

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO PAULO

CAMPUS AVARÉ

CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIODIVERSIDADE

Rafaela de Campos

**PRODUÇÃO DE HEXANOATO DE ETILA COM O USO COMBINADO DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

AVARÉ

2023

RAFAELA DE CAMPOS

**PRODUÇÃO DE HEXANOATO DE ETILA COM O USO COMBINADO DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

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

C198p

Campos, Rafaela de

Produção de hexanoato de etila com o uso combinado de resíduos agroindustriais/
Rafaela de Campos – Avaré, 2023.

44 p.

Orientador: Prof.^a 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. 5. Resíduos agroindustriais – Bagaço de cana-de-açúcar 6. Resíduos
agroindustriais – Bagaço de malte. 7. Biomassa. I. Título.

IFSP/Avaré

CDU: 606:63

RAFAELA DE CAMPOS

**PRODUÇÃO DE HEXANOATO DE ETILA COM O USO COMBINADO DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

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, 06 de junho de 2023.

Dedico aos meus pais,
Andréia e Nelson, e à minha
irmã por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTO

Agradeço acima e primeiro de tudo a Deus, por ter me concedido saúde e sabedoria em todos esses anos de processo.

Agradeço aos meus pais, por todos os anos de sacrifício para a realização dos meus estudos, por todo apoio, carinho e acolhimento.

Agradeço a minha irmã, por sempre estar ao meu lado, mesmo com a distância física entre a gente, por sempre ter acreditado em mim e por todo incentivo diário.

Agradeço a todos os meus amigos, em especial a Maria Eloisa, Gleidson, Daiane, Maria Eduarda, Ana Carolina, Vinícius e Marcos, por estarem presentes em todos os momentos dessa caminhada, e ao meu namorado por ter sido fundamental para que eu conseguisse me manter firme durante todos esses anos.

Meus mais sinceros agradecimentos à minha orientadora Prof. Dra. Daniele Souza de Carvalho, por ter acreditado em mim desde o início e ter me dado a oportunidade de conhecer esse mundo da pesquisa, por todo conhecimento passado, paciência, cuidado, amizade e dedicação em todo conhecimento passado à mim.

Agradeço ao IFSP pelas bolsas PIBIFSP concebidas, foram de grande contribuição para realização das minhas Iniciações Científicas, incluindo a parte prática deste trabalho de conclusão de curso.

Agradeço de forma geral a todos os professores do curso de Engenharia de biosistemas, por terem me proporcionado ótimos anos de aprendizagem e um ensino de qualidade.

Por fim, agradeço a todos que cruzaram o meu caminho durante esse período e que de alguma forma tiveram contribuições nesse processo.

“Faça o teu melhor, na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores para fazer melhor ainda.”

(Cortella,2018)

RESUMO

A biotecnologia atualmente está inserida na busca de novos produtos e processos, tornando-se uma ferramenta importante na obtenção de aromas naturais. Ademais, o Brasil por ser um país agrícola gera uma alta quantidade de resíduos agroindustriais. Nesse sentido, é de suma importância a busca de alternativas que possam trazer a esses resíduos gerados um valor comercial agregado colaborando também com a redução do impacto ambiental. O projeto em questão utilizou o uso combinado de resíduos agroindustriais sendo eles o bagaço de malte e o bagaço de cana-de-açúcar visando produzir hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* n° CTT 5055 tendo por objetivo avaliar o melhor tempo de produção. Meios de cultura contendo 5 gramas de cada resíduo e 1 g de óleo de soja em 100 mL de água destilada foram preparados e inoculados com um grama de biomassa, obtida através de um processo de filtração a vácuo gerada após 24 horas em meio Yeast Malt (YM), os quais foram mantidos em shaker a 200 rpm e 30°C. A fermentação nos resíduos foi conduzida nas mesmas condições da produção da biomassa e amostras foram coletadas a cada 24 horas até 144 horas. Posteriormente cada amostra foi extraída com o auxílio de éter dietílico e 1 microlitro injetado e analisado no cromatógrafo gasoso. Todas as amostras continham o aroma de interesse, entretanto, o melhor tempo para a produção foi em 48 horas de fermentação com uma produção de 39,24 mg/L.

Palavras-chave: bioaroma. *Neurospora*. bagaço de cana-de-açúcar. bagaço de malte.

ABSTRACT

Biotechnology is currently inserted in the search for new products and processes, becoming an important tool in obtaining natural aromas. Furthermore, Brazil, as an agricultural country generates a high amount of agro-industrial waste. In that sense, it is importance to the search for ways that can bring the waste generated a value aggregate commercial contribution also collaborating with the reduction of the environmental impact. The project in question used the combined use of agro-industrial residues, namely malt bagasse and sugarcane bagasse, aiming to produce ethyl hexanoate by *Neurospora sitophila* n° CTT 5055, with the aim of evaluating the best production time. Containing 5 grams of each residue and 1 g of soybean oil in 100 mL of distilled water were prepared and inoculated with one gram of biomass, obtained through a vacuum filtration process generated after 24 hours in Yeast Malt (YM) medium which were kept in a shaker at 200 rpm and 30°C. Fermentation in the residues was carried out under the same conditions of biomass production and samples were collected every 24 hours for up to 144 hours. Afterwards, each sample was extracted with the aid of diethyl ether and 1 microliter injected and analyzed in the chromatograph gaseous. All samples contained the aroma of interest, however, the best time for the production was in 48 hours of fermentation with a production of 39.24 mg/L

Key-words: flavor. *Neurospora*. sugarcane bagasse. malt bagasse.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – *Neurospora sitophila* n° CCT 5055 repicada em meio PDA.

Figura 2 – Biomassa de *Neurospora Sitophila* a ser inoculada no meio com os resíduos agroindustriais.

Figura 3 – Meio com os resíduos agroindustriais antes da inoculação.

Figura 4 – Processo de extração líquido líquido.

Figura 5 – Cromatograma obtido de uma amostra fermentada a 30°C sob agitação de 200 rpm por 72 horas.

Figura 6 – Comparação de cromatogramas gerados sem e com fortificação da amostra.

Figura 7 – Cromatograma obtido do branco da amostra mantida a 30°C sob agitação de 200 rpm por 72 horas.

Figura 8 – Curva de calibração construída com concentrações de hexanoato de etila conhecidas para quantificação do bioaroma de interesse.

Figura 9 – Cinética da produção de hexanoato de etila por 144 horas de fermentação a 30°C e 200 rpm de agitação.

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 – Vantagens e desvantagem dos métodos de obtenção de aroma por síntese química, extração da natureza e via biotecnológica.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG	Cromatografia Gasosa
CG-DIC	Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chamas
IFSP	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
PDA	Potato Dextrose Agar
TR	Tempo de Retenção
YM	Yeast Malt
TR	Tempo de retenção

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO	15
1.2 OBJETIVOS	16
1.2.1 Objetivo Geral	16
1.2.2 Objetivos Específicos	16
1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	16
1.3.1 Manutenção da linhagem de <i>Neurospora sitophila</i> n° CCT 5055	16
1.3.2 Produção do bioaroma de interesse	16
1.3.2.1 Preparo do inóculo e inoculação	16
1.3.2.2 Fermentação	17
1.3.3 Avaliação do melhor tempo de produção	17
1.3.3.1 Extração do hexanoato de etila	17
1.3.3.2 Corrida cromatográfica para quantificação e identificação do hexanoato de etila em CG-DIC	18
1.3.3.3 Identificação e quantificação do hexanoato de etila	18
1.3.3.3.1 Comparação do tempo de retenção	18
1.3.3.3.2 Fortificação da amostra	18
1.3.3.3.2 Quantificação do hexanoato de etila	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19

2.1 Fungos filamentosos - <i>Neurospora Sitophila</i>	19
2.2 Hexanoato de etila	20
2.3 Aromas e bioaromas	21
2.3.1 Produção biotecnológica de aromas	22
2.4 Resíduos agroindustriais	24
2.4.1 Bagaço de cana-de-açúcar	25
2.4.2 Bagaço de malte	25
2.5 Cromatografia gasosa	26
2.6 Extração Líquido Líquido	27
3 ANÁLISE DOS RESULTADOS	27
3.1 Manutenção da linhagem de <i>Neurospora sitophila</i> nº CCT 5055	27
3.2 Produção do hexanoato de etila.	28
3.3 Identificação do hexanoato de etila na combinação dos resíduos agroindustriais com óleo de soja.	28
3.4 Quantificação do hexanoato de etila	30
3.4.1 Curva de calibração	30
3.4.2 Avaliação do melhor tempo de produção	31
4 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A produção biotecnológica vem expandindo nos últimos anos, 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)

O aroma e sabor são atributos sensoriais de extrema importância no consumo dos alimentos, pois, se não agradarem ao paladar dos consumidores, os produtos são rejeitados e, conseqüentemente, há prejuízos financeiros para as empresas e comércio em geral (LUZ, 2010).

O Brasil é, atualmente, o quarto maior mercado para produtos saudáveis. A indústria de aromas naturais ocupa uma parcela significativa do mercado de ingredientes naturais (ADITIVOS INGREDIENTES, 2021). Enquanto, a síntese química pode ocasionar alto impacto ambiental devido a emissão de resíduos não biodegradáveis em seu processo, e aromas extraídos de fontes vegetais estão sujeitos a variação da sazonalidade, ataques de pragas e efeitos geográficos a biotecnologia surge como uma ferramenta atrativa nesse mercado (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 (NACHILUK, 2021). Nos processos de açúcar e álcool, gera-se como resíduo 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).

Visto isso, a utilização de resíduos agroindustriais, sendo eles bagaço de malte e manipueira, por exemplo, juntamente com a adição de óleo de soja, para a produção de hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* culminou em patente de invenção (PASTORE et al., 2011). Em estudo realizado por Crescitelli, et al. (2020) houve identificação da produção de hexanoato de etila em bagaço de cana-de açúcar por *Neurospora sp.* Além disso, trabalhos recentes demonstraram que, além disso, o uso combinado de resíduos agroindustriais com adição de precursor é interessante para esse propósito, além de diminuir os custos da etapa fermentativa e tornando-o factível (SZABO, et al., 2021).

Posto isso, sabendo que a *Neurospora sp.* possui capacidade de se desenvolver rapidamente, podendo ser um microrganismo capaz de produzir metabólitos secundários, dentre eles, ésteres (MARÓSTICA JUNIOR, 2006; SYED et al., 2016), a utilização dela, em processos de produção de aroma, juntamente com o uso combinado de resíduos agroindustriais adicionados de óleo de soja como meio de cultura na etapa fermentativa, pode se tornar um aliado em potencial para a redução de custos na produção do hexanoato de etila.

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

O tema em questão foi pensado uma vez que a região de Avaré possui uma gama de agroindústrias as quais geram inúmeros resíduos agroindustriais. Associado também ao fato da missão do IFSP de promover o desenvolvimento local, o presente estudo teve como fundamento aliar a pesquisa e o desenvolvimento local e pessoal. Além disso, tornando-se uma forma viável que já vem sendo estudada para produção de bioaromas.

Estudos realizados no IFSP Campus Avaré, mostram bons resultados com o uso combinado de bagaço de cana-de-açúcar e bagaço de malte para a produção do hexanoato de etila (CAMPOS e CARVALHO, 2022).

Portanto, com o exposto, a utilização da linhagem de *Neurospora sitophila*. em processos biotecnológicos combinado com resíduos agroindustriais como meio de cultura na etapa fermentativa, é um aliado na eficiência de produção do hexanoato de etila, principalmente ao se identificar o melhor tempo de produção deste composto, visto que, assim, há uma otimização de tempo de produção e conseqüentemente uma redução ainda maior de custos nesse processo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Produzir hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* n° CTT 5055 em bagaço de cana-de-açúcar e bagaço de malte com óleo de soja como meio de cultivo.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar o tempo de maior produção de hexanoato de etila em 144 horas de fermentação, a temperatura de 30°C sob uma agitação de 200 rpm, com coletas de amostra a cada 24 horas.

b) Identificar e quantificar o hexanoato de etila produzido.

1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

1.3.1 Manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* n° CCT 5055

Para manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* n° CCT 5055, a mesma foi repicada, pela técnica de estriamento, nos meses de agosto e outubro em tubos de ensaio contendo PDA e mantidas por uma semana em estufa incubadora a 30°C. Após isso foram armazenadas sob refrigeração.

1.3.2 Produção do bioaroma de interesse

1.3.2.1 Preparo do inóculo e inoculação

Para a etapa da inoculação, a linhagem foi repicada, em nove tubos contendo PDA (Potato Dextrose Agar) e mantida em estufa a 30° C por 72 horas. Após esse período, foram acrescentados 10 ml de água estéril aos tubos, raspados, com o auxílio da alça de platina, transferidos para erlenmeyers contendo 50 mL de meio líquido YM (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 agitação de 200 rpm a 30°C por 24 horas. Passado esse tempo, a biomassa foi recolhida a partir de um sistema de filtração a vácuo, usando um funil Buchner.

Um grama da biomassa gerada foi adicionado aos meios estéreis contendo 5 gramas de bagaço de cana-de-açúcar, 5 gramas de bagaço de malte e 1 grama de óleo de soja em 100 mL de água destilada. Esse processo foi repetido 9 vezes, incluindo a realização do branco para controle, ou seja, um meio com resíduo sem a adição do inóculo.

1.3.2.2 Fermentação

Para a produção do hexanoato de etila, o meio contendo os resíduos agroindustriais passou pelo processo de fermentação a 30°C e 200 rpm de agitação por um período de 144 horas.

Para a cinética, foram retiradas amostras a cada 24 horas e congeladas para posterior análise.

1.3.3 Avaliação do melhor tempo de produção

A verificação do tempo de maior produção de hexanoato de etila foi feita a partir da quantificação do composto de interesse nas amostras.

1.3.3.1 Extração do hexanoato de etila

O método utilizado para retirada do hexanoato de etila do meio fermentado foi a extração líquido-líquido. Para isso, foram utilizados 5 mL do meio fermentado, transferidos para tubo de ensaio adicionados com 0,1 g de NaCl. Após isso, agitou-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 realizado por fim a retirada do solvente contendo o analito, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, para uma eppendorf de 1,5 ml contendo 0,1 g de NaCl.

1.3.3.2 Corrida cromatográfica para quantificação e identificação 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 mL.min⁻¹. A programação de temperatura do forno foi iniciada a 50°C, permanecendo nesta

temperatura por 1 minuto, em seguida foi adicionada uma rampa de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até atingir 150°C permanecendo durante 1 minuto e, posteriormente, uma rampa de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até 200°C , a qual foi mantida por 3 minutos. A temperatura do detector foi de 250°C .

1.3.3.3 Identificação e quantificação do hexanoato de etila

1.3.3.3.1 Comparação do tempo de retenção

Um dos critérios utilizados para a identificação da produção de hexanoato de etila, foi comparando os tempos de retenção entre o pico alvo e o padrão analítico do hexanoato de etila, obtidos na corrida cromatográfica.

1.3.3.3.2 Fortificação das amostras

Foi feita a adição de $1\mu\text{l}$ de solução de hexanoato de etila de $30\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em uma das amostras extraídas contendo o bioaroma de interesse.

1.3.3.3.3 Quantificação do hexanoato de etila

A quantificação do hexanoato de etila produzido foi feita através de uma curva de calibração externa com dez pontos de concentrações de hexanoato de etila conhecidas, sendo eles: 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 50; mg L^{-1} obtidos a partir de uma solução mãe de 500 mg/L com 0,003% de padrão interno. Para a construção da curva foi utilizado o programa Microsoft Excel (2019).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fungos filamentosos - *Neurospora Sitophila*

Processos fermentativos envolvendo microrganismos desempenham um papel fundamental na produção de aromas presentes nos alimentos, como por exemplo em cervejas, vinhos, queijos e molho de soja (PINTO, 2017). Visto isso, os fungos filamentosos têm sido utilizados para a produção de medicamentos e alimentos, além de degradação natural de resíduos ambientais (TAKAHASHI et al., 2017).

Esses fungos são compostos por longos filamentos chamados de hifas que se ramificam e se entrelaçam (TAKAHASHI, et al., 2017), sendo capazes de secretar uma ampla gama de enzimas, como celulases, lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacase, protease, α -amilase, β -xilosidase, amiloglucosidase e glucoamilase, permitindo-lhes degradar celulose, hemicelulose, lignina, amido e proteína em seus respectivos monômeros (TROIANO et al., 2020). Além disso, a biomassa gerada pelos fungos filamentosos podem ser fonte de vitaminas, fibras, proteínas, pigmentos e enzimas (KARIMI et al., 2021, SOUZA FILHO et al., 2019, TROIANO et al., 2020).

Embora esses microrganismos possam crescer, numa ampla variedade de substrato e sob condições ambientais adversas, as condições de cultivo quando manipuladas permitem a obtenção de maiores rendimentos do processo no composto de interesse (CUNHA, 2012). Além disso, esses organismos são seres fermentadores, e assim, a partir da fermentação conseguem obter energia a partir de compostos orgânicos do meio ambiente (BOURDICHON, et al., 2012). Normalmente, ao final do processo fermentativo, onde o fungo atinge a fase estacionária, é observada a produção de metabólitos secundários (TAKAHASHI et al., 2008)

A *Neurospora sp*, um fungo filamentoso, possui a capacidade de se desenvolver rapidamente, podendo ser um microrganismo capaz de produzir metabólitos secundários dentre os quais cita-se o hexanoato de etila (CARVALHO, 2011; CARVALHO et al., 2012).

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).

Além de ter bom rendimento, para processos biotecnológicos é preferível que o microrganismo utilizado seja GRAS (geralmente reconhecidos como seguros), classificação na qual a *Neurospora* está inserida pelo regulamento da Food and Drug Administration (FDA). Não há conhecimento sobre metabólitos secundários nocivos a serem produzidos pelas cepas de nenhuma espécie de *Neurospora* (PERKINS e DAVIS, 2000).

2.2 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°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 mg/L, sendo muito utilizado em bebidas alcoólicas, sorvete, produtos de panificação, doces e geleias (CARVALHO et al., 2012).

A produção de hexanoato de etila por linhagens de *Neurospora sp.* já foi e vem sendo explorada por diferentes pesquisas, destacando-se a produção através do uso de resíduos agroindustriais, bagaço de cana-de-açúcar e malte, para a produção desse bioaromas (CRESCITELLI et al., 2020; SZABO, et al., 2021; CAMPOS. 2022).

2.3 Aromas e bioaromas

Segundo a Resolução n° 12, 17/01/2007 da ANVISA, aromas são definidos 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.

Essa definição vem de encontro à tendência de mercado no qual os consumidores preferem produtos que contenham em sua formulação matérias-primas naturais, em detrimento dos aditivos químicos, diferenciando esses no mercado (BERGER, 2015; CAROCHO et al., 2015; CARVALHO, 2011)

A avaliação sensorial de um produto alimentício indica que o aroma é um dos parâmetros mais poderosos determinando a qualidade e aceitação do produto. Essas moléculas podem ser hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres ou lactonas que estão presentes em baixas concentrações na composição de produtos alimentícios (BICAS et al., 2010)

Atualmente, os aromatizantes, que dão aroma a um produto, estão presentes em 47,1% dos produtos (BARIFOUSE, 2021). Basicamente, existem três métodos para a obtenção de compostos de aroma (AKACHA et al., 2015): síntese química, extração da natureza e biotecnologia, que incluem biotransformações microbianas e enzimáticas. Sínteses químicas resultam em rendimentos satisfatórios, entretanto pode ocasionar alto impacto ambiental além de que em alguns casos podem resultar em mudanças significativas no aroma desejado.

Quadro 1: Vantagens e desvantagem dos métodos de obtenção de aroma por síntese química, extração da natureza e via biotecnológica.

Método de obtenção	Vantagem	Desvantagem
Síntese química	Alto rendimento.	Baixa seletividade, mistura de produtos; Sintético e artificial.
Extração da natureza	Boa qualidade sensorial; Natural.	Baixa concentração; Influência de fatores ambientais.
Via biotecnológica	Parâmetros brandos de processo; produção contínua sem influência da sazonalidade; Natural.	Baixo rendimento

Fonte: Adaptado de Bicas et al 2015.

Nesse sentido, os compostos produzidos quimicamente são rotulados como "artificiais" ou "idênticos ao natural", diminuindo seu interesse econômico. Por outro lado, a produção biotecnológica é uma alternativa atrativa para a produção de aromas, uma vez que ocorre em condições leves, não gera resíduos tóxicos e os produtos obtidos podem ser rotulados como "naturais" (BICAS et al., 2010).

2.3.1 Produção biotecnológica de aromas

Os processos biotecnológicos são capazes de gerar muitos dos compostos necessários para a caracterização dos aromas, o que muitas vezes na produção de via

sintética não é alcançada ou se mostra economicamente inviável (CALASANS, 2012). Além disso, 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.

Não obstante, ao desenvolver processos microbiológicos é importante identificar cepas que produzem quantidades significativas dos componentes desejados. 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 et al., 2015).

Visto isso, é possível também incluir a possibilidade de utilizar resíduos agroindustriais na produção biotecnológica, seja para contribuir no crescimento de biomassa ou até mesmo como substrato no processo fermentativo (BICAS et al., 2010; CARVALHO, 2011), visto que esses possuem compostos potencialmente interessantes para a nutrição desses microrganismos.

Os compostos de aroma, produzidos por microrganismos, resultam principalmente do metabolismo secundário de microrganismos, visto que estas substâncias não são essenciais para a síntese celular. Muitas substâncias voláteis encontram-se nesta categoria como, por exemplo, ésteres, alcoóis, aldeídos, cetonas, terpenos e lactonas (BERGER, 2015; CARVALHO, 2011).

Os ésteres como acetato de isoamila, acetato de etila e hexanoato de etila são conhecidos por afetarem a qualidade do sabor de bebidas fermentadas e são altamente valorizados por seu sabor e perfis de aroma que conferem (PARK et al., 2009).

2.4 Resíduos agroindustriais

O agronegócio é um setor produtivo promissor e apresenta expansão no Brasil (MAPA, 2018), entretanto, gera conseqüentemente uma alta quantidade de resíduos. Esses resíduos agroindustriais, no geral, são gerados no processamento de alimentos, fibras, couro, madeira, produção de açúcar, álcool, entre outros, sendo sua produção, geralmente, sazonal, condicionada a cultura ou oferta da matéria-prima (COSTA FILHO, 2017).

O uso de resíduos agroindustriais faz parte do movimento ecológico vindo de encontro com a crescente busca dos consumidores por processos ecológicos e verdes em lugar de processos químicos. Dessa forma, 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 et al., 2018).

A maioria dos resíduos agrícolas é de natureza lignocelulósica, sendo uma grande fração composta de carboidratos. Dessa forma podem ser utilizados para o crescimento microbiano bem como para a obtenção de produtos de valor agregado, incluindo biomoléculas industrialmente importantes (NNOLIM et al., 2020).

A indústria de alimentos inevitavelmente produz grandes volumes de resíduos agroindustriais, como bagaço, cascas e películas que ainda contêm precursores de sabor. O uso desses resíduos como um substrato de fermentação visando a produção de aroma de alto valor se torna muito interessante (BERGER, 2015).

O uso de resíduos agroindustriais, portanto, pode ser utilizado para vários fins, como para a produção de aroma. Um trabalho recente de CAMPOS e CARVALHO

(2022), confirma essa possibilidade de utilização do uso combinado de resíduos agroindustriais para a produção de hexanoato de etila.

2.4.1 Bagaço de cana-de-açúcar

Segundo a CropLife (2020), o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do planeta, sendo o estado de São Paulo o maior estado produtor, correspondendo a 55% da produção do país. A cana-de-açúcar vem sendo considerada como uma das matérias-primas mais importantes da atualidade, pela diversidade de materiais produzidos, tais como etanol, açúcar, energia, cachaça, caldo, rapadura, além de seus subprodutos (KAWA, 2015).

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 (GEOUVEIA et al., 2009). Nos processos de açúcar e álcool, gera-se resíduos como o bagaço de cana-de-açúcar, cuja média da composição química é: carbono 39,7 – 49%, oxigênio 40 – 46%, hidrogênio 5,5 – 7,4%; nitrogênio e cinzas 0,03%, propriedades físico-químicas de umidade 50%, fibra 46% e impurezas minerais 2%; composição média da fibra do bagaço de celulose 26,6 – 54,3%, hemicelulose 14,3 – 24,4% e lignina 22,7 – 29,7%, podendo variar de acordo com o tipo de cana, o tipo de solo, as técnicas de colheita e até o manuseio (SILVA et al., 2007).

2.4.2 Bagaço de malte

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 de malte. Esse tipo de 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).

O bagaço de malte, é predominantemente fibroso (70% massa seca) e proteico (15 a 25% massa seca), apresentando também em sua composição lipídios, minerais, vitaminas, aminoácidos e compostos fenólicos (ALIYU e BALA, 2011; MUSSATO et al., 2006; ROBERTSON et al., 2010). Sua composição é diversa, mas normalmente tem-se 18,8 – 20,6% de celulose, 18,4 – 28,4% de hemicelulose, 9,9 – 27,8% de lignina, 15,3 – 26,6% de proteínas e de 2,7 – 4,6% de cinzas (QUIN et al., 2018).

2.5 Cromatografia gasosa

Entre os métodos de separação, a cromatografia tem grande aplicabilidade em áreas tão diversas como ambiental, farmacêutica, análises clínicas, medicina legal e outras (PAVUK et al., 2007). Posto isso, a cromatografia gasosa (CG) é uma técnica que tem por objetivo viabilizar a separação e quantificação rápida do maior número de constituintes em misturas complexas (PEDROSO et al., 2009). Com um alto poder de resolução, permite análises de várias substâncias dentro de uma mesma amostra com poucas quantidades (GOULART, 2012).

Essa técnica permite separar e quantificar componentes com características físico-químicas muito semelhantes, tais como dioxinas e furanos em misturas complexas (PAVUK et al., 2007) . O limite de detecção obtido pela cromatografia pode ser cerca de 100 a 1000 vezes menor que aquele obtido por outros métodos de separação (HARVEY et al., 2000) podendo ser aplicada em amostras gasosas, líquidas ou sólidas, desde que os analitos sejam voláteis ou possam ser volatilizados sem sofrer decomposição térmica.

A alta precisão do equipamento se deve ao aperfeiçoamento nos diversos módulos que compõem o cromatógrafo, bem como o desenvolvimento de colunas cromatográficas capilares que aumentaram a eficiência na capacidade de resolução de picos, possibilidade do uso de vazões elevadas de gás de arraste e rampas de

aquecimento (PEDROSO et al., 2009). Além de que, a técnica de cromatografia gasosa foi utilizada em vários estudos para separação dos compostos de aromas, com resultados bem sucedidos (BASTOS et al., 2002; BICAS, et al., 2009; CARVALHO, 2011; LOPES et al., 1999; RODRIGUES et al., 2015).

2.6 Extração líquido-líquido

Extração-líquido-líquido (ou extração por solvente) refere-se a uma operação na qual dois componentes de uma mistura líquida são separados pelo contato com um solvente insolúvel o qual dissolverá preferencialmente um ou mais componentes. Nesse procedimento a fase de maior densidade fica embaixo (RODRIGUES, 2015).

3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.1 Manutenção da linhagem de *Neurospora sitophila* n° CCT 5055

Em relação a manutenção da linhagem, foi observado um bom crescimento da *Neurospora sitophila* durante os meses, como mostra a figura 1, o que é satisfatório para que a mesma seja mantida.

Figura 1 – *Neurospora sitophila* n° CCT 5055 repicada em meio PDA.



Fonte: Autoria própria, 2022.

3.2 Produção do hexanoato de etila.

Para a produção do hexanoato de etila, o meio 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, conforme mostra a figura 2. 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.

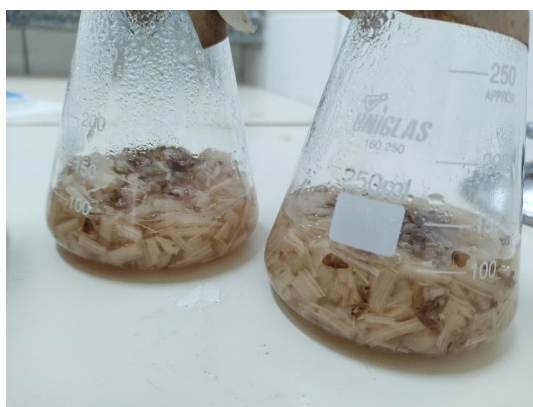
A partir desse momento, no meio com os resíduos, a *Neurospora* utiliza os compostos presentes tanto nos resíduos de bagaço de malte o qual possui: maltose, celulose, hemicelulose, vitaminas, aminoácidos, lipídios, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, boro, manganês, zinco, amoníaco 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. A figura 3 mostra o meio com as concentrações de resíduos agroindustriais.

Figura 2 – Biomassa de *Neurospora sitophila* a ser inoculada no meio com os resíduos agroindustriais.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3 – Meio com os resíduos agroindustriais antes da inoculação.



Fonte: Autoria própria, 2022.

3.3 Identificação do hexanoato de etila na combinação dos resíduos agroindustriais com óleo de soja.

A identificação do analito de interesse foi feita após o processo de extração de líquido-líquido (figura 4) e a injeção dessas amostras no CG, para que a partir disso, os

cromatogramas fossem gerados posteriormente as corridas cromatográficas, tornando possível a identificação. Essa identificação foi realizada utilizando a comparação do tempo de retenção entre o pico alvo do padrão analítico e do pico de hexanoato de etila juntamente com a execução da fortificação das amostras.

O tempo de retenção na cromatografia é o tempo necessário da substância eluir a coluna, após a injeção. A descoberta do tempo de retenção, para utilização na comparação, foi obtida durante o processo, sendo os TR dos padrões utilizados, em torno de 13,448 a 13,473 minutos para o hexanoato de etila e em torno de 11,733 a 11,155 para o padrão interno. A variação presente nos tempos de retenção se deve a injeção das amostras serem feitas de forma manual. A partir do TR do padrão de hexanoato de etila, observou-se nas amostras fermentadas se havia pico em torno deste, como mostra a figura 5, onde o pico de hexanoato de etila está destacado.

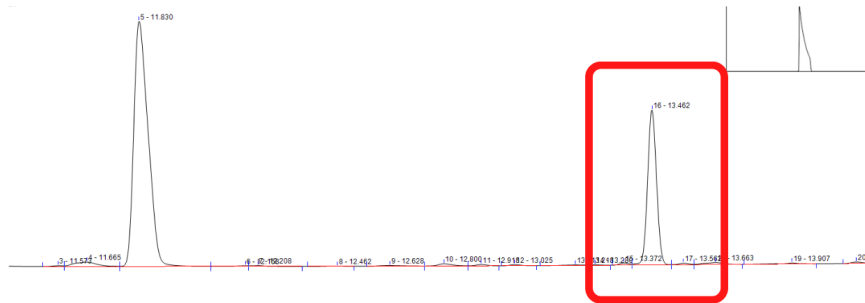
Além disso, como denotado, a fim de procurar outra ferramenta de confirmação de que o pico encontrado era do hexanoato de etila, foi utilizada a fortificação das amostras a fim de se observar o aumento da área nesse pico. É evidente na figura 5 pela comparação dos tamanhos dos picos no TR do analito de interesse, o aumento do mesmo após a fortificação ser feita.

Figura 4 – Processo de extração líquido líquido



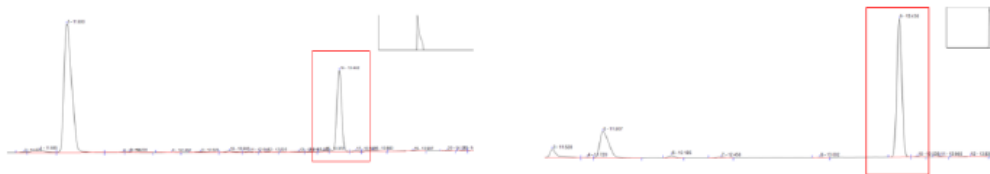
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 5 – Cromatograma obtido de uma amostra fermentada a 30°C sob agitação de 200 rpm por 72 horas.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 6 – Comparação de cromatogramas gerados sem e com fortificação da amostra.

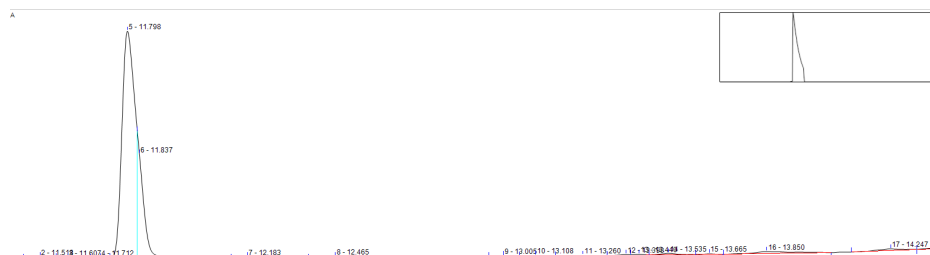


Fonte: Autoria própria, 2022.

Não obstante, outra forma de verificar que o hexanoato de etila produzido foi proveniente da fermentação dos resíduos pela linhagem estudada, foi realizando o branco durante o processo de fermentação, ou seja, em um erlenmeyer não houve a inoculação da biomassa de *Neurospora sitophila*. Na Figura 7 é possível observar a ausência do pico no tempo de retenção do hexanoato de etila nesse tratamento,

tornando-se possível afirmar que não houve a produção de hexanoato de etila em meio sem a presença de linhagem de *Neurospora sitophila*.

Figura 7 – Cromatograma obtido do branco da amostra mantida a 30°C sob agitação de 200 rpm por 72 horas.



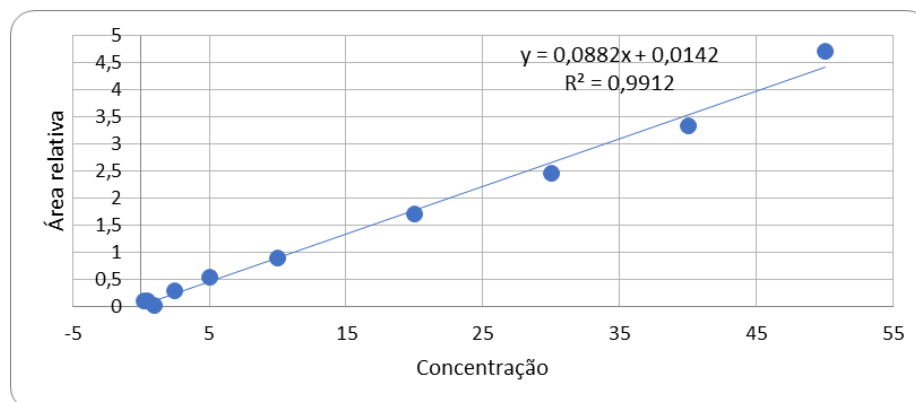
Fonte: Autoria própria, 2022.

3.4 Quantificação do hexanoato de etila

3.4.1 Curva de calibração

No processo de quantificação do analito de interesse, foi feita a construção de uma curva analítica, mostrada na figura 8, que segundo Harris, D. C. (2009), obtendo-se a faixa linear presente nesta 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.

Figura 8 – Curva de calibração construída com concentrações de hexanoato de etila conhecidas para quantificação do bioaroma de interesse.

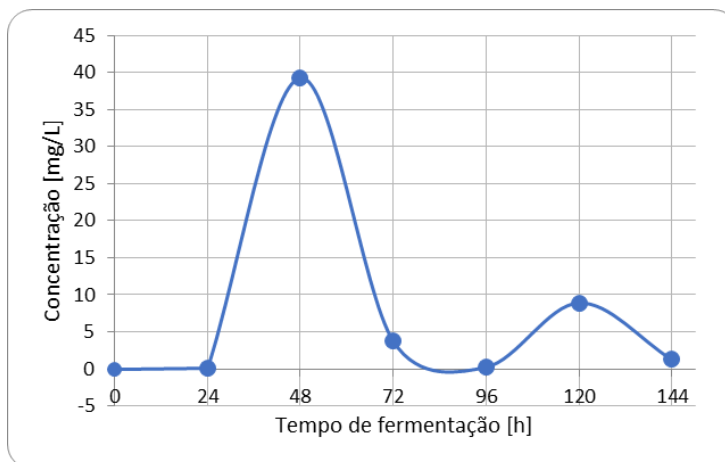


Fonte: Autoria própria, 2022.

3.4.2 Avaliação do melhor tempo de produção

A partir da curva de calibração construída, todas as quantificações foram feitas, tornando possível a análise do melhor tempo de produção. Posto isso, as concentrações das amostras extraídas a cada 24 horas por um período de 144 horas são mostradas na figura 9. É possível observar o ponto máximo da curva com 48 horas de fermentação.

Figura 9 – Cinética da produção de hexanoato de etila por 144 horas de fermentação a 30°C e 200 rpm de agitação.



Fonte: Autoria própria, 2022.

4 CONCLUSÃO

Portanto, posto o objetivo de produzir hexanoato de etila e nesse processo avaliar o tempo de maior produção de hexanoato de etila por *Neurospora sitophila* n° CTT 5055 tendo o uso combinado de resíduos agroindustriais como meio de cultivo em 144 horas de fermentação, a uma temperatura de 30°C sob uma agitação de 200 rpm, foi possível concluir que se obteve a maior concentração, sendo ela de 39,24 mg/L de hexanoato de etila, em 48 horas de fermentação.

REFERÊNCIAS

ADITIVOS E INGREDIENTES. **Ingredientes naturalmente saudáveis**. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/artigos/artigos-editoriais-geral/ingredientesnaturalemente-saudaveis>. Acesso em: 15/01/2023.

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**. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG1108_22122006154841.html Acesso em: 20/11/2021.

ALIYU, S.; BALA, M. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. ***African Journal of Biotechnology***, v. 103, n. 3, p. 324-331, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA CERVEJA - CervBrasil. **Dados do Setor**. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/. Acesso em: 20/06/2021

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: 20/07/2021.

BASTOS, D. H. M.; FRANCO, M. R. B.; SILVA, M. A. A. P.; JANZANTII, N. S.; MARQUES, M. O. M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. ***Food Science and Technology***, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2002
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. Estudos de obtenção de bioaromas pela biotransformação de compostos terpênicos, 2009. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas.

Bicas, J.L.; Molina, G.; Barros, F.F.C.; Pastore, G.M. Production of aroma compounds by white biotechnology. **White Biotechnology for Sustainable Chemistry**, 2015.

BICAS, J. L.; SILVA, J. C.; DIONÍSIO, A. P.; PASTORE, G. M. Biotechnological production of bioflavors and functional sugars. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 7-18, 2010.

BOURDICHON, F.; Casaregola, S; Farrokh, C.; Frisvad, J. C.; Gerds, M. P.; Hammes, W. P.; Harnett, J.; Huys, G.; Laulund, S.; Ouwehand, A.; Powell, I. B.; Prajapati, J. B.; Seto, Y.; Schure, E. T.; van Boven, A. V.; Vankerckhoven, V., Zgoda, A.; Sandra Tuijtelaars, S.; Hansen, E. B. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. **International Journal of Food Microbiology**, 154, p. 87, 2012.

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**. v. 7, p. 45-49, 2012.

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

CALASANS, P. N. **Produção de aroma de coco por *Trichoderma harzianum* utilizando bagaço de cana**. 2012. 91p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Sergipe, Sergipe/SE, 2012.

CAMPOS, R.; CARVALHO, D. S. Avaliação da melhor temperatura para a produção de bioaroma frutal com o uso combinado de resíduos agroindustriais. In: 13º Congresso de Inovação Científica e Tecnológica do IFSP – 2022. **Anais...** São Paulo: IFSP, 2022.

CORTELLA, M. S. **Faça o teu melhor**. YouTube, 24 de set. de 2018. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=dd1bsHYYqjg>>. Acesso em: 15/04/2023.

COSTA FILHO, D. V. Aproveitamento de resíduos agroindustriais na elaboração de subprodutos, 2017. **Anais...** In: **II Congresso Internacional das Ciências Agrárias**, Natal: IFRN, 2017.

CRESCITELLI, M. B.; SZABO, R.; SOUZA, H; A. L.; PASTORE, G. M.; CARVALHO, D. S de. Produção de aroma frutal por *Neurospora sp.* em resíduos agroindustriais. In: 11o Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP – 2020. **Anais...** Presidente Epitácio: IFSP, 2020.

CROPLIFE. Cana-de-açúcar: mais de 500 anos sendo uma importante cultura para a economia brasileira. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/conceitos/cana-de-acucar-mais-de-500-anos-sendo-uma-importante-cultura-para-a-economia-brasileira>. Acesso em: 04/03/2023.

CUNHA, F. M. Sequential solid-state and submerged cultivation of *Aspergillus niger* on sugarcane bagasse for the production of cellulase. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 270- 274, 2012.

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.

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.

GEOUVEIA, E. R.; TRAJANO, R.; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. M. Validation of methodology for the chemical characterization of sugar cane bagasse. **Química nova**, v.32, p. 6, 2009.

GOULART, D. S. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. In: **Seminário em Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, 2012. p.37.

HARRIS, D. C. **Explorando a química analítica**. 4. ed. Londrina, 2009. cap.5, p. 102.

Harvey, D.; **Modern Analytical Chemistry**, 1 ed. McGraw-Hill: New York, 2000. cap. 12. p. 563 - 577.

KARIMI, S; FERREIRA, J. A.; TAHERZADEH, M. J. A aplicação de biomassa fúngica como alimento. **Enciclopédia de Micologia**, v.1, p 601-612.

KAWA, L. **Resíduos da produção de cana-de-açúcar**. Disponível em: https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/sucroenergetico/156845-residuos-daproducao-de-cana-de-acucar.html#.YZjvHLpv_IU. Acesso em: 09/07/2022.

LOPES, D. C.; FRAGA, S. R.; REZENDE, C. M. Principais substâncias responsáveis pelo aroma de mangas comerciais brasileiras identificadas por cromatografia gasosa e

alta resolução/olfatometria/espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 31-36, 1999.

LUZ, M. P. **Produção de bioaromas pela fermentação de permeados de soro de queijo por Propionibacterium Freudenreichii ps-1**. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG.

MAPA. Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Política Agrícola**, 2018.

MARÓSTICA JUNIOR, M.R. **Biotransformação de terpenos para a obtenção de compostos de aroma e funcionais**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006, 182p.

MUSSATO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**, n. 43, p. 1-14, 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: 20/10/2022.

NNOLIM, N. E.; OKOH, A. I.; NWODO, U. U. Proteolytic bacteria isolated from agro-waste dumpsites produced keratinolytic enzymes. **Biotechnology Reports**, v. 27, p. 83, 2020.

PARK, Y. C.; SHAFFER, C. E. H.; BENNETT, G. N. Microbial formation of esters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85 p. 13-25, 2009.

PASTORE, G. M.; CARVALHO, D.S de; MOLINA, G.; DIONISIO, A. P. **Processo de produção de hexanoato de etila por via biotecnológica utilizando meio sintético e resíduos agroindustriais e seu uso**. Nome do Depositante: Universidade Estadual de Campinas, BR n PI1101711-2. Depósito: 25 abr. 2011.

Pavuk, M.; Patterson, D. G.; Turner, W. E.; Deedham, L. L.; Ketchum, N. S.; **Chemosphere**, v. 68, p. 62 - 68, 2007.

PEDROSO, M. P.; GODOY, L. A. F.; FIDÉLIS, C. H. V.; FERREIRA, E. C.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC× GC). **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 422-430, 2009.

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.

PINTO, L. L. L. **Produção biotecnológica de álcool feniletílico por fungos filamentosos em meio de cultura desenvolvido com utilização de resíduos de maçã (malus domestica)**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2017.

QUIN, F.; JONAHSEN, A. Z.; MUSSATO, S. I. Evaluation of different pretreatment strategies for protein extracyion from brewer´s spent grains. **Industrial Crops and Products**, v.125, p. 443-453, 2018.

RODRIGUES, V. H. S.; XAVIER, V. B.; CASSEL, E. Análise cromatográfica/olfatométrica (CG/O) de compostos voláteis de mel extraídos por spme. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. Campinas/SP, 2015.

ROBERTSON, J. A.; I'ANSON, K. J. A.; TREIMO, J.; FAULDS, C. B.; BROCKLEHURST, T. F.; EIJSINK, V. G. H.; WALDRON, K. W. Profiling brewers spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **Food Science and Technology** n. 43, p. 890-896, 2010

SHARMA, P.; GAUR, V. K.; KIM, S.H.; PANDEY, A. Microbial strategies for bio-transforming food waste into resources. **Bioresource Technology**. v. 299, p. 122580, 2020.

SILVA, V. L. M. M.; GOMES, W. C. O.; ALSINA, L. S. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar como biomassa adsorvente na adsorção de poluentes orgânicos. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 2, n. 1, p. 27-32, 2023

SOUZA FILHO, P.F.; ZAMANI, A.; TAHERZADEH, M. J. Produção de proteínas comestíveis por fungos filamentosos usando águas residuais de plantas amiláceas. **Valorização de Resíduos e Biomassa**, v. 10, p. 2487-2496, 2019.

SZABO, R.; SILVA, I.A.M.; PASTORE, G. M.; CARVALHO, D.S de. Combined use of agro-industrial residues for the production of frutal bioaroma by *Neurospora sitophila* In: 14° Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos -SLACA: "Impacto da Ciência de Alimentos na Saúde e na Doença", **Anais...** Campinas: IFSP, 2021.

TAKAHASHI, J. A.; LIMA, G. S.; SANTOS, G. F.; LYRA, F. H.; HUGHES, A. F.; GONÇALVES, F. A. G. Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Revista virtual de Química**, v. 9, p 2351-2382, 2017.

Takahashi, J. A.; Lucas, E. M. F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, 1807- 1813, 2008.

TROIANO, D; ORSAT, V.; DUMONT, M. J. Status de fungos filamentosos em biorrefinarias. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 117, p. 2-4, 2020.