

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

ANDERSON DA SILVA

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO AMIDO DE
MANDIOCA E BATATA-DOCE**

BAURU

2011

ANDERSON DA SILVA

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO AMIDO DE
MANDIOCA E BATATA-DOCE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Ana Paula Cerino Coutinho.

BAURU

2011

Silva, Anderson da
S5861p

Produção de Etanol a partir do Amido de Mandioca e Batata-doce / Anderson da Silva -- 2011.
32f. : il.

Orientadora: Prof. Dr. Ana Paula Cerino Coutinho

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Hidrólise enzimática. 2. Etanol. 3. Batata-doce. 4. Mandioca. I. Coutinho, Ana Paula Cerino. II. Título.

ANDERSON DA SILVA

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO AMIDO DE MANDIOCA E
BATATA-DOCE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Ana Paula Cerino Coutinho.

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Cerino Coutinho.
Universidade Sagrado Coração

Prof^a. Ms^a. Setsuko Sato
Universidade Sagrado Coração

Prof. Ms. Alessandra Bizan de Oliveira Stetner.
Universidade Sagrado Coração

Bauru, 22 de junho de 2011.

Dedico este trabalho à meus pais e minha namorada que sempre me ajudaram e me apoiaram em todos os momentos e à minha orientadora, que me deu todo apoio necessário.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus. Aos meus pais, irmãos e minha namorada, que me apoiaram na realização desse trabalho. À orientadora, professores e Universidade, pela orientação e apoio necessário.

RESUMO

Atualmente a agroindústria açucareira é a responsável pela produção brasileira de etanol para fins carburantes, industriais, porém, quaisquer matérias-primas vegetais, ricas em açúcares, amido ou celulose, constituem fontes para produção de etanol. Este trabalho objetivou estudar a composição e a estrutura da mandioca e da batata-doce, a fim de serem utilizadas como matéria-prima para a produção de etanol; além de pesquisar os principais processos utilizados na fermentação alcoólica. Uma das alternativas para o aumento da produção de etanol é o uso de matérias-primas amiláceas, como a batata-doce e a mandioca, por apresentarem alto teor de amido. O amido é um polímero composto de amilose e amilopectina em concentrações diferentes em função de sua origem botânica. A amilose é composta de unidades de glicose polimerizadas por ligações glicosídicas α -1,4, de forma linear. A amilopectina é um polímero onde as unidades de glicose estão unidas por ligações α -1,4 e α -1,6 em configuração ramificada. O amido não é disponível à levedura alcoólica e necessita de uma transformação a mono e dissacarídeos fermentescíveis, que pode ser realizada utilizando amilases como catalisadores no processo de hidrólise. Esta etapa é imprescindível para disponibilizar os açúcares redutores requeridos à fermentação. No processo fermentativo utiliza-se a *Saccharomyces cerevisie* para a conversão da glicose em etanol e a condução do processo pode ser por batelada, batelada alimentada ou contínuo. Cada processo apresenta vantagens e desvantagens; a batelada é um processo onde o risco de contaminação é baixo, porém perde-se muito tempo para que se obter o produto desejado, já no batelada alimentada o rendimento de etanol é maior; no caso do processo contínuo o rendimento é elevado, porém o risco de contaminação é alto devido a não higienização das dornas.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática. Etanol. Batata-doce. Mandioca.

ABSTRACT

Currently, the sugar industry is responsible for the Brazilian ethanol's production for fuel, industrial, however, any raw-material plants, rich in sugars, starch or cellulose, are sources for the ethanol production. This work aimed to study the structure and composition of cassava and sweet potato, to be used as base for ethanol production, also research the main processes used in alcoholic fermentation. One of the alternatives for increasing ethanol production is the application of raw starchy materials such as sweet potatoes and cassava, because of their high starch content. Starch is a polymer composed of amylose and amylopectin in different concentrations depending on its botanical origin. Amylose is composed by glucose units polymerized by glycosidic α -1, 4, linearly. The amylopectin is a polymer where the glucose units are linked by α -1, 4 and α -1,6, with a branched configuration. The starch is not available to the alcoholic yeast and it requires a transformation to fermentable mono and disaccharides which can be performed using amylase as catalysts in the hydrolysis process. This step is essential to provide the reducer sugars required for fermentation. In the fermentation process, the *Saccharomyces cerevisies* is used for the a conversion of glucose into ethanol and the process could be by batch, fed batch or continuous. Each process has advantages and disadvantages, the batch is a process where the risk of contamination is low, but it requires a lot of time to obtain the desired product; on the other hand, in the fed batch process the ethanol's yield is higher; in cases of continuous process the yield is high, but the risk of contamination is also high due to the lack of sanitation of the vats.

Keywords: Enzymatic Hidrolysis. Ethanol. Sweet potato. Cassava.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da mandioca e batata doce.....	15
Tabela 2 –Proporção dos produtos da fermentação alcoólica.....	24
Tabela 3 – Concentração dos nutrientes minerais no mosto.....	28

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química da amilose.....	17
Figura 2 - Estrutura química da amilopectina.....	18
Figura 3 - Classificação das cadeias de amilopectina.....	19
Figura 4 - Catabolismo da glicose.....	23
Figura 5 - Célula de levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
Figura 6 - Processo contínuo.....	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	14
2.1 Batata-doce	14
2.2 Mandioca.....	14
3 AMIDO.....	16
3.1 Amilose.....	16
3.2 Amilopectina.....	18
4 ENZIMAS UTILIZADAS NO PROCESSO DE HIDRÓLISE DO AMIDO.....	20
4.1 α – Amilases.....	20
4.2 β -Amilases.....	21
4.3 Amiloglucosidases.....	21
5 PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL.....	23
5.1 Bioquímica.....	23
5.2 Micro-organismo.....	24
5.3 Parâmetros de processos.....	25
5.4 Fatores que afetam a fermentação.....	28
6 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Desde a primeira crise do petróleo, em 1970, e com o surgimento do ProÁlcool, a produção de biocombustível vem sendo cogitada como parte de uma solução duradoura para o problema energético mundial.

No Brasil, as indústrias de açúcar e de álcool estiveram sempre intimamente ligadas, desde o tempo do descobrimento. Deduz-se que a produção de álcool iniciou na Capitania de São Vicente, porque nela foi montado o primeiro engenho de açúcar do País, após a vinda das primeiras mudas de cana-de-açúcar, trazidas da ilha da Madeira em 1532 (SCHMIDELL, 2001).

O etanol é produzido principalmente a partir de fontes renováveis, por meio da conversão de açúcares ou de amido.

Qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato constitui-se em matéria-prima para a obtenção do etanol. Entretanto, para que seja viável economicamente é preciso considerar-se seu volume de produção, o rendimento industrial e o custo da fabricação (SCHMIDELL, 2001).

Na cana-de-açúcar, o açúcar predominante é a sacarose. Os açúcares redutores compõem-se primordialmente de glicose e frutose. Esses açúcares se encontram em proporções quase iguais nas canas perfeitamente maduras, o caldo obtido pela moagem da cana-de-açúcar encerra entre 78% e 86% de água, 10% e 20% de sacarose, 0,1% e 2% de açúcares redutores, 0,3% e 0,5% de cinzas e entre 0,5% e 1,0% de compostos nitrogenados (SCHMIDELL, 2001).

Uma alternativa à substituição desta matéria prima é o uso de xaropes obtido a partir da hidrólise de amido. O emprego do amido para produção de álcool levará ao desenvolvimento agroindustrial das regiões Norte e Nordeste, que são as maiores produtoras de mandioca e outras regiões brasileiras que são produtoras de matérias primas amiláceas (CAMILI, 2010).

As matérias amiláceas e feculentas fermentam após uma hidrólise, que se denomina de sacarificação, pela qual o amido in fermentescível se transforma em açúcar fermentescível (SCHMIDELL, 2001).

A hidrólise do amido pode ser feita por adição de ácidos ou de enzimas. A hidrólise enzimática apresenta vantagens sobre a ácida por ser seletiva, gastar pouca energia e não gerar produtos indesejáveis. As enzimas mais empregadas para este propósito são α e β -amilases

que são encontradas em diversas fontes como cereais e micro-organismo (CAMILI, 2010).

Portanto, é possível desenvolver novas tecnologias e métodos para aumentar a produção de etanol através da utilização de matérias primas amiláceas, como a mandioca e a batata doce.

Este trabalho tem por objetivo estudar a composição e a estrutura da mandioca e da batata-doce, a fim de serem utilizadas como matéria prima para a produção de etanol. Além de pesquisar os principais processos utilizados na fermentação alcoólica.

2 COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

2.1 BATATA DOCE

A batata doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) é originária da América Central e do Sul, sendo encontrada desde a Península de Yacatan, no México até a Colômbia.

Trata-se de uma hortícula tipicamente tropical e subtropical, rústica, de fácil manutenção, boa resistência contra seca e ampla adaptação.

Segundo Abujamra (2009 *apud* EMEPA, 2004), “a composição química das raízes da batata doce revela que esta hortaliça é rica em carboidratos (amido principalmente), com teores de 13,4 a 29,2% e açúcares redutores de 4,8 a 7,8% em raízes frescas. Contém ainda boa quantidade de vitamina A, além de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e ácido nicotínico) e água (59,1 a 77,7%). Apresenta baixos teores de proteínas (2,0 a 2,9%) e de gorduras (0,3 a 0,8%). Como fonte de minerais, a batata doce fornece, em cada 100 g, os seguintes teores: cálcio (30mg), fósforo (49 mg), potássio (273 mg), magnésio (24 mg), enxofre (26 mg) e sódio (13 mg)” .

A batata doce na colheita contém entre 16 e 40% de massa seca. Desta massa 75 a 90% são carboidratos compostos por açúcar, celulose, pectina e hemicelulose (BOUWKAMP, 1985).

Durante o processo de armazenamento, devido á presença de enzimas amilolíticas, parte deste amido se converte em açúcares solúveis, resultando em 13,4 a 29,2% de amido e de 4,8 a 7,8% de açúcares totais redutores (MIRANDA *et al*, 1995). Esta característica é de extrema importância para a utilização da batata doce como matéria prima para produção de etanol, pois facilita o processo de hidrólise do amido.

2.2 MANDIOCA

A mandioca é uma espécie de origem latino-americana e sua produção está voltada para o consumo humano. A cultura da mandioca é de fácil propagação, tolerante a pragas e doenças e pouco exigente quanto a condições do solo e clima, no entanto, tem baixa resistência ao frio, apresenta um longo período de crescimento e alto potencial de deterioração

fora do solo (EDUARDO, 2002).

Devido à sua adaptabilidade, é uma planta que pode ser cultivada em áreas onde outras espécies amiláceas não se desenvolvem com a mesma desenvoltura. A mandioca, produto muito consumido no Brasil, pode ser utilizada diretamente para o consumo ou destinada para indústria (CAMILI, 2010).

A mandioca é reconhecidamente uma raiz amilácea, onde o amido se encontra juntamente com os outros carboidratos de diferentes pesos moleculares, incluindo desde açúcares simples até glicosídeos e material celulósico. As raízes de mandioca são compostas, basicamente por água e carboidratos (CAMILI, 2010), possuem ainda compostos que, em presença de oxigênio (ar), levam à formação de estrias escuras nas raízes (deterioração fisiológica). Cada raiz possui uma camada resistente de epiderme, rugosa, de cor marrom seguindo-lhe uma camada cortical, facilmente descartável, a parte carnosa é descrita como branca ou ligeiramente amarelada riquíssima em amido (aproximadamente 37%) (FENIMAN, 2004).

Quando o cultivo da mandioca é realizado em condições ótimas de umidade, o conteúdo de amido esperado na raiz é de 25,9% a 35,3% aos 12 meses (FENIMAN, 2004).

A composição da mandioca e da batata-doce varia muito com a espécie, idade e condições de cultivo. A tabela 1 mostra a composição da mandioca e batata-doce.

Tabela 1 - Composição centesimal, em base seca, da mandioca e batata doce.

	Mandioca	Batata-doce
Amido (%)	90,1	83
Proteína	1,5	2,9
Fibra (%)	5,6	3,8
Gordura (%)	0,3	0,8
Açúcares (%)	0,7	7,8
Cinzas (%)	1,8	1,7
Outros (%)	-	-

Fonte: Mendes (1992) e Kohyama e Nishinari (1992).

3 AMIDO

O amido é um produto amiláceo sintetizado nas folhas das plantas, onde atua como carboidrato de reserva temporário, acumulando-se nos cloroplastos durante o dia, e a noite serve como fonte principal para a síntese de sacarose, que é transportada para os órgãos de armazenamento das plantas, como sementes, frutas, tubérculos e raízes, onde os amidos são encontrados (DENARDIN; SILVA, 2009).

A biossíntese do amido ocorre em uma organela subcelular especializada, o amiloplasto, que possui uma membrana lipoprotéica limitante, o material inicial para a biossíntese do amido é a sacarose, que é transportada dos tecidos fotossintéticos da planta em desenvolvimento para o órgão de armazenamento (FENIMAN, 2004).

O amido se apresenta na forma de discretos grânulos com forma e tamanho dependente da sua fonte botânica, sendo composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: a amilose e a amilopectina, que representam 97 a 99% do peso seco do mesmo. Esses dois componentes do amido diferem-se entre si, quanto ao peso molecular, ao grau de polimerização de suas cadeias e à disposição dos mesmos no interior do grânulo (FENIMAN, 2004).

O amido nativo ou natural apresenta estrutura granular semicristalina, a amilose consiste de cadeias lineares, enquanto que a amilopectina possui estrutura ramificada.

Quimicamente, pode-se afirmar que o amido é um polímero formado pela reação de condensação de moléculas de α -glicose com eliminação de água. Amidos são polissacarídeos, ou seja, carboidratos que, por hidrólise, originam uma grande quantidade de monossacarídeos (RECHSTEINER, 2009).

O amido é disponível em quantidades suficientes e os processos industriais permitem que o amido seja extraído com elevada pureza. Além de ser uma matéria prima renovável e não tóxica.

3.1 AMILOSE

A amilose é um polímero linear constituído de unidades de D-glicose, unidas entre si

por ligações tipo α - 1,4 com uma extremidade redutora e uma não redutora, a amilose possui facilidade para adquirir uma conformação helicoidal, pois as cadeias de α - D-glicose costumam enrolar-se em espiral, formando uma estrutura na qual a hélice é formada por pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxilas da molécula (HOOVER, 2001).

Durante o aquecimento do grânulo de amido em meio aquoso a amilose contribui na viscosidade da fase contínua da dispersão amido-água, neste processo parte da amilose de menor peso molecular poderá ter passado à solução, tendo então, um sistema em que não há mais água livre, pois estará totalmente ligada às cadeias de amilose e amilopectina, ou presas nos espaços entre os grânulos (FENIMAN, 2004).

Outra característica bem conhecida da amilose é sua habilidade de formar gel depois de grânulo de amido ter sido cozido, isto é, gelatinizado. Este comportamento é evidente em certos amidos que contêm alto teor de amilose, a formação do gel decorre principalmente da reassociação (chamado de retrogradação) dos polímeros de amido solubilizados depois de cozidos e pode acontecer bem rapidamente com polímeros de cadeia linear (VIEIRA, 2004).

Além disso, mudanças moleculares tornam possível a formação de complexos com moléculas de lipídios nas regiões superficiais do grânulo, o que inibe a degradação do amido por enzimas como fosforilase, α -amilase e β -amilase. Outros complexos de inclusão helicoidal que podem ser formados com a amilose incluem alguns álcoois e ácidos orgânicos (DENARDIN; SILVA, 2009).

A Figura 1 mostra a estrutura da amilose.

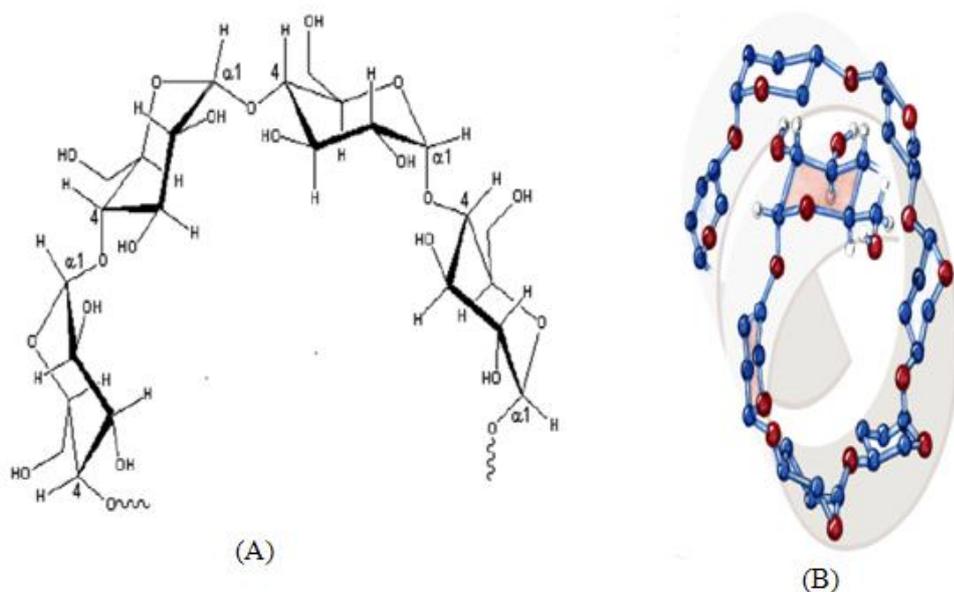


Figura 1 – Estrutura da amilose (polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -(1,4)).

Fonte: DENARDIN; SILVA, (2009).

3.2 AMILOPECTINA

A amilopectina é descrita como uma grande molécula altamente ramificada. As moléculas de amido desenvolvem-se a partir de uma única unidade de α -D-glucopiranosose ligada a uma molécula protéica iniciadora como a amilogenina, outras unidades D-glucopiranosil são adicionadas sequencialmente, doadas pelas moléculas de adenosina difosfato glucose para produzir uma cadeia de unidade α -D-glicopiranosil unidas por ligações α -(1-4) (FENIMAN, 2004).

A molécula de amilopectina é mais compacta em relação à amilose, isto implica em uma menor facilidade de penetração de água e enzimas, sendo, portanto, mais resistente ao processo de hidrólise (TEIXEIRA, 2007).

A Figura 2 mostra a estrutura da amilopectina.

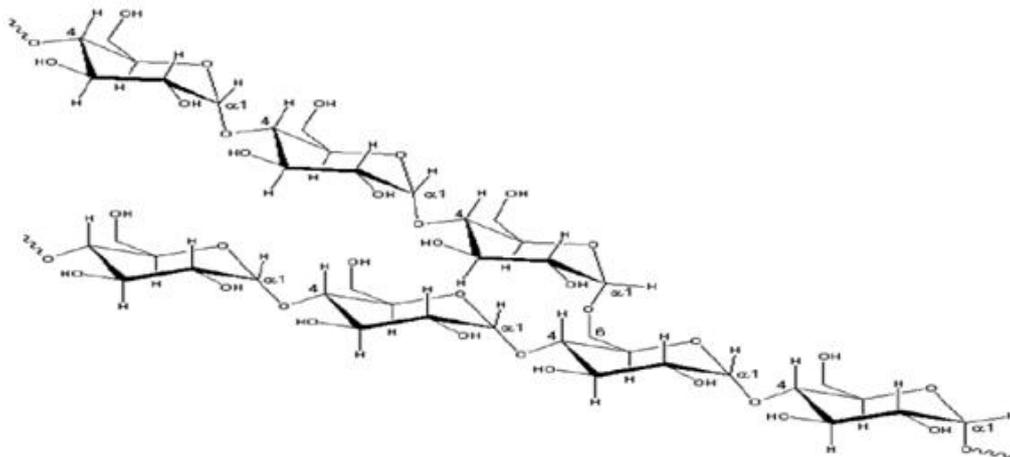


Figura 2- Estrutura da amilopectina (polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -(1,4) e α -(1,6)).

Fonte: DENARDIN; SILVA (2009).

A amilopectina é degradada pela ação da α -amilase nas uniões α -(1-4), produzindo dextrinas α -limite (cadeias residuais que contém os pontos de ramificação) e, posteriormente, por ação das enzimas pululanase e isoamilase que atuam nas ligações α -(1-6), produzindo maltose (DENARDIN; SILVA, 2009).

As cadeias de amilopectina estão organizadas de maneiras diferentes, sugerindo uma

classificação de cadeias A, B e C. O tipo A é composto por uma cadeia não-redutora de glicoses unidas por ligações α -(1,4) sem ramificações, sendo unida a uma cadeia tipo B por meio de ligações α -(1,6). As cadeias do tipo B são compostas por glicoses ligadas em α -(1,4) e α -(1,6), contendo uma ou várias cadeias tipo A e podem conter cadeias tipo B unidas por meio de um grupo hidroxila primário. A cadeia C é única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações α -(1,4) e α -(1,6), com grupamento terminal redutor, como mostra a Figura 3 (DENARDIN; SILVA, 2009).

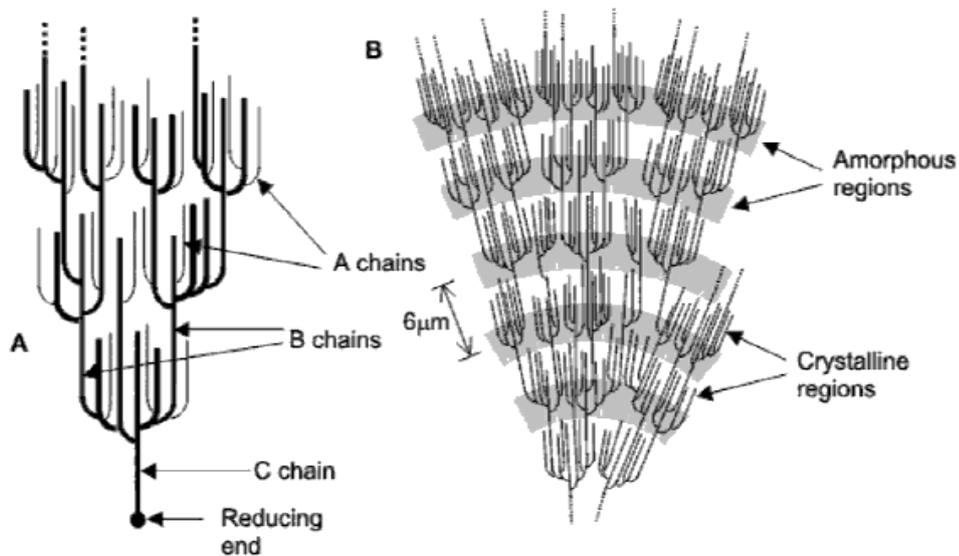


Figura 3 - Classificação das cadeias de amilopectina

Fonte: DENARDIN; SILVA (2009).

4 ENZIMAS UTILIZADAS NO PROCESSO DE HIDRÓLISE DO AMIDO

4.1 α – AMILASES

No processo de hidrólise do amido são utilizadas as α -amilases

As α -amilases também conhecidas como endomilases (α -1,4 – D-glucan-glicano-hidrolase, E.C.3.21.1), hidrolisam as ligações α -1,4- glicosídicas do amido, glicogênio e ciclodextrinas. As α -amilases se encontram naturalmente distribuídas em tecidos de plantas, como sementes, tubérculos e folhas. Os principais processos biológicos que envolvem a degradação do amido, como digestão e germinação, são resultados de ataques de α -amilases, cuja ação depende da natureza do grão do amido, e da enzima a ser utilizada (SANABRIA, 2005).

A α -amilase hidrolisa o amido de uma forma aleatória, no interior da cadeia, através de uma hidrólise rápida na fração da amilose, quebrando ligações α -1,4- glicosídicas, e produzindo maltose e maltotriose, provocando uma diminuição brusca da viscosidade, seguida de uma hidrólise lenta nos oligossacarídeos produzidos e conseqüentemente, na formação de moléculas de açúcares redutores como produtos finais, como glicose e maltose (WHITAKER, 1996).

Também chamadas de enzimas dextrinizantes, podem ser divididas em duas categorias de acordo com o grau de hidrólise dos substrato: α -amilases liqueficientes, que quebram de 30 a 40% do substrato, e as α -amilases sacarificantes que hidrolisam de 50 a 60% do substrato (SILVA, 2009).

Todas as α -amilases são cálcio-metaloenzimas havendo no mínimo um átomo deste metal por molécula. Em presença de cálcio, as α -amilases são mais resistentes a valores extremos de pH, temperatura, tratamento com uréia e ao ataque de enzimas proteolíticas (ABUJAMRA, 2009).

Altas concentrações de cálcio geralmente retardam a inativação térmica a 50° C, principalmente para α -amilases de cereais. No entanto, a maioria das α -amilases é inibida por íons metálicos como Fe^{3+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} (MAMO; GESSESSE, 1999).

As enzimas α -amilases não são capazes de clivar ligações α -1,4, próximas de ligações α -1,6. Desta forma, sua catálise resulta em cadeias com três e seis unidades de glicose,

denominadas dextrina-limite, principalmente as maltotriose e isomaltoses (FUJII *et al.*, 1988).

4.2 β -AMILASE

As β -amilases (α -1,4-D-glucan maltohidrolas, E.C 3.21.2) hidrolisam ligações glicosídicas α -1,4 do amido a partir da extremidade não redutora dos polissacarídeos, e liberam maltose e maltotriose com inversão do carbono anomérico, de α para β . Essa mudança conformacional é a razão pela qual a enzima recebe denominação de β -amilases (KOHMO *et al.*, 1989).

A amilose é completamente convertida em maltose enquanto o índice de conversão de amilopectina em maltose gira em torno de 50 a 60% dependendo do grau de ramificação (SILVA, 2009).

A β -amilase não hidrolisa ligações α -1,6 na amilopectina e sua ação termina no ponto de ramificação; por essa razão, a degradação da amilopectina pela β -amilase é incompleta, formando dextrinas limite de alto peso molecular, que resultam em coloração roxa ao se complexarem com o iodo (WHITAKER, 1996).

O pH ótimo para atividade de β -amilase se encontra, geralmente, entre 4,0 a 6,0, apresentando estabilidade na faixa de pH entre 4,0 a 9,0 a 20°C, durante um período de 24 horas (SANABRIA, 2009).

Em geral, as β -amilase possuem um maior peso molecular em relação as α -amilases, podendo chegar em até 152 mol, exceto para batata doce, onde se apresentou com um tetrâmero de 215 mol (ZIEGLER, 1999).

4.3 AMILOGLUCOSIDASE

São enzimas exo-ativas que hidrolisam principalmente ligações α -1,4 da extremidade não redutora da amilose e compostos relacionados liberando açúcares redutores, em menor velocidade; porém, essas enzimas têm ainda a capacidade de hidrolisar ligações α -1,6 (GANGHOFNER *et al.*, 1998).

A velocidade de hidrólise depende do tipo de ligação e da longitude da cadeia: as ligações α -1,4 se hidrolisam mais facilmente que as ligações α -1,6, porém a maltotriose, e

especialmente a maltose, hidrolisam-se a uma velocidade mais lenta que os oligossacarídeos (CAMILI, 2010).

A ação da amiloglucosidase é lenta no ataque inicial à amilose, pois sendo uma exoenzima, só atua a partir da extremidade não redutora e não penetra no interior da estrutura helicoidal da amilose (FUJII *et al.*, 1988).

A maior parte das amiloglucosidase tem pH ótimo entre 4,5 e 5,0, temperatura ótima entre 40°C e 60°C e peso molecular variando entre 28 e 112 mol (GANGHOFERN *et al.*, 1998).

5 PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL

5.1 BIOQUÍMICA

O processo de fermentação alcoólica caracteriza-se com uma via catabólica, na qual há degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula do micro-organismo (levedura ou bactéria), até a formação do etanol e CO_2 , havendo liberação de energia química e térmica (LEHNINGER *et al.*, 2002).

O trabalho de quebrar essas moléculas (açúcares) é feito através de uma série de reações simples, cada uma catalisada por uma enzima, que se situa em regiões determinadas das células.

A figura 4 mostra o catabolismo da glicose.

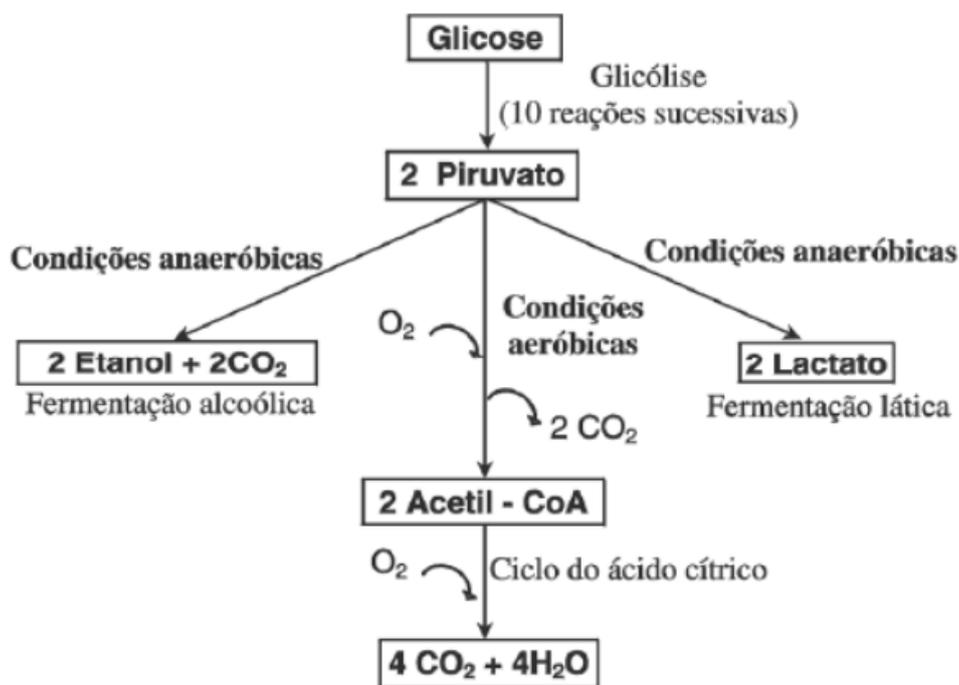


Figura 4- Catabolismo da glicose.
Fonte: Lehninger et al. (2002).

A glicólise é a via central do catabolismo da glicose, sendo que o piruvato é o produto final desse processo, o qual pode seguir diferentes vias metabólicas: fermentação alcoólica,

fermentação láctica e respiração através do ciclo de Krebs e cadeia respiratória. Na fermentação alcoólica, o piruvato é descarboxilado, formando acetaldeído e posteriormente reduzido a etanol (LEHNINGER *et al.*, 2002).

Na tabela 2 é possível observar a formação de produtos e a eficiência fermentativa durante a fermentação alcoólica.

Tabela 2- Proporção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada, de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.

Produto da fermentação	Pasteur	Jackman, 1987	Basso et al., 1996
	95 %	90 -95 %	85-92 %
Etanol	48,5	45,0-49,0	43,0-47,0
Gás carbônico	46,4	43,0-47,0	41,0-45,0
Glicerol	3,3	2,0-5,0	3,0-6,0
Ácido succínico	0,6	0,5-1,5	0,3-1,2
Ácido acético	-	0,0-1,4	0,1-0,7
Óleo fúsel	-	0,2-0,6	-
Butilenoglicol	-	0,2-0,6	-
Biomassa (massa seca)	1,2	0,7-1,7	1,0-2,0

Fonte: LIMA *et al.* (2001).

A fermentação alcoólica de açúcares fermentescíveis na presença de leveduras obedece à ordem seqüencial de reações metabólicas da via de Embden – Meyerhof –Parms (LIMA *et al.*, 2001).

O fenômeno como um todo pode ser representado pela equação (1) de Gay –Lussac que serve de base de cálculos de eficiência.



5.2 MICRO-ORGANISMO

O processo de fermentação alcoólica caracteriza-se como via catabólica, na qual há degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula de micro-organismo (levedura ou bactéria), até a formação de etanol de CO_2 , havendo liberação de

energia térmica.

Na produção industrial de álcool, o micro-organismo mais usado no processo de fermentação é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, nas grandes indústrias produtoras de etanol são usadas leveduras de panificação, prensadas e secas ou leveduras selecionadas, com tolerância a altos teores de etanol e com boa velocidade de fermentação (CAMILI, 2010).

As leveduras são organismos eucariotos e suas estruturas correspondem basicamente às de outras células eucarióticas. As células são esféricas, elípticas ou cilíndricas, variando grandemente em suas dimensões, como mostra a Figura 5 (LEHNINGER *et al.*, 2002).



Figura 5- Célula de levedura *Saccharomyces cerevisiae*.
Fonte: Martinez (2006-2011)

A *Saccharomyces cerevisiae* se sobressai como leveduras geralmente conhecidas como anaeróbias facultativas. É comumente aceito que anaeróbios facultativos têm a habilidade de crescer sob ambas as condições: aerobiose ou anaerobiose usando, respectivamente, oxigênio molecular ou outro composto como aceptor final de elétrons redutor equivalente vindo do processo anabólico (SHIAVONE, 2009).

5.3 PARÂMETROS DE PROCESSOS

O etanol pode ser produzido por três principais tipos de operações industriais: processo em bateladas, batelada alimentada e contínuo (SILVA, 2010).

Em casos particulares como da produção industrial de álcool de mandioca, processos descontínuos e contínuos com recirculação de células devem ser utilizados, pois a reciclagem

do fermento aumenta a concentração de levedura no mosto em fermentação, aumentando a produtividade de processo (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

5.3.1 Processo em batelada

Na fermentação em batelada (ou descontínuo), o substrato e as células da levedura são adicionados juntos ao bioreator, conjuntamente com os nutrientes (SILVA, 2010).

Durante o processo, ocorre apenas troca de gases e soluções para o controle do pH e anti-espumantes são adicionados. Terminada a fermentação, descarrega-se o reator, e o meio fermentado segue para os tratamentos finais, então deve-se lavar o biorreator, esterilizá-lo e recarregá-lo com mosto e inóculo (SILVA, 2010).

A fermentação descontínua pode levar a baixos rendimentos e/ou produtividade, quando o substrato adicionado de uma só vez no início da fermentação exerce efeitos de inibição, repressão, ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam. Além disso, apresenta tempos mortos, ou seja, tempos em que o fermentador não está sendo usado para o processo fermentativo propriamente dito, tais como tempo de carga e descarga da dorna e período correspondente à lavagem e esterilização do fermentador (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Um das vantagens deste processo são, menores riscos de contaminação, baixo custo de produção e uma pequena necessidade de controle de processo.

5.3.2 Processo em batelada alimentada

O processo em batelada alimentada (descontínuo alimentado) é definido como uma técnica na qual um ou mais nutrientes são adicionados ao fermentador durante o cultivo e os produtos permanecem no fermentador até o final da fermentação (SILVA, 2010).

A vazão da alimentação pode ser constante ou variar com o tempo assim como a adição do mosto pode ocorrer de forma contínua ou intermitente, sendo que uma escolha adequada da vazão leva a melhores resultados de produtividade e rendimento do processo (CHENG *et al.*, 2009).

A fermentação é monitorada pelo controle de sua temperatura e pelo acompanhamento da atenuação do °Brix do mosto, quando a atenuação limite (°Brix constante), é atingida, a fermentação é considerada encerrada e o vinho (mosto fermentado), juntamente com o fermento em suspensão, é enviado a centrifuga (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

O processo de batelada alimentada, em comparação ao processo de batelada simples possui vantagens como baixa concentração de açúcar residual, diminuição no tempo de fermentação e maior produtividade (SILVA, 2010).

5.3.3 Processo Contínuo

O processo de fermentação contínua caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume de reação mantido constante através de retiradas contínuas de caldo fermentado (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

O processo de fermentação contínua normalmente tem início em um processo descontínuo, ou seja, carrega-se inicialmente o reator com meio de cultura, procede-se à inoculação com o micro-organismo responsável pela conversão, sendo que, após algum período de operação descontínua, inicia-se a alimentação de meio de cultura e retirada de caldo, dando-se início efetivamente ao processo contínuo (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

No processo contínuo, o material nutriente (o qual contém a fonte de carbono e outros nutrientes) é bombeado continuamente dentro de um bioreator, onde os micro-organismos estão ativos e ao mesmo tempo, o produto é retirado do sistema, como mostra a Figura 6 (SILVA, 2010).

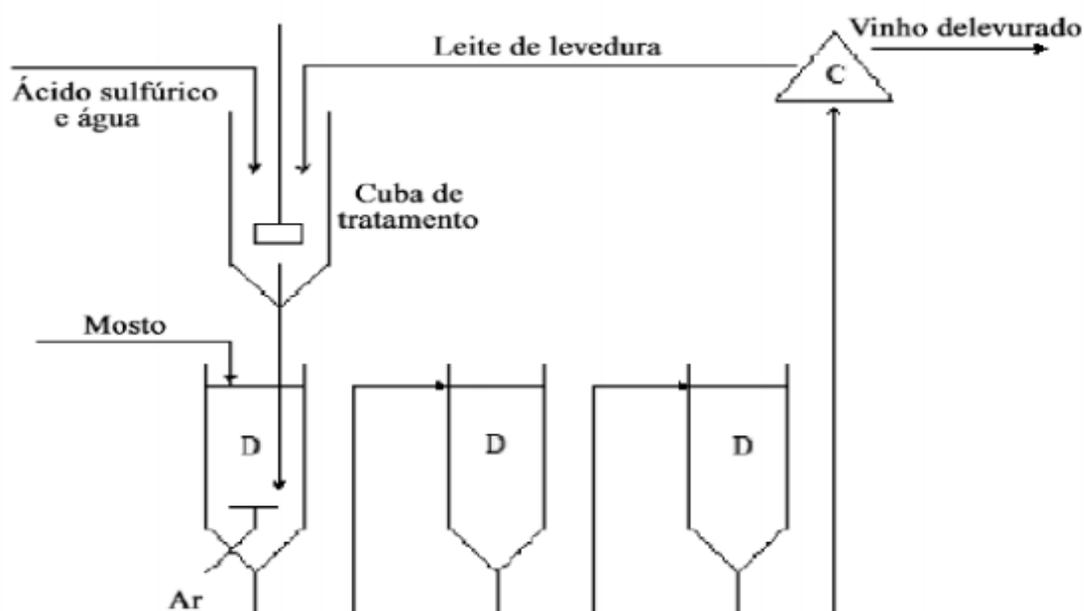


Figura 6- Processo contínuo de fermentação alcoólica com recirculação de levedura.
Fonte. Venturini Filho; Mendes, (2003).

5.4 FATORES QUE AFETAM A FERMENTAÇÃO

Na fermentação pode ocorrer diminuição em seu rendimento, ou seja, diminuição na eficiência de conversão de açúcar em etanol. Geralmente as quedas na eficiência fermentativa decorrente de alterações na estequiometria do processo, levam uma maior formação de produtos secundários e biomassa, em especial glicerol e ácidos orgânicos, levadas por fatores químicos, físicos e microbiológicos (SCHMIDELL *et al.*,2001).

5.4.1 Fatores Químicos

5.4.1.1 Nutrição mineral e orgânica

Entre as necessidades nutricionais das leveduras, assim como outras formas de vida, estão os elementos químicos; carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, magnésio, ferro, zinco, etc., além de co-fatores para o crescimento como as vitaminas. Especificamente a *Saccharomyces cerevisiae* cresce melhor em meios ácidos (pH 4,5 – 5,0) e numa faixa de temperatura (30 a 34°C) (LIMA *et al.*,2001).

A Tabela 3 apresenta as concentrações dos principais minerais para uma boa fermentação. Tais nutrientes podem já estar presentes no mosto, sendo desnecessárias adições. Entretanto podem ocorrer teores inadequados e deficiência de alguns e concentrações excessivas de outros

Tabela 3 – Concentração de nutrientes minerais no mosto para se obter uma fermentação adequada.

Nutrição mineral	Concentração em mg/L	Nutriente mineral	Concentração em mg/L
NH ₄ ⁺	40-5900	Co ⁺⁺	3,5
P	62-560	Zn ⁺⁺	0,5-10
K ⁺	700-800	Cu ⁺⁺	7
Ca ⁺⁺	120	Mn ⁺⁺	10-80
Mg ⁺⁺	70-200	Fe ⁺⁺	0,2
SO ₄ ⁺	7-280		
Na ⁺	200		

Fonte: LIMA *et al.*, 2001.

5.4.1.2 pH

As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo adequada entre 4 e 5. Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5, com boa capacidade tamponante, especialmente os preparados com melão. (SCHMIDELL *et al.*,2001).

No processo de fermentação com reutilização da levedura, faz-se seu tratamento com ácido sulfúrico em pH de 2,0 a 3,2, durante aproximadamente uma hora, visando a redução da carga microbiana. Fermentações conduzidas em meios mais ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pelo fato de restringir o crescimento do fermento, com conseqüente redução da produção de glicerol, ao mesmo tempo em que reduz a contaminação bacteriana (LIMA, 2001).

5.4.1.3 Concentração de açúcares

A concentração de açúcares pode afetar tanto a produção de levedura como também o próprio processo da fermentação (CAMILI, 2010).

Sabe-se que limites razoáveis de concentração de açúcares fermentescíveis são necessários para que ocorram boas fermentações, havendo necessidade de adaptação do organismo agente de fermentação, após a qual obtem-se capacidade de fermentar mostos com 18 a 22% de açúcares (ANGELIS, 1992).

Altas concentrações de açúcares podem ocasionar altos teores alcoólicos, podendo comprometer a viabilidade das células ou ainda ocorrer fermentações leves e incompletas, com formação de subprodutos, fatos estes que podem baixar consideravelmente o rendimento alcoólico e a viabilidade celular da levedura. Além disso, pode ocorrer o desenvolvimento dos contaminantes (ANGELIS, 1992).

5.4.1.4 Teor alcoólico do produto

O aumento do teor alcoólico do mosto em fermentação inibe o desenvolvimento da própria levedura: no geral este cessa em concentrações de 11-12% do álcool. Deve-se ter em conta que o teor alcoólico depende do teor inicial em açúcares, o qual, por sua vez é variável com o fim que se tem. Entretanto, o etanol parece não ter um efeito único, provocando modificações nas propriedades na membrana lipídica e nos sistemas de transportes de soluto e

agindo sobre algumas enzimas (STECKELBERG, 2001).

5.4.2 Fatores Físicos

5.4.2.1 *Temperatura*

As leveduras são mesófilas. As temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26 a 35°C, mas, não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38°C. À medida que a temperatura aumenta, aumenta a velocidade de fermentação, mas favorece a contaminação bacteriana, ao mesmo tempo em que a levedura fica mais sensível à toxidez do etanol (SCHMIDELL *et al.*,2001).

Por outro lado, temperaturas elevadas permitem maior perda de etanol por evaporação em dornas abertas. Tais aspectos justificam o controle da temperatura no processo industrial (LIMA, 2001).

6 CONCLUSÃO

A batata doce e a mandioca são matérias primas que apresentam potencial para a produção de etanol, pois possuem alta porcentagem de amido.

O processo de hidrólise visa converter o amido em glicose através de enzimas. Neste processo são utilizadas as α -amilase que hidrolisam as ligações α -1,4 e as amiloglucosidase que quebram as ligações α -1,6.

O processo fermentativo ocorre igualmente ao da cana-de-açúcar, ou seja, os parâmetros de processo e os fatores que influenciam a fermentação são os mesmos quando se utiliza mosto de cana-de-açúcar ou de xarope de glicose, proveniente da hidrólise do amido de mandioca ou de batata-doce.

Embora o Brasil tenha se desenvolvido tecnologicamente para a produção de etanol a partir da cana de açúcar, outras matérias primas podem ser utilizadas como uma alternativa para aumentar o volume de etanol produzido, além de utilizar resíduos da indústria de amidos.

REFERÊNCIAS

- ABUJAMRA, L. B. **Produção de destilado alcoólico a partir de mosto fermentado de batata-doce**. 2009.121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2009.
- ANGELIS, D. F. Agentes físicos, químicos e microbiológicos que afetam a fermentação etanólica. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Aguardente de cana: produção de qualidade**. Jaboticabal: Funep, 1992. Cap. 5, p. 49 – 65.
- BOUWKAMP, J. C. **Swett potato products: A Natural Resource for The Tropic**. Florida: Library of Congress Cataloging, 1985. part 2.
- CAMILI, E. A. **Parâmetros operacionais do processo de produção de etanol a partir da polpa de mandioca**. 2010. 131 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.
- EDUARDO, M. P. **Hidrólise enzimática de mandioca e puba para a obtenção de xarope de maltose**. 2002. 54 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- FENIMAN, C. M. **Caracterização de raízes de mandioca do cultivar iac 576-70 quanto à cocção, composição química e propriedades do amido em duas épocas de colheita**. 2004. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade do Estado de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- FUJII, M.; HOMMA, T.; TANIGUCHI, M. Synergism of α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. *Biotechnology. Bioengenergy*. V.32, p.910-915, 1988.
- GANCHOFNER, D.; KELLERMAN, J.; STAUDENBAUER, W.; BRONNENMEIER, K. Purification and properties of an amylopullulanase, a glucoamylase, and an α -glucosidase in the amylolytic enzyme system of *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* – **Bioscience Biotechnology Biochemistry** Tokyo, v.62, p.302 -308, 1998.
- HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starch: a review. **Carbohydrate polymers**, v. 45, p. 253- 267, 2001.
- KOHMO, A.; NANMORI, T.; SHINKE, R. Purification of β -amylase from alfafa (*Medicago sativa L*) seeds. **Journal of Biochemistry**, Tokyo, v. 105, n.2, p. 231-233, 1989.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica** 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIN, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U. A. **Biotecnologia**. São Paulo: E. Blucher, 2001. cap.1, p.1-43.

MAMO, G.; GESSESSE, A. Purification and characterization of two raw starch-digesting thermostable alpha-amylase from thermophilic *Bacillus*. **Enzyme and microbial technology**, Surrey, v. 25, p. 433-438, 1999.

MARTINEZ, M. Levedura. **Infoescola.com**, c2006-2011. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/reino-fungi/levedura/>>. Acesso em: 24 maio 2011.

MIRANDA, J. E. E. **Cultivo de batata-doce (*Ipoema batatas* (L) Lam)**. Brasília, DF: Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, 1995. 18 p. (Instrução técnica, 7).

RECHSTEINER, M. S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes**. 2009.152 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2009.

SANABRIA, G. G. R. **Caracterização parcial de carboidratos, morfologia do grão de amido e composição centesimal de raízes de maca**. 2005. 105 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SCHMIDELL, W et al. **Biotecnologia Industrial**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2001

SILVA, L. A. F. **Exigências nutricionais e operacionais para produção de etanol pela levedura iQ-Ar/45-1 a partir do melão em batelada alimentada**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Paulista, Araraquara, 2010.

SCHIAVONE, C. H. M. C. **Tratamento térmico do caldo-de açúcar visando a redução de contaminantes bacterianos – Lactobacillus – na produção de etanol e eficiência de tratamento do fermento por etanol**. 2009. 179 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas**. 2001. 202 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos) – Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, 2001.

VENTURINI FILHO, W.G.; MENDES, B.P. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. In: CEREDA, M.P. (coord). **Tecnologia, usos e potenciais de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. v. 3, cap. 19, p. 530-575. (Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas).

VIEIRA, F. C. **Efeito do tratamento com calor e baixa umidade sobre características físicas e funcionais dos amidos de mandioquinha-salsa (*Arracacia Xanthoriza*), de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e de gengibre (*zingiber officinale*)**. 2004. Dissertação para obtenção do título de mestre. ESALQ/USP, 2004.

WHITAKER, J.R. **Principles of enzymology for the food sciences**. Second edition, Ed Marcel Dekker, New York, 1996, 636p.

ZIEGLER, P. **Cereal β -amylases**. *Journal of Cereal Science*, v.39, p.195-204, 1999.