

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO PAULO**

***CAMPUS AVARÉ***

**CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIODIVERSIDADE**

**Luana Letícia da Silveira**

**AVALIAÇÃO DO USO COMBINADO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO  
MEIO DE CULTURA PARA A PRODUÇÃO DE BIOAROMA FRUTAL.**

**AVARÉ  
2023**

**LUANA LETÍCIA DA SILVEIRA**

**AVALIAÇÃO DO USO COMBINADO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO  
MEIO DE CULTURA PARA A PRODUÇÃO DE BIOAROMA FRUTAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biosistemas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - *Campus Avaré*, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Biosistemas.

Orientadora: Profa.Dra. Daniele Souza de Carvalho

AVARÉ  
2023

Catálogo na fonte  
Instituto Federal de São Paulo – Campus Avaré  
Biblioteca Linda Bimbi  
Bibliotecária Documentalista – Anna Karolina Dias Moreira CRB-8/9563

S587a

Silveira, Luana Letícia da

Avaliação do uso cominando de resíduos agroindustriais como meio de cultura para produção de bioaroma frutal/ Luana Letícia da Silveira – Avaré, 2023.

39 p.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dra. Daniele Souza de Carvalho

Monografia (Graduação – Bacharelado em Engenharia de Biosistemas – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus Avaré, 2023.

1. Biotecnologia agroindustrial. 2. Bioaromas. 3. Éster – Hexanoato de etila. 4. Neurospora Sitophila. 5. Resíduos agroindustriais – Bagaço de banana. 6. Resíduos agroindustriais - Bagaço de malte. 7. Resíduos agroindustriais – Cana-de-açúcar.  
I. Título.

IFSP/Avaré

CDU: 606:63

**LUANA LETÍCIA DA SILVEIRA**

**AVALIAÇÃO DO USO COMBINADO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO  
MEIO DE CULTURA PARA A PRODUÇÃO DE BIOAROMA FRUTAL.**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Profª Drª Daniele Souza de Carvalho

IFSP - Campus Avaré

---

Profª Drª Luciana Manoel de Oliveira

IFSP - Campus Avaré

---

Profª Drª Mariana Camargo Schmidt

IFSP - Campus Avaré

Avaré, 05 de dezembro de 2023.

Dedico aos meus tios,

Lucilene e Leandro.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pela minha vida, e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Em especial aos meus tios, que me incentivaram e me apoiaram nos momentos mais difíceis e que compreenderam a minha ausência enquanto me dedicava à realização da faculdade.

Minha família ao todo, que são base e estrutura na minha vida, que de alguma forma sempre estiveram presentes em toda a minha trajetória.

Aos meus colegas de sala, principalmente, minha amiga Isadora, e também aos meus amigos Alex, Daniel e Júlia por todo companheirismo, apoio e ajuda em todos esses anos.

Enfim, agradeço a todos os professores que cruzaram meu caminho, principalmente aos do curso de Engenharia, sobretudo, a Prof. Dra. Daniele Souza de Carvalho, por ter sido minha orientadora e ter desempenhado tal função com dedicação e paciência.

“Eu sei que não sou nada e que talvez nunca tenha tudo. À parte  
isso, eu tenho em mim todos os sonhos do mundo.”

(Fernando Pessoa, 2013.)

## RESUMO

Processos fermentativos para obtenção de bioaroma se tornam interessantes visto a crescente demanda dos consumidores por alimentos mais saudáveis. A utilização de resíduos agroindustriais na produção de aromas possui vantagens do ponto de vista da gestão de resíduos bem como diminuição de custos de produção. O presente estudo testou o uso combinado de resíduos agroindustriais visando a produção do hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* n° CTT 5055. Um grama da biomassa gerada, na etapa do pré-inóculo, foi adicionado ao meio com concentração de 10% m/v de resíduos agroindustriais em água destilada em diferentes proporções, sendo o tratamento (T1) 1:1:1; (T2) 0,5:1:1; (T3) 1:0,5:1 e (T4) 1: 1:0,5; de bagaço-de-cana, bagaço de malte e casca de banana respectivamente. Após a inoculação, os erlenmeyers foram incubados em shaker de bancada a 200 rpm e 30°C, sendo coletadas as amostras a cada 24 horas até completar 72 horas de fermentação. Cada experimento foi registrado através de um cromatograma gerado por um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de ionização em chama (CG-DIC). A comparação do tempo de retenção, bem como a comparação do espectro de massas das amostras, obtidos no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG/EM) foram utilizadas como parâmetros de confirmação do pico alvo. Em todas as amostras houve a produção do bioaroma de interesse, observando-se a maior produção no tratamento 3. Dessa forma foi realizada a cinética de produção por um período de 120 horas, no qual constatou-se que a maior produção do hexanoato de etila é no tempo de 24 horas a 30°C e 200 rpm de agitação, produzindo 3,26 mgL<sup>-1</sup> do bioaroma frutal.

**Palavras-chave:** *Neurospora sitophila*; Hexanoato de etila; bagaço de cana-de-açúcar; bagaço de malte; casca de banana



## ABSTRACT

Fermentation processes to obtain bioaroma are becoming interesting given the growing consumer demand for healthier foods. The use of agro-industrial waste in the production of flavors has advantages from the point of view of waste management as well as reducing production costs. This study tested the combined use of agro-industrial waste for the production of ethyl hexanoate by *Neurospora sitophila* n° CTT 5055. One gram of the biomass generated in the pre-inoculum stage was added to a medium with a concentration of 10% m/v of agro-industrial waste in distilled water in different proportions, the treatment being (T1) 1:1:1; (T2) 0.5:1:1; (T3) 1:0.5:1 and (T4) 1: 1:0.5; sugar cane bagasse, malt bagasse and banana peel respectively. After inoculation, the erlenmeyer flasks were incubated in a bench shaker at 200 rpm and 30°C. Samples were taken every 24 hours until 72 hours of fermentation were completed. Each experiment was recorded using a chromatogram generated by a gas chromatograph coupled to a flame ionization detector (GC-FID). The comparison of the retention time, as well as the comparison of the mass spectrum of the samples, obtained on the gas chromatograph coupled to the mass spectrometer (GC/MS) were used as parameters to confirm the target peak. All the samples produced the bioaroma of interest, with the highest production being observed in treatment 3. Production kinetics were then carried out for a period of 120 hours, in which it was found that the highest production of the bioaroma of interest was in the 24-hour period at 30°C and 200 rpm agitation, producing 3.26 mg/L of the fruity bioaroma.

**Key-words:** *Neurospora sitophila*; Ethyl hexanoate; Sugar Cane Bagasse; Malt Bagasse; Banana Peel

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Erlen como os resíduos agroindustriais antes da inoculação.....	18
Figura 2 – Frasco eppendorf contendo o analito de interesse na amostra extraída.....	19
Figura 3 – <i>Neurospora sitophila</i> repicada em meio PDA.....	27
Figura 4 – Frasco erlenmeyer como os resíduos agroindustriais depois da inoculação.....	28
Figura 5 – Cromatograma obtido da amostra extraída do meio contendo a combinação bagaço cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana na proporção 1:0,5,1, (Tratamento 3 ) após 24 horas de fermentação a 30°C e 200rpm de agitação.....	29
Figura 6 – Cromatograma obtido do branco do meio contendo a combinação bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana na proporção 1:1:1, (tratamento 1) após 24 hrs no shaker a 200 rpm.....	30
Figura 7 – Cromatograma e espectro de massas obtidos na identificação do hexanoato de etila, no tratamento 3 com 48 horas de fermentação.....	30
Figura 8 – Curva de analítica para a quantificação do hexanoato de etila nas amostras fermentadas. ....	31
Figura 9 - Produção de hexanoato de etila em 120 horas de fermentação nos quatro tratamentos.....	32

Figura 10 – Produção de hexanoato de etila em 120 horas de fermentação no tratamento 3, a 30°C e 200rpm.....	32
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG- DIC	Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chamas
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplado ao espectrofotômetro de massas
PDA	Potato Dextrose Agar
TR	Tempo de Retenção
YM	Yeast Malt
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
FAO	Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO .....	16
1.2 OBJETIVOS.....	17
1.2.1 Objetivo Geral .....	17
1.2.2 Objetivos Específicos .....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1 Resíduos agroindustriais.....	18
2.1.1 Bagaço de cana de açúcar.....	18
2.1.2 Bagaço de malte .....	19
2.1.3 Casca de banana .....	19
2.2 Aroma e Bioaroma .....	20
2.3 <i>Neurospora sitophila</i> .....	21
2.4 Hexanoato de etila .....	23
3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS .....	23
3.3.1 Manutenção da linhagem de <i>Neurospora sitophila</i> nº CCT 5055.....	23
3.3.2 Preparo das farinhas dos resíduos agroindustriais .....	23
3.3.3 Preparo dos meios de cultura para a fermentação.....	23

3.3.4 Preparo do inóculo e inoculação .....	24
3.3.5 Produção do bioaroma .....	25
3.3.6 Processo de extração do hexanoato de etila .....	25
3.3.7 Corrida cromatográfica para quantificação do hexanoato de etila em CG-DIC .....	26
3.3.8 Quantificação do hexanoato de etila .....	26
3.3.9 Identificação do hexanoato de etila em CG/FID.....	26
3.3.10 Identificação do hexanoato de etila em CG/EM.....	27
4 Resultados e Discussão .....	27
4.1 Manutenção da linhagem de <i>Neurospora sitophila</i> nº CCT 5055.....	27
4.2 Produção do hexanoato de etila.....	28
4.2.1 Identificação do hexanoato de etila na combinação dos resíduos agroindustriais .....	29
4.2.2 Quantificação do hexanoato de etila .....	31
4.3 Avaliação do melhor tempo de produção .....	32
5 CONCLUSÃO .....	33
REFERÊNCIAS .....	34

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, os aromatizantes, que dão cheiro a um produto, são de longe o grupo de aditivos mais comum estando presentes em 47,1% dos produtos. (Barifouse 2021), entretanto, a síntese química destes pode ocasionar alto impacto ambiental devido a emissão de resíduos não biodegradáveis em seu processo, enquanto aromas extraídos de fontes vegetais estão sujeitos a variação da sazonalidade, ataques de pragas e efeitos geográficos (Carvalho, 2011). Dessa forma, o uso de microrganismos para a produção de bioaromas surge como uma alternativa interessante para produção destes compostos aliando o conceito de natural com o de tecnologia verde (Carvalho, 2011).

O gênero *Neurospora*, pertencente a um grupo de fungos filamentosos, é relatado como produtor de hexanoato de etila, um éster caracterizado por possuir intenso aroma frutal amplamente utilizado na indústria de alimentos (Carvalho, 2011), assim, sua produção se torna muito útil para sociedade em vários aspectos.

O setor cervejeiro brasileiro é o mais importante do mercado sul-americano e um dos maiores do mundo, gerando uma expressiva quantidade de resíduos, principalmente, bagaço. O bagaço é quantitativamente o principal subproduto do processo cervejeiro, sendo gerado de 14-20 kg a cada 100 litros de cerveja produzida. A grande produção anual de cerveja no país, em média 14,1 bilhões de litros, dá ideia da enorme quantidade deste subproduto gerada (Cervbrasil, 2019).

Não obstante, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e, na safra 2020/21, foi responsável pela produção de 654,5 milhões de toneladas. O Estado de São Paulo, que lidera a produção no país, respondeu por 54,1% da quantidade produzida na safra 2020/21, e foi responsável pela produção de 48,4% de etanol (14,3 bilhões de litros) e 63,2% do açúcar (26,0 milhões de toneladas) (Nachiluk, 2021).

O Brasil é um dos principais produtores de banana, produzindo mais de seis milhões de toneladas por ano (Dias; Barreto, 2011). A fruta é bastante consumida *in natura* e sua boa aceitabilidade se dá pelo fato das características sensoriais e nutricionais, além de ser comercializada a preço acessível (Silva, 2013). As cascas de bananas apresentam quantidades significativas de fibras e minerais, porém são pouco exploradas pelas indústrias devido à falta de conhecimento das possíveis aplicações e

benefícios. O processamento destas se torna uma alternativa a fim de aproveitar o valor nutritivo e diminuir o desperdício, visto que a banana é uma das frutas mais consumidas nacionalmente (Gonçalves, 2016).

Por esse motivo, o uso de resíduos agroindustriais renováveis e ambientalmente sustentáveis como matéria-prima para a produção de produtos de base biológica ganhou interesse recentemente, além de possibilidade de ser um substituto barato e natural para a produção de vários produtos de alto valor (Sharma et al., 2020; Diaz; Blandino; Caro, 2018).

A preocupação global em relação à geração de resíduos, que são categorizados como industrial, agrícola, sanitário e sólidos urbanos (Diaz; Blandino; Caro, 2018), impulsiona a chamada biotecnologia sustentável que estimula o desperdício zero (Nnolim; Okoh; Nwodo, 2020), uma intervenção que não apenas ajuda a combater a poluição ambiental, permitindo a restauração completa do solo orgânico e contribuindo positivamente para os esforços de minimização do aquecimento global (Naidu; Siddiqui; Idris, 2020), mas também contribui significativamente para a economia, pois, estrategicamente, incita a utilização desses resíduos para produção de produtos de alto valor (Prakash, 2018).

Sendo assim esse trabalho propõe avaliar a melhor combinação dos resíduos agroindustriais sendo eles: bagaço de cana de açúcar, bagaço de malte e casca de banana, o melhor tempo de produção de hexanoato de etila bem como identificar e quantificá-lo.

## **1.1 PROBLEMATIZAÇÃO**

A produção biotecnológica de compostos de aroma é um campo emergente, pois diferentemente da tradicional síntese química, os compostos produzidos por microorganismos são classificados como naturais, vindo de encontro à tendência dos consumidores por alimentos saudáveis.

O Brasil por ser um país agrícola é uma ótima fonte de diferentes resíduos que podem ter valor agregado. Neste contexto, o uso de substratos advindos de resíduos agroindustriais torna-se atrativo pela redução de custo no processo biotecnológico aliado à redução de impacto ambiental, entretanto faz-se necessário também avaliar



parâmetros do processo fermentativo para tornar factível a obtenção de produtos de elevado valor agregado.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo Geral**

Produzir hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* n° CTT 5055 com o uso combinado de resíduos agroindustriais.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a melhor combinação dos resíduos agroindustriais.
- Avaliar o melhor tempo de produção de hexanoato de etila em 120 horas de fermentação na melhor combinação de resíduos.
- Identificar e quantificar o hexanoato de etila produzido por via fermentativa.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Resíduos agroindustriais**

Dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento mostram que o Valor Bruto da Produção Agropecuária brasileira em 2022 fechou com 1,189 trilhão de reais. As lavouras faturaram R\$ 814,77 bilhões e a pecuária chegou a R\$ 374,27 bilhões. Para 2023, a estimativa é crescer 6,3%, gerando assim, conseqüentemente uma alta demanda de resíduos. A maioria dos resíduos agrícolas é de natureza lignocelulósica, sendo uma grande fração composta de carboidratos, por isso os resíduos agroindustriais são altamente nutritivos por natureza, eles facilitam o crescimento microbiano e uma forma de utilizá-los é com o emprego de microrganismos e/ou de produtos microbianos com propriedades que possam ser usados na bio reciclagem e também para a produção de vários tipos de produtos de valor agregado, incluindo biomoléculas industrialmente importantes (Nnolim; Okoh; Nwodo, 2020). Além disso, a utilização de resíduos agroindustriais pode ser um substituto barato e natural para a produção de vários produtos de alto valor (Sharma et al., 2020).

A valorização dos resíduos agroindustriais como suportes nutricionais para a produção de bioprodutos oferece uma alternativa de diversificação de produtos para agricultores e para a agroindústria (Schalchli et al., 2016), além de atender a preocupação com a limitação de recursos fósseis, problemas ambientais e sustentabilidade, juntamente com a preferência do consumidor por produtos naturais, biodegradáveis e ambientalmente amigáveis (Diaz; Blandino; Caro, 2018).

#### **2.1.1 Bagaço de cana de açúcar**

A cana de açúcar vem sendo considerada como uma das matérias primas mais importantes da atualidade, pela diversidade de matérias produzidas, tais como etanol, açúcar, energia, cachaça, caldo, rapadura, além de seus subprodutos (Kawa,2015). Nos processos de açúcar e álcool, gera-se como resíduos o bagaço de cana de açúcar, resíduo fibroso da extração do caldo pelas moendas. A quantidade produzida depende do teor de fibra da cana processada, apresentando, em média, 46%

de fibra e 50% de umidade, resultando, aproximadamente em 280 quilos de bagaço por tonelada de cana processada (Alcarde, 2021)

Segundo a CONAB (2017), estima-se que no Brasil, cerca de 12 milhões de toneladas de bagaço são gerados anualmente, sendo aproximadamente 280 kg por tonelada de cana moída. Com tendência de aumento, já que o Brasil é considerado o maior produtor de cana de açúcar e o aumento do investimento na produção alcooleira, o bagaço pode ser totalmente reaproveitado desde a produção de combustíveis até as indústrias de cosméticos. O bagaço de cana-de-açúcar, principal resíduo dessa indústria, é um material também lignocelulósico, sendo um dos mais abundantes complexos orgânicos de carbono e são constituídos, principalmente, de três componentes: celulose, hemicelulose e lignina.

### **2.1.2 Bagaço de malte**

No processo de produção de cerveja são gerados alguns resíduos e subprodutos; o bagaço do malte decorrente do processamento do mosto é obtido através da mistura do malte moído e água quente e é composto em sua maioria por cascas das sementes de cereais, gordura, minerais, proteínas e fibras. Nas últimas décadas, muitos são os estudos promissores de reutilização do bagaço de malte e atualmente a maior parte é destinado a alimentação humana e animal (Lynch et al., 2016).

A composição do bagaço de malte é diversa, desde que é resultante da variação de tipos comerciais e processos de fabricação de cerveja existentes. Em geral, tem-se: celulose (16,8%-20,6%), hemiceluloses (18,4%-28,4%), lignina (9,9%-27,8%), proteínas (15,3%-26,6%), extrativos (5,2%-5,8%) e cinzas (2,7%- 4,6%) (Mussatto; Roberto, 2006; Wilkinson et al., 2014).

### **2.1.3 Casca de banana**

A banana é a fruta mais consumida no Brasil (POF 2017, 2018), sendo que o país ocupa a quarta posição no ranking dos 10 maiores produtores de banana no mundo com aproximadamente 6,7 milhões de toneladas colhidas (FAO, 2020), e o estado de São Paulo é o maior produtor nacional com 1 milhão de toneladas (IBGE, 2020). As cascas de bananas apresentam quantidades significativas de fibras e minerais, porém

são pouco exploradas pelas indústrias devido à falta de conhecimento das possíveis aplicações e benefícios. O processamento destas se torna uma alternativa afim de aproveitar o valor nutritivo e diminuir o desperdício, visto que a banana é uma das frutas mais consumidas nacionalmente (Gonçalves et al., 2016)

Conforme o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), o Brasil produziu mais de 6 milhões de toneladas de bananas em 2016, obtendo rendimento de 14.686 kg por hectares. Em escala mundial, acredita-se que produziu mais de 69 milhões de toneladas de bananas. Quanto à composição das cascas de bananas, temos os flavonoides, ácidos graxos comolinoleico e  $\alpha$ -linolênico, fitoesteróis como  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cicloeucalenol, cicloartenol, e 24- metileno cicloartanol, além dos carotenóides, como alguns dos compostos já identificados (Pereira, 2010), além de teores consideráveis de vitaminas A, B1 , B2 e C, além de minerais como magnésio, fósforo, potássio, cálcio e sódio (Gondim et al., 2005).

## **2.2 Aroma e Bioaroma**

Aromas são definidos, segundo a Resolução nº 12, 17/01/2007 da ANVISA como:

“substâncias ou misturas de substâncias com propriedades odoríferas e ou/ sápidas, capazes de conferir ou intensificar o aroma e/ou sabor dos alimentos; e podem ser classificados em naturais ou sintéticos, sendo os primeiros obtidos exclusivamente mediante métodos físicos, microbiológicos ou enzimáticos.

Aromas e sabores apresentam importância comercial em diferentes setores, como para alimentos, rações, produtos químicos, cosméticos e indústrias farmacêuticas (Akacha e Gargouri, 2015). O intuito de incluir aromas nas formulações de variados produtos é melhorar as propriedades sensoriais garantindo aceitação dos consumidores no produto final (Gupta et al., 2015).

Basicamente, existem três métodos para a obtenção de compostos de aroma (Akacha et al., 2015): síntese química que resultam em rendimentos satisfatórios, entretanto pode ocasionar alto impacto ambiental além de que em alguns casos podem resultar em mudanças significativas no aroma desejado, extração da natureza e biotecnologia, a qual ocorre em condições brandas, utilizando-se de microorganismos,

atraindo consumidores que buscam por produtos naturais e saudáveis, colaborando com o meio ambiente.

Além disso, pode-se incluir a possibilidade de utilizar resíduos agroindustriais no processo, seja para contribuir no crescimento de biomassa ou até mesmo como substrato no processo fermentativo (Bicas, 2009; Carvalho, 2011). O termo bioaroma é utilizado para designar aromas de origem enzimática ou produzidos via fermentativa por meio de processos biotecnológicos.

A produção biotecnológica vem expandindo, despertando grande interesse pela indústria de aromas, devido sua nova tendência e crescente preferência dos consumidores por produtos que contenham em sua formulação matérias-primas naturais, em detrimento dos aditivos químicos, diferenciando esses no mercado (Berger, 2015; Bicas et al, 2010). Uma das utilizações da biotecnologia está na extração obtenção de bioaditivos e alimentos, dentre eles, os aromas naturais (Felipe e Bicas, 2016)

A produção de bioaromas por meios biotecnológicos possuem algumas vantagens, como: alta enantiosseletividade, produção contínua ao decorrer do ano sem interferência da sazonalidade, adoção de parâmetros de processo menos rigorosos e condições de processos controláveis e otimizáveis (Berger, 2015).

Segundo Berger (1995), a produção de aroma através dos processos biotecnológicos pode ser feita por duas vias: bioprodução e biotransformação/bioconversão. A bioprodução (também conhecida como síntese de novo) ocorre por vias fermentativas com o uso de materiais simples como açúcares e aminoácidos, onde a cultura microbiana pode ser melhorada pela otimização das condições de cultivo. Por outro lado, a biotransformação é capaz de catalisar a transformação do substrato num único passo, enquanto a bioconversão se desenvolve em duas ou mais reações bioquímicas, que através de sistemas enzimáticos é possível ampliar, degradar ou modificar substratos específicos.

### **2.3 *Neurospora sitophila***

A *Neurospora sp.* possui a capacidade de se desenvolver rapidamente, podendo ser um micro-organismo capaz de produzir metabólitos secundários (Maróstica Junior, 2006; Syed et al., 2016). Além disso, esta espécie é reconhecida por produzir o

hexanoato de etila, caracterizado por apresentar um forte aroma frutal, (Carvalho et al., 2012) e a qualidade, bem como as quantidades do aroma produzido, depende principalmente da composição do meio de cultura, especialmente das fontes de carbono e nitrogênio (Akacha e Gargouri, 2015).

Em estudo realizado por Crescitelli, et al. (2020) houve identificação da produção de hexanoato de etila em bagaço de malte e bagaço de cana-de-açúcar por *Neurospora sp.* Assim, a aplicação de resíduos agroindustriais em bioprocessos tem sido considerada uma boa alternativa para novos substratos, além de ajudar na redução do impacto ambiental (Szabo et al, 2021a; Szabo et al, 2021b; Campos e Carvalho, 2022).

Além disso, este fungo cresce em locais de exposição humana, tais como: padarias, fábricas de madeiras, campo queimado à base de cana-de-açúcar, bagaço de cana, nos filtros de lama das refinarias de açúcares, destacando-se que não existem relatos de *Neurospora sp.*, como agente causador de doença ou infecção em humanos (Perkins e Davis, 2000).

Para a produção do hexanoato de etila, a fermentação inicia-se no momento em que o preparo do inóculo se encerra e a inoculação da biomassa de *Neurospora* é feita. Essa transição da *Neurospora* em meio sólido PDA (ainda com crescimento em forma de esporos) para o meio líquido YM (crescimento em forma de biomassa) é de suma importância não só para a adaptação desse fungo filamentosos no meio com os resíduos, mas também para uma melhor identificação e padronização de quantidade de biomassa, ou seja, é possível fazer a pesagem de uma maneira mais exata.

A partir desse momento, no meio com os resíduos, a *Neurospora* utiliza os compostos presentes tanto nos resíduos de bagaço de malte o qual possui: maltose, celulose, hemicelulose, vitaminas, aminoácidos, lipídios, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, boro, manganês, zinco, amoníaco e carbono orgânico (Carvalho, 2011), bem como no bagaço-de-cana, que apresenta em sua composição lignina, celulose, hemicelulose, hidrogênio, nitrogênio, carbono e minerais, para a formação de ésteres e dentre eles o hexanoato de etila.

## **2.4 Hexanoato de etila**

O hexanoato de etila, é um éster com fórmula molecular  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ , caracteriza-se por ser um líquido incolor com ponto de ebulição a  $168^\circ\text{C}$  e forte aroma frutal, com descritores sensoriais de abacaxi, maçã, morango, banana, butiá, pêra, pêssego, floral, vinho e conhaque. Seu limiar de detecção (*threshold*) é de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , sendo muito utilizado em bebidas alcoólicas, sorvete, produtos de panificação, doces e geleias (Carvalho et al., 2012).

## **3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

### **3.3.1 Manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* nº CCT 5055**

Para manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* nº CCT 5055, a mesma foi repicada, pela técnica de estriamento, em tubos de ensaio contendo PDA e mantidas por uma semana em estufa incubadora a  $30^\circ\text{C}$ . Após isso foram armazenadas sob refrigeração.

### **3.3.2 Preparo das farinhas dos resíduos agroindustriais**

O preparo iniciou com a redução de tamanho, do bagaço de cana de açúcar com o auxílio de tesoura. Concomitantemente, o bagaço de malte foi descongelado a temperatura ambiente. Para a casca de banana não foi realizado nenhum tratamento, sendo, portanto, seca inteira.

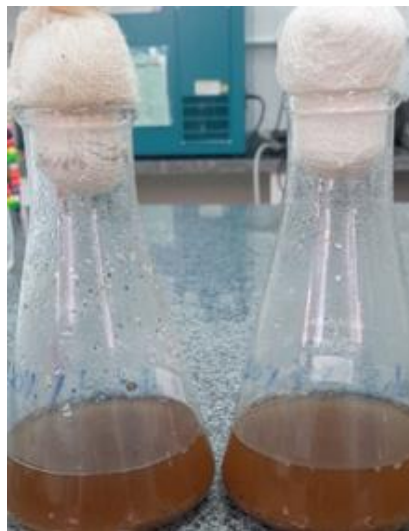
Todos os resíduos foram pesados e colocados na estufa de circulação de ar forçado por aproximadamente três dias a  $65^\circ\text{C}$ . Após secos foram passados por um moinho multiuso SL-35 e transformados em farinha, pesados novamente e fracionados em 100 g e acomodados em sacos de plásticos armazenados em freezer até o momento do uso.

### **3.3.3 Preparo dos meios de cultura para a fermentação**

Foram conduzidos diversos procedimentos experimentais, a fim de avaliar as melhores condições no preparo do meio de cultura, sendo realizados as seguintes

condições: i) utilização de 10 gramas de resíduos secos em 100 mL de água destilada; ii) 10 gramas de resíduos secos em 150 mL de água; iii) 5 g de resíduos secos em 100 mL de água; iv) hidratação de 10 gramas de bagaço de cana-de-açúcar com 11 mL de água, enquanto para os demais resíduos, bagaço de malte e casca de banana, foi utilizado 0,2 mL para cada 10 gramas, sendo posteriormente adicionados a 100 mL de água; v) 5g de resíduos previamente hidratados com 100 mL de água; e vi) 2,5g de resíduos previamente hidratados com a adição de 100 mL de água.

**Figura 1:** Erlenmeyer como os resíduos agroindustriais antes do processo de inoculação.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

### 3.3.4 Preparo do inóculo e inoculação

A linhagem de *Neurospora sitophila* foi repicada em quatro tubos contendo PDA (Potato Dextrose Agar) por 72 horas à 30°C, após isso foi acrescentado 10 mL de água estéril, raspados e transferidos para erlenmeyers contendo 50 mL de meio líquido YM (composto de 0,5% de peptona, 1% de glicose, 0,3% de extrato de malte e 0,3% de extrato de levedura) e acondicionados em shaker de bancada sob condições 200 rpm e 30 °C por 24 horas. Depois desse período a biomassa foi filtrada com o auxílio de um sistema de filtração a vácuo para ser recolhida e posterior inoculação nos resíduos agroindustriais.



Um grama da linhagem de *Neurospora*, foi adicionada ao meio com resíduos agroindustriais para o branco, no qual não é inoculado o microrganismo.

### 3.3.5 Produção do bioaroma

As amostras inoculadas e o branco foram incubados em shaker de bancada, a 200 rpm e 30°C. As amostras foram coletadas a cada 24 horas por um período de fermentação de 120 horas e colocadas em frascos de vidros, e congeladas para posterior análise.

### 3.3.6 Processo de extração do hexanoato de etila

Para a extração do analito de interesse, 5mL do meio fermentado foram transferidos para tubo de ensaio e adicionados com 0,1 g de NaCl, agitando-se em vórtex por 10 segundos, sendo em seguida, adicionado 1 mL de éter etílico contendo 0,003% v/v de 2-heptanol (padrão interno), agitando novamente em vórtex por 30 segundos e realizando-se a coleta do solvente contendo o bioaroma, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, para um vial de 1,5 mL contendo 0,1 g de NaCl.

**Figura 2.** Frasco eppendorf contendo o analito de interesse na amostra extraída.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

### **3.3.7 Corrida cromatográfica para quantificação do hexanoato de etila em CG-DIC**

Um microlitro da amostra contendo o analito extraído foi injetado no modo splitless, em um cromatógrafo gasoso, a temperatura do injetor foi de 250°C. Uma coluna capilar de sílica fundida TR-5 de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura de fase estacionária foi utilizada para separar os componentes voláteis. O Gás Hélio foi utilizado como gás de arraste, a uma vazão constante de 1,0 mLmin<sup>-1</sup>. A programação de temperatura do forno foi iniciada a 50°C, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, em seguida foi adicionada uma rampa de 10°C min<sup>-1</sup> até atingir 150°C permanecendo durante 1 minuto e, posteriormente, uma rampa de 20°C min<sup>-1</sup> até 200°C, a qual foi mantida por 3 minutos. A temperatura do detector foi de 250°C.

### **3.3.8 Quantificação do hexanoato de etila**

Para a quantificação foi feito uma curva de calibração externa com dez pontos de concentrações conhecidos de hexanoato de etila, sendo eles: 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 50; mg L<sup>-1</sup> obtidos a partir de uma solução de 500mg L<sup>-1</sup> com 0,003% de 2-heptanol utilizado como padrão interno. Para a construção da curva foi utilizado o programa Microsoft Excel (2019).

### **3.3.9 Identificação do hexanoato de etila em CG/FID**

Cada experimento foi registrado através de um cromatograma, gerado por um cromatógrafo gasoso (Thermo Scientific) acoplado a um detector de ionização em chama (CG-FID). Um microlitro do extrato obtido foi injetado através de um injetor split/splitless a uma temperatura de 250°C, no modo splitless. Uma coluna capilar de sílica fundida TR-5 de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,5 µm de espessura de fase estacionária foi utilizada para separar os componentes voláteis. Gás Hélio foi utilizado como gás de arraste, a uma vazão constante de 1,0 mLmin<sup>-1</sup>. A programação de temperatura do forno do cromatógrafo gasoso iniciado a 50°C, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, em seguida adicionada uma rampa de 10°Cmin<sup>-1</sup> até atingir 150°C permanecendo

durante 1 minuto e, posteriormente, uma rampa de 20°Cmin<sup>-1</sup> até 200°C, a qual foi mantida por 3 minutos. A temperatura do detector foi de 250°C.

Como parâmetros de identificação, foram utilizados a comparação com o tempo de retenção do pico alvo com o do padrão analítico do hexanoato de etila bem como a fortificação das amostras com 1 uL de uma solução de hexanoato de etila de 20 mgL<sup>-1</sup>.

### **3.3.10 Identificação do hexanoato de etila em CG/EM**

Cada amostra que apresentou no cromatograma, um pico com tempo de retenção idêntico ao do padrão de hexanoato de etila foi analisado num espectrômetro de massas para a confirmação da identidade do analito. Os procedimentos de extração das amostras bem como de corrida cromatográfica foram os mesmos. Cada análise foi registrada em um sistema cromatógrafo gasoso acoplado em um espectrômetro de massas (Thermo Scientific). A temperatura da interface CG-EM foi de 250°C e a energia de impacto de +70eV.

Como parâmetros de identificação foram utilizados a comparação com o tempo de retenção do pico alvo com o do padrão analítico do hexanoato de etila bem como a comparação do espectro de massas com a padrão analítico e comparação como banco de dados do Adams (2007) e biblioteca NIST8, Wiley, FFNSC.

## **4 Resultados e Discussão**

### **4.1 Manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* nº CCT 5055**

Foi observado um bom crescimento da *Neurospora sitophila* durante os meses, o que é satisfatório para que a linhagem seja mantida.

**Figura 3:** *Neurospora sitophila* repicada em meio PDA.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

#### **4.2 Produção do hexanoato de etila**

Para a produção do hexanoato de etila, o meio com 10% de resíduos umedecidos, antes da adição de 100 mL de água, contendo os resíduos agroindustriais passou pelo processo de fermentação. Esse fenômeno acontece a partir do momento em que o preparo do inóculo se encerra e a inoculação da biomassa de *Neurospora* é feita. Essa transição da *Neurospora* em meio sólido PDA (ainda com crescimento em forma de esporos) para o meio líquido YM (crescimento em forma de biomassa) é de suma importância não só para a adaptação desse fungo filamentososo no meio com os resíduos, mas também para uma melhor identificação e padronização de quantidade de biomassa, ou seja, é possível fazer a pesagem de uma maneira mais exata.

A partir desse momento, no meio com os resíduos, a *Neurospora* utiliza os compostos presentes tanto nos resíduos de bagaço de malte o qual possui: maltose, celulose, hemicelulose, vitaminas, aminoácidos, lipídios, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, boro, manganês, zinco, amoníaco e carbono orgânico (Carvalho, 2011), bem como no bagaço-de-cana, que apresenta em sua composição lignina, celulose, hemicelulose, hidrogênio, nitrogênio, carbono e minerais, para a formação de ésteres e dentre eles o hexanoato de etila.

**Figura 4:** Frasco erlenmeyer como os resíduos agroindustriais depois da inoculação.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

#### **4.2.1 Identificação do hexanoato de etila na combinação dos resíduos agroindustriais**

O tempo de retenção na cromatografia é o tempo necessário da substância eluir a coluna, após a injeção. O tempo de retenção do hexanoato de etila, para utilização na comparação com o pico alvo, foi obtido durante a corrida cromatográfica, sendo que os valores de TR ficaram, em torno de 13,448 a 13,473. A variação presente nos tempos de retenção se deve a injeção das amostras serem feitas de forma manual. A partir do TR obtido do padrão de hexanoato de etila, comparou-se nas amostras fermentadas se havia pico com o mesmo TR. Pode-se observar na figura 5, onde o pico de hexanoato de etila está destacado.

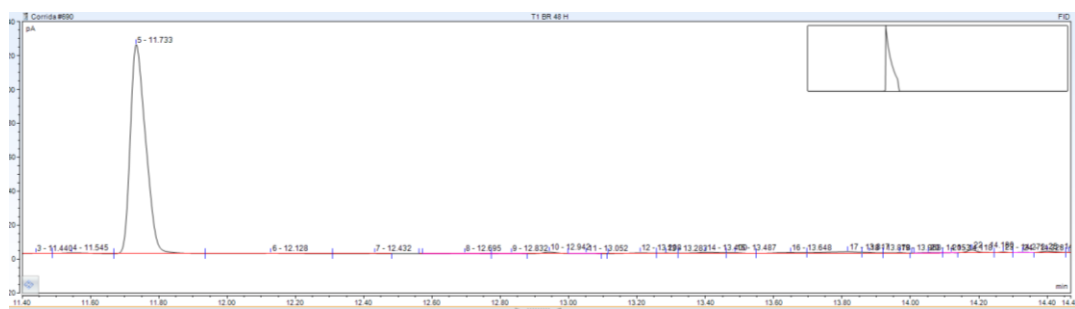
**Figura 5:** Cromatograma obtido da amostra extraída do meio contendo a combinação bagaço cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana na proporção 1:0,5,1, (Tratamento 3) após 24 horas de fermentação a 30°C e 200rpm de agitação.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

Para confirmar que o hexanoato de etila foi produzido através da fermentação dos resíduos pela *Neurospora sitophila* a figura 6 mostra o cromatograma obtido de um branco. Podemos notar claramente a inexistência de um pico no tempo de retenção do hexanoato de etila nesse tratamento, o que nos permite concluir que não houve produção desse composto em um meio desprovido da inoculação.

**Figura 6:** Cromatograma obtido do branco do meio contendo a combinação bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana na proporção 1:1:1, (tratamento 1) após 24 hrs no shaker a 200 rpm.

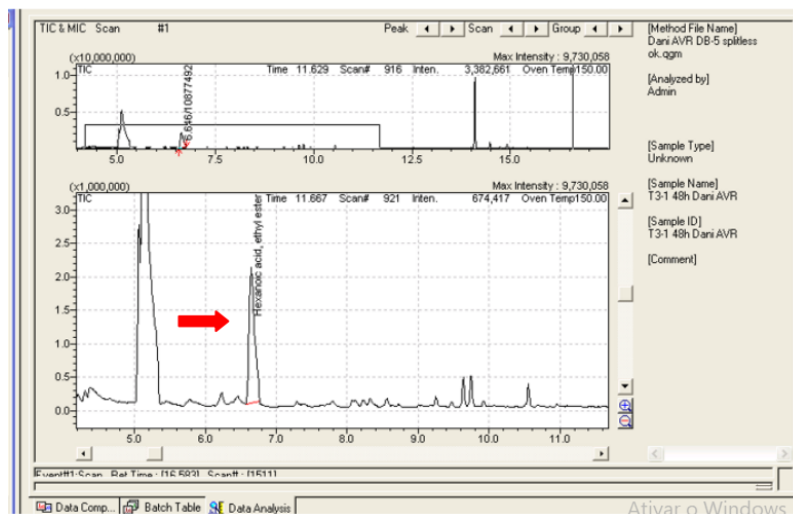


**Fonte:** Autoria própria, 2023.

A identificação do hexanoato de etila foi feita por meio do espectro de massa e tempo de retenção acordados com padrão e comparando os espectros com bibliotecas

de bancos de dados espectrais de massa de Adams (2007) e NIST8, onde a similaridades com o espectro de massas do hexanoato de etila foram superiores a 97%.

**Figura 7:** Cromatograma e espectro de massas obtidos na identificação do hexanoato de etila, no tratamento 3 com 48 horas de fermentação.

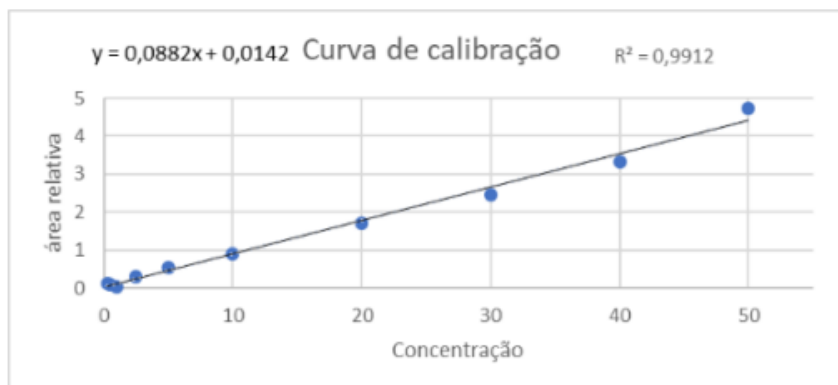


**Fonte:** Autoria própria, 2023.

#### 4.2.2 Quantificação do hexanoato de etila

A curva de analítica utilizada na quantificação é mostrada na Figura 8. A partir da curva analítica foram obtidas as concentrações produzidas a cada 24 horas. Segundo Harris, 2009, obtendo-se a faixa linear presente na curva, é possível identificar uma proporcionalidade entre uma resposta (área) e a concentração de analito, admitindo-se que quanto maior a área, maior a concentração do composto alvo. Dessa forma, constata-se que dos 4 tratamentos analisados, com 120 horas de fermentação, o tratamento 3, no qual se utilizou a combinação bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana na proporção 1:0,5:1; foi o que produziu ao maior concentração de hexanoato de etila, em 24 horas, de fermentação a 30°C e 200 rpm.

**Figura 8:** Curva de analítica para a quantificação do hexanoato de etila nas amostras fermentadas.

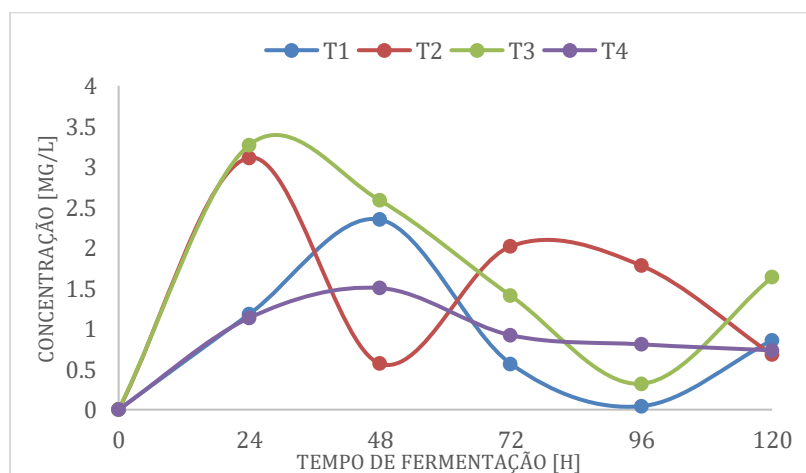


Fonte: Autoria própria, 2023.

### 4.3 Avaliação do melhor tempo de produção

É possível observar na figura 9 como se desenvolveu a produção do hexanoato de etila em todos os tratamentos ((T1) 1:1:1; (T2) 0,5:1:1; (T3) 1:0,5:1 e (T4) 1: 1:0,5), de 24 a 120 horas de fermentação. Nota-se que a produção é irregular, acontecendo picos em alguns momentos, com alguns tratamentos.

**Figura 9:** Produção de hexanoato de etila em 120 horas de fermentação nos quatro tratamentos.

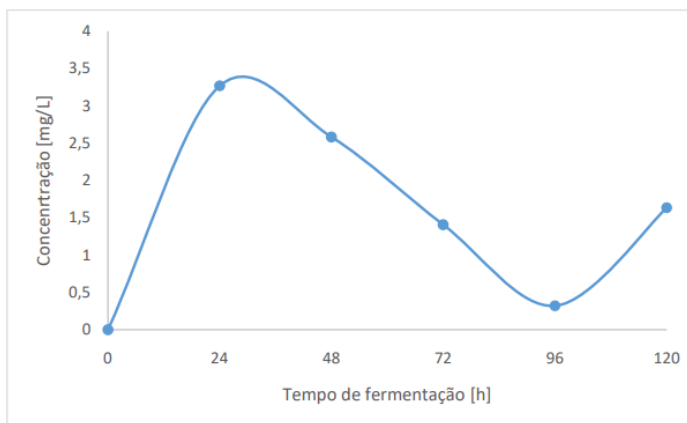




**Fonte:** Autoria própria, 2023.

Pode-se observar na figura 10 que a maior produção do hexanoato de etila, sob condições de 30°C e 200rpm é em 24 horas de fermentação produzindo 3,26 mg L<sup>-1</sup> do bioaroma frutal.

**Figura 10:** Produção de hexanoato de etila em 120 horas de fermentação no tratamento 3, a 30°C e 200rpm.



**Fonte:** Autoria própria, 2023.

## 5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a melhor combinação do bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de malte e casca de banana foi a com proporção 1:0,5:1 com as condições de fermentação de 30°C sob agitação de 200 rpm tendo a maior concentração do bioaroma frutal as 24 horas. Esses fatores são interessantes visando o custo do processo, visto que o meio de cultivo e o tempo de fermentação impactam no custo final do produto.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. (2007). **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry**, Allured Publishing Corp.: Carol Stream, Illinois, USA.

AKACHA, N. B.; GARGOURI, M. Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: Synthesis, recovery modeling, and bioprocesses. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 675-706, 2015.

ALCARDE, A. R. **Árvore do conhecimento: cana-de-açúcar**. Embrapa. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_108\\_22122006154841.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html). Acesso em: 06 de fevereiro de 2023.

ANVISA. **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução nº12, de 17 de janeiro de 2007. Estabelece o regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes. Resolução – RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br> . Acesso em: 20 fev. 2023

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA CERVEJA - CervBrasil. **Dados do Setor**. Disponível em: [http://www.cervbrasil.org.br/novo\\_site/dadosdo-setor/](http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dadosdo-setor/). Acesso em: 18/08/2023.

BARIFOUSE, R. **Os aditivos químicos presentes em 4 de cada 5 alimentos vendidos nos mercados do Brasil**. BBC News Brasil, 2021. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-59082513>. Acesso em: 18/08/2023.

BERGER, R. G. **Aroma Biotechnology**. Ed. Springer - Verlag Berlin Heidelberg, Germany, p. 240, 1995.

BERGER, R. G. Biotechnology as a source of natural volatile flavours. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, p. 38-43, 2015.

BICAS, J. L.; DIONÍSIO, A. P.; PASTORE, G. M. Bio-oxidation of terpenes: an approach to flavor industry. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 9, p. 4518-4531, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Valor da Produção Agropecuária fecha 2022 em R\$1,189trilhão/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Política Agrícola**. – Brasília: MAPA/ACE, 2023.

BRIGIDO, B. M. **Produção de compostos voláteis de aroma por novas linhagens de Neurospora**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000. 148p.

CAMPOS, R. **Produção De Hexanoato De Etila Com O Uso Combinado De Resíduos Agroindustriais**. 2023. 44p. Microbiologia Industrial e de Fermentação – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Avaré, 2023.

CARVALHO, D. S de. **Produção de aroma frutal por linhagens de Neurospora sp em meios sintéticos e resíduos agroindustriais**. Orientadora: Gláucia Maria Pastore. 2011. 174p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CARVALHO, D. S. de; MOLINA, G.; MARÓSTICA Jr, M.R.; PASTORE, G. M. Fruity aroma production by *Neurospora sitophila*: Influence of precursors. **Current Topics in Biotechnology**. *Trivandrum*, v. 7, p.45-49, 2012.

CRESCITELLI, M. B.; SZABO, R.; SOUZA, H. A. L. de; PASTORE, G. M.; CARVALHO, D. S. De. **Produção de aroma Frutal por Neurospora sp. em resíduos agroindustriais**. In: 11° CONICT- Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia, São Paulo, 2020.

DIAS, J. do S. A.; BARRETO, M. C. **Aspectos agronômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá. 2011. 95p

DIAZ, A. B.; BLANDINO, A.; CARO, I. Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues. **Trends in Food Science and Technology**, v. 71, p. 52–64, 2018.

FAO, Fruit and vegetables – your dietary essentials. **The International Year of Fruits and Vegetables 2021 Background paper**. 2020.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. O Mercado de Bioaditivos para a Indústria de Alimentos. **Revista Processos Químicos**, v.10, n. 19, p. 25-38, 2016

GONÇALVES, J. Secagem da casca e polpa da banana verde (*Musa acuminata*): propriedades físicas e funcionais da farinha. **Global Science and Technology**, v. 9, n. 3, 2016.

GONDIM, J..; MELO, A. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

GUPTA, C.; PRAKASH, D.; GUPTA, S. A biotechnological approach to microbial based perfumes and flavours. **Journal of Microbiology & Experimentation**, India, 17 janeiro 2015. v. 3, n. 1. Disponível em:< <https://medcraveonline.com/JMEN/a-biotechnological-approach-to-microbialbased-perfumes-and-flavours.html>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção de Banana**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/banana/br>. Acesso em: 06 de fev. 2023.

KAWA, L. **Resíduos da produção de cana-de-açúcar**. Disponível em: [https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/sucroenergetico/156845-residuosdaproducao-decana-de-acucar.html#.YZjvHLpv\\_IU](https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/sucroenergetico/156845-residuosdaproducao-decana-de-acucar.html#.YZjvHLpv_IU). Acesso em: 06 fev. 2023.

LYNCH, KIERAN M.; ERIC J. STEFFEN; ELKE K. ARENDT. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Institute of Brewing & Distilling**, 122, p. 553-568, 2016.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 3, p. 268–274, 2006.

NACHILUK, K. **Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana**. Análises e Indicadores do Agronegócio, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. 2021, p. 1-5. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=15925>> Acesso em: 18/08/2023.

NAIDU, Y.; SIDDIQUI, Y.; IDRIS, A. S. Comprehensive studies on optimization - of lignohemicellulolytic enzymes by indigenous white rot hymenomyces under solid-state cultivation using agro-industrial wastes. **Journal of Environmental Management**, Índia, 9 de janeiro de 2020. v. 259, p. 110056. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31929034/> . Acesso em: 18/08/2023.

NNOLIM, N. E.; OKOH, A. I.; NWODO, U. U. Proteolytic bacteria isolated from agro-waste dumpsites produced keratinolytic enzymes. **Biotechnology Reports**, v. 27, 2020. DOI: 10.1016/j.btre.2020.e00483

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T.; VANDENBERGHE, L.P.S; A, MOHAN, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 81-87, 2000b.

PASTORE, G. M.; PARK ,Y. K.; MIN, D. B. (1994). Production of fruity aroma by *Neurospora* from beiju. **Mycological Research**, v. 98 (11), 1300-1302. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095375620980302X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 fevereiro de 2023.

PEREIRA, A. **Avaliação das atividades cicatrizante e antitumoral de extratos provenientes da casca de banana cultivar Prata Anã (Musa sp.)** 2010. 154 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PERKINS, D.D; DAVIS, R.H. Evidence for Safety of Neurospora Species for Academic and Commercial Uses. **Applied Environmental Microbiology**. v. 66., p. 5107–5109, 2000.

PRAKASH, H.; CHAUHAN, P. S.; GENERAL, T.; SHARMA, A. K. T.. Development of eco-friendly process for the production of bioethanol from banana peel using inhouse developed cocktail of thermo-alkalizable depolymerizing enzymes. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 41, n. 7, p. 1003–1016, 2018.

SCHALCHLI, H.; HORMAZABAL, E.; RUBILAR, O.; BRICENO, G.; MUTIS, A.; ZOCCOLO, G.; DIEZ, M. Production of ligninolytic enzymes and some diffusible antifungal compounds by white-rot fungi using potato solid wastes as the sole nutrient source. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 38, n. 1, p. 42–49, 2016.

SHARMA, P.; GAUR, V. K.; KIM, S.H.; PANDEY, A. Microbial strategies for biotransforming food waste into resources. **Bioresource Technology**, v. 299, p. 122-580, 2020.

SILVA, L. M. S. **Aproveitamento da casca de banana para produção de farinha destinada à formulação de biscoitos**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2013.

SZABO, R.; PASTORE, G. M.; CARVALHO, D. S. **Produção de bioaroma frutal: efeito do uso combinado de resíduos agroindustriais e de precursores**. Iniciação científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo. Edição Virtual, 2021.

WILKINSON, S.; SMART, K. A.; COOK, D. J. A comparison of dilute acid- and alkali-catalyzed hydrothermal pretreatments for bioethanol production from brewers' spent grains. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 72, n. 2, p. 143–153, 2014.

YAMAUCHI, H.; OBATA, T.; AMACHI, T.; HARA, S. (1991). Production of characteristic odors by *Neurospora*. **Agricultural and Biological Chemistry**, 55:12, 3115-3116, DOI: 10.1080/00021369.1991.10864612