitos da ferramenta VSM, foi possível identificar que no mapa de fluxo do estado atual possuía processos que poderiam ser eliminados, pois os mesmos poderiam ser realizados pela FCN, diminuindo-se o tempo e consequentemente o lead time. O lead time do estado inicial para um lote de 15 peças era de 41 dias, já no estado atual, o lead time para um lote

Figura 20. Produção após divisão por células



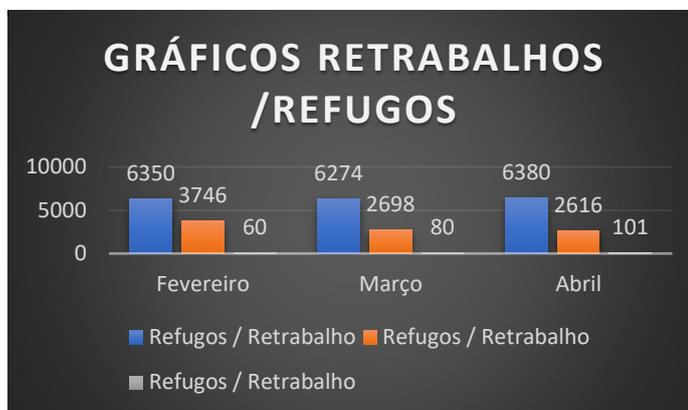
Fonte: Autores

As divisões facilitaram o controle da produção e resolveram o problema que ocorria com os operadores, não saberem a sequência ideal do processo. Deste modo, antes de terminar a operação, o operador já sabe qual a próxima etapa, pois o ferramental e o dispositivo já estão localizados próximos à máquina.

Retrabalho e refugo

A mensuração gerou um grande impacto para alta direção da empresa, era de conhecimento da gerência e dos diretores que existia um alto índice de retrabalhos e refugos, porém como não era mensurado, não era possível saber o valor real envolvido. O Gráfico 1 apresenta os resultados dos retrabalhos, coletados entre os meses de fevereiro a abril.

Gráfico 1. Gráficos retrabalhos/refugos



Fonte: Autores.

Constatou-se que o aumento na porcentagem dos refugos estava diretamente ligado ao fato de que a empresa teve aumento no quadro de funcionários. E pelo fato de que a empresa possui alguns processos complexos de usinagem, a falta de experiência nos processos elevou o índice de refugos. Os erros variaram desde a forma correta de fixar a peça, até a falta de entendimento nas informações dos programas CNC. Com os índices levantados, a empresa decidiu tomar algumas ações, para evitar que esses erros se repitam. Ficou acordado que os funcionários novos trabalhem em processos menos complexos e só seria aumentada a complexidade do serviço, quando o encarregado perceber a aptidão do novo funcionário.

O retrabalho diminuiu após a apresentação do gráfico, gerou uma participação maior dos operadores no sentido de prestarem mais atenção em suas tarefas, a fim de evitar os erros apontados no Gráfico 1.

Os resultados do trabalho foram sintetizados no Quadro 1.

Quadro 1. Problemas x soluções

<p>1) A inspeção final, possui um layout que prejudica o trabalho dos inspetores, não possui locais exclusivos para as peças, documentos e desenhos.</p>	<p>1) Foi melhorado o layout, aumentando a distância entre as bancadas. Foi dividido setor em duas etapas, antes do tratamento superficial e após tratamento superficial. Foram inseridas televisões para visualização dos desenhos e foi fixado na parede do setor, um quadro “porta documentos” evitando que os mesmos ficassem em cima das bancadas.</p>
<p>2) Os dispositivos necessários para o setor dos tornos ficam em um armário sem qualquer</p>	<p>2) Foram compradas caixas para que cada dispositivo seja guardado em caixas exclusivas, as caixas foram</p>

divisão, gerando muita dificuldade para encontrar o dispositivo necessário.	organizadas pelo PN de cada dispositivo e foram organizadas por ordem crescente, dessa forma o tempo para encontrar o dispositivo é mínimo, não gerando atrasos para a produção.
3) Problemas com processos desnecessários.	3) Foi configurado o mapa de fluxo de valor em três PN's da mesma família, para diagnosticar a situação dos processos. Foram constatados processos desnecessários, foram corrigidos os mesmos, dessa forma foi possível ganhar 54% e 49% no tempo de processamento.
4) Dificuldade para passar serviço, uma vez que a empresa possui muitas máquinas e não possui qualquer divisão de seção, o serviço é passado por apenas um encarregado, um supervisor e o gerente que transmite quais eram as prioridades. Por vezes máquinas ficam paradas aguardando um responsável passar o serviço ou aguardando para sanar dúvidas.	4) O pátio fabril foi dividido em seis células e foi dado a oportunidade mais 5 encarregados, com isso não se perdeu mais tempo com máquina parada por não saberem qual sequência a ser seguida e principalmente o tempo de resposta para qualquer dúvida dos operadores; com as alterações, o encarregado ficou próximo das máquinas.
5) A empresa não possuía mensuração dos retrabalhos e refugos, então o problema refletia na inspeção final. Para o planejamento, as peças estavam na inspeção final e sempre atrasadas, gerando muito problemas para o controle de qualidade e para o faturamento.	5) Foi criada uma planilha para mensurar os retrabalhos e refugos constatados pela inspeção final. Assim a empresa sabe o valor monetário gerado pelos retrabalhos e refugos.

Fonte: Autores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após muitos estudos realizados na linha de produção, no layout que compunha a produção, no mapa de fluxo de valor e na organização, chegaram-se as melhorias que foram bem recebidas pela empresa.

Com a utilização do programa 5S e da ferramenta VSM, obteve-se melhora na eficiência das atividades, reduziram-se operações, conseqüentemente diminuí-se o lead time, organizaram-se as seções dos tornos e inspeção final.

Com essas melhorias e modificações aplicadas na empresa, implantaram-se o programa 5S na seção dos tornos e inspeção final; diminuíram-se operações com a utilização da ferramenta VSM. Obteve-se ganho no lead time e no tempo de processamento, mensuraram-se os refugos e retrabalhos.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, I. Exploring the impact of effectiveness of total productive maintenance strategies in manufacturing enterprise. *International Journal of Productivity and Quality Management*, v. 9, n.4, p. 486-501, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1504/IJPQM.2012.047194>. Acessado em 25/03/2018.
- CARVALHO, Pedro Carlos. *O programa 5S e a qualidade total*. 5. edição – São Paulo: Alínea, 2011.
- CARVALHO, M. M.; PALADINI, E. P. (Coord.). *Gestão da Qualidade: teoria e casos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- CORRÊA, H. L.; CORRÊA, C. A. *Administração de Produção e Operações: manufatura e serviços: uma abordagem estratégica*. São Paulo: Atlas, 2017.
- GUNASEKARAN, A.; NGAI, E. W. T. *The future of operations management: An outlook and analysis*, v. 135, n. 2, p. 687-701, 2012.
- HASLE, P.; BOJESEN, A.; JENSEN, P. L.; BRAMMING, P. Lean and the working environment: a review of the literature. *International Journal of Operations & Production Management*, vol. 32, n. 7, p. 829-849, 2012. DOI 10.1108/01443571211250103.
- IMAI, M. *KAIZEN Institute*. Disponível em www.kaizen.com. Acesso em 4 de abril de 2018.
- IPPLAP. Disponível em: <http://ipplap.com.br/site/piracicaba-em-dados/> Acessado em: 20/12/2017.
- JADHAV, J. R.; MANTHA, S. S.; RANE, S. B. Exploring barriers in lean implementation. *International Journal of Lean Six Sigma*, India, v. 5, n. 2, p. 122-148, set. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1108/IJLSS-12-2012-0014>. Acesso em: 15 mar. 2018.
- JOINT COMMISSION RESOURCES. *O pensamento Lean na saúde*. Porto Alegre: Bookman, 2013.
- LEAN INSTITUTE BRASIL. Disponível em <http://www.lean.org.br/>. Acesso 25/03/2018.
- LEE, Q. *5 “S” and visual control: Productivity improvement at the micro-level*, 2017.
- LIKER, J. K.; CONVIS, G. L. *O modelo Toyota de liderança lean*. 1. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2013.
- MARTINS, P. G.; LAUGENI, F. P. *Administração da Produção*. São Paulo: Saraiva, 3. Ed., 2015.
- MONTGOMERY, D. C. *Introdução ao controle estatístico da qualidade*. 4. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013.
- RANDHAWA, J. S.; AHUJA, I. S. 5S - A quality improvement tool for sustainable performance: Literature review and directions. *International Journal of Quality & Reliability Management*, v. 34, p. 334-361, 2017. ISSN 3.

ROTHER, M.; SHOOK, J. *Aprendendo a enxergar*: mapeando o fluxo de valor para agregar valor e eliminar o desperdício. São Paulo: Lean Institute Brasil, 2012.

SEBRAE. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/bis/brainstorming-tempestade-de-ideias,0f08000e96127410VgnVCM1000003b74010aRCRD>. Acesso em 26/05/2018.

SENAI. *Ferramentas da Qualidade*. SENAI-SP, 2018.

SHOOK, J. e MARCHWINSKI, C. *LÉXICO LEAN* – Glossário Ilustrativo para praticantes de Pensamento Lean, 5. Ed. São Paulo: Lean Enterprise Institute, 2011.

SLACK, N.; CHAMBERS, S.; JOHNSTON, R. *Administração da Produção*. 8. Ed. São Paulo: Atlas, 2018.

TARÍ, J. J.; PEREIRA, J.; HERAS-SAIZARBITORIA, I. Internalization of quality management in service organizations. *Managing Service Quality*, v. 23, n. 6, p. 456-473, 2013.

WERKEMA, C. *Lean Seis Sigma*: introdução às ferramentas do Lean Manufacturing. Série Seis Sigma, V. 1. Ed. Elsevier, 2011.

1 Alexandre Witier MAZZONETTO possui Graduação em Engenharia Agrícola pela Universidade Estadual de Campinas - FEAGRI/UNICAMP. Mestrado em Engenharia Agrônômica - Máquinas Agrícolas/Biomassa - Colheita Integral de Cana Crua, pela Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, Doutorando pela Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas - Departamento de Energia - FEM/UNICAMP (Caracterização, potencial energético e combustão de biomassas residuais da região de Piracicaba - SP). Na Graduação envolveu-se em Pesquisa/Desenvolvimento de processos térmicos, desenvolvendo um secador rotativo de sementes e outro de leito fluidizado. Desde o Mestrado vem trabalhando com fontes renováveis de energia e biomassas residuais (tratamento e geração de energia); levando-o a cursar Química na Universidade Mackenzie (Bacharel, Licenciatura e Industrial). Processos térmicos para obtenção de biocombustíveis, gaseificação, pirólise e combustão/incineração, e combustíveis sustentáveis, gás de síntese (Syngas), produção e uso do biogás. Professor na FATEC Piracicaba (Biocombustíveis e Gestão Empresarial).

2 Alex Bragaia MARTINS possui graduação em Tecnologia em Gestão Empresarial pela FATEC Piracicaba – Centro Paula Souza.

Logística interna do processo de localização de documentos: um estudo de caso em empresa do ramo de equipamentos eletrônicos

Almeida, Evandro Marinelli de

Lima, Heloísa Cristina Barbosa de

Silva, Vanessa de Gillos

Resumo

Nas organizações se torna cada vez mais difícil se localizar documentos devido à grande demanda. Por isso os sistemas de localização de documento se tornam ferramentas ágeis e fundamentais para auxiliar nessa tarefa. O objetivo do trabalho é demonstrar os benefícios da implantação e utilização do sistema de localização de documentos, evidenciar a importância de seu controle, para poder apresentar as melhorias da implantação do sistema de mapeamento e localização da documentação. Para isso foi realizado um estudo de caso em uma empresa localizada em Piracicaba/SP onde a dificuldade com a localização e controle dos documentos ocorria. Foram feitas entrevistas com os funcionários diretamente envolvidos na localização de documentos para verificar as mudanças ocorridas. Verificou-se que a implantação do sistema para a localização de documentos gerou benefícios para a empresa, tais como agilidade na localização e maior controle de documentos.

Palavras-chave: documentos; logística; *intranet*.

Abstract

Because the high demand of documents, it is becoming increasingly difficult to locate them in the organizations. That is why document localization systems become agile and fundamental tools to assist in this task. The objective of this paper is to demonstrate the benefits of the implementation and use of the document localization system, highlighting the importance of its control in order to present the

improvements of the documentation localization and mapping system implementation. For this, a case study was conducted in a company located in Piracicaba/SP where the difficulty with the location and control of documents occurred. Interviews were conducted with employees directly involved in locating documents to verify the changes that occurred. It was found that the implementation of the system for document localization generated benefits for the company, such as agility in localization and greater control of documents.

Keywords: documents; logistics; intranet.

Resumen

En las organizaciones cada vez es más difícil localizar documentos debido a la gran demanda. Es por eso que los sistemas de localización de documentos se convierten en herramientas ágiles y fundamentales para ayudar en esta tarea. El objetivo de este documento es demostrar los beneficios de la implementación y el uso del sistema de localización de documentos, destacando la importancia de su control para presentar las mejoras de la implementación del sistema de localización y mapeo de documentación. Para esto, se realizó un estudio de caso en una empresa ubicada en Piracicaba / SP donde se produjo la dificultad con la ubicación y el control de los documentos. Se realizaron entrevistas con empleados directamente

involucrados en la localización de documentos para verificar los cambios que ocurrieron. Se encontró que la implementación del sistema para la localización de documentos generó beneficios para la empresa, como la agilidad en la localización y un mayor control de los documentos.

Palabras clave: documentos; logística; intranet.

INTRODUÇÃO

Localizar um documento, no âmbito de uma empresa, pode parecer uma tarefa simples, porém, os profissionais que trabalham com a localização destes necessitam de processos que tornem essa procura simples e rápida. As organizações encontram dificuldades em lidar com o elevado fluxo de documentos, as diversas informações produzidas e, ao mesmo tempo, lidam com o problema de sua localização (BUENO, 2013).

Para que a organização consiga estabelecer regras de fluxo de documentos, é importante que a empresa conheça como é e de que forma ocorre o fluxo dos documentos, sua estrutura, função, atividade, processo e procedimento administrativo (BUENO, 2013).

Neste contexto, a logística se faz necessária diante da importância do processo, que neste caso visa o planejar, implementar e controlar de forma eficiente e eficaz o fluxo dos documentos visando atender as necessidades dos clientes (FARIA e COSTA, 2011).

Para a tomada de decisões e/ou melhoria de processos em uma organização devem ser considerados alguns procedimentos, tais como: identificar falhas, constatar as partes relacionadas, definir possíveis soluções, verificar de diversos modos possíveis a solução mais adequada e priorizar as que levam em consideração fatores como: eficiência, eficácia e efetividade do processo, inserir a melhor alternativa, considerando o devido treinamento e aperfeiçoamento da equipe, analisar e avaliar a alternativa estabelecida por meio de critérios e padrões aprovados pela empresa (OLIVEIRA, 2009).

O objetivo do presente trabalho é verificar os pontos positivos e negativos da implantação de um sistema de localização de documentos vinculado ao sistema *intranet* de uma empresa que atua no ramo de equipamentos eletrônicos localizada em Piracicaba/SP, evidenciando a importância do controle de documentos e demonstrando as melhorias sucedidas na implantação do sistema de mapeamento e localização da documentação.

REVISÃO DE LITERATURA

Logística nas Organizações

É relevante demonstrar e definir a logística da documentação interna, como fator de total importância na organização.

A logística empresarial trata de todas as atividades de movimentação e armazenagem, que facilitam o fluxo de produtos desde o ponto de aquisição da matéria-prima até o ponto de consumo final, assim como dos fluxos de informação, que colocam os produtos em movimento, com o propósito de

providenciar níveis de serviço adequados aos clientes a um custo razoável (BALLOU, 2012, p. 12).

Com a elaboração do projeto de localização de documentos, pretende-se unir todos os setores, fazendo um sistema que seja disponível e que tenha assim o acesso a informação (FERNANDES, 2008). No Brasil ainda é recente o emprego da Logística de uma forma integrada, como uma nova estratégia capaz de criar, nas empresas, uma sincronização entre os seus departamentos.

Carvalho (2003) retrata que o avanço da tecnologia permitiu incorporar sistemas informatizados, e esses são voltados para atender às atividades da organização e de seus diversos departamentos.

Esse avanço da tecnologia aumentou a capacidade da logística, um exemplo é que antes não era possível criar um banco de dados como é feito hoje, integrando diversos setores, o que possibilita o aumento de produtividade logística (FERNANDES, 2008).

Nazário (1999) cita o exemplo da empresa Souza Cruz que contava com uma frota de 900 veículos para atender a demanda de 200 mil clientes no Brasil, e a solução para este obstáculo foi à obtenção de um roteirizador logístico, um *software* que auxiliou na obtenção de rotas, trazendo uma eficiência de 99% do cotidiano da empresa.

Nas organizações é importante se obter os recursos necessários para se desempenhar sua função com qualidade, seja essa na logística como nos demais processos. O objetivo da administração de materiais deve ser prover o material certo, no local de operação certo, no instante correto e em condições utilizável ao custo mínimo (BALLOU, 2012). Com esses dados, é possível aplicar a logística nos setores em geral da empresa, não apenas nos setores de operação, mas também nos demais setores como administrativo, por exemplo.

Logística Interna no Setor Administrativo

A logística interna segundo Sousa (2012) diz respeito ao processo que envolve o recebimento, guarda, controle e distribuição de quaisquer materiais utilizados por uma organização.

Sendo os documentos um dos materiais presentes em uma organização estarão ligados a logística interna, de forma que sua localização, armazenagem e controle devem também possuir ordem, conforme os aspectos logísticos. Robredo (2004) coloca que toda a tecnologia de informação oferecida possui soluções para ajudar quanto à organização de documentos variados.

Geralmente nas organizações há a necessidade de encontrar documentos rapidamente. Se o documento é utilizado com frequência, o tempo de busca pode diminuir, porém, o processo não deve ser demorado para que haja a satisfação do solicitador que poderia ser o dono da empresa, funcionário, cliente ou até mesmo um fornecedor, mas também para demonstrar a eficiência e organização do setor ou departamento.

A gestão de documento estará presente em todos os ciclos que envolvem o documento, a partir de quando for produzido até o momento em que for eliminado ou arquivado, para que as etapas sejam realizadas de maneira correta. Tal gestão documental vem para melhorar os processos deixando-os mais eficientes, garantindo para organização uma padronização e diminuição de falhas. Faz-se necessário o acompanhamento do sistema de tecnologia da informação neste processo logístico, para suprir a pressão mercadológica e mostrar maior eficiência, utilizando o modo de gestão documental e obtendo maior competitividade com a gestão eletrônica de documentos (ROBREDO, 2004).

Sistematização do Projeto

A informática surge nas empresas para trazer agilidade, mas ela pode ser considerada uma intrusa e causar deficiência e incompatibilidade de ideias. Mesmo assim, quando a empresa está preparada ela pode ser uma ferramenta benéfica e que pode acelerar todas as demais (OLIVEIRA, 2009).

Para que o projeto de localização de documentos comece a funcionar precisa-se de um sistema, o qual armazene, controle, distribua e gerencie as informações. Faria (2011) define sistema como: conjunto organizado de pessoas, *hardware*, *software*, redes de comunicação e recursos de dados que coletam, transformam e disseminam informações em uma organização.

Existe uma diferença entre dados e informação, sendo o dado um elemento bruto e que não conduz a compreensão, já a informação seria o dado transformado e com utilidade para a tomada de decisão (FARIA, 2011).

A Tecnologia da Informação (TI) é usada na organização como diferencial conduzindo à compreensão do dado transformado, o que resulta em competitividade e oportunidades para a empresa, que trabalha com mais agilidade e flexibilidade na tomada de decisões, ocasionando benefícios como a redução de custos e a inovação em processos (ALBERTIN e ALBERTIN, 2009).

A total interação das variáveis e componentes (inovação, flexibilidade, qualidade, produtividade e custo) indica a influência no processo e, conseqüentemente, no resultado da empresa que possibilita o benefício para o negócio e seu aproveitamento, de acordo com as diferentes proporções de benefício oferecido. Em cada proporção desejada e definida pelo cliente ou usuário são refletidos os benefícios ocasionados que serão medidos também pelos clientes e usuários (ALBERTIN e ALBERTIN, 2009). Os dados ainda contribuem para auxiliar no processo de tomada de decisão, que através da tecnologia da informação possibilitam de forma precisa a realização de relatórios e indicadores. Pode-se ainda complementar que os benefícios possibilitam a redução de custos bem como o aumento de produtividade que estará indicando o avanço de qualidade de informação (ALBERTIN e ALBERTIN, 2012).

Métodos Organizacionais para o Setor Administrativo

O projeto de localização de documentos tem objetivo de realizar o mapeamento de documentos existentes na empresa, utilizando a informática integrada. Oliveira (2009) ressalta que para a implantação de um sistema de informação é necessária à existência de um banco de informações, que detém todos os dados da empresa. Estes bancos de informação podem ter diversas formas, tais como um disquete, um servidor ou uma gaveta, enfim locais de armazenamento disponíveis para serem consultados.

Chiavenato (2010) reforça que a base de um sistema de informação é o banco de dados, e que este deve acumular os dados e deixá-los disponíveis para o processamento e obtenção da informação de forma organizada e intensificar a melhoria no acesso aos dados, eliminando assim a redundância ou duplicata.

Araújo (2011) acrescenta que o sistema de informação tem o intuito de trazer fluxos de informação e dar suporte aos gestores no processo de decisão conduzindo assim as decisões e conclusões na organização.

Para obter-se uma maior funcionalidade na busca por dados, deve se realizar um arranjo físico que de acordo com Oliveira (2009) se obtém benefícios, tais como: fluxo de comunicação entre as unidades, otimização de área disponível da empresa, melhoria do fluxo de trabalho, proporcionar a redução da fadiga e ocasionar um clima favorável para o trabalho e o aumento da produtividade, visando sempre à eficácia e eficiência.

A estruturação segundo Araújo (2011) é um sistema que pode reunir todos os benefícios citados no parágrafo acima por Oliveira (2009) e melhorar a sua dinâmica e ação da organização.

Tendo em vista o intuito de fusão do sistema e do pessoal e objetivando o desenvolvimento da organização, Oliveira (2009) define desenvolvimento organizacional como um processo planejado e estruturado que visa mudar o comportamento nas empresas e otimizar os resultados táticos e operacionais.

Sendo a mudança um processo vantajoso para a organização que de acordo com Araújo (2011, p. 260) “a empresa que não sabe desenvolver capacidade de adaptação acaba ficando obsoleta”.

Carreira (2009) confronta a percepção de tempo de um indivíduo normal para um administrador e usa a frase “tempo é dinheiro” para afirmar que o desperdício de tempo é um dos principais causadores de entropia nas empresas e ressalta que o desperdício de tempo na organização ocorre devido aos fatores: falta de organização, duplicidade de controle, ausência de planejamento, deslocamento necessário de pessoas ou materiais e a realização de trabalhos inúteis.

Os problemas citados na gestão de documentos das organizações geram perda de tempo na identificação, controle e arquivo dos mesmos.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de caso em uma empresa que atua no ramo de equipamentos eletrônicos na cidade de Piracicaba/SP para a elaboração de um sistema de localização de documentos integrado à intranet, apresentando as vantagens e os resultados obtidos após sua implantação.

Foram feitas entrevistas com funcionários dos setores de tecnologia de informação e administrativo financeiro nos meses de agosto e setembro de 2015, apresentando caráter qualitativo exploratório, com o intuito de receber o *feedback* dos funcionários que estão testando o sistema para que estes expressem os resultados atingidos com a implantação.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

As entrevistas foram realizadas nos setores de tecnologia da informação e administrativo financeiro da empresa em estudo.

Setor de Tecnologia da Informação

Em entrevista com o analista de desenvolvimento de sistema e responsável pelo setor de tecnologia da informação, que também é o principal responsável pelo processo de implantação do sistema, o mesmo comenta que a ideia de implementação do sistema de localização de documentos surgiu devido à necessidade de controlar e localizar documento, determinar quanto tempo eles ficam disponíveis na empresa.

No setor de tecnologia da informação, o processo de implantação do sistema de localização de documentos foi feito a partir do desenvolvimento interno do setor administrativo financeiro, e suas especificações. Acrescentou que o “*sistema em si ele é um sistema que está integrado com outro sistema de gestão administrativa [...] e então ele entrou como uma adição a esse sistema, foi implementado juntamente com o sistema administrativo*” que já existia, facilitando o acesso ao sistema de localização de documentos.

As dificuldades encontradas foram padrões de qualquer desenvolvimento de sistema. São dificuldades em atender as especificações, neste caso passadas pelo setor administrativo, e enfatiza “*é o tipo de dificuldade que ocorre em qualquer desenvolvimento de qualquer sistema, nada específico contra ele em si*”.

Quanto à utilização da intranet da empresa para a hospedagem do sistema de localização de documentos, ressalta que foi utilizado por dois motivos “*primeiro porque ele é parte de um outro sistema que já foi implementado no intranet, logo, ele também vai ser implementado no intranet*” além disso “*porque a intranet é acessível de qualquer computador*” facilitando assim o acesso e utilização, pois, não

tem a necessidade de fazer a instalação de nenhum programa, recorrendo apenas a um navegador de escolha para obter o acesso.

Em relação aos pontos positivos, destaca que o tempo de implantação foi relativamente rápido e o objetivo pretendido foi alcançado: *“todo sistema está sempre em melhoria constante, porém, atingiu o objetivo proposto”*. Sobre os pontos negativos destaca a dificuldade em atender as especificações solicitadas pela gerente do setor administrativo financeiro e afirma *“ela demanda umas coisas que não cabem muito bem sabe, mas foram implementadas, então tá tudo certo”* demonstrando assim dificuldade em atender aos distintos pedidos da gerente do setor administrativo financeiro, mas por fim tudo foi implementado e solucionado.

Setor Administrativo Financeiro

Entrevista com a gerente administrativo financeira

Inicialmente a gerente administrativo financeira, responsável pela área de administração de recursos humanos, fiscal e financeiro, cita que o setor é o que mais arquiva documentos e que os mesmos não são somente referentes ao setor administrativo. Esse fato contribuía para a demora na localização de documentos, mesmo tendo arquivos identificados.

Quando questionada sobre o propósito da implantação de um sistema de localização de documentos, disse que é exatamente para agilizar os processos e até citou *“Por que a gente já teve inclusive fiscalização, se tiver fiscalização eles dão prazo pra que a gente entregue esses documentos”*, e ainda acrescenta *“quanto mais ágil a gente achar, mais a gente atende aos prazos”*, demonstrando ser necessária a utilização de um sistema de localização de documentos. Albertin e Albertin (2009) destacam que a produtividade aliada à tecnologia de informação gera o benefício de um novo tempo, que neste caso é associado à rapidez no processo atual.

O sistema foi primeiramente implantado no setor administrativo financeiro devido ao maior fluxo de documentação. A visão da gerente é que no futuro o sistema de localização de documentos seja apresentado para outros setores da empresa, tais como: diretoria, de projetos, desenho mecânico entre outros.

Foram citadas as dificuldades encontradas no processo de implantação do sistema de localização de documentos, sendo a principal relacionada ao fato de como colocar as informações no sistema, pois neste caso o funcionário tem que parar o que está fazendo para alimentar o sistema com as devidas informações e ainda acrescenta *“porque ele vai ter que levantar, ele vai ter que pegar todo o arquivo, ele tem que cadastrar o arquivo para que o sistema rode e isso leva tempo, leva demanda e às*

vezes é o maior, o principal problema”. Ressalta que essa dificuldade é inicial, pois no momento em que tudo estiver cadastrado a manutenção do cadastro será corriqueira.

Quanto ao ponto positivo comenta como principal a *“agilidade na busca e evitar a falha de memória e erro humano”*, pois a empresa tem um grande volume de documentação que não é utilizada com frequência, o que poderia cair no esquecimento. Porém, o sistema facilita na busca por esta documentação, auxiliando então a memória e a eficiência.

Em relação ao ponto negativo, comenta que o principal é o erro humano uma vez que *“com o sistema a gente tem que cadastrá-lo antes de guardar, e se a gente esquecer de cadastrar a gente pode esquecer desse documento e até perdê-lo”*. Como erro humano existe, há a probabilidade do indivíduo se esquecer de alimentar o sistema, devendo o processo de cadastro de documentos ser uma rotina uma vez que, ao chegar o documento o funcionário deverá logo cadastrá-lo. Para que haja a rotina, o treinamento é fator chave na utilização de qualquer sistema, o que inclui também o sistema de localização de documentos, pois irá transmitir o procedimento de como dominar a ferramenta utilizada para localizar os documentos.

Em relação à aceitação do sistema de localização de documentos, ressalta que ocorreu de forma *“ótima e imediata”*, pois contribuiu também nas rotinas administrativas de forma direta, que para a gestora seria o que mais influencia e auxilia assim em seu manejo, não havendo dificuldades por parte dos funcionários na utilização do sistema de localização de documentos. Avalia também que pelo retorno obtido dos funcionários o sistema adotado está sendo ágil e muito útil.

O treinamento para a utilização do sistema de localização de documentos foi a própria implantação, pelo número de funcionários no setor, *“como nós temos poucos funcionários os próprios funcionários implantaram o sistema, e são os próprios que estão utilizando”*. O treinamento será necessário quando o sistema de localização de documentos for disseminado aos demais setores da organização, bem como da contratação de novos funcionários, pois não se aplica aos funcionários participantes da implantação subentendendo que estes possuem o conhecimento necessário.

A gerente diz estar satisfeita com os resultados obtidos com o sistema de localização de documentos e espera que, com o decorrer de seu uso, surjam mais ideias e melhorias para agilizar os processos, buscando sempre a melhoria contínua.

Por fim, a gerente destaca que *“mesmo estando em uma era digital existem ainda processos burocráticos que nos fazem levar muito em consideração a importância de guardar esses, guardar e localizar esses tipos de documento”* salientando que o sistema de localização de documentos tem grande importância e empregabilidade na organização.

Entrevista com assistente administrativo financeiro e estagiário da área administrativa

O assistente administrativo financeiro é responsável pelas tarefas financeiras, de contas a pagar, a receber, bem como conferências bancárias, elaboração de relatórios e cálculos de comissão. O estagiário da área administrativa desempenha tarefas administrativas de recursos humanos, financeiro e demais atividades solicitadas pela gerência do setor.

Em relação à entrevista realizada com as funcionárias do setor, a assistente administrativa aponta que antes da implantação do sistema, levava cerca de dez a vinte minutos para se localizar um documento não utilizado cotidianamente e documentos mais corriqueiros podem levar menos tempo em sua localização. O estagiário enfatiza que “*era bem complicado*” e levava cerca de quinze minutos em média para se localizar um documento. Ambas afirmam que após a implantação do sistema de localização de documentos o tempo de procura diminuiu para cerca de cinco minutos, e que “*o trabalho se tornou mais ágil*” segundo a assistente.

A melhoria no armazenamento e arquivamento de documentos foi notável, obteve como consequência a maior agilidade na localização, arquivamento e a busca dos documentos. Sucedeu também que em processos simples, como verificar se um documento já está guardado, se torna ainda mais simples de maneira que acrescenta a assistente “*não há mais necessidade de irmos até o arquivo e ter que procurar o documento dentro da pasta, apenas para confirmar se ele já está guardado ou foi recebido*”.

Quanto à interface do sistema de localização de documentos o estagiário cita que é “*fácil de entender, localizar e manusear*” e a assistente afirma “*por se tratar do intranet que já conhecemos não houve dificuldades em trabalhar com o sistema*”, com a utilização do sistema no ambiente já conhecido, que é o intranet da empresa, não há novidades no convívio da interface, estando ambas totalmente satisfeitas com o sistema de localização de documentos.

No que se trata de melhorias no sistema de localização de documentos o estagiário acredita que não seja necessária uma melhoria no exato momento e com o mesmo raciocínio a assistente acrescenta que “*mesmo que hoje não seja necessário, é sempre bom pensarmos em futuras melhorias*” o que irá colaborar com a melhoria contínua do sistema de localização de documentos, obtendo um programa cada vez mais abrangente de novas soluções administrativas, eliminando assim as possíveis dificuldades ou falhas. Atuando também na área de qualidade da empresa.

Estabelecendo relação entre a logística interna e a sistematização do mapeamento de documentos do setor administrativo permite alcançar a agilidade no processo. Segundo levantamento de dados nas entrevistas realizadas o efeito é a diminuição dos minutos na procura dos documentos solicitados, que irá

promover o maior aproveitamento do tempo para com as demais atividades da organização no decorrer do cotidiano.

Para comprovar essa otimização foi utilizado o método da relação do tempo entre o antes e o depois da utilização do sistema de localização de documentos, houve um ganho aproximado de 6,5 minutos na busca de documentos recentes, isso proporciona o ganho de cerca de uma hora caso haja a necessidade de buscar dez documentos. Para os documentos mais antigos houve a otimização de 9 minutos para a busca, isso proporcionaria cerca de uma hora e trinta minutos de ganho na necessidade da busca de dez documentos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o estudo de caso realizado foi possível verificar que uma organização necessita de um sistema de localização de documentos, e que este possibilita agregar valor na rotina administrativa resultando em benefícios na sua utilização. A empresa encontrava dificuldades no controle e monitoramento de seus documentos físicos, o que ocasionava um desaproveitamento de tempo de trabalho em relação à questão da localização dos documentos desejados.

O estudo possibilitou demonstrar benefícios na utilização do sistema de localização de documentos, ajudando nas rotinas e colaborando no aproveitamento do tempo para uma simples pesquisa e localização de documentos, podendo assim se dedicar a outros afazeres.

No decorrer do processo de implantação surgiu a dificuldade de disponibilizar tempo para o cadastro da documentação, sendo o único obstáculo na parte de implantação, pois, no cotidiano empresarial é tido como algo que se torna rotineiro, cadastrar o documento no sistema assim que a documentação chega ao setor administrativo.

Já surgiram resultados no setor no qual o sistema foi inicialmente implantado, havendo uma boa aceitação por parte dos funcionários, que já estavam habituados com a plataforma em que o sistema de localização de documentos foi implantado, facilitando assim a utilização do sistema.

Por fim, concluiu-se que com a implantação do sistema de localização de documentos a empresa em estudo conseguiu estabelecer um fluxo logístico de seus documentos, obtendo maior controle e resultando assim em maior agilidade nas rotinas administrativas e revertendo em bons resultados no mapeamento dos documento

REFERÊNCIAS

- ALBERTIN, Alberto Luiz, ALBERTIN, Rosa Maria de Moura. Dimensões de Uso de Tecnologia da Informação: um instrumento de diagnóstico e análise. *Rev. Adm. Pública*, Rio de Janeiro, vol. 46, n.1, p. 125-151, jan./fev. 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-76122012000100007. Acesso em: 17 out. 2015.
- ALBERTIN, Alberto Luiz, ALBERTIN, Rosa Maria de Moura. *Tecnologia de Informação e Desempenho empresarial: as dimensões de seu uso e sua relação com os benefícios de negócio*. 2. ed. 2. reimpr. São Paulo: Atlas, 2009.
- ARAUJO, Luis César G. de. *Organização Sistemas e Métodos e as Tecnologias de Gestão Organizacional*. 4. ed. 5. reimpr. São Paulo: Atlas, 2011.
- BALLOU, Ronald H. *Logística Empresarial: transportes, administração de materiais e distribuição física*. 1. ed. 26. reimpr. São Paulo: Atlas, 2012.
- BUENO, Danilo André. *Mapeamento de Fluxos Documentais como Elemento de Identificação Arquivística no Âmbito da Gestão de Documentos*: Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Ciência da Informação da Universidade Federal Fluminense (PPGCI/UFF). Niterói, 2013.
- CARREIRA, Dorival. *Organização, sistemas e métodos: ferramentas para racionalizar as rotinas de trabalho e a estrutura organizacional da empresa*. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 2009.
- CARVALHO, Leonardo Sanches. *Modelagem e simulação: poderosa ferramenta para a otimização de operações logísticas*. 2003. Disponível em: <http://www.sitedalogistica.com.br/news/modelagem%20e%20simula%C3%A7%C3%A3o%20-20poderosa%20ferramenta%20para%20a%20otimiza%C3%A7%C3%A3o%20de%20opera%C3%A7%C3%B5es%20logisticas/>. Acesso em 18 out. 2015.
- CHIAVENATO, Idalberto. *Gestão de Pessoas*. 3. ed. 6. reimpr. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- FARIA, Ana Cristina de; COSTA, Maria de Fátima Gameiro da. *Gestão de Custos Logísticos*. 1. ed. 7. reimpr. São Paulo: Atlas, 2011.
- FARIA, Carlos. *Conceitos de Sistema da Informação*, 2011. Disponível em: <https://sistemas12b3.files.wordpress.com/2011/03/conceitos-de-sistemas-de-informacao-fundamentos.pdf>. Acesso em 21 mar. 2015.
- FERNANDES, José Eduardo; FIGUEIREDO, Adelaide dos Santos. A Aplicação da Logística Integrada e da Tecnologia da Informação como Otimização de Recursos Energéticos. *IV CNEG*, Niterói: Brasil, 01 e 02 ago. 2008. Disponível em: http://www.excelenciaemgestao.org/Portals/2/documents/cneg4/anais/T7_0041_0208.pdf. Acesso em 29 mar. 2015.
- NAZÁRIO, Paulo. A importância de sistemas de informação para a competitividade logística. *Revista Tecnológica*, p. 28-40, 1999. Disponível em: <http://www.tecspace.com.br/paginas/aula/faccamp/TI/Texto04.pdf>. Acesso em: 18 out. 2015.
- OLIVEIRA, Djalma de Pinho Rebouças de. *Sistemas, Organizações e Métodos: uma abordagem gerencial*. 18. ed. São Paulo: Atlas, 2009.

Bioenergia em revista: diálogos, ano 9, n. 2, julh./dez. 2019.

ROBREDO, Jaime. Organização dos documentos ou organização da informação: uma questão de escolha. In *DataGramaZero - Revista de Ciência da Informação*. Brasília, v. 5, n. 1, fev., 2004.

SOUSA, Paulo Teixeira. Logística Interna: O Princípio da Logística Organizacional está na administração dos Recursos Materiais e Patrimoniais (ARMP). In: *Revista Científica FacMais*, v. II, n. 1, p. 126-139, jul/dez, 2012.

1 Evandro Marinelli de ALMEIDA é graduado em Tecnologia em Gestão Empresarial pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”. E-mail evandro15@hotmail.com

2 Heloísa Cristina Barbosa de LIMA é graduada em Tecnologia em Gestão Empresarial pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”. E-mail heloisalima1@live.com

3 Vanessa de Cillos SILVA possui graduação em Engenharia Agrônômica com área de concentração em Economia e Administração Agroindustrial pela Universidade de São Paulo (2005), doutorado em Ciências pela Universidade de São Paulo (2014) e mestrado em Ciências pela Universidade de São Paulo (2008). Tem experiência na área de Economia e Produção Agroindustrial, e atua como professora na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba. E-mail vanessa.cillos@fatec.sp.gov.br