

PRODUÇÃO DE ÁLCOOL DE MANDIOCA A PARTIR DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA NATURAL

Deonir Agustini & Henrique Emilio Junior
UTFPR

Resumo - Neste trabalho foi avaliada a utilização de enzimas naturais α -amilase e β -amilase presentes na batata doce como uma forma de hidrólise do amido da mandioca para a obtenção de etanol, buscando uma alternativa viável para a produção de álcool a partir dessa cultura. Para a hidrólise do amido, foi obtida uma massa ralada de mandioca, a qual foi misturada na proporção adequada à solução natural de enzimas da batata doce e processada a digestão. O material hidrolisado foi posteriormente submetido à fermentação, em fermentador de bancada por 36 horas a 30°C de temperatura e 100 rpm de agitação, utilizando levedura de panificação. Foram avaliados os principais parâmetros fermentativos e calculado o rendimento da hidrólise e eficiência da bioconversão. No final do processo foi observado consumo de 100% dos açúcares redutores, 99,15% de açúcares redutores totais e uma produção em etanol de 3,92% ou 39,19 mL/L. A taxa de conversão de amido em açúcares fermentescíveis foi de 26% na hidrólise e foi obtido uma eficiência de 71,43% no processo fermentativo.

Palavras-Chave: etanol, hidrólise, fermentação.

PRODUCTION OF ALCOHOL OF CASSAVA STARTING FROM NATURAL ENZYMATIC HYDROLYZE

Abstract- In this work the use of natural enzymes was evaluated α -amylase and β -amylase presents in the sweet potato as a form of hydrolyze of the starch of the cassava for the ethanol obtaining, looking for a viable alternative for the production of alcohol starting from that culture. For the hydrolyze of the starch, it was obtained a grated mass of cassava, which was mixed in the adapted proportion the natural solution of enzymes of the sweet potato and processed the digestion. The hydrolyzed material was later submitted the fermentation, in fermentador of having supported for 36 hours to 30°C of temperature and 100 agitation rpm, using bread-making yeast. They were appraised the principal fermentative parameters and calculated the revenue of the hydrolyze and efficiency of the bioconversion. In the end of the process it was observed consumption of 100% of the sugars reducers, 99,15% of sugars total reducers and a production in ethanol of 3,92% or 39,19 mL/L. The rate of conversion of starch in fermentative sugars was of 26% in the hydrolyze and it was obtained an efficiency of 71,43% in the process fermentation.

KeyWord: ethanol, hydrolyze, fermentation.

1. INTRODUÇÃO

O etanol (álcool etílico), $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, é um dos principais álcoois existentes. Trata-se de um líquido incolor, inflamável e de odor característico, miscível em água e em outros compostos orgânicos. Apresenta ponto de fusão de $-114,1^\circ\text{C}$ e ponto de ebulição de $78,5^\circ\text{C}$, e densidade de $0,789 \text{ g/mL}$ a 20°C (REIS, 2006). Possui várias aplicações, sendo as mais comuns o chamado uso potável, alimentício e farmacêutico, além de usos menos nobres como o industrial (BRINGHENTI, 2004).

A produção de etanol no Brasil, em sua grande maioria, origina-se do cultivo da cana-de-açúcar, podendo ser citado ainda a mandioca como outra opção de matéria-prima alcooleira.

A supremacia da cana-de-açúcar na produção de álcool

está ligada principalmente ao fato dela já possuir os açúcares fermentescíveis que são diretamente metabolizados pela levedura alcoólica, não necessitando de digestão prévia na produção do mosto, como ocorre com o amido da mandioca (FILHO; MENDES, 2003).

Esse processo de digestão é denominado de hidrólise e baseia-se na transformação do amido ou fécula em açúcares fermentescíveis. Realiza-se por via química ou biológica. O processo químico utiliza ácido para a quebra do amido. Já a hidrólise biológica, de longe a mais empregada atualmente, faz-se por ação enzimática ou pela ação de microbiana de certos fungos (LIMA, 1987).

O processo da fermentação alcoólica caracteriza-se como uma via catabólica, na qual há a degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula de

microrganismos (leveduras ou bactérias), até a formação de etanol e CO₂, havendo liberação de energia química e térmica (FILHO; MENDES, 2003). Seu controle é feito pela observação de alguns parâmetros, tais como: tempo de fermentação, temperatura, pH, odor, açúcares no mosto, formação do produto desejado, entre outros (NOGUEIRA; FILHO, 2005).

O presente trabalho propõe um processo alternativo para a produção de etanol a partir do amido de mandioca, utilizando as enzimas amilolíticas naturais presentes na batata doce como agente hidrolisante, pois as mesmas apresentam um custo muito menor do que as enzimas comerciais utilizadas atualmente no processo alcoólico tradicional envolvendo o amido dessa raiz, objetivando uma redução nos custos e conseqüentemente, a viabilidade comercial do álcool de mandioca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Raízes de mandioca (*Manihot esculenta*) e tubérculos de batata doce (*Ipomoea batatas*), obtidas no comércio local, provenientes da própria região, sob a forma in natura, constituíram o material necessário para preparar o mosto. Fermento de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*) foi o microrganismo escolhido para o processo da fermentação alcoólica, objetivando a produção de etanol.

2.2. Métodos

As principais etapas do processo estão ilustradas na Figura 01.



Figura 01: Etapas do processo fermentativo.

2.2.1. Teor de umidade da mandioca

O teor de umidade da mandioca foi determinado gravimetricamente, em estufa à 105°C até peso constante, segundo metodologia preconizada pela AOAC Association of Official Analytical Chemists (1994) de acordo com Franco et. al. (2002g).

2.2.2. Determinação de açúcares redutores (AR)

Os açúcares redutores foram quantificados espectrofotometricamente pelo método de Somogyi-Nelson, o qual baseia-se na redução do cobre pelos

açúcares redutores.

2.2.3. Teor de amido

A determinação do amido no processo foi realizada através de uma hidrólise ácida inicial, baseada na metodologia de Carvalho (2002), citada por Carvalho; Fernandes & Pires (2006), onde houve a produção exclusiva de glicose, sendo feita a posterior quantificação da quantidade deste monossacarídeo através do método de Somogyi-Nelson e realizada a devida conversão em teor de amido.

2.2.4. Determinação do pH da massa de mandioca

Esta análise tem como base a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (1985), pela qual é feita a leitura eletrônica do pH de uma solução de mandioca ralada e água (FRANCO, 100 el. al., 2002g).

2.2.5. Determinação do rendimento da hidrólise

Para a determinação da eficiência da hidrólise, consideraram-se os valores de amido que foram transformados em glicose, através da estequiometria dessa conversão:

1 mol de glicose = 1 mol de H₂O + massa de amido, então:
180,16 g de glicose = 18 g de água + 162,16 g de amido
ou

100 g de amido teoricamente produz 111,1 g de glicose (BRINGHENTI, 2004).

2.2.6. Determinação de açúcares redutores totais (ART)

A determinação de açúcares redutores totais foi desenvolvida pelo método colorimétrico do fenol sulfúrico (Dubois et. al. 1956), e tem como princípio o uso de um meio fortemente ácido para a dosagem de ART.

2.2.7. Determinação de sólidos solúveis

Utilizou-se o refratômetro manual para a determinação da quantidade dos sólidos solúveis presentes no mosto, expressos em oBrix.

2.2.8. Determinação de etanol

A determinação da concentração de etanol em solução, conforme metodologia descrita pela AOAC Association of Official Analytical Chemists, é feita através da reação de oxidação de um álcool primário, como o etanol, com íons dicromato. As leituras espectrofotométricas realizadas em 440 nm medem a absorção do dicromato restante na solução, após a reação com etanol.

2.2.9. Determinação de biomassa

A determinação do crescimento celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi feita através do método espectroscópico, onde é feita a leitura da absorbância da amostra e comparada com uma curva padrão, que relaciona em diferentes diluições a absorbância dos

padrões e a concentração celular.

2.2.10. Determinação do pH no fermentado

A determinação do pH durante a fermentação do mosto foi realizada diretamente no produto fermentado, sendo os valores apresentados no próprio fermentador, através de um eletrodo medidor de pH acoplado ao reator.

2.2.11. Rendimento da fermentação alcoólica

O cálculo da eficiência da fermentação alcoólica relaciona os teores de glicose contidos no mosto e de álcool presentes no vinho, através do quociente entre o rendimento prático e o rendimento teórico, como expressa a formula:

$$E = (V_{\text{prático}} / V_{\text{teórico}}) * 100$$

Onde:

E = eficiência da fermentação alcoólica (%);

V_{prático} = volume de etanol prático formado na fermentação alcoólica;

V_{teórico} = volume de etanol teórico que deveria ter sido formado na fermentação alcoólica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Ensaios prévios à fermentação

As análises realizadas nessa etapa do processo visam principalmente preparar o produto que será fermentado, através da caracterização da matéria-prima, sua hidrólise e correção do mosto, adequando-o as exigências da levedura utilizada na fermentação. Os valores obtidos foram os seguintes:

Teor de umidade da mandioca: 61,55% e 38,45% de E.S.T. (extrato seco total).

Teor de amido: 31,9% em massa úmida e 82,9% na massa seca.

• pH da massa de mandioca: 6,69.

- Rendimento da hidrólise: 26%.
- Sólidos solúveis no mosto: 90Brix.
- Açúcares redutores (AR) no mosto: 8,53%.
- Açúcares totais (ART) no mosto: 11,06%.

Com a quantificação dos teores de umidade e amido, e pelo sucesso na conversão enzimática natural do amido em glicose (26%), certificou-se do emprego da mandioca para a produção de álcool. As análises de sólidos solúveis, açúcares redutores e totais possibilitaram o preparo do produto a ser fermentado, ajustando a quantidade de substrato presente no mosto à levedura e a proporção máxima de sólidos solúveis suportados por esse microrganismo.

3.2. Acompanhamento da fermentação

A fermentação desenvolveu-se durante 36 horas, sendo que cinco parâmetros foram acompanhados durante esse período (biomassa, açúcares redutores, açúcares redutores totais, etanol e pH) através de 16 amostras retiradas

diretamente do produto fermentado. Os dados obtidos durante o período da fermentação foram agrupados na tabela 01.

Tabela 01: Parâmetros da fermentação.

Tempo (h)	Massa celular (g/L)	Açúcares redutores (g/L)	Açúcares redutores totais (g/L)	Etanol (mL/L)	pH
00	21,17	85,27	110,59	0,0	5,14
10	22,33	15,36	29,14	24,56	4,56
11	24,17	11,51	27,57	24,88	4,57
12	25,78	8,37	24,44	26,43	4,60
13	24,63	6,28	22,87	26,74	4,62
15	24,17	3,14	17,39	27,36	4,59
16	23,94	2,09	15,04	27,68	4,57
17	23,71	1,57	12,69	28,30	4,55
18	23,48	1,05	11,91	29,23	4,53
19	23,02	0,52	9,56	29,54	4,52
21	21,17	0,0	7,21	29,85	4,50
22	20,94	0,0	5,64	30,79	4,49
23	21,17	0,0	4,86	31,10	4,48
34	21,40	0,0	1,73	36,08	4,39
35	21,17	0,0	1,34	37,32	4,39
36	21,40	0,0	0,94	39,19	4,38

Com os dados da tabela anterior, pode ser observado que houve um discreto crescimento celular da *Saccharomyces cerevisiae* devido à limitação de substrato presente no mosto (8,53% de AR e 11,06% de ART), e a baixa disponibilidade de O₂. Observou-se, porém, que a fermentação processou-se de forma adequada, como indica o total consumo dos açúcares redutores e o quase esgotamento dos açúcares redutores totais e a conseqüente formação de etanol, produto esperado no processo. A análise do pH também indica a normalidade da fermentação, com a queda gradual do mesmo durante as 36 horas.

A relação estabelecida entre o consumo dos substratos do mosto e a crescente concentração do produto formado, ilustra perfeitamente o perfil da fermentação, como pode ser visto na figura 2.

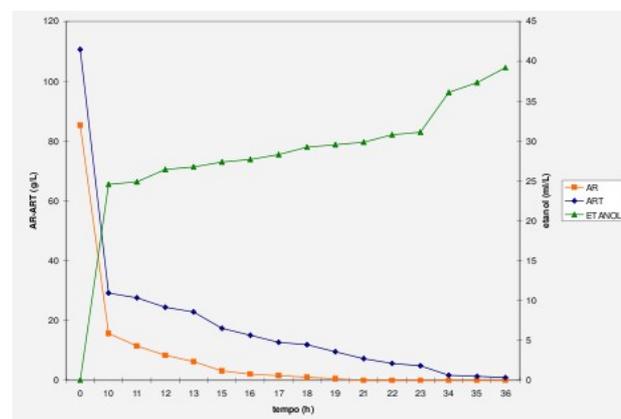


Figura 02: Perfil do processo fermentativo.

3.3. Rendimento da fermentação alcoólica

A eficiência da fermentação ficou em 71,43%, quando relacionada à quantidade de produto obtido no processo e o valor teórico esperado para o mesmo.

4. CONCLUSÃO

O rendimento da conversão de amido em açúcares fermentescíveis catalisado pelas enzimas amilolíticas

presentes na batata doce foi considerado bom levando em conta os gastos reduzidos do processo, alcançando a taxa de conversão de 26%.

Com o acompanhamento dos principais parâmetros da fermentação do mosto obtido pela hidrólise natural, concluiu-se que a mesma desenvolveu-se de forma normal, indicada pelo consumo quase que total dos açúcares fermentescíveis, queda do pH, aumento da biomassa e produção de etanol, atingindo este, a quantidade final de 39,19 mL/L ou 3,92%, com uma eficiência no processo fermentativo de 71,43%.

Portanto, conclui-se que o fator determinante para o sucesso na produção de etanol a partir da mandioca é a realização de uma hidrólise eficiente, ou seja, uma alta conversão de amido em açúcares, pois o processo de fermentação, seja ele da cana-de-açúcar ou da mandioca não apresenta diferenças, basta à disponibilidade de açúcares fermentescíveis no mosto para a conversão em etanol pelas leveduras alcoólicas.

5. REFERÊNCIAS

- BRINGHENTI, L. Qualidades do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. Botucatu, 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho , 2004.
- CARVALHO, G.G. P.; FERNANDES, Francisco Éden de Paiva; PIRES, Aureliano José Vieira. Métodos de determinação dos teores de amido e pectina em alimentos animais. Espanha, v. 7, n. 1, p. 1-12, jan. 2006.
- FILHO, WGV; MENDES, BP. In: Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. v. 3, p. 530-575.
- FRANCO, CML, et.al. In: Propriedades gerais do amido. Metodologias de análise de amido. São Paulo: Fundação cargill, 2002. v. 1, p. 185-203.
- LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biotecnologia: tecnologia das fermentações. 4. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, v.1. 1987.
- NOGUEIRA, A. M.P.; FILHO, W.G. V.. Aguardente de cana. Botucatu: UNESP, 2005. 71 p.
- REIS, J. P. Z. Dosagem de etanol utilizando álcool desidrogenase de levedura de panificação. Araraquara, 2006. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho , 2006.