

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ETANOL DE BATATA-DOCE: OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-
PROCESSAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA E DA HIDRÓLISE
ENZIMÁTICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Rúbia dos Santos Risso

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ETANOL DE BATATA-DOCE: OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-
PROCESSAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA E DA HIDRÓLISE
ENZIMÁTICA**

Rúbia dos Santos Risso

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia

Área de concentração:

Pesquisa e Desenvolvimento de Processos.

Linha de Pesquisa:

Projeto, Simulação, Modelagem, Controle e Otimização de Processos Químicos e Bioprocessos.

Orientador:

Prof. Dr. Jorge Otávio Trierweiler

Co-orientadora:

Profa. Dra. Luciane Ferreira Trierweiler

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Etanol de Batata-doce: Otimização do Pré-processamento da Matéria-prima e da Hidrólise Enzimática*, elaborada por Rúbia dos Santos Risso, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Harold Ospina Patino

Prof. Dr. Marcelo Farenzena

Prof. Dr. Ronaldo Hoffmann

Resumo

Na busca por matérias-primas alternativas à produção de etanol no Brasil, a batata-doce surge como opção promissora, principalmente no estado do Rio Grande do Sul, maior produtor nacional da raiz e que importa, em média, 98% do etanol hidratado combustível que consome. A viabilidade econômica da produção de etanol a partir da batata-doce passa pela necessidade de otimização do processo. Esta dissertação foca no pré-processamento da matéria-prima e na hidrólise do amido, duas etapas fundamentais para viabilizar economicamente o processo.

São comparadas as produções de açúcares redutores de experiências de hidrólise enzimática conduzidas com a batata-doce *in natura* triturada e com farinhas preparadas através de seis diferentes métodos de secagem (liofilização, ar quente a 60°C, estufa a 60°C e a 105°C com convecção natural do ar, com micro-ondas e solar). A mistura comercial de enzimas STARGEN 002 foi utilizada inicialmente na concentração de 68 µL/g farinha. Os resultados mostram um rendimento maior obtido nos ensaios com matéria-prima seca em comparação a *in natura*, independentemente do método de secagem empregado. São comparados os custos acrescentados ao processo devido à inclusão da etapa de secagem com o retorno financeiro em função do aumento da eficiência da etapa de hidrólise. A utilização de micro-ondas apresentou, em comparação às demais técnicas de desidratação, além da maior concentração de açúcares redutores, um balanço econômico promissor, sendo então, selecionada como pré-processamento para os próximos experimentos da pesquisa.

Através de um planejamento experimental se verificou que na etapa de hidrólise enzimática, a utilização da Pectinase, enzima complementar ao processo, não trouxe benefícios estatisticamente significativos. Dentro do mesmo estudo, a conversão máxima de 93,9% do amido foi alcançada com concentração inicial de matéria-prima de 110 g/L e de STARGEN 002 igual a 7,5 µL/g farinha, com possibilidade de utilizar níveis ainda mais baixos de enzima e mais altos de farinha conforme análise das superfícies de respostas.

Na sequência, o trabalho traz resultados do processo de hidrólise e fermentação simultâneas com pré-tratamento realizado por 2 horas a 52°C. É obtido o valor de 72,2% ± 1,6% de eficiência na etapa de fermentação com 140 g/L de matéria-prima e 3 µL de enzima por grama de farinha. A análise econômica, feita a partir dos resultados apresentados nessa pesquisa, resulta no custo de R\$ 1,35 por litro de EHC.

Abstract

In the search for alternative feedstocks for ethanol production in Brazil, the sweet potato emerges as a promising option, particularly in the state of Rio Grande do Sul, the main national producer of the root and has imported, on average, 98% hydrated ethanol fuel it consumes. To obtain the economic feasibility of ethanol from sweet potato the process optimization is necessary. This work focuses on the pre-processing of the raw material and the hydrolysis of starch, two fundamental steps to make the process economically viable.

The reducing sugars production by the enzymatic hydrolysis experiments conducted with the fresh and triturated sweet potato is compared with the use of flour prepared by six different drying methods (lyophilization, hot air at 60°C, oven with air natural convection at 60°C and 105°C, microwave and solar). The commercial mixture of enzymes STARGEN 002 was initially used at a concentration of 68 µL/g flour. The results show a higher yield in tests of dry feedstock, regardless of the employed drying method. The added costs to the process due the inclusion of the drying step are compared with the financial return of this procedure. In comparison to other techniques of dehydration, the use of microwave resulted in the largest concentration of reducing sugars and a promising economic balance, so the microwave drying was selected as pre-processing for the next experiments of research.

Through an experimental design, the use of Pectinase, a complementary enzyme of process, showed to be statistically insignificant in the enzymatic hydrolysis step. In the same study, the starch conversion of 93.9% was achieved with an initial concentration of 110 g/L of dried sweet potato and STARGEN 002 equal to 7.5 mL/g flour, with possibility to use lower levels of enzyme and higher of flour according to response surface analysis.

Furthermore, are presented the results of simultaneous hydrolysis and fermentation with pretreatment process conducted for 2 hours at 52°C. The fermentation efficiency reached $72.2\% \pm 1.6\%$ with 140 g/L of raw material and 3 mL of enzyme per gram of flour. The economic analysis, based on the results presented in this research, results in the cost of R\$ 1.35 per liter of hydrated ethanol.

Dedicatória

A vó Georgina (*in memoriam*)
porque serão sempre dedicadas
a ela, as minhas conquistas.

Agradecimentos

A Deus pela força e proteção.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade e estrutura que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge Otávio Trierweiler, e a minha co-orientadora, Prof. Dra. Luciane Ferreira Trierweiler, pela confiança, incentivo e conhecimento compartilhado.

Aos bolsistas Kellen Bonow, Taianne Lucchesi e Gabriel Lorenzi pela grande ajuda nos experimentos realizados.

À Genencor e à Novozymes por terem nos cedido amostras das enzimas *Stargen™ 002* e *Pectinex® Ultra AFP*, respectivamente, empregadas neste estudo.

Aos colegas do PPGEQ pela troca de conhecimento, apoio e inúmeras horas de descontração que sem dúvida tornaram a caminhada mais agradável. Em especial à Sara Masiero pela grande ajuda na etapa inicial.

Aos meus pais, por acreditarem em mim, pelo amor incondicional e suporte nesse, e em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão e minha cunhada pelo carinho, força e cumplicidade de sempre.

A minha prima Bibiana pelos conselhos e por acompanhar de perto todas as etapas deste trabalho.

Finalmente, à CAPES, pelo fomento durante toda a pesquisa.

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Introdução	1
1.1 Motivação	1
1.2 Objetivos do trabalho	3
1.3 Estrutura da dissertação	3
Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica	4
2.1 Batata-doce	4
2.1.1 Fisiologia	4
2.1.2 Cultivo	5
2.1.3 Armazenagem	6
2.1.4 Aplicações industriais	6
2.2 Amido	7
2.3 Processo de obtenção de etanol a partir de amiláceos	10
2.4 Enzimas	12
2.4.1 Enzimas amilolíticas	12
2.4.2 Enzimas pectinolíticas	13
2.4.3 STARGEN™	13
2.5 Microrganismos fermentadores	14
2.6 Pré-processamento da matéria prima	16
Processo de desidratação da batata-doce	19
2.7 Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF).....	24
Capítulo 3 – Materiais e Métodos	26
3.1 Materiais	26
3.2 Caracterização da matéria-prima.....	27
3.2.1 Umidade.....	27
3.2.2 Açúcares redutores e amido.....	27
3.2.3 Temperatura de gelatinização	27
3.2.4 Caracterização de resíduo do processo	27
3.3 Pré-processamento da matéria-prima	28
3.3.1 Secagem com ar quente a 60°C	28
3.3.2 Secagem em estufa a 60°C	28
3.3.3 Secagem em estufa a 105°C	28
3.3.4 Secagem ao sol.....	28
3.3.5 Secagem com micro-ondas.....	29
3.3.6 Liofilização.....	29
3.3.7 Moagem.....	29
3.4 Análises da estrutura do amido após desidratação	30
3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura.....	30
3.4.2 Difração de raios X	30
3.5 Hidrólise enzimática do amido.....	30
3.5.1 Avaliação técnica do uso da secagem	30

3.5.2 Seleção e otimização de variáveis do processo.....	32
3.6 Hidrólise e fermentação simultâneas.....	35
3.7 Análises econômicas.....	36
3.7.1 Avaliação econômica preliminar do pré-processamento da matéria- prima	36
3.7.2 Avaliação econômica do processo de hidrólise e fermentação simultâneas.....	37
Capítulo 4 – Pré-processamento da Matéria-prima: Resultados e Discussão....	39
4.1 Caracterização da matéria-prima.....	39
4.1.1 Umidade, amido e açúcares redutores.....	39
4.1.2 Temperatura de gelatinização	40
4.1.3 Caracterização de resíduo do processo	40
4.2 Pré-processamento da matéria-prima	40
4.3 Análises da estrutura do amido após desidratação.....	41
4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura.....	41
4.3.2 Difração de raios X	44
4.4 Avaliação técnica do uso da secagem na hidrólise do amido	46
4.5 Avaliação econômica preliminar do uso da secagem	48
Capítulo 5 – Tratamento Enzimático e Produção de Etanol: Resultados e Discussão	51
5.1 Seleção e otimização de variáveis do processo de hidrólise do amido.....	51
5.2 Hidrólise e fermentação simultâneas.....	60
5.3 Avaliação econômica do processo de hidrólise e fermentação simultâneas	63
Capítulo 6 – Considerações finais.....	66
6.1 Conclusões	66
6.2 Sugestões para trabalhos futuros	67
Referências Bibliográficas.....	69
Apêndice	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Macromoléculas do amido.....	8
Figura 2: Processo de obtenção por via fermentativa de etanol a partir de amiláceos.....	10
Figura 3: Principais reações da glicólise.....	16
Figura 4: Teores de açúcares redutores produzidos durante a digestão enzimática do amido de batata-doce natural e tratados por TTBU. Fonte: Gonçalves, 2007.....	19
Figura 5: Secador com ar quente.....	20
Figura 6: Diagrama de fases da água.....	21
Figura 7: Componentes de um liofilizador.....	21
Figura 8: Batata-doce de polpa branca utilizada nos experimentos.....	26
Figura 9: Secador solar montado para secagem de batata-doce.....	29
Figura 10: Moinho de lâminas – TECNAL / TE-631/2.....	30
Figura 11: Amostras de batata-doce desidratadas através de (a) liofilização, (b) micro-ondas, (c) estufa a 60°C, (d) ar quente a 60°C, (e) estufa a 105°C e (f) sol.....	41
Figura 12: MEV das farinhas de batata-doce preparadas com: (a) liofilizador; (b) micro-ondas; (c) ar quente a 60°C; (d) estufa a 60°C, circulação de ar por convecção; (e) estufa a 105°C, circulação de ar por convecção; (f) secador solar.....	43
Figura 13: MEV do grânulo de amido da farinha de batata-doce seca através de micro-ondas.....	44
Figura 14: Difrátogramas de raios-X das farinhas de batata-doce preparadas com: (a) liofilizador; (b) micro-ondas; (c) ar quente a 60°C; (d) estufa a 60°C, circulação de ar por convecção; (e) estufa a 105°C, circulação de ar por convecção; (f) secador solar.....	45
Figura 15: Difrátograma de raios X do amido isolado de batata-doce.....	46
Figura 16: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise enzimática.....	46
Figura 17: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise do Planejamento experimental 1.....	52
Figura 18: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise dos ensaios de 1 a 9 do Planejamento experimental 2.....	55
Figura 19: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise dos ensaios de 10 a 17 do Planejamento experimental 2.....	55
Figura 20: Valores observados versus valores preditos pelo modelo.....	58
Figura 21: Superfície de resposta para a produtividade de açúcares redutores em função da concentração de matéria-prima e da concentração da enzima STARGEN 002.....	59
Figura 22: Superfície de resposta para a produtividade de açúcares redutores em função da concentração de matéria-prima e da temperatura.....	59

Figura 23: Gráficos dos resultados médios dos ensaios de hidrólise e fermentação simultâneas com concentração de enzima (a) 3 (b) 7,5 e (c) 12 $\mu\text{L/g}$ farinha.	62
Figura 24: Gráfico da análise do aquecimento de três ensaios no pré-tratamento.	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição média de 100 g de matéria fresca de batata-doce, mandioca, batata inglesa e inhame.....	5
Tabela 2: Definição de níveis para o Planejamento experimental 1.....	33
Tabela 3: Planejamento experimental 1.....	33
Tabela 4: Definição de níveis para o Planejamento experimental 2.....	34
Tabela 5: Planejamento experimental 2.....	34
Tabela 6: Resultados da caracterização da batata-doce.....	39
Tabela 7: Resultados da análise de DSC.....	40
Tabela 8: Conversão do amido no processo de hidrólise das diferentes farinhas produzidas.....	47
Tabela 9: ANOVA para avaliação estatística dos resultados da hidrólise.....	48
Tabela 10: Levantamento do consumo de energia elétrica (EE) de equipamentos envolvidos na produção de farinha.....	48
Tabela 11: Custo em energia elétrica por quilograma de batata-doce de cada tratamento.....	48
Tabela 12: Retorno financeiro da venda de etanol a partir da batata-doce.....	49
Tabela 13: Balanço econômico simplificado do uso da secagem no pré-processamento da matéria-prima.....	50
Tabela 14: Matriz do Planejamento experimental 1 e resultados de produção de AR e conversão de amido.....	52
Tabela 15: Resultados estatísticos do Planejamento experimental 1.....	53
Tabela 16: Matriz do Planejamento experimental 2 e resultados de produção de AR e conversão de amido.....	54
Tabela 17: Matriz do Planejamento experimental 2 e resultados de produção de AR e produtividade após duas horas de hidrólise.....	56
Tabela 18: Coeficientes de regressão para a produtividade de AR.....	57
Tabela 19: Análise de variância para a produtividade de AR.....	57
Tabela 20: Valores de produtividade experimentais, previstos pelo modelo e desvios para o delineamento.....	58
Tabela 21: Resultados do pré-tratamento.....	60
Tabela 22: Resultados da fermentação. Tempo de pré-tratamento incluso (*).....	61
Tabela 23: Eficiência da fermentação após 24 horas de processo.....	63
Tabela 24: Parâmetros da produção de etanol que sofreriam modificações com as condições utilizadas nesse estudo.....	64
Tabela 25: Preços de insumos em 2013.....	64
Tabela 26: Equipamentos para a fabricação da farinha de batata-doce em escala industrial.....	64
Tabela 27: Composição centesimal média da farinha de casca de batata-doce.....	77
Tabela 28: Teores de macro e microminerais da farinha de casca de batata-doce.....	78
Tabela 29: Resultados do acompanhamento do aquecimento de três experimentos através de termopares.....	79

Tabela 30: Custos diários para o processamento da batata-doce e produção de etanol.....	80
--	----

ABREVIACÕES

ANOVA	Análise de variância
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AR	Açúcares redutores
ART	Açúcares redutores totais
ATP	Trifosfato de adenosina
BD	Batata-doce
CGEE	Centro de Gestão e Estudos Enegeticos
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DNS	cido 3,5-Dinitrosalicílico
Dp	Desvio padrão
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
EE	Energia Elétrica
EHC	Etanol hidratado combustível
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
GAU	<i>One Glucoamylase Unit</i>
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IEA	International Energy Agency
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICTA	Instituto de Ciência e Tecnologia dos Alimentos
LNA	Laboratório de Nutrio Animal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MP	Matéria-prima
NDT	Nutrientes Digestivos Totais
RS	Rio grande do Sul
SP	São Paulo
SSF	<i>Simultaneous Saccharificaton and Fermentation</i>
TTBU	Tratamento Térmico sob Baixa Umidade
UNICA	Uno da Indústria de Cana-de-açúcar

NOTAÇÕES E SIMBOLOGIA

$C_{glicose,t}$	Concentração de glicose para o tempo t (g/L)
$C_{glicose,t=0}$	Concentração de glicose inicial (g/L)
Δh_{gel}	Energia de gelatinização do amido (J/g)
$H_{0,1}$	Hipóteses nula e alternativa da análise estatística
m_{amido}	Massa de amido (g)
$m_{ART,t}$	Massa de açúcares redutores totais para o tempo t (g)
$m_{ART,t=0}$	Massa de açúcares redutores no início do experimento (g)
$M_{etanol,t}$	Massa de etanol para o tempo t
$m_{glicose,t}$	Massa de glicose para o tempo (g)
$m_{glicose,t=0}$	Massa de glicose inicial (g)
μ_i	Variável randômica da análise estatística
Q_{AR}	Produtividade de açúcares redutores (g/L.h)
$Q_{AR, t=2h}$	Produtividade de açúcares redutores no tempo t igual a duas horas (g/L.h)
X_{amido}	Conversão do amido em glicose (%)
$Y_{E/S, real}$	Rendimento real da fermentação (g etanol/g AR)

Capítulo 1 – Introdução

A produção de etanol no Rio Grande do Sul ainda representa um desafio que precisa ser vencido para que a mesma possa se configurar como uma alternativa economicamente viável à gasolina. Neste capítulo são apresentadas as principais motivações deste trabalho, objetivo e estrutura da dissertação.

1.1 Motivação

A substituição dos combustíveis fósseis será imprescindível em um futuro próximo. No entanto, a diversificação de uma matriz bioenergética depende muito das fontes de matérias-primas estudadas e disponíveis para tal.

Por se tratar de uma fonte renovável, a utilização da biomassa é considerada estratégica para o futuro. Do ponto de vista energético, considera-se biomassa toda a matéria orgânica de origem animal ou vegetal que pode ser utilizada na produção de energia (Magalhães, 2007). Porém, nenhum país deve se limitar ao aproveitamento energético de apenas poucas culturas, sob o risco de a produção estar limitada a pequenas áreas geográficas e períodos específicos do ano.

Dentre as diferentes formas de produção de energia a partir da biomassa, está a produção de álcool combustível, considerada uma alternativa viável para a diversificação da matriz bioenergética.

Os maiores produtores e consumidores de etanol são os Estados Unidos e o Brasil que juntos, foram responsáveis por quase 85% da produção mundial em 2012 (*Renewable Fuels Association*, 2012). A produção de etanol combustível para complementar a gasolina tem sido um foco importante em muitos países já que, segundo as projeções do Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, a demanda mundial de combustíveis para 2025 será quase 50% maior que a demanda registrada em 2009 (CGEE, 2005; IEA, 2009). O Rio Grande do Sul é um grande importador de etanol hidratado combustível e paga um preço alto por isso. Em

2012, por exemplo, o RS produziu apenas 2% do etanol hidratado que consumiu (UNICA, 2012).

O etanol pode ser obtido a partir de qualquer matéria orgânica que contenha quantidades significativas de carboidratos, particularmente amido ou açúcares, tais como: sacarose, glicose, frutose e maltose. Pode ser produzido também a partir de outras matérias-primas e resíduos cujo componente principal é a celulose, porém restrições tecnológicas ainda inviabilizam economicamente este processo. No Brasil, o etanol é produzido quase exclusivamente a partir da cana-de-açúcar, e no EUA a partir do milho (Sánchez e Cardona, 2008).

No Brasil, a batata-doce é uma cultura bastante antiga e, de forma geral, cultivada principalmente por pequenos produtores. Sua cultura caracteriza-se pela rusticidade, baixa necessidade de uso de insumos e alta produtividade de energia (carboidratos) por área (Feltran e Valle, 2008). Por ser uma raiz tuberosa que apresenta elevado teor de amido, tem potencialidade de ser explorada industrialmente, podendo passar de cultivo de subsistência para uma atividade rentável. Nesse contexto, a batata-doce surge como matéria-prima alternativa na produção de etanol para complementar fontes existentes.

Na China, a batata-doce foi escolhida como um dos principais cultivos para a fermentação do bioetanol, sendo que o país produz em torno de 85% da produção total mundial da raiz. Com isso, cerca de 90% da produção mundial de batata-doce é obtido na Ásia, somente 5% na África e 5% no restante do mundo. O Brasil é o décimo oitavo produtor mundial com aproximadamente 496 mil toneladas/ano, em uma área plantada de quase 42 mil hectares, com produtividade média de 11.460 kg/hectare (FAOUN, 2011). O Rio Grande do Sul é o maior estado produtor de batata-doce, respondendo por 31% da produção nacional (IBGE, 2010).

A supremacia da cana-de-açúcar como matéria-prima principal do bioetanol, se explica pelo fato desta acumular carboidratos na forma de açúcares simples, sendo diretamente metabolizados pela levedura alcoólica no processo de fermentação para obtenção do álcool. A batata-doce, assim como o milho, acumula carboidratos na forma de amido, requerendo uma digestão prévia denominada hidrólise, na qual o amido é quebrado em açúcares fermentescíveis.

A fim de tornar a batata-doce uma matéria-prima viável e competitiva para produção de etanol, faz-se necessário vencer desafios relacionados à capacidade e eficiência de produção, produtividade da cultura, eficiência no balanço energético, técnicas de hidrólise e fermentação e a produtividade associada ao custo do processo.

1.2 Objetivos do trabalho

A proposta deste trabalho é estudar e testar modificações do processo de obtenção de etanol a partir da batata-doce que possibilitem o aumento da eficiência deste e/ou redução de custos. Como metas, têm-se:

- Estudar os efeitos do uso da batata-doce em forma de farinha em seus aspectos técnicos e econômicos;
- Estudar e testar diferentes métodos de remoção de água da matéria-prima, bem como possíveis alterações provocadas por estes sobre a estrutura de amido;
- Avaliar e determinar a melhor condição de operação na etapa de hidrólise referente às variáveis: concentração inicial de matéria-prima, concentração da enzima STARGEN 002, concentração da enzima complementar Pectinase e tempo de processo;
- Testar os resultados no processo com hidrólise e fermentação simultâneas;
- Analisar o efeito econômico da variação dos parâmetros citados buscando a minimização de custos do processo.

1.3 Estrutura da dissertação

Esta dissertação está estruturado em 6 capítulos.

O primeiro apresenta uma breve introdução que orienta em relação à motivação e aos objetivos do trabalho.

O Capítulo 2 apresenta um levantamento bibliográfico com conceitos e informações que embasaram o andamento da pesquisa.

O Capítulo 3 contém a descrição de todos os materiais e metodologias utilizadas em experimentos, análises de experimentos e avaliações econômicas.

Os Capítulos 4 e 5 apresentam os resultados e discussões destes. Sendo o primeiro relacionado ao estudo e seleção do pré-processamento da matéria-prima, e o segundo ao tratamento enzimático e produção de etanol.

No Capítulo 6 se encontram as principais conclusões da pesquisa e sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica

Neste capítulo, encontra-se uma revisão bibliográfica dos principais aspectos relacionados ao processo de obtenção de etanol por via fermentativa a partir da batata-doce: matéria-prima, condições do processo, enzimas e microrganismos. Além disso, são abordados os possíveis pré-tratamentos térmicos da matéria-prima quando esta é utilizada na forma de farinha.

2.1 Batata-doce

2.1.1 Fisiologia

A batata-doce é uma espécie dicotiledônea pertencente à família *Convolvulaceae*, ao gênero *Ipomoea* e à espécie *Ipomoea batatas* (L.) Lam. (Ray e Tomlins, 2010). Possui dois tipos de raiz: a de reserva ou tuberosa, que constitui a principal parte de interesse comercial, e a raiz absorvente, responsável pela absorção de água e extração de nutrientes do solo. Este trabalho discutirá aspectos relacionados apenas a sua raiz tuberosa.

A batata-doce apresenta uma ótima produção de biomassa. Seu teor de carboidratos varia entre 25% a 30%, dos quais 98% são facilmente digeríveis (Takeiti e Antonio, 2009). É encontrada em diversas variedades, nas cores externas amarela, branca e roxa.

Conforme a Tabela 1, a qual compara a composição de quatro estruturas vegetais amiláceas, observa-se que a batata-doce possui a segunda maior concentração de carboidratos (amido + açúcares redutores), ficando atrás apenas da mandioca. Entretanto, conforme dados de Magalhães (2007), a mandioca possui um ciclo de produção, que envolve preparo da terra, plantio e colheita, de 2 a 4 vezes maior que o da batata-doce.

Tabela 1: Composição média de 100 g de matéria fresca de batata-doce, mandioca, batata inglesa e inhame.

Componente	Unidade	Batata-doce	Mandioca	Batata	Inhame
Umidade	%	70	63	78	72
Carboidratos totais	g	26,1	32,4	18,5	23,1
Proteína	g	1,5	1	2,1	1,7
Lipídios	g	0,3	0,3	0,1	0,2
Cálcio	mg	32	39	9	35
Fósforo	mg	39	41	50	65
Ferro	mg	0,7	1,1	0,8	1,2
Fibras digeríveis	g	3,9	4,4	2,1	4
Energia	kcal	111	141	80	103

Fonte: Woolfe (1992) apud EMBRAPA Hortaliças (2008).

A composição química da batata-doce varia com a cultivar, condições climáticas, época da colheita, tratos culturais, duração e condições de armazenamento.

2.1.2 Cultivo

Segundo Ray e Tomlins (2010), a batata-doce é mais eficiente em quantidade de energia líquida produzida por unidade de área e por unidade de tempo se comparada a culturas como arroz, milho e sorgo. Conforme publicações da EMBRAPA Hortaliças (Silva *et al.*, 2004), isso ocorre porque a batata-doce produz grande volume de raízes em um ciclo relativamente curto (4 a 7 meses). Pode-se ter a batata-doce durante quase todo o ano, basta que se faça o plantio em diferentes épocas e que se cultivem variedades precoces (colheita após quarto mês) ao lado de variedades tardias (colheita após sétimo mês).

A batata-doce é uma planta tropical rústica de ampla adaptação e alta tolerância à seca, podendo ser cultivada em solos onde outras culturas mais exigentes não poderiam ser cultivadas, a exemplo da cana-de-açúcar e do milho, que respondem até 2013, pela quase totalidade da produção de etanol no mundo. Além disso, por dispensar o uso de fertilizantes, agrotóxicos e irrigação, seu custo de produção é considerado baixo (Silveira, 2008).

Em termos de volume de produção, a cultura ocupa o sétimo lugar no ranking mundial, e em termos de valor da produção é a décima quinta (FAO, 2011). No Brasil, a batata-doce é cultivada, praticamente, em todas as localidades e principalmente como cultura de segurança alimentar em pequenas propriedades rurais. Mesmo sendo o principal produtor da América do Sul, segundo Silva *et al.* (2004), o investimento na cultura de batata-doce é muito baixo no Brasil. A cultura fica restrita basicamente ao consumo direto e sua industrialização é rudimentar. O

principal argumento contrário ao investimento em tecnologia é a lucratividade da cultura ser baixa.

Em 2011, a EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, lançou quatro novas cultivares no Brasil. As batatas-doces Beauregard, BRS Amélia, BRS Rubissol e BRS Cuia apresentam qualidades nutricionais e produtividades bem acima da média das cultivares disponíveis no mercado até o ano de 2013. O cultivar BRS Cuia, introduzido pela EMBRAPA Clima Temperado (Pelotas – RS), pode chegar até 60 toneladas por hectare. Como visto no Capítulo 1, a produtividade média de batata-doce no Brasil é em torno de 11,5 ton/ha.

2.1.3 Armazenagem

Batatas-doces são frequentemente consumidas dentro de duas ou três semanas sem necessidade de armazenamento em ambiente controlado. No entanto, o armazenamento muitas vezes se torna necessário para ampliar a disponibilidade de raízes frescas durante todo o ano em algumas regiões onde a produção é essencialmente sazonal. A batata-doce pode ser armazenada usando métodos tradicionais, como no chão, sob folhas secas e terra; e modernos, em ambientes com temperatura e umidade controladas.

O armazenamento da batata-doce induz mudanças no teor de carboidratos das raízes que variam naturalmente, entre outros fatores, com o seu genótipo. Zhang *et al.* (2002) observaram que cinco dos seis genótipos de batata-doce avaliados sofreram um decréscimo na fração de carboidratos durante a armazenagem, a qual foi feita durante 200 dias com temperatura (20°C) e umidade relativa (75%) controladas. A maior variação no teor de carboidratos foi de 25% e a menor de 1%.

O estudo mostrou ainda que cinco dos seis genótipos apresentaram um aumento no teor de açúcares redutores totais nos 60 primeiros dias de armazenamento e mantiveram-se relativamente constante nos 60 dias posteriores. A média das frações de açúcares redutores totais (ART) subiu de 9,6% para 11,9%.

2.1.4 Aplicações industriais

O amido de batata doce é utilizado nas indústrias têxtil, de papel e alimentar, na produção de glicose líquida e adesivos. β -caroteno e antocianinas são extraídos de batatas-doces coloridas e utilizados como corantes alimentares e antioxidantes. Enzimas como sporamin e β -amilase também são produzidas a partir de raízes tuberosas de batata-doce. Essas são algumas das aplicações em nível comercial da planta (Ray e Tomlins, 2010).

Estudos recentes têm mostrado que a batata-doce pode produzir etanol 2 a 3 vezes mais do que o milho, e próximo à quantidade que a cana pode produzir (Comis, 2008). Para Purohit e Mishra (2012), entre os tubérculos, a batata-doce

pode ser a melhor opção na produção de etanol, porque é barata e geralmente não é usada para a formação do produto de alto valor.

Araújo *et al.* (1979) utilizaram a batata-doce como matéria prima para a produção de etanol obtendo rendimento médio de 158 litros de etanol por tonelada de raízes. Porém, observaram que a baixa produtividade de raízes (11 a 13 t/ha) foi o fator restritivo para a recomendação desta como fonte alternativa para a produção de etanol no Brasil. Recentemente, Santana *et al.* (2013) obteve rendimentos de 181,65 L de etanol por tonelada de batata-doce com o uso de um cultivar com produtividade média de 55 t/ha.

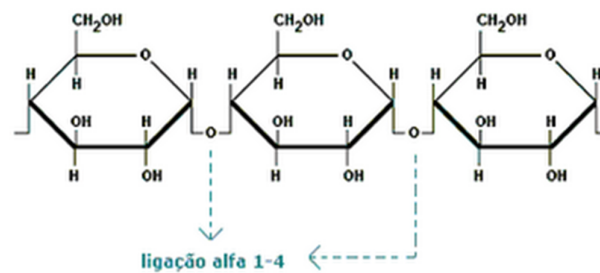
Souza (2005) comparou o rendimento do processo de produção de etanol a partir da batata-doce seca e moída, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* em células livres e imobilizadas em alginato de cálcio. A maior concentração final de etanol (59,1 g/L) ocorreu no processo realizado com células imobilizadas em 6h30min de fermentação e concentração inicial de farinha de 100 g/L.

2.1 Amido

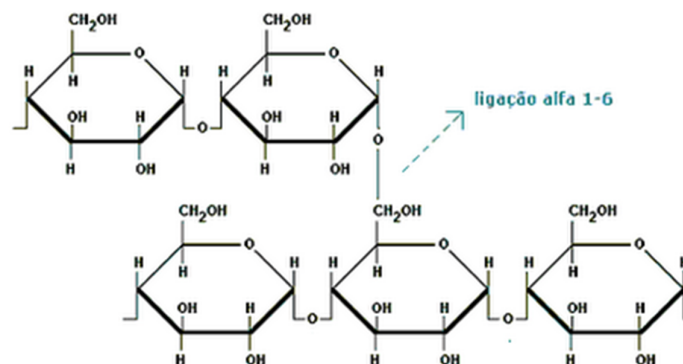
O amido é o maior polissacarídeo de reserva das plantas e o segundo mais abundante depois da celulose. Formado por n unidades de glicose ($C_6H_{10}O_5$), apresenta-se na forma de discretos grânulos com forma e tamanho dependente da sua fonte botânica. É composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: amilose (cadeia linear) e amilopectina (cadeia ramificada). Suas estruturas estão representadas na Figura 1.

O arranjo da amilose e da amilopectina nos grânulos leva à formação de zonas de deposição mais ou menos densas. As cadeias de amilopectina estão radialmente arranjadas dentro do grânulo com seus terminais não redutores em direção à superfície, e estas são organizadas alternando áreas cristalinas e amorfas (região com pontos de ramificação) (Franco *et al.*, 2001).

Vieira (2004) observou que o amido de batata-doce possui grânulos com formato arredondado e poligonal com diâmetro variando entre 20 μm e 26 μm e teor de amilose no amido em torno de 22,2%. Já Peroni (2003), através de outra metodologia de determinação, observou valores de até 25,6%.



Amilose



Amilopectina

Figura 1: Macromoléculas do amido. Fonte: Silva, 2010.

A quantidade de amilose pode alterar propriedades funcionais dos amidos, dentre as quais, gelatinização, inchamento e retrogradação. Quando o amido entra em contato com a água fria, os grânulos incham ligeiramente (10 a 20%) devido à difusão e absorção de água nas regiões amorfas, mas este processo é reversível quando seco. Se a suspensão de amido é aquecida à sua temperatura de gelatinização, os grânulos perdem sua organização estrutural, o que caracteriza a gelatinização. Este processo é conhecido por romper as hélices duplas de amilopectina na região amorfa dos grânulos de amido. Quando o amido gelatinizado é armazenado e resfriado, ele pode sofrer um fenômeno denominado de retrogradação, na qual ocorre o rearranjo das moléculas por ligações de hidrogênio, tornando a estrutura ainda mais rígida.

Para Santana (2007) a resistência do amido a ação das enzimas pode se dar de três maneiras: o amido fisicamente inacessível na matriz do alimento, por causa das paredes celulares e proteínas; o amido granular inativo, que é resistente às enzimas devido a sua compactidade e estrutura parcialmente cristalina, podendo ser convertido por gelatinização; e polímeros de amidos retrógrafos

(principalmente amilose), produzidos quando o amido é resfriado após gelatinização.

Em outras palavras, a suscetibilidade do amido ao ataque enzimático é influenciada por fatores como conteúdo de amilose e amilopectina, estrutura cristalina, tamanho de partícula e ainda pela presença de inibidores de enzimas. Entre esses fatores, Zhang e Oates (1999) acreditam que a estrutura granular é a mais importante.

Oates (1997) apud Rocha *et al.* (2010) em seus estudos concluiu que amidos que possuem uma porcentagem maior de regiões amorfas seriam mais suscetíveis à ação enzimática, visto que áreas cristalinas oferecem resistência ao ataque das enzimas devido a uma maior organização das macromoléculas. Entretanto, Rocha *et al.* (2010) observaram que em amidos de mandioca, batata-doce e cenoura a hidrólise ocorreu tanto em regiões amorfas quanto cristalinas.

Para Cone e Wolters (1990) apud Tester e Karkalas (2006) os amidos com maior teor de amilose são mais suscetíveis à degradação enzimática com α -amilase que os com menor teor desta macromolécula. Zhang e Oates (1999) observaram que o teor de amilopectina no amido de batata-doce é inversamente relacionado à suscetibilidade ao ataque da α -amilase. Além disso, notaram que, quanto maior o teor de amilopectina, maior a temperatura de gelatinização do amido. Porém, a relação dessa propriedade térmica com os teores de amilose e amilpectina diverge entre autores.

Weber *et al.* (2009) afirmam que o amido com alto teor de amilose tem suas duplas hélices formadas basicamente pela amilose e estas requerem alta temperatura e energia para perder a sua conformação durante a gelatinização, explicando o porquê dos valores de temperatura mais altos do amido com alto teor de amilose encontrados em seus experimentos. Singh *et al.* (2003) associa altas temperaturas de transição a altos graus de cristalinidade, que de acordo com Denardin e Silva (2009), são creditados à presença da amilopectina. A presença da amilose reduz o ponto de fusão das regiões cristalinas e a energia necessária para o início da gelatinização, uma vez que mais energia é necessária para iniciar a fusão na ausência de regiões amorfas ricas em amilose. Essa correlação indica que amidos com maior conteúdo de amilose, por apresentarem mais regiões amorfas e menos regiões cristalinas, apresentam menores temperaturas de gelatinização.

Segundo a revisão bibliográfica de Hoover (2001), os amidos de raízes e tubérculos contêm cadeias de amilopectina mais longas e mais complexas, tornando-os mais difíceis de hidrolisar em açúcares fermentáveis Zhang e Oates (1999) afirmam ainda que o amido de batata doce é mais suscetível ao ataque da α -amilase e glucoamilase do que o amido de batata, mas menos suscetível que a fécula de mandioca.

2.3 Processo de obtenção de etanol a partir de amiláceos

A produção de etanol por fermentação de substratos amiláceos vem sendo, desde a década de 70, objeto de intensas pesquisas que buscam aperfeiçoar a conversão destes materiais de um modo mais rápido e a menores custos (Costa, 2010).

O amido presente nas raízes, tubérculos e cereais deve ser convertido em açúcar para ser submetido à fermentação. Borzani *et al.* (2001) relatam as principais operações unitárias envolvidas na manufatura do álcool etílico a partir de amiláceos. O processo acontece por via fermentativa, na qual se distinguem três fases: a hidrólise, a fermentação propriamente dita e a destilação do vinho. A hidrólise pode ainda ser dividida em duas etapas: liquefação e sacarificação. As etapas estão esquematizadas na Figura 2.

A etapa de pré-processamento acontece de acordo com as características da matéria-prima. As demais etapas seguem o mesmo padrão independentemente da fonte de amido.



Figura 2: Processo de obtenção por via fermentativa de etanol a partir de amiláceos.

O pré-processamento inclui a lavagem da matéria-prima para posterior fragmentação em uma só vez ou através de reduções sucessivas de tamanho, até que a pasta esteja na granulometria desejada. Ainda existe a possibilidade de trabalhar com a matéria-prima em forma de farinha após sua secagem e moagem. Em seguida, é feita a diluição do meio que varia de acordo com a concentração ótima para as condições do processo estabelecidas.

Durante a etapa de liquefação ocorre a gelatinização do amido. Com o aumento da temperatura da suspensão aquosa, ocorre a quebra de pontes de hidrogênio que mantêm o arranjo molecular dentro do grânulo de amido. Desta forma, há a possibilidade de difusão de enzimas em cadeias antes inacessíveis. As condições para esta etapa dependem da matéria-prima empregada. De um modo geral, a temperatura de operação se situa entre 80°C e 150°C, com tempos de até uma hora e trinta minutos (Silva, 1980). A batata-doce tem a temperatura de gelatinização na faixa de 67°C - 75°C (Rocha *et al.*, 2010).

As moléculas de amido gelatinizadas são simultaneamente hidrolisadas em dextrinas devido à ação de enzimas termoestáveis, presentes nessa etapa, que quebram as ligações glicosídicas α (1-4) da cadeia linear do amido. As dextrinas formadas são solúveis, o que possibilita a redução da viscosidade do meio.

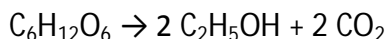
As dextrinas são, então, hidrolisadas em glicose por enzimas sacarificantes que quebram as ligações α (1-6) das cadeias ramificadas do amido na etapa de sacarificação que acontece a temperaturas em torno de 60°C (Srichuwong *et al.*, 2012).

De acordo com Sánchez e Cardona (2008), o amido era tradicionalmente hidrolisado por ácidos, mas a especificidade das enzimas, as suas condições reacionais brandas e a ausência de reações secundárias tornaram-nas os catalisadores geralmente utilizados para este processo. A hidrólise ácida diminui o tempo relativo à sacarificação do amido, porém apresenta uma série de restrições, tais como corrosão de equipamentos, necessidade de correção do pH da solução açucarada, destruição parcial dos açúcares e formação de açúcares não fermentescíveis (Feltran e Valle, 2008).

Na fermentação ocorre a transformação dos açúcares em etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) com liberação de gás carbônico (CO_2) na presença de microrganismos fermentativos. Temperatura, pH, disponibilidade de nutrientes e concentração de células são alguns itens que afetam o rendimento da fermentação, e devem ser ajustados para que não haja desequilíbrio e pouca conversão em etanol no processo. As leveduras, geralmente usadas como microrganismo fermentador, crescem na faixa de temperatura de 30°C – 37°C. O pH deve ser entre 4,0 e 4,5, para inibir a ação de bactérias.

Após o período de fermentação, até 72 h para hidrolisados de amido, é efetuada a recuperação da levedura por centrifugação e o vinho é então, transferido para um tanque de armazenamento e finalmente destilado, de modo a obter-se a concentração desejada de álcool.

Na forma mais simples, a produção de etanol a partir de glicose pode ser expressa pela seguinte equação:



Glicose \rightarrow 2 etanol + 2 dióxido de carbono + energia

Da equação acima, pode ser calculado que o rendimento teórico é de 0,511 g de etanol produzido por grama de glicose consumida. Este rendimento não pode ser obtido na prática, uma vez que nem toda a glicose consumida é convertida em etanol. Parte da fonte de carbonos é usada para a síntese e manutenção das células e produção de subprodutos, tais como glicerol, ácido acético, ácido láctico e ácido succínico. Todos os produtos competem entre si pela mesma fonte de carbono – o açúcar. Ou seja, a formação de subprodutos acontece em detrimento da formação de etanol. Sob condições ideais, 90 a 95% do rendimento teórico pode ser alcançado (Drapcho *et al.*, 2008).

Na forma que é conhecido até o ano de 2012, o processamento de matérias-primas amiláceas para a produção de etanol, torna o combustível não competitivo economicamente em relação ao etanol produzido a partir da cana-de-açúcar. Melhores resultados econômicos podem ser alcançados com a adoção de cultivares com alto teor de matéria seca, alta produtividade ou através de ajustes no processo de obtenção de álcool etílico (Masiero, 2012; Feltran e Valle, 2008).

Além disso, é de fundamental importância a agregação de valor aos subprodutos do processo fermentativo da batata-doce. Devido ao seu teor proteico, segundo Rodrigues e Rodrigues (2012), a casca tem despertado o interesse de produtores e pecuaristas para uso como adubo orgânico ou fonte de proteínas alternativa na alimentação animal. Da mesma forma, a vinhaça pode ser utilizada na produção de proteínas, gás metano, fertilizantes, adubos e na formulação de ração animal.

2.4 Enzimas

Com exceção de um pequeno grupo de moléculas chamadas ribozimas, todas as enzimas são proteínas. São catalisadores celulares com a função de acelerar a velocidade de uma reação sem, no entanto, participar dela como reagente ou produto.

A produção de álcool através da rota tecnológica amilácea, utilizando enzimas para a conversão do amido em açúcares, pode ainda gerar benefícios para o meio ambiente, por meio da biodegradabilidade e pelo menor consumo de energia.

As reações enzimáticas podem ser influenciadas por diversos fatores tais como, tempo de incubação, pH, temperatura, concentração da enzima e concentração do substrato.

2.4.2 Enzimas amilolíticas

As enzimas amilolíticas (amilases) apresentam importantes aplicações biotecnológicas principalmente nas indústrias farmacêutica, têxtil, de papel e celulose, de detergente, alimentícia, de cerveja e bebidas destiladas. São produzidas por bactérias, leveduras e fungos. As mais utilizadas são aquelas produzidas por fungos filamentosos e principalmente os dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus* (Pandey, 2005).

As amilases são divididas em dois grupos, as endoamilases e exoamilases. As endoamilases catalisam hidrólises de forma aleatória no interior da molécula do amido e dessa forma quebram as ligações glicosídicas $\alpha(1-4)$ presentes na parte interna (endo) das cadeias de amilose ou amilopectina. A α -amilase é a endoamilase mais conhecida. As exoamilases hidrolisam exclusivamente ligações

glicosídicas $\alpha(1-4)$, como a β -amilase ou ambas as ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$, como amiloglicosidase.

A α -amilase, obtida a partir de bactérias termo resistentes, é comumente utilizada na produção de álcool etílico durante o primeiro passo da hidrólise, que consiste na liquefação do meio. Essa enzima quebra ao acaso as ligações $\alpha(1-4)$ entre unidades de glicose adjacentes formando pequenas cadeias de dextrose, denominadas dextrinas. Isso torna a pasta gelatinizada menos consistente e fornece maior número de terminais de cadeias possibilitando a ação das enzimas sacarificantes. Ela não rompe as ligações $\alpha(1-6)$, mantendo os pontos de ramificação intactos. Por essa razão, a α -amilase é comumente denominada enzima liquidificante. O pH ótimo de atividade está entre 2 e 5, e a temperatura ótima varia entre 55°C e 70°C.

A amiloglicosidase (amilo-1,6-glicosidase), ou também conhecida como glucoamilase, é uma exoenzima que catalisa a reação de hidrólise principalmente das ligações $\alpha(1-6)$. É a principal enzima sacarificante utilizada na obtenção de etanol por ser a única capaz de hidrolisar completamente o amido em glicose. Apresenta temperatura ótima de atividade em torno de 60°C e pH ótimo na faixa de 3,5 – 4 (Collares, 2011).

2.4.2 Enzimas pectinolíticas

As enzimas pectinolíticas atuam sobre as substâncias pécticas, que fazem parte da composição da parede celular dos vegetais, provocando a sua despolimerização e desesterificação.

Para Padmaja (2009), o uso de tubérculos como matéria-prima para a produção de etanol só poderá ser viável com o uso de enzimas complementares como pectinase e celulase, as quais libertam o amido e o torna disponível para a ação, por exemplo, da α -amilase.

Testes de conversão de variedades de batata-doce cozida ao etanol utilizando pectinase, α -amilase e glucoamilase, mostraram que a redução da viscosidade com a pectinase (0,1 mL/100g de batata-doce) é importante para a obtenção de etanol, produzindo 15,8 g glicose/100 mL da solução (20% m/v) com um rendimento teórico de etanol de 90% utilizando o cultivar HiDry (Wu e Bagby, 1987).

2.4.3 STARGEN™

A STARGEN™ trata-se de uma mistura comercial otimizada de enzimas amilolíticas com função de hidrolisar o amido cru. A versão STARGEN 002 contém as enzimas α -amilase e glucoamilase, ambas derivadas de linhagens geneticamente modificadas do fungo *Trichoderma reesei*. Esta versão foi elaborada para a produção de etanol a partir de cereais como arroz, trigo e cevada (GENENCOR®, 2009).

Segundo o fabricante, o produto pode ser adicionado juntamente com o microrganismo fermentativo, atuando em uma faixa de 20°C - 40°C, podendo gerar mais etanol por kg de amido em comparação com um processo convencional, sendo possível alcançar concentrações de etanol superiores a 16% v/v. De acordo com Shariffa *et al.* (2009), a STARGEN tem potencial para superar as limitações do conjunto natural de enzimas que são normalmente utilizadas. A maior eficiência pode ser creditada ao fato de que há uma redução na produção de glicerol e de biomassa, possivelmente causada pela redução do estresse osmótico do meio uma vez que os microrganismos não encontram grandes concentrações de açúcares, visto que estes são consumidos à medida que são produzidos.

Masiero (2012) utilizou a enzima STARGEN 002 (45 GAU ou 68 µL/g de batata-doce seca) em seus estudos e alcançou concentrações de açúcares redutores de 45,8 g/L na hidrólise a frio da batata-doce *in natura*. A concentração inicial da matéria-prima foi de 250 g/L. Sendo utilizado um pré-tratamento a 52°C durante uma hora, e a temperatura reduzida após esse período para adição da levedura e consequente fermentação.

Os resultados obtidos por Wang *et al.* (2005), que estudaram a produção de etanol a partir de amido de milho, utilizando a mistura das enzimas α -amilase de *A. Kawachi*, expressa em *T. reeseis*, e glucoamilase, a partir de *Aspegillus niger* (STARGEN 001™), foram satisfatórios. A concentração final de etanol usando STARGEN 001™ foi 122,3 g/L (15,5% v/v), enquanto que a eficiência de conversão de amido foi de 86,4%. O microrganismo fermentativo utilizado foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

2.5 Microrganismos fermentadores

Os microrganismos eucarióticos, animais cujas células possuem uma membrana que separa o material genético do citoplasma, obtêm energia da glicose na forma de ATP através do metabolismo aeróbico (respiração) ou anaeróbico (fermentação). Nos dois casos, a glicose é convertida em duas moléculas de piruvato. O destino do piruvato depende do microrganismo e do estado metabólico da célula. Na respiração, o piruvato é completamente oxidado a CO₂ e água. Na fermentação, que não envolve consumo de O₂, o piruvato é reduzido, com produção de NAD⁺ necessário para o funcionamento da via glicolítica. O produto da redução de piruvato na levedura *Saccharomyces cerevisiae* é etanol e CO₂.

Na fermentação alcoólica, as leveduras são os microrganismos comumente utilizados em todo o mundo em escala industrial, dentre as quais a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é a mais difundida. Apesar da sua ampla utilização, esta levedura apresenta algumas desvantagens, tais como, elevada produção de biomassa, intolerância a altas concentrações de etanol e redução de atividade a elevadas concentrações de açúcar (Panesar *et al.*, 2006). Por essas razões, existem

estudos para selecionar outros microrganismos que desempenhem a mesma função.

Saccharomyces cerevisiae

A *Saccharomyces cerevisiae* é um organismo eucarionte unicelular pertencente ao Reino dos Fungos. Apresenta-se na forma oval e esférica e tem capacidade de crescimento sobre condição estritamente anaeróbia. É largamente utilizada como fermento biológico, por liberar dióxido de carbono, possibilitando o crescimento, por exemplo, de massa de pão. Além disso, tem grande participação na indústria de bebidas, com destaque para produção de cerveja e vinho.

A *S. cerevisiae* possui um mecanismo regulador que, em função da concentração de glicose no meio e da presença de O₂, estimula a fermentação ou a respiração. Na presença de alta concentração de glicose, acontece a chamada repressão catabólica ou repressão pela glicose ou Efeito Crabtree. Neste caso, altas concentrações de açúcares inibem a atividade de enzimas respiratórias e a formação de mitocôndrias, ocorrendo a produção de etanol, mesmo em meio aeróbio.

O termo metabolismo se refere à soma das reações bioquímicas necessárias para a geração e uso de energia para síntese de material celular. Desta forma, o metabolismo tem um componente de geração de energia, chamado de catabolismo, e um componente consumidor de energia, chamado anabolismo (Borzani *et al.*, 2001). As reações catabólicas ou vias metabólicas produzem energia na forma de ATP (Adenosina Trifosfato), que pode ser usado nas reações anabólicas para a síntese de material celular a partir dos nutrientes fornecidos pelo ambiente. A via metabólica principal envolvida na fermentação do etanol é a Glicólise ou via de Embden-Parnas-Meyerhof que envolve 12 reações em sequência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica.

Na primeira etapa, através da oxidação da glicose, obtêm-se duas moléculas de ácido pirúvico (ou piruvato) e um intermediário reduzido, o NADH. Parte da energia armazenada na glicose é posta à disposição das funções celulares sob a forma de ATP. Praticamente todos os organismos vivos podem utilizar a glicose para produção da energia necessária para seus processos metabólicos.

Sem o consumo contínuo de ATP para o crescimento das células de levedura, o metabolismo da glicólise é interrompido imediatamente, em virtude do acúmulo intracelular de ATP, que inibe a fosfofrutoquinase (PFK), uma das enzimas mais importantes na regulação da sequência de reações (Bai *et al.*, 2008).

O piruvato sofre descarboxilação (perda de um átomo de carbono, na forma de CO₂), pela ação de uma enzima (piruvato descarboxilase), formando aldeído

acético. Este aldeído sofre redução, oxidando o NADH para NAD^+ e formando o etanol, processos catalisados pela enzima álcool desidrogenase.

O esquema geral da glicólise está ilustrado na Figura 3.

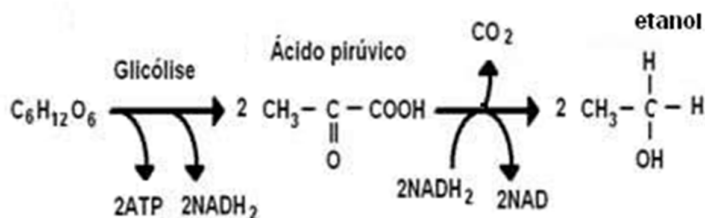


Figura 3: Principais reações da glicólise.

Além de etanol e CO_2 , ocorre a produção de outros sub-produtos (glicerol, ácidos orgânicos etc). Para o crescimento da célula e na formação dos ácidos, ocorre a redução do NAD^+ em NADH e H^+ . Este deve ser consumido para manter o equilíbrio de óxido-redução em anaerobiose. Dessa forma, há a redução de NADH^+ e H^+ e a consequente formação do glicerol, produto secundário gerado em maior proporção (2 a 9% do ART consumido) (Basso, 2011). Assim, associa-se a formação de glicerol ao crescimento da célula, formação de ácidos, estresse osmótico causado por elevadas concentrações de açúcar ou sais no mosto ou ainda por contaminação bacteriana.

Durante a fermentação, as células de levedura sofrem vários estresses que levam a redução da atividade celular, e, conseqüentemente, do rendimento em etanol. Alguns são do meio, tais como deficiência de nutrientes, a alta temperatura ou a contaminação, enquanto outros são do próprio metabolismo da célula, como o acúmulo de etanol e sua inibição sobre o crescimento da levedura (Bai *et al.*, 2008).

Após o esgotamento da glicose, a respiração das células de levedura é restabelecida, e passam a utilizar o etanol como fonte de carbono e energia (Gancedo, 1998). Portanto, através da análise de concentração de etanol no meio, é possível determinar o momento em que cessa a fermentação.

2.6 Pré-processamento da matéria prima

Além da raiz *in natura* da batata-doce, a farinha e farelo das raspas também podem ser utilizados como matérias-primas para produção de hidrolisados.

Secar a matéria-prima para obtenção de etanol acarreta no aumento de uma etapa no processo, o que significa maior consumo de tempo, energia e mão de obra. Entretanto, a quantidade reduzida de água inibe a ação dos microrganismos e das enzimas que normalmente estragam ou degradam o produto. Além disso, há

a redução do peso, a economia de energia por não necessitar de refrigeração, a facilidade do transporte e da armazenagem e, principalmente, a disponibilidade da matéria-prima em qualquer época do ano (safra e entressafra).

Duvernay *et al.* (2013) analisaram em seus experimentos as etapas de liquefação, sacarificação e fermentação de batata-doce para produção de etanol. Compararam rendimentos usando a raiz fresca e em forma de farinha, variando ainda a concentração de α -amilase e as glucoamilases comerciais. A secagem da batata-doce foi feita a 70°C por 60 h, e a moagem em moinho de facas.

Para todos os casos, usou-se o mesmo valor de massa seca, porém concentrações mássicas totais de 25% e 12,5% m/v para farinha e batata-doce fresca, respectivamente. A proporção de 12,5% m/v para a raiz fresca foi utilizada pra permitir a cobertura total do substrato e evitar problemas de viscosidade posteriormente. Na etapa de liquefação, os autores concluíram através das análises de concentração de amido e açúcares redutores, que os desempenhos nos tratamentos com diferentes concentrações de α -amilase foram superiores no caso da matéria-prima *in natura*. Eles acreditam que o tratamento térmico para a produção da farinha tenha reduzido o acesso das enzimas às ligações do amido, justificando o resultado apresentado. Já na sacarificação, usando três diferentes versões de glucoamilase comerciais, o melhor resultado foi encontrado com a matéria-prima em forma de farinha alcançando concentração de açúcares quase 40% superior à batata-doce fresca.

Na fermentação, a máxima concentração de etanol obtida com uso de farinha, depois de 48h de fermentação, foi de 67,8 g/L com o meio suplementado. Utilizando a raiz fresca, foi alcançada uma concentração máxima de 34,9 g de etanol/L (48h, meio suplementado). Embora tenha havido diferença na liquefação inicial e nas concentrações mássicas iniciais (25% m/v para farinha, 12,5% m/v para forma fresca), o desempenho da levedura, em termos de rendimento de etanol foi semelhante entre os dois casos.

Resultam do processo de secagem transformações físico-químicas do produto. A fim de avaliar as possíveis modificações do amido com tratamentos térmicos em relação à sua estrutura e propriedades funcionais, diversos estudos lançaram mão do Tratamento com Calor e Baixa Umidade (TTBU) (Collado e Corke, 1999; Gonçalves, 2007; Gonçalves *et al.*, 2009; Gunaratne e Hoover, 2002; Hoover e Manuel, 1996; Hoover e Vasanthan, 1994; Kulp e Lorenz, 1981; Vieira, 2004).

O TTBU é um processo no qual o amido, com teores de umidade inferiores a 35%, é submetido a temperaturas variando de 84 a 120°C e o tempo de 15 a 16 horas. Para Jacobs e Delcour (1998) o TTBU consiste em um tratamento hidrotérmico que modifica as propriedades físico-químicas do amido, sem destruir a sua estrutura granular. O teor de umidade baixo é para evitar a gelatinização do amido.

Segundo Hoover e Vasanthan (1994) e Gonçalves (2007), a intensidade das mudanças no amido depende principalmente da umidade da amostra durante o TTBU e da fonte do amido.

Collado e Corke (1999) testaram o TTBU (110°C, 25% de umidade, 16h) em dois cultivares de batata-doce com teores de amilose diferentes (15,2% e 28,5%), e observaram um aumento em torno de 15% na temperatura de gelatinização do amido e um decaimento de quase 28% da sua solubilidade nos dois casos.

Vieira (2004) observou com o TTBU (100°C, 27% de umidade, 16h) em amidos de mandioquinha-salsa, gengibre e batata-doce, que houve aumento na suscetibilidade à ação enzimática. O mesmo resultado foi alcançado por Gonçalves (2007). De acordo com Kulp e Lorenz (1981), este aumento pode ocorrer devido a uma mudança na orientação dos polímeros amiláceos em decorrência de certo grau de degradação que se segue ao tratamento, resultando em uma maior acessibilidade à amilase.

Gonçalves (2007) avaliou o efeito do TTBU realizado em forno micro-ondas sobre propriedades dos amidos de batata-doce e de mandioquinha-salsa e comparou-as com as propriedades desses mesmos amidos tratados pelo método convencional em estufas com circulação de ar. O TTBU aumentou a suscetibilidade enzimática dos grânulos, sendo o amido de batata-doce o mais suscetível à ação da enzima pelo tratamento em forno convencional e o amido de mandioquinha-salsa pelas micro-ondas. Os principais resultados desse estudo na avaliação da suscetibilidade enzimática do amido de batata-doce através da hidrólise do mesmo com a enzima α -amilase pancreática de porco estão apresentados na Figura 4. Nota-se que as amostras com teores de umidade maior, independente do tratamento, foram favorecidas no processo de hidrólise.

Além disso, nesse mesmo estudo, o amido de batata-doce tratado no forno convencional, em diferentes umidades, apresentou teores de amilose até 23% maiores que o apresentado pelo amido natural, enquanto os tratados por micro-ondas não tiveram estes teores alterados. Os resultados sugeriram que o aumento dessa macromolécula após o TTBU aconteceu devido às cadeias lineares externas da amilopectina serem degradadas por este tratamento, tornando-se cadeias de amilose. Além disso, concluiu-se que o tipo de aplicação de calor pode influenciar o(s) parâmetro(s) responsável pelo aumento ou não dos teores de amilose e que, dentro do mesmo tipo de aquecimento, a umidade das amostras não interferiu neste comportamento.

Através de microscopia eletrônica de varredura, Gonçalves *et al.* (2009) constatou que, após o TTBU com micro-ondas e forno convencional, as superfícies dos grânulos de amido de batata-doce apresentaram-se lisas e sem evidências de quebras ou rachaduras. A maior redução do fator de expansão dos grânulos foi evidenciada nos amidos tratados no forno convencional.

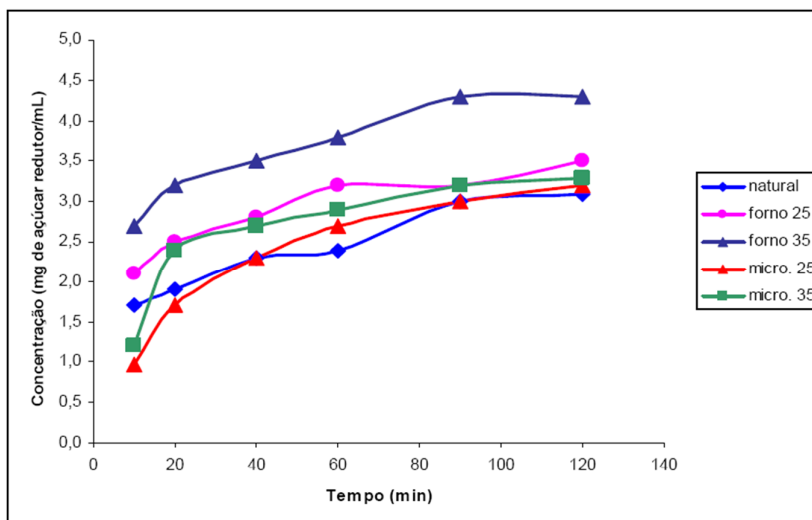


Figura 4: Teores de açúcares redutores produzidos durante a digestão enzimática do amido de batata-doce natural e tratados por TTBU. Fonte: Gonçalves, 2007.

Processo de desidratação da batata-doce

O destino final do produto do qual será removida a água define quais características deverão ser conservadas e o tipo de processo de secagem a ser utilizado.

a) Estufa

Secagem com ar quente em estufas é uma das operações mais frequentemente utilizadas para a desidratação de alimentos. Neste método há a circulação forçada de ar (Figura 5). O alimento sólido é espalhado sobre bandejas e a circulação de ar é feita por ventiladores situados atrás de resistências elétricas usadas para o aquecimento do ar de entrada. A distribuição uniforme do ar quente garante temperaturas homogêneas em todo o material.

Há ainda, a secagem em estufas com circulação de ar por convecção natural, ou seja, sem circulação de ar mecânica. São normalmente destinadas a testes laboratoriais, polimerizações e secagem de materiais em geral.

Segundo Yang *et al.* (2010) uma desvantagem associada ao método convencional de secagem de alimentos é a demora para alcançar temperaturas elevadas, o que pode causar sérios danos ao sabor, cor e nutrientes em produtos secos. Bondaruk *et al.* (2007) citam ainda como desvantagem a baixa eficiência energética do processo.



Figura 5: Secador com ar quente. Fonte: Celestina, 2010.

Em relação às mudanças estruturais do amido na secagem com ar quente, Bondaruk *et al.* (2007) mostraram com suas experiências que essas estão diretamente relacionadas à temperatura de secagem. Por exemplo, apesar da porosidade considerável, a microestrutura dos cubos de batata secados com ar quente a 70°C mostrou resistência mecânica superior, em comparação com amostras secas a 50°C.

b) Liofilização

Liofilização ou criodessecação, diferente das técnicas convencionais de secagem, é um processo de desidratação por congelamento seguido por sublimação a vácuo (gelo sólido sublima diretamente para vapor sem se fundir) (Figura 6). Assim, há a preservação das propriedades nutritivas, pois mantém intactas as paredes celulares do material que seriam destruídas na evaporação. O amido, por exemplo, quando tratado por alta pressão, apresenta um aspecto granular intacto ou parcialmente desintegrado e um inchamento limitado dos grânulos (Ferreira, 2011). Porém, como qualquer outro método de desidratação, a liofilização é um processo simultâneo, que envolve transferência de calor e massa.

Coloca-se o material a ser conservado (sem estar congelado) nas prateleiras, conforme ilustrado na Figura 7. Ao fechar a câmara o compressor provoca a redução da temperatura desta. O produto é congelado em geral a uma temperatura de até -40°C, o que separa a água de tudo ao seu redor no nível molecular, mesmo ainda estando presente.

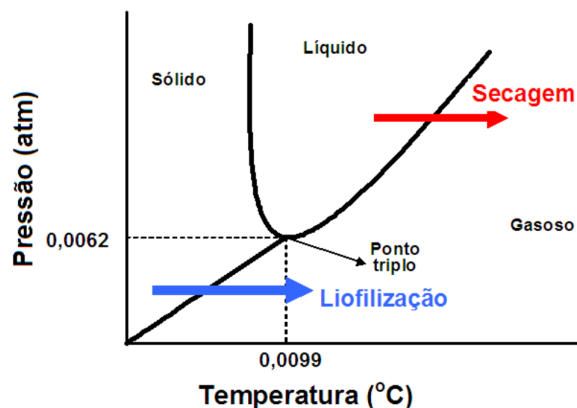


Figura 6: Diagrama de fases da água.

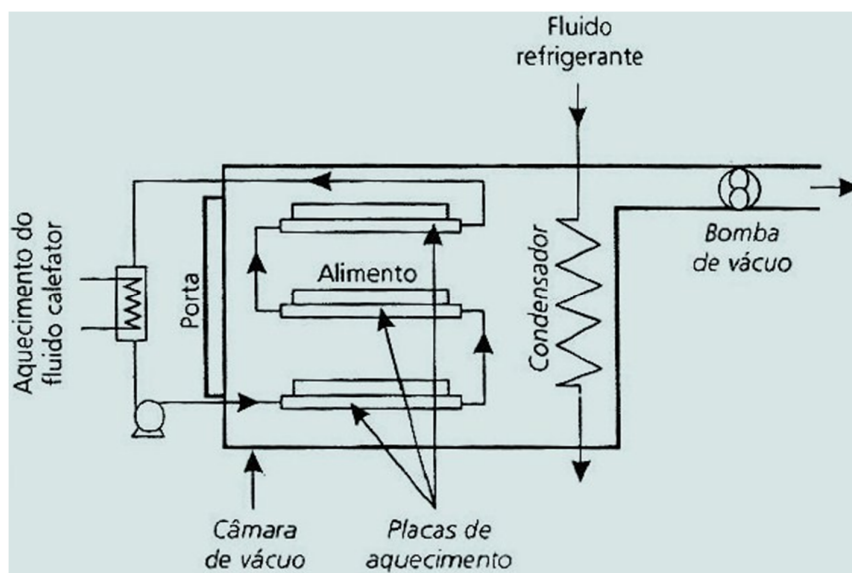


Figura 7: Componentes de um liofilizador. Fonte: ORDÓÑEZ, 2005.

Em seguida, é acionada a bomba de vácuo para fazer com que o ar saia da câmara, reduzindo a pressão para menos de 0,006 atm. As unidades de aquecimento fornecem a quantidade de calor necessária (calor latente de sublimação) para que ocorra a mudança de fase. Uma vez que a pressão está muito baixa, permite à água congelada no material passar diretamente da fase sólida ao gás, que por sua vez sai da câmara de secagem passando pela serpentina de congelamento. O vapor d'água sofre ressublimação se depositando na forma de gelo sólido sobre a serpentina.

Segundo Yang *et al.* (2010) o processo de liofilização seria o melhor método de remoção da água com produtos finais de alta qualidade em comparação com outros métodos de secagem.

Para Ratti (2001), a maior desvantagem do método convencional é a drástica redução na qualidade do produto original, o que não é observado no processo de liofilização por não exigir temperaturas elevadas. Entretanto, a liofilização é vista como um método caro, e se comparado ao convencional, segundo o mesmo autor, pode custar até oito vezes mais.

O grande consumo de energia é o principal fator de encarecimento do processo. A liofilização se divide em 4 etapas: congelamento, vácuo, sublimação e condensação. A etapa de sublimação responde a 45% da energia gasta no processo (Ratti, 2001). Além disso, o processo de liofilização é mais lento que a desidratação convencional.

c) Micro-ondas

O aquecimento pelas micro-ondas ocorre devido, primeiramente, à interação de ondas eletromagnéticas com moléculas polarizadas ou íons livres. Quando o alimento é submetido às micro-ondas, as moléculas dipolares, como a água, sofrem uma rápida rotação, alinhando-se com o campo eletromagnético alternante. Essas oscilações moleculares criam fricções intra e intermoleculares, que resultam na produção de calor. Por isso, no aquecimento pelas micro-ondas, o calor é gerado dentro do alimento e o aquecimento ocorre uniforme e rapidamente por todo o material.

Os fatores que influenciam o aquecimento pelas micro-ondas são: a) tamanho, forma, uniformidade, composição e umidade do produto; b) frequência de atenuação de micro-ondas; c) características operacionais do equipamento (Gonçalves, 2007).

Em seu estudo, Lewandowicz *et al.* (2000) concluíram que a irradiação de micro-ondas evidenciou a redução da cristalinidade, solubilidade e fator de inchamento dos amidos de trigo e de milho, bem como o aumento da temperatura de gelatinização dos mesmos. E ainda, que esses fatores interferem diretamente na suscetibilidade enzimática de amidos de cereais.

Segundo Gonçalves (2007), como o calor é gerado ao longo do material, resulta em taxas de aquecimento maiores e tempos de processamento mais curtos. Cita ainda como vantagem, a economia de espaço e a eficiência da energia, já que boa parte da energia eletromagnética é convertida em calor.

Em comparação com os meios convencionais que utilizam ar quente, a secagem de micro-ondas é rápida, mais uniforme, permite um controle de processo preciso e apresenta um grande potencial para a transformação de

produtos agrícolas (Maskan, 2000; Palav e Seetharaman, 2006). No entanto, ainda não é amplamente utilizado para fins comerciais, devido ao seu custo elevado e a fatores técnicos (Yang *et al.*, 2010).

Durante o período de queda de velocidade de secagem, a transferência de calor para as seções interiores dos alimentos com aquecimento convencional é limitado por causa da baixa condutividade térmica dos alimentos. O desejo de eliminar este problema para evitar a queda significativa da qualidade, bem como para obter rapidez e eficácia do processo térmico, acarretou no aumento do uso de micro-ondas para a secagem de alimentos (Bondaruk *et al.*, 2007).

d) Solar

O método mais antigo de secagem de alimentos é a secagem pelo sol. É feita principalmente em áreas rurais sob o céu aberto. O processo a céu aberto tem várias desvantagens, como a deterioração do alimento devido a condições climáticas adversas, perda de material e a contaminação por material estranho, como sujeira, poeira, insetos e microrganismos, bem como a descoloração pela radiação UV. Os secadores solares, equipamentos próprios para esse processo, entretanto, além de pouparem energia e tempo, ocupam menos espaço, melhoram a qualidade do produto e tornam o processo mais eficiente em comparação à secagem a céu aberto (Sharma *et al.*, 2009; VijayaVenkataRaman *et al.*, 2012).

Em muitos países, o uso de sistemas solares térmicos na área agrícola para conservação de vegetais, frutas, café e outras culturas, tem se mostrado prático, econômico e ambientalmente responsável (Sharma *et al.*, 2009).

De acordo com a classificação de Fudholi *et al.* (2010) existem quatro tipos de secadores solares: diretos, indiretos, mistos e híbridos. Nos secadores diretos, o produto é exposto diretamente à radiação solar; nos indiretos, o ar é aquecido no coletor, sendo insuflado para o interior de uma câmara de secagem por convecção natural ou com o auxílio de um ventilador. O misto trata-se de uma mistura desses dois métodos citados, enquanto o secador híbrido é o coletor solar com fonte de calor suplementar (gás ou biomassa).

Um secador solar indireto foi usado por Diamante e Munro (1993) para estudar a secagem de fatias de batata-doce e propor um modelo matemático para o processo, o qual foi obtido com base na forma simplificada da equação de difusão de Fick. A temperatura da câmara de secagem, que variou em uma faixa de 30 a 80°C, e a espessura das amostras foram os principais fatores que afetaram o processo de secagem solar da batata-doce.

2.7 Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF)

Desde a década de 70 o processo com sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) na produção de etanol a partir de biomassa tem atraído estudiosos em todo o mundo (Hari Krishna e Chowdary, 2000). A enzima sacarificante e o microrganismo fermentativo são adicionados ao mesmo tempo em um único equipamento, desta forma unem-se as duas etapas do processo.

A patente da Novozymes (2005) refere-se ao processo de produção de etanol de amiláceos, no qual as etapas de sacarificação e fermentação são conduzidas simultaneamente a uma temperatura em torno de 34°C na presença de glucoamilase e *S. cerevisiae*. O processo de liquefação é feito separadamente. Além de eliminar uma etapa no processo (redução de tempo) e a necessidade de reatores separados (redução de custo inicial), esta é uma forma de reduzir a energia requerida visto que a sacarificação ocorre normalmente a 60°C.

Além disso, o SSF permite que a glicose liberada durante a hidrólise enzimática do amido seja imediatamente convertida em etanol. O que, segundo Bialas *et al.* (2010), reduz o stress osmótico uma vez que as células de levedura são expostas a uma concentração mais baixa de açúcar, oferecendo assim a possibilidade de taxas de produção mais elevadas.

Utilizando meio de batata-doce liquefeito para seus experimentos com SSF para produção de etanol combustível, Shen *et al.* (2012) variaram a concentração de glucoamilase adicionada e observaram a variação de glicose e etanol formados em até 80 horas de reação. A dosagem ótima de glucoamilase foi de 0,8 g/kg de massa seca de batata-doce, onde a concentração final de etanol de 118,2 g/kg foi atingida dentro de 72 horas. Mas o principal resultado foi a observação de inibição do crescimento de células do fermento na presença de glucoamilase em concentração de 1,0 g/kg e consequente redução na produtividade de etanol. Segundo os autores, isso ocorreu devido à alta taxa de formação de glicose nas primeiras horas do experimento, e não somente à concentração global elevada da enzima.

Hinnman *et al.* (1992) em sua análise econômica identifica a operação SSF como o principal contribuinte para a redução em quase 30% do custo de produção de etanol a partir de biomassa. Foi utilizada a celulose como base para o estudo.

Uma das limitações do processo é a temperatura ótima para a realização das duas etapas, uma vez que a ação ótima das enzimas sacarificantes ocorre em torno de 60°C, enquanto que a maioria dos organismos fermentativos cresce entre 30 e 37°C. Para tanto, buscaram-se alternativas como a modificação genética de fungos e bactérias para produção de enzimas que atuem em temperaturas mais baixas.

Na opinião de Lee (2012), o desenvolvimento de um processo para a liquefação, sacarificação e fermentação simultâneas de amido reduziria ainda mais o consumo de energia e aumentaria a eficiência da utilização do substrato.

Capítulo 3 – Materiais e Métodos

Este capítulo apresenta os materiais e métodos utilizados durante todo o desenvolvimento do trabalho em experimentos e análises. Após a apresentação dos materiais, são discriminados os métodos de caracterização e pré-processamento da matéria-prima, bem como a análise da estrutura do amido após desidratação da batata-doce por diferentes métodos de secagem. Na sequência são apresentadas as metodologias estatísticas e procedimentos da hidrólise enzimática e da hidrólise com fermentação simultânea. O capítulo encerra com a exposição da metodologia utilizada nas análises econômicas.

3.1 Materiais

A batata-doce utilizada neste trabalho foi a de polpa branca, cultivada no município de Mariana Pimentel e adquirida no comércio local de Porto Alegre - RS (Figura 8). As batatas foram armazenadas a temperatura ambiente.



Figura 8: Batata-doce de polpa branca utilizada nos experimentos.

As enzimas utilizadas no processo de digestão do amido foram a STARGEN™ 002 e a Pectinex® Ultra AFP (enzima pectinolítica) cedidas pela Genencor e Novozymes, respectivamente. O microrganismo empregado para fermentação foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa CAT-1 na forma seca, doada pela LNF Latino Americana.

3.2 Caracterização da matéria-prima

3.2.1 Umidade

A umidade da matéria-prima foi determinada por peso seco a 105°C em estufa segundo o método 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (IAL) (2005). Essa análise foi realizada em triplicata utilizando uma massa inicial de aproximadamente 10 g para cada amostra.

3.2.2 Açúcares redutores e amido

As frações de açúcares redutores e amido foram determinadas seguindo respectivamente os métodos 039/IV e 043/IV também do IAL (2005) com adaptações de Masiero (2012). Para essas determinações, foram usadas amostras de 5 g de farinha. Fatias de batata-doce foram secas em estufa com circulação de ar quente a 50°C por 24 horas, e posteriormente, moídas em moinho de lâminas.

Para a quantificação dos açúcares redutores das duas frações, foi utilizado o método do ácido dinitrosalicílico (DNS) desenvolvido por Miller (1959).

3.2.3 Temperatura de gelatinização

A temperatura de gelatinização do amido foi determinada através da análise da calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry - DSC*) (Marca Perkin Elmer, Modelo DSC 6000). Para tanto, o amido foi isolado através do método utilizado por Gonçalves (2007).

Uma suspensão com concentração total de 25% de amido isolado foi preparada e mantida à temperatura ambiente por uma hora. A faixa de temperatura estudada foi de 25 a 100°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min. O experimento foi conduzido em atmosfera dinâmica com gás de argônio a 20 mL/min.

3.2.4 Caracterização de resíduo do processo

Neste trabalho, a batata-doce é descascada antes de ser utilizada no processo. Sendo a casca, por tanto, um resíduo. A partir da caracterização de um resíduo é possível optar por algumas alternativas de disposição conforme a aparente viabilidade.

A casca foi caracterizada quanto ao seu teor de umidade, cinzas, extrato etéreo, fibra bruta, proteína bruta, matéria orgânica, pH, nutrientes digestíveis totais, macro e micronutrientes. As análises foram feitas pelos Laboratórios de Nutrição Animal e de Análises de Solos da UFRGS.

Para tanto, foi preparada uma farinha da casca, a qual foi seca por 24 horas a 40°C em estufa de circulação de ar quente, e após, moída em moinho de lâminas.

3.3 Pré-processamento da matéria-prima

A amostra utilizada na sua forma *in natura* foi descascada e triturada com um mini processador operando em pulsos, com um total de 15 pulsos (Marca Fun Kitchen, Modelo Super Mix Plus).

As batatas-doces que passariam pelo processo de secagem foram descascadas e cortadas manualmente em fatias de aproximadamente 2 mm de espessura. Em todos os processos o teor de umidade foi reduzido para uma faixa de 4 a 7%, sendo este um nível no qual a deterioração não ocorre.

3.3.1 Secagem com ar quente a 60°C

O tratamento de secagem com ar quente foi realizado em estufa com circulação forçada de ar (Marca SOLAB, Modelo SL 102/100) emprestada pelo Laboratório de Desidratação de Alimentos do ICTA/UFRGS. As fatias de batata-doce foram secas durante 5 horas e 50 minutos a temperatura de 60°C.

3.3.2 Secagem em estufa a 60°C

As amostras foram dispostas em bandejas de alumínio e secas durante 24 horas a 60°C em estufas de secagem (Marca DeLeo, Modelo 4) com circulação de ar por convecção natural.

3.3.3 Secagem em estufa a 105°C

O tratamento seguiu os mesmos padrões do citado anteriormente, porém com temperatura de 105°C durante um período de 3 horas.

3.3.4 Secagem ao sol

Para secagem ao sol, foi montado um secador com capacidade para aproximadamente 400 g de batata-doce cortados da maneira já descrita. Utilizaram-se basicamente materiais destinados ao descarte (Figura 9).

As amostras foram deixadas sob a radiação durante 4 horas e 30 minutos em turnos da tarde no mês de dezembro. O acompanhamento da temperatura foi feito com medições utilizando medidor por infravermelho. A temperatura máxima alcançada, em torno de 4 horas depois do início da secagem, foi de 55°C.



Figura 9: Secador solar montado para secagem de batata-doce.

3.3.5 Secagem com micro-ondas

As amostras foram submetidas ao tratamento em forno de micro-ondas de potência 1520 W e frequência 2450 MHz (Marca Brastemp, Modelo *Double Emission System*). O experimento foi realizado com uma potência de saída de 80% por 3 minutos e 20 segundos para cada 150 g de batata-doce.

3.3.6 Liofilização

O processo de desidratação por liofilização foi realizado no Laboratório de Embriologia do ICTA/UFRGS em um liofilizador (Marca LIOTOP, Modelo L101) por 5 dias e 12 horas.

3.3.7 Moagem

Após remoção da umidade, todas as amostras foram moídas no Laboratório de Nutrição Animal da UFRGS em moinho de lâminas (Marca TECNAL, Modelo TE-631/2) (Figura 10) por 30 segundos cada 50 g de batata-doce seca. Depois de peneiradas, as farinhas foram armazenadas em potes plásticos a temperatura ambiente. Foram utilizadas apenas as porções com diâmetro inferior a 1.000 μm .



Figura 10: Moinho de lâminas – TECNAL / TE-631/2.

3.4 Análises da estrutura do amido após desidratação

3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia dos grânulos de cada amostra de farinha foram observadas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Marca JEOL, Modelo JSM-6060), sob voltagem de 5 kV. A montagem das amostras foi feita em suportes de alumínio (*stubs*) com fita adesiva de carbono dupla face, onde as farinhas foram fixadas e cobertas com uma fina cama de ouro.

3.4.2 Difração de raios X

O padrão de difração de raios X foi obtido utilizando-se um difratômetro (Marca BRUKER, Modelo D2 Phaser). Cada amostra foi depositada sobre um suporte de vidro próprio do equipamento situado num plano a um ângulo θ de 5° da fonte de raios X (conhecido como ângulo de Bragg). A faixa de medição foi de 5° a 40°, com uma velocidade de 0,02°/min, operando a 30 kV e 10 mA. Os difractogramas foram obtidos num ângulo de 5° a 40° na escala de 2θ .

3.5 Hidrólise enzimática do amido

3.5.1 Avaliação técnica do uso da secagem

Para avaliar os possíveis benefícios da secagem da batata-doce em comparação ao seu uso na forma fresca no processo de obtenção de etanol, foi utilizada a hidrólise enzimática do amido, sendo o rendimento da produção de açúcares fermentescíveis a variável de resposta.

O processo e seus parâmetros seguiram os de experimentos realizados por Masiero (2012). Para as amostras secas, utilizou-se uma concentração inicial de 90 g/L de farinha. Já para a amostra *in natura*, foi feita o cálculo da concentração de massa inicial (300g/L) a partir do teor de umidade da batata-doce utilizada

(70,2%) a fim de obter o mesmo percentual de massa seca para posteriores comparações. A concentração da enzima STARGEN™ 002 foi de 45.000 GAU/kg de batata-doce seca, e o antibiótico tetraciclina foi adicionado na concentração de 150 mg.L⁻¹. As porções foram preparadas em erlenmeyers de 250 ml. O processo de hidrólise foi realizado em duplicata, em shaker com agitação de 150 rpm por 72h.

Na primeira hora a reação foi realizada a 52°C, etapa chamada de pré-tratamento, e nas 71 horas posteriores a 32°C. A redução de temperatura ocorre, pois, no processo completo de produção de etanol, a fermentação deve ocorrer na faixa de 30°C - 37°C, conforme visto no Capítulo 2.

As amostras foram centrifugadas e filtradas em membrana de celulose (0,22 µm), e, as análises de açúcares redutores foram feitas utilizando o método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Marca Perkin Elmer, Série 200).

Os resultados também são comparados pela conversão de amido em glicose (X_{amido}), calculada segundo a Equação 1.

$$X_{\text{amido}} = \frac{\frac{162}{180}(m_{\text{glicose},t} - m_{\text{glicose},t=0})}{m_{\text{amido}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

onde:

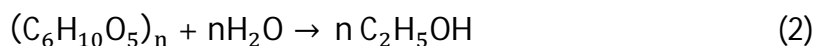
X_{amido} é a conversão de amido em glicose (%);

$m_{\text{glicose},t}$ é a massa de glicose (g) em um tempo t qualquer;

$m_{\text{glicose},t=0}$ é a massa de glicose (g) em $t=0$;

m_{amido} é a massa de amido (g) inicial, que pode ser calculada pela massa de batata-doce utilizada e a composição da mesma.

Para cada n mols de glicose formada, são necessários um mol de amido e n mols de água, como pode ser observado na Equação 2. Dessa forma, a massa de glicose formada não é proveniente apenas do amido, uma vez que uma parcela é oriunda da água incorporada. Para corrigir esse efeito de adição de água se usa o fator multiplicativo $\frac{162}{180}$ na massa de glicose formada.



Análise estatística

Para avaliar se há diferença significativa entre os métodos de secagem a partir dos resultados de conversão máxima de amido alcançada, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) considerando as seguintes hipóteses:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6;$$

$$H_1: \text{pelo menos um par } \mu_i \neq \mu_j, \text{ para } i \neq j, j = 1, 2, \dots, 6 \quad (3)$$

Assim, se houver pelo menos um par de amostras diferentes, o teste irá apontar diferença significativa. Os resultados foram analisados por meio do software *Statistica*® 5.0.

3.5.2 Seleção e otimização de variáveis do processo

O processo de hidrólise enzimática também foi utilizado para avaliar o efeito da adição da enzima complementar, Pectinex Ultra-AFP, ao processo. Esta primeira etapa foi realizada através de um planejamento experimental, no qual também foram variadas as concentrações da enzima STARGEN™ 002 e a concentração de matéria-prima inicial, a fim de determinar suas faixas de utilização para o próximo planejamento.

Em um segundo momento foram estudados os efeitos da variação da temperatura e do tempo no pré-tratamento, etapa de hidrólise que, quando realizado o processo completo, antecede à adição da levedura. Foram variadas, novamente, as concentrações da enzima STARGEN™ 002 e a concentração de matéria-prima, agora para otimizar seus valores.

Foi utilizada a farinha de batata-doce seca com micro-ondas, forma que obteve melhor resultado na fase anterior do trabalho. As análises cromatográficas de açúcares redutores foram realizadas em cromatógrafo líquido (Marca Shimadzu, Modelo LC-10) no Instituto de Química da UFRGS.

Planejamento Experimental

O planejamento experimental foi dividido em duas etapas. A variável dependente, para ambos, foi definida como sendo a concentração de açúcares redutores (glicose e frutose) no hidrolisado.

a) Planejamento experimental 1

Para a análise das variáveis que deveriam ser incluídas nos delineamentos seguintes e para a definição das faixas que deveriam ser estudadas para cada variável, foi realizado o planejamento fatorial completo com 2 níveis e 3 variáveis independentes: as concentrações das enzimas STARGEN™ 002 e Pectinex®, e a concentração de matéria-prima.

Foram determinados como parâmetros fixos do processo:

- Temperatura: 1h a 52°C, restante do tempo a 37°C;
- Tempo total de processo: 72h;

- pH: uso de solução tampão de ácido acético, pH 4,5;
- Em shaker com agitação de 150 rpm.

Com fatorial 2^K , sendo K o número de variáveis independentes utilizadas, têm-se 2^3 pontos fatoriais + 3 pontos centrais, totalizando 11 experimentos, conforme Tabela 2 Tabela 3. A análise de dados foi feita através do software *Statistica*® 5.0.

Tabela 2: Definição de níveis para o Planejamento experimental 1.

Variáveis independentes	Código	Níveis		
		-1	0	1
STARGEN™ 002 (µL /g BD seca)	X ₁	30	68	106
Pectinex® (µL/g BD seca)	X ₂	0	2,5	5
Matéria-prima (farinha) (g/L)	X ₃	70	90	110

Tabela 3: Planejamento experimental 1.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X ₁	X ₂	X ₃	STARGEN™ 002 (µL/g BD seca)	Pectinex® (µL/g BD seca)	Matéria-prima (g/L)
1	-1	-1	-1	30	0	70
2	1	-1	-1	106	0	70
3	-1	1	-1	30	5	70
4	-1	-1	1	30	0	110
5	1	1	-1	106	5	70
6	1	-1	1	106	0	110
7	-1	1	1	30	5	110
8	1	1	1	106	5	110
9	0	0	0	68	2,5	90
10	0	0	0	68	2,5	90
11	0	0	0	68	2,5	90

b) Planejamento experimental 2

Conforme analisado nos resultados do Planejamento experimental 1, a principal diferença de comportamento da formação de açúcares redutores acontece no pré-tratamento, realizado até então a 52°C no período de uma hora. Por essa razão, na segunda etapa foi estudada apenas a primeira etapa da hidrólise, sendo a temperatura adicionada como variável independente e o comportamento avaliado ao longo de 5,5 horas. Conforme resultados de Masiero (2012), a temperatura no pré-tratamento é um parâmetro que interfere diretamente na eficiência e produtividade da digestão enzimática do amido.

No Planejamento 2 foi utilizado um planejamento fatorial 2^k com repetição do ponto central e adição de pontos axiais. As variáveis independentes foram selecionadas a partir da análise dos efeitos do Planejamento 1 (concentração da enzima STARGEN™ 002 e concentração de matéria-prima), além da temperatura (Tabela 4). Assim, tem-se 2^3 pontos fatoriais + 6 pontos axiais + 3 pontos centrais, totalizando 17 experimentos (Tabela 5).

Tabela 4: Definição de níveis para o Planejamento experimental 2.

Variáveis independentes	Código	Níveis				
STARGEN™ 002 ($\mu\text{L/g}$ BD seca)	X_1	7,5 (-1,5)	23 (-0,5)	30 (0)	45 (1)	68 (2,5)
Matéria-prima (farinha) (g/L)	X_2	90 (-1)	100 (-0,5)	110 (0)	130 (1)	140 (1,5)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	X_3	32 (-4)	48 (-0,8)	52 (0)	57 (1)	62 (2)

Tabela 5: Planejamento experimental 2.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X_1	X_2	X_3	STARGEN™ 002 ($\mu\text{L/g}$ BD seca)	Matéria-prima (g/L)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
1	-0,5	-0,5	-0,8	23	100	48
2	1	-0,5	-0,8	45	100	48
3	-0,5	1	-0,8	23	130	48
4	-0,5	-0,5	1	23	100	57
5	1	1	-0,8	45	130	48
6	1	-0,5	1	45	100	57
7	-0,5	1	1	23	130	57
8	1	1	1	45	130	57
9	2,5	0	0	68	110	52
10	-1,5	0	0	7,5	110	52
11	0	1,5	0	30	140	52
12	0	-1	0	30	90	52
13	0	0	2	30	110	62
14	0	0	-4	30	110	32
15	0	0	0	30	110	52
16	0	0	0	30	110	52
17	0	0	0	30	110	52

Os pontos centrais (0) servem para estimar o erro experimental e determinar a precisão da equação polinomial. Os pontos axiais (α) são utilizados para a ampliação do modo linear, tornando-o um modelo quadrático.

O valor do ponto central do Planejamento 1 para concentração de enzima foi utilizado como valor de α positivo no Planejamento 2, e α negativo foi selecionado a partir da concentração indicada pelo fabricante da enzima. O valor do ponto axial positivo para concentração de matéria-prima, valor máximo avaliado neste estudo, foi definido devido às condições operacionais do experimento, não sendo possível uma diluição menor com a agitação mecânica utilizada. Da mesma forma, o maior nível da variável temperatura foi limitado pela temperatura máxima de operação do Shaker utilizado. A temperatura no ponto axial negativo foi selecionada para avaliar a possibilidade de manter todo o processo (pré-tratamento e fermentação) a 32°C.

A ordem da execução foi aleatória permitindo que os efeitos dos fatores não controlados se distribuíssem em média sobre todas as respostas.

Foram determinados como parâmetros fixos do processo:

- Tempo total de processo: 5,5 horas;
- pH: uso de solução tampão de ácido acético, pH 4,5;
- Em shaker com agitação de 190 rpm.

Os resultados foram analisados por meio do software Minitab® 17, sendo utilizada uma Análise de Variância (ANOVA) para estimar os parâmetros estatísticos e avaliar a predição ou não do modelo matemático. Neste caso, a variável dependente analisada foi a produtividade de açúcares redutores (Q_{AR}) (g de AR/L.h), calculada após duas horas de reação.

Para avaliar o modelo obtido foram calculados, ponto a ponto, os erros de ajuste (Equação 4) e os erros relativos (Equação 5).

$$\text{Erro de ajuste} = y - \hat{y} \quad (3)$$

$$\text{Erro relativo} = ((y - \hat{y}) / \hat{y}) \cdot 100\% \quad (4)$$

onde y é a resposta experimental (g/L.h) e \hat{y} é a resposta prevista pelo modelo (g/L.h).

3.6 Hidrólise e fermentação simultâneas

Com base nos resultados anteriores, foi realizado experimento com hidrólise e fermentação simultâneas após pré-tratamento.

Utilizou-se uma concentração inicial de 140 g/L de farinha. A concentração da enzima STARGEN™ 002 foi avaliada em três quantidades diferentes (3; 7,5 e 12 $\mu\text{L/g}$ de batata-doce seca). O tampão utilizado foi de ácido cítrico (pH 4,1) e o

antibiótico tetraciclina foi adicionado na concentração de 150 mg.L-1. O processo foi realizado em duplicata, em shaker com agitação (190 rpm) por 72h.

No pré-tratamento, sob ação da enzima, a reação foi realizada a 52°C por 2 horas, e posteriormente houve a redução da temperatura para 32°C e a adição da levedura cepa CAT-1 na concentração de 7 g/L.

Após os erlenmeyers terem sido colocados no shaker em contato com o meio (ar) já a 52°C, foi feito o monitoramento do aquecimento do meio líquido (Ensaio 1, 2 e 3) através de termopares. Esse procedimento teve como objetivos determinar o tempo de aquecimento e garantir que o meio líquido estivesse a 52°C durante todo o pré-tratamento.

Depois de centrifugadas, filtradas e diluídas corretamente, as amostras foram analisadas quanto às concentrações de açúcares redutores, etanol e glicerol utilizando novamente o método CLAE (Marca Agilent, Modelo 1260 Infinity).

Os resultados são comparados pela conversão de amido em açúcares (X_{amido}) no pré-tratamento e pela conversão de açúcares em etanol na fermentação através dos valores de rendimento e eficiência conforme as Equações 6 e 7.

$$Y_{E/S, \text{real}} = \frac{m_{\text{etanol}, t}}{m_{\text{ART}, t=0} - m_{\text{ART}, t}} \quad (5)$$

onde $Y_{E/S}$ é o rendimento real da fermentação (g etanol/g AR), m_{etanol} é a massa de etanol para o tempo em que se calcula o rendimento, $m_{\text{ART}, t}$ é a massa (g⁻¹) de ART residuais para o tempo t, $m_{\text{ART}, t=0}$ é a massa (g⁻¹) de ART no início do experimento calculada pela multiplicação da massa de batata-doce utilizada pela soma das frações de amido e açúcares determinados na etapa de caracterização.

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{Y_E}{\bar{S}} \quad (6)$$

3.7 Análises econômicas

3.7.1 Avaliação econômica preliminar do pré-processamento da matéria-prima

Tomando como base a análise realizada por Masiero (2012), na qual se estudou a viabilidade econômica da produção de etanol hidratado combustível a partir da batata-doce em microusinas no estado do Rio Grande do Sul, pode-se avaliar a interferência da adição da etapa de secagem ao processo em termos econômicos se este fosse realizado sob as mesmas condições.

Essa avaliação foi possível porque Masiero (2012) utilizou o método quantitativo *Activity Based Costing* (ABC) para estimar os custos relacionados às atividades da microusina de capacidade diária de produção de 1.000 litros de EHC.

Neste método, as atividades da empresa são primeiramente definidas e os custos indiretos de produção são, em seguida, associados às atividades por meio de direcionadores de custo, como tempo ou consumo de insumos.

No caso da secagem, esta etapa acarretaria um aumento ao custo de processamento principalmente devido ao consumo de energia elétrica dos equipamentos de corte, desidratação e trituração. No entanto, sairia do processo a etapa de moagem da batata-doce fresca. O custo com mão de obra não sofreria relevantes alterações, visto que, durante a secagem, a atuação do funcionário é dispensável.

Sendo assim, fez-se um balanço econômico simplificado levando-se em consideração o consumo de energia elétrica agregado ao processo pela atividade de secagem e o retorno financeiro devido ao acréscimo do rendimento da hidrólise constatado neste trabalho.

3.7.2 Avaliação econômica do processo de hidrólise e fermentação simultâneas

Da mesma forma, esta avaliação também seguiu o delineamento da análise econômica realizada por Masiero (2012).

Com as alterações de processo propostas no presente trabalho e os resultados obtidos de eficiências das etapas de hidrólise e fermentação, foi possível avaliar a alteração do custo final do litro de etanol hidratado na microusina em questão.

Para tal, foram atualizados os custos de acordo com o ano de 2013, de mão-de-obra e insumos (energia elétrica, lenha, enzima STARGEN™ 002 e diesel) em todas as atividades do processo. Em seguida foram feitas as devidas considerações com relação à eliminação da etapa de moagem da batata-doce fresca e à inclusão das etapas de preparação da farinha. E por fim, as alterações nos custos envolvidos referentes aos parâmetros de processo alterados.

Assim, sofreram alterações:

- consumo de energia elétrica;
- consumo de enzima STARGEN™ 002;
- consumo de água;
- tempo de produção;
- rendimento de etanol por tonelada de batata-doce e
- produção de vinhaça.

No trabalho de Masiero (2012), o custo associado à matéria-prima, batata-doce, foi calculado a partir da hipótese do cultivo da BRS Cuiá ser feito pela própria usina, com uma produtividade média de 40 ton/ha. Sendo assim, no presente trabalho, os custos com relação à produção agrícola foram mantidos os mesmos.

Os dados e discussão da análise econômica são apresentados no final de cada capítulo de resultados, sendo que no Capítulo 4 se encontram os resultados vinculados ao pré-processamento da matéria-prima, e no quinto capítulo à conversão de amido em glicose e à produção de etanol.

Capítulo 4 – Pré-processamento da Matéria-prima: Resultados e Discussão

O Capítulo 4 traz os dados da caracterização da raiz da batata-doce, matéria-prima do processo estudado nesse trabalho, e da sua casca, resíduo do processo. Ainda nesse capítulo, são apresentados e discutidos, os resultados das análises de MEV e difração de raios X das seis amostras de farinhas produzidas por diferentes métodos de secagem. Na sequência, estão os resultados referentes aos experimentos de hidrólise enzimática, realizados a partir das farinhas e da batata-doce fresca. No final do capítulo, para auxiliar a decisão do melhor pré-processamento da matéria-prima, é feita a avaliação econômica preliminar buscando a minimização de custos.

4.1 Caracterização da matéria-prima

4.1.1 Umidade, amido e açúcares redutores

A Tabela 6 mostra os resultados da caracterização da batata-doce utilizada nesse trabalho quanto ao seu teor de umidade, amido e açúcares redutores totais.

Tabela 6: Resultados da caracterização da batata-doce.

Parâmetro	Valor (%)	Desvio padrão
Umidade	64,8	0,6
Amido	25,1	2,9
Açúcares Redutores Totais	2,62	0,8

O valor de carboidratos totais (açúcares redutores + amido) é similar àqueles apresentados no item 2.1.1 e por Lima *et al.* (2006) na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos: 26,1 e 28,2%, respectivamente. Em ambas as

bibliografias a umidade da batata-doce é 70%, o que indica uma concentração um pouco maior de massa seca na raiz utilizada neste trabalho.

O desvio observado nos valores de concentração de amido (Tabela 6) está associado a erros oriundos do método utilizado, visto que esse utiliza procedimentos, tais como remoção da fração de açúcares, filtração e hidrólise ácida, que somam perdas e erros diferentes às análises.

4.1.2 Temperatura de gelatinização

Os resultados obtidos através da análise com DSC, apresentados na Tabela 7, mostraram que a temperatura de gelatinização do amido de batata-doce, tomando como base o valor do pico da curva, é de aproximadamente 57°C. Esse valor está fora da faixa, 67°C a 75°C, citada por Rocha *et al.* (2010) como sendo característica da temperatura de gelatinização da batata-doce.

Conforme exposto no Capítulo 2, quanto menor a temperatura de gelatinização, menor a energia requerida na etapa de liquefação do amido na produção de etanol.

Tabela 7: Resultados da análise de DSC.

	Gelatinização			
	<i>Onset</i> (T_0) (°C)	Pico (T_p) (°C)	<i>End</i> (°C)	Δh_{gel} (J/g)
Média	47,89	56,96	68,51	0,881
Desvio	0,04	1,13	0,33	0,15

4.1.3 Caracterização de resíduo do processo

Os resultados da composição centesimal e das análises de macro e microminerais da farinha de casca de batata-doce são apresentados no Apêndice I. Por entender a necessidade de uma melhor avaliação do assunto, este trabalho limita-se em expor os resultados da análise.

4.2 Pré-processamento da matéria-prima

As fatias de batata-doce secas por seis diferentes métodos apresentaram aspectos diferentes entre si, conforme podem ser vistos nas fotos da Figura 11.

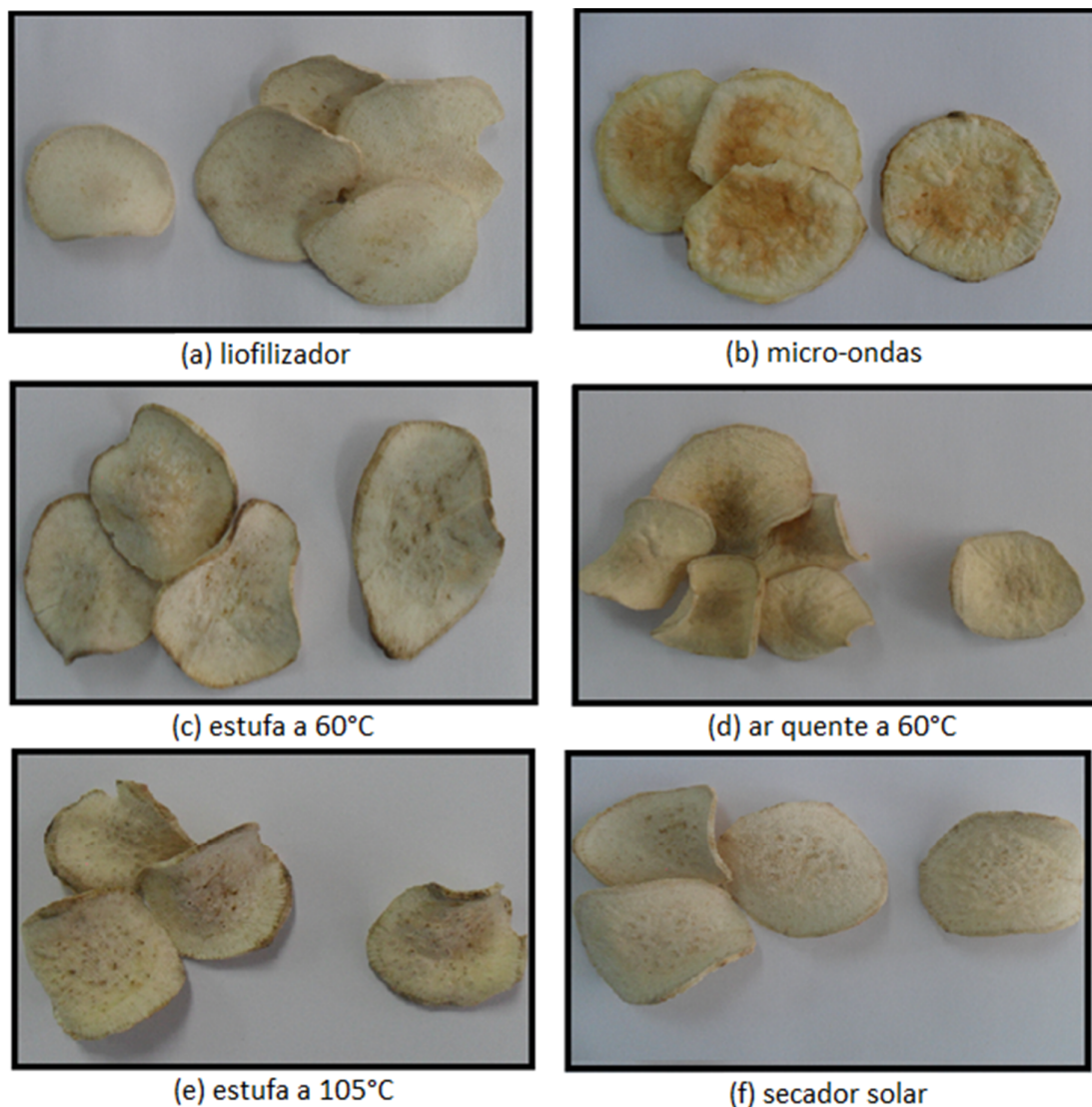


Figura 11: Amostras de batata-doce desidratadas através de (a) liofilização, (b) micro-ondas, (c) estufa a 60°C, (d) ar quente a 60°C, (e) estufa a 105°C e (f) sol.

4.3 Análises da estrutura do amido após desidratação

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 12 mostra as fotomicrografias resultantes da análise com MEV das diferentes farinhas produzidas. Como visto no Capítulo 2, a desidratação por liofilização mantém a estrutura granular do amido intacta ou parcialmente desintegrada. Sendo assim, pode-se considerar o aspecto do amido da farinha seca por liofilização similar à estrutura do amido natural de batata-doce.

Observando a Figura 12(a), a aparência dos grânulos do amido da batata-doce foi típica desta fonte de amido, com formatos redondos, ovalados e poligonais, a mesma relatada por Hoover (2001), apesar dos tamanhos variados.

A batata-doce seca ao sol aparenta não ter seus grânulos de amido desconectados uns dos outros, mas unidos em forma de grandes grumos. Este fato ocorre também em ambas as secagens feitas a 60°C. Porém nestes casos os grumos são menores e há uma quantidade razoável de grânulos isolados.

Os grânulos, de forma geral, apresentaram superfícies aparentemente lisas e sem sinais de fissuras, exceto aqueles desidratados através da irradiação de micro-ondas, que apresentaram formatos irregulares com aspecto quebradiço.

Na Figura 13 pode-se observar claramente a ruptura dos grânulos secos em forno micro-ondas, provavelmente causadas pela taxa de aquecimento, a qual é muito elevada nesta situação em virtude do seu mecanismo de aquecimento e de transferência de massa. É provável que a energia de micro-ondas vibre também as moléculas de água presentes nas regiões cristalinas dos grânulos de amido, destruindo assim, o arranjo dos cristais de amilopectina em pouco tempo.

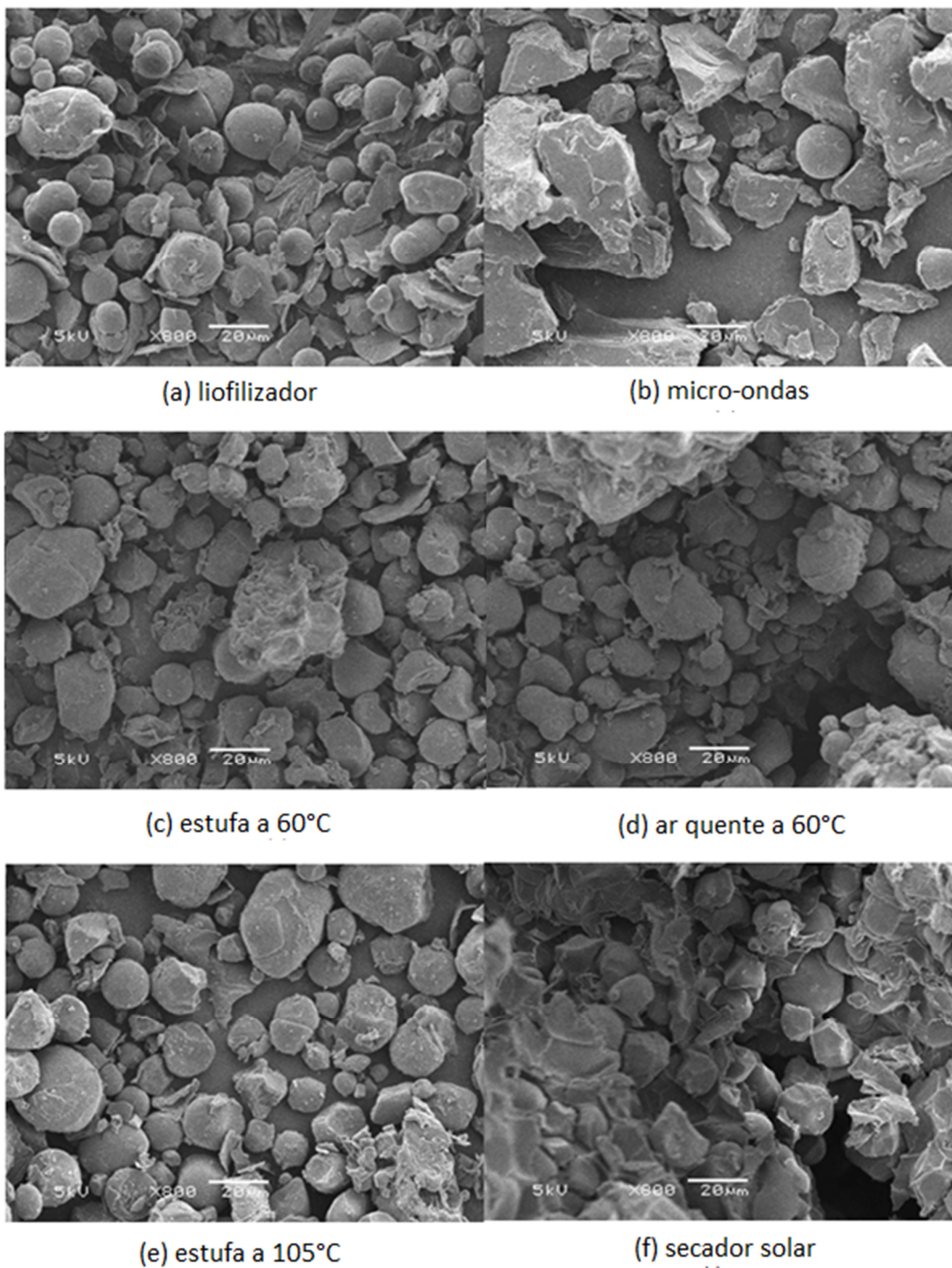


Figura 12: MEV das farinhas de batata-doce preparadas com: (a) liofilizador; (b) micro-ondas; (c) ar quente a 60°C; (d) estufa a 60°C, circulação de ar por convecção; (e) estufa a 105°C, circulação de ar por convecção; (f) secador solar.

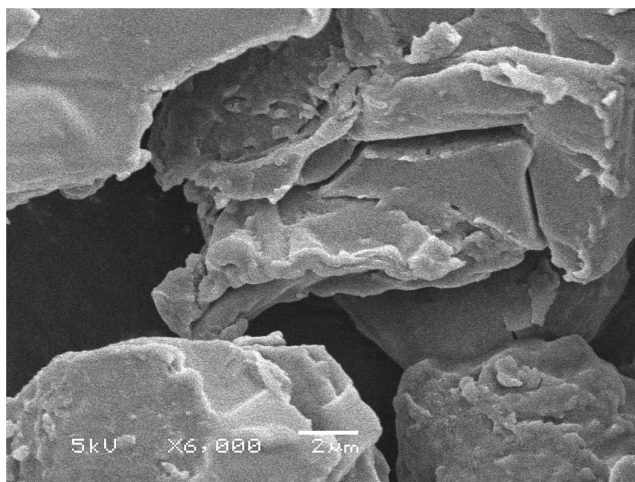


Figura 13: MEV do grânulo de amido da farinha de batata-doce seca através de micro-ondas.

4.3.2 Difração de raios X

O estudo da difração de raios X é um instrumento utilizado para evidenciar a estrutura granular do amido. Essa estrutura formada por áreas cristalinas e amorfas dos grânulos controlam fatores importantes como o comportamento do amido em água e a suscetibilidade ao ataque enzimático dos grânulos (Gonçalves, 2007).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 14, os tratamentos para secagem da batata-doce promoveram modificações perceptíveis nos perfis de difração de raios X em relação à curva do amido natural (Figura 15), a qual foi obtida através da análise de amido que não foi submetido a processos térmicos.

O decréscimo nas intensidades de raios X sugere uma menor ordem cristalina, ou seja, uma presença maior de regiões amorfas, isto provavelmente ocorre após a secagem devido à ruptura de ligações com a água (pontes de hidrogênio) nas cadeias de amilose e amilopectina. O decréscimo da cristalinidade indica uma facilidade maior no ataque enzimático devido à diminuição das cadeias de amido.

Observando a Figura 14, nota-se um aumento das áreas amorfas em quase todos os tratamentos, com exceção das farinhas secas a 60°C. Neste caso, o aumento na intensidade de difração de raios X pode ser atribuído à movimentação das cadeias de dupla hélice dentro das áreas cristalinas do amido (devido à energia térmica e umidade), o que resulta numa formação cristalina mais ordenada que do amido nativo.

O fato da amostra seca com energia solar, apesar de atingir 55°C, não apresentar o mesmo comportamento que os dois tratamentos feitos a 60°C pode ser explicada pelos efeitos causados pela radiação ultravioleta sobre as moléculas

de amido. Matta Junior (2011) diz que a secagem com radiação ultravioleta promove a degradação oxidativa do amido de mandioca provocando alterações em sua estrutura molecular.

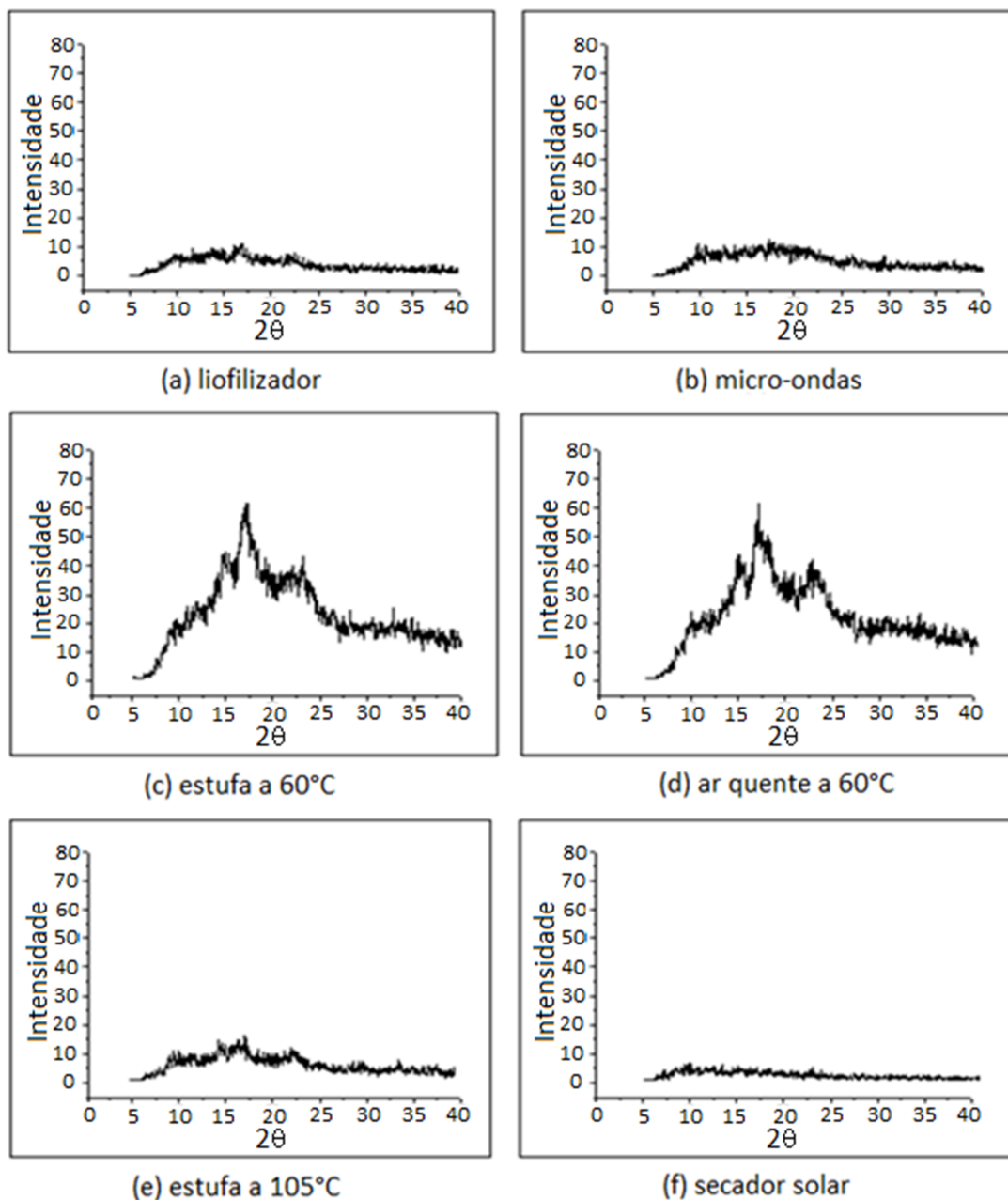


Figura 14: Difratogramas de raios-X das farinhas de batata-doce preparadas com: (a) liofilizador; (b) micro-ondas; (c) ar quente a 60°C; (d) estufa a 60°C, circulação de ar por convecção; (e) estufa a 105°C, circulação de ar por convecção; (f) secador solar.

Através da difração de raios X é possível também evidenciar a estrutura granular dos amidos em geral, que por serem parcialmente cristalinos

proporcionam padrões específicos de difração (A, B ou C) que variam de acordo com a fonte vegetal (Vieira, 2004). Considerando os valores de intensidade dos picos e o ângulo onde estes ocorreram, o amido de batata-doce natural apresenta o padrão de cristalinidade do tipo A. No entanto, as alterações sofridas pelo amido durante as secagens a 60°C fizeram com que o aproximasse do tipo B. Amidos com padrão tipo A apresentam comprimentos de cadeias entre curto e médio, enquanto os de tipo B apresentam cadeias médias a grandes.

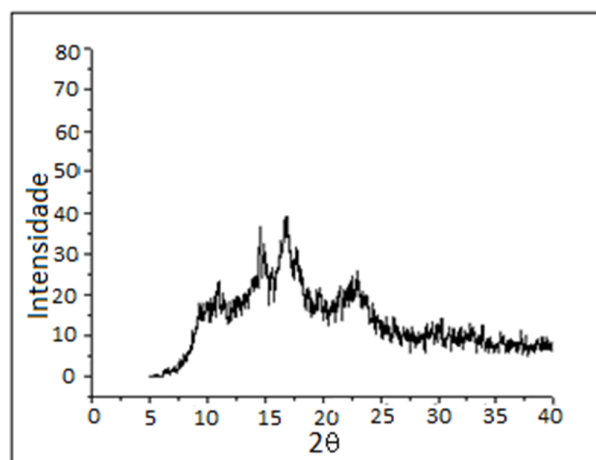


Figura 15: Difratograma de raios X do amido isolado de batata-doce.

4.4 Avaliação técnica do uso da secagem na hidrólise do amido

As concentrações de açúcares redutores de cada ponto analisado ao longo da hidrólise estão representadas no gráfico da Figura 16, conforme o pré-processamento da matéria-prima.

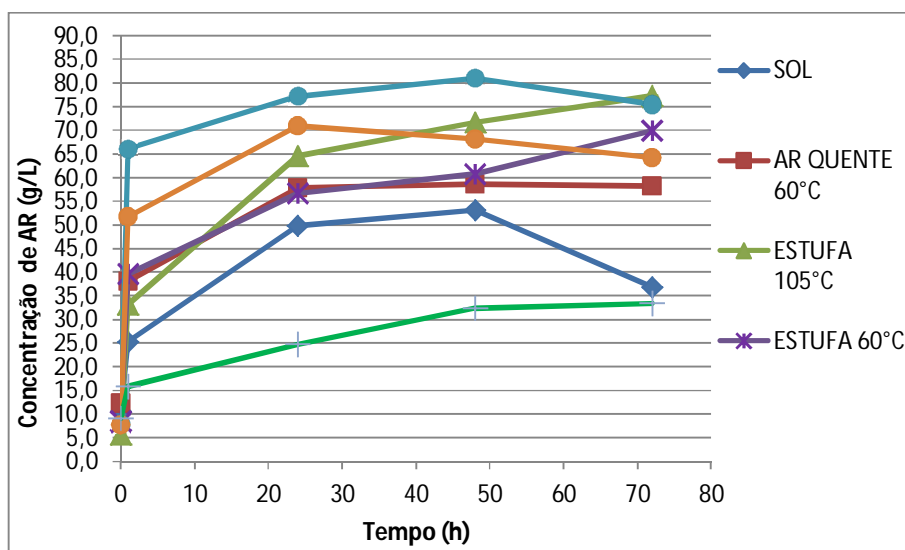


Figura 16: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise enzimática.

Nota-se claramente a grande influência da secagem da batata-doce na eficiência da digestão de amido através de enzimas. Este resultado provavelmente deve-se a menor concentração inicial em massa nas reações realizadas com farinha em comparação com a batata-doce fresca; e às alterações na estrutura do amido provocadas durante a secagem, conforme constatado nos itens acima. Uma presença maior de regiões amorfas indica uma maior acessibilidade às enzimas, assim como rachaduras e fissuras no grânulo de amido.

As conversões de amido (X_{amido}) alcançadas por cada tratamento, calculadas a partir do ponto no qual houve maior produção de açúcares redutores, estão apresentadas na Tabela 8. Os desvios padrões observados nos experimentos com estufa a 105°C e micro-ondas, que atingiram 100% de conversão na média das duplicatas, pode ser creditado a um possível erro do método de análise de açúcares redutores utilizado na caracterização da matéria-prima e na análise após hidrólise.

Tabela 8: Conversão do amido no processo de hidrólise das diferentes farinhas produzidas.

Pré-processamento da matéria-	X_{amido} (%)	Desvio padrão
Sem tratamento	42,1	2,7
Secagem solar	61,8	7,6
Ar quente a 60°C	67,1	1,2
Estufa a 60°C	89,1	3,2
Liofilização	91,5	6,0
Estufa a 105°C	100	3,8
Micro-ondas	100	10,7

A diferença alcançada com o uso de microondas em relação aos demais métodos, observada principalmente na primeira hora de hidrólise, pode ser atribuída a aspectos relacionados às alterações da estrutura de amido provocadas pelo tratamento térmico da secagem. Como observado no item 4.3, houve alterações como a redução da cristalinidade e a ruptura de grânulos. A redução da cristalinidade indica formação de regiões pouco ramificadas e menos compactadas, o que facilita a entrada de moléculas como a de enzimas. A ruptura dos grânulos, da mesma forma, torna o acesso das enzimas às cadeias de glicose, mais rápido.

Os resultados obtidos com a desidratação feita sob o sol indicam que pode ter havido uma contaminação durante a secagem. A hipótese do meio reacional ter sido contaminado por microrganismos consumidores de açúcares, por exemplo, explica o fato de ter ocorrido uma queda na concentração destes indicando que, após a reação de hidrólise ter atingido o equilíbrio, houve apenas o consumo e não mais a produção de açúcares. O baixo rendimento com o uso deste método de

secagem, também pode ser atribuído à formação de grumos observados nas imagens de MEV, o que teria reduzido a área superficial dos grânulos e restringido a ação enzimática. Além disso, como verificado com termômetro de infravermelho, a temperatura máxima alcançada durante a secagem ao sol foi 55°C no final do processo, sendo a menor temperatura dentre todos os tratamentos.

Análise estatística

A Tabela 9 apresenta os resultados da Análise de Variância.

Tabela 9: ANOVA para avaliação estatística dos resultados da hidrólise.

Fonte de variação	Soma de Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}
Entre grupos	0,467	5	0,093	11,89
Dentro dos grupos	0,047	6	0,008	
Total	0,515	11		

Comparando o valor de F calculado (11,89) com o valor crítico tabelado de 4,39, que é obtido considerando-se $\alpha = 0,05$, rejeita-se a hipótese (H_0) de que as médias das respostas são estatisticamente iguais e, assim, conclui-se que há diferença significativa entre os métodos de secagem.

4.5 Avaliação econômica preliminar do uso da secagem

O levantamento dos custos referentes ao consumo de energia elétrica agregados ao processo pelo uso da batata-doce na forma de farinha está exposto na Tabela 10.

Tabela 10: Levantamento do consumo de energia elétrica (EE) de equipamentos envolvidos na produção de farinha.

Equipamento	Potência (W)	Capacidade (g)/bat.	Tempo (h)/bat.	Tempo (h)/kg	Consumo de EE (kWh)/kg
Liofilizador	700	500	132	264,00	184,80
Micro-ondas	1520	150	0,055	0,37	0,56
Secador a ar quente	1500	700	5,80	8,33	12,49
Estufa de secagem (105°C)	1500	800	3,00	3,75	5,63
Estufa de secagem (60°C)	1500	800	24,00	30,00	45,00
Moinho	500	50	0,01	0,17	0,08
Máquina de corte	750	400000	0,003	0,003	0,002

A potência e a capacidade dos equipamentos, bem como o seu tempo de utilização, estão de acordo com os equipamentos e parâmetros utilizados nesta pesquisa no processo de fabricação das farinhas. Com exceção da máquina de

corde por entender que seria inviável o corte manual, como utilizado no trabalho, em escala industrial.

Na Tabela 11, encontram-se os custos com energia elétrica de cada tratamento térmico nos quais foram contabilizados os consumos com equipamentos de corte, secagem e moagem. O preço do kWh está de acordo com a tarifa rural, incluindo 12% da tarifa de ICMS (AES Sul, 2013).

Tabela 11: Custo em energia elétrica por quilograma de batata-doce de cada tratamento.

Tratamento	EE - R\$/ kg batata-doce
Sol	0,02
Liofilizada	50,57
Micro-ondas	0,18
Ar quente	3,44
Estufa 105°C	1,56
Estufa 60°C	12,33

Com os resultados da digestão enzimática do amido apresentados no item 4.4, é possível estimar o retorno financeiro da venda de etanol produzido a partir da utilização dos diferentes pré-processamentos da matéria-prima. Para o cálculo teórico da produção de etanol foi prevista uma eficiência de 90% na fermentação e 95% na destilação. Os resultados estão na Tabela 12, na qual foi considerado o preço equivalente ao valor de faturamento do litro do etanol hidratado combustível como R\$ 1,20, média dos valores do mês de novembro de 2013 (UNICA, 2013).

Tabela 12: Retorno financeiro da venda de etanol a partir da batata-doce.

Pré-processamento	g AR/L	g Etanol/L	ml Etanol/L	mL EHC/L	mL EHC/kg BD	R\$/kg BD
Sol	53,2	23,2	29,4	30,9	103,2	R\$ 0,124
Liofilizada	71,0	31,0	39,2	41,3	137,7	R\$ 0,165
Micro-ondas	81,0	35,3	44,8	47,1	157,1	R\$ 0,188
Ar quente	58,6	25,6	32,4	34,1	113,6	R\$ 0,136
Estufa 105°C	77,2	33,7	42,7	44,9	149,7	R\$ 0,180
Estufa 60°C	69,9	30,5	38,6	40,7	135,5	R\$ 0,163
<i>In natura</i>	33,4	14,6	18,5	19,4	64,8	R\$ 0,078

Para avaliar quanto do valor hipoteticamente arrecadado com a venda de EHC pode ser creditado à secagem da matéria-prima, foi descontado de cada tratamento térmico o valor que seria obtido com combustível a partir da matéria-prima fresca.

Assim, fez-se um balanço econômico simplificado com o custo e o retorno financeiro que o uso da farinha de batata-doce representaria ao processo. O resultado encontra-se na Tabela 13.

Tabela 13: Balanço econômico simplificado do uso da secagem no pré-processamento da matéria-prima.

Tratamento térmico	Custo (R\$)	Retorno (R\$)	Balanço (R\$)
Sol	0,02	0,05	0,03
Liofilizada	50,57	0,09	-50,48
Micro-ondas	0,18	0,11	-0,07
Ar quente	3,44	0,06	-3,38
Estufa 105°C	1,56	0,10	-1,46
Estufa 60°C	12,33	0,09	-12,24

Analisando o balanço da Tabela 13, observa-se um valor positivo, ou seja, um retorno financeiro superior aos gastos envolvidos com a secagem, apenas no tratamento solar. A vantagem econômica desse método era esperada por não demandar energia elétrica durante a secagem.

Fica inviabilizado economicamente o uso de tratamentos com secagem por liofilização e a 60°C em estufa por 24 horas. A secagem com ar quente e em estufa por 3 horas a 105°C apresentaram resultados razoáveis no balanço, indicando que há margem para possíveis investimentos na otimização da secagem e consequente reversão no quadro econômico do processo em questão. Da mesma forma, a secagem solar pode vir a ser vantajosa se forem identificados e corrigidos os problemas que levaram à baixa eficiência da hidrólise.

A remoção de água por micro-ondas, apesar do balanço econômico negativo, mostra-se uma alternativa promissora na substituição da batata-doce fresca pela sua farinha, pois este valor negativo pode, possivelmente, ser contornado com a otimização do próprio processo de obtenção de etanol. Nesta etapa do trabalho, a concentração de enzima, por exemplo, foi a mesma utilizada por Masiero (2012) que conclui ser este o maior custo associado ao processo. Dessa forma, a redução do seu consumo representa um aumento na rentabilidade.

Sendo assim, nos próximos passos do trabalho, será utilizada a batata-doce na forma de farinha seca por micro-ondas visando à viabilização econômica da produção de EHC.

Capítulo 5 – Tratamento Enzimático e Produção de Etanol: Resultados e Discussão

Este capítulo traz resultados referentes aos experimentos de hidrólise enzimática, conforme planejamento experimental, para avaliação e seleção de variáveis representativas ao processo, e de hidrólise e fermentação simultâneas para verificação da viabilidade técnica do método. Ao final, são apresentados os resultados referentes à análise econômica considerando as modificações propostas. Todos os resultados mostrados neste capítulo fizeram o uso de batata-doce pré-processada com micro-ondas por ser essa a melhor técnica identificada no capítulo anterior.

5.1 Seleção e otimização de variáveis do processo de hidrólise do amido

a) Planejamento experimental 1

Os resultados dos onze ensaios realizados no Planejamento experimental 1, quanto à sua máxima produção alcançada de açúcares redutores e máxima conversão de amido, estão expostos na Tabela 14. As concentrações de AR ao longo das 72 horas de hidrólise podem ser analisadas através do gráfico da Figura 17.

Tabela 14: Matriz do Planejamento experimental 1 e resultados de produção de AR e conversão de amido.

Ensaio	STARGEN 002 ($\mu\text{L/g}$ farinha)	Pectinase ($\mu\text{L/g}$ BD seca)	Matéria- prima (g/L)	Resultados	
				AR máx. (g/L)	X_{amido} máx. (%)
1	30(-1)	0(-1)	70(-1)	44,2	74,0
2	106(1)	0(-1)	70(-1)	48,3	81,9
3	30(-1)	5(1)	70(-1)	43,5	72,8
4	30(-1)	0(-1)	110(1)	68,7	76,6
5	106(1)	5(1)	70(-1)	51,5	87,9
6	106(1)	0(-1)	110(1)	71,0	79,4
7	30(-1)	5(1)	110(1)	69,8	77,9
8	106(1)	5(1)	110(1)	74,6	83,7
9	68(0)	2,5(0)	90(0)	62,2	84,1
10	68(0)	2,5(0)	90(0)	61,1	82,5
11	68(0)	2,5(0)	90(0)	56,4	75,5

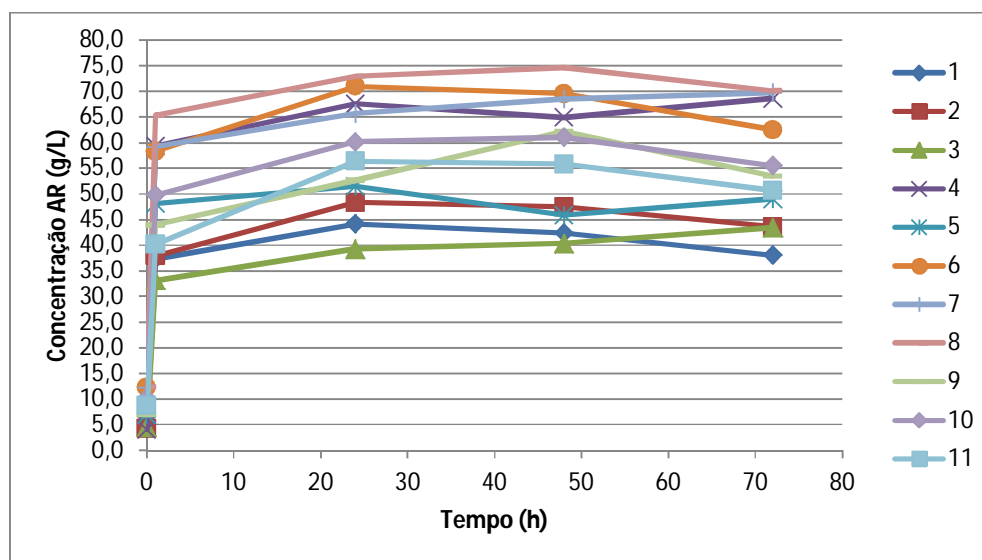


Figura 17: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise do Planejamento experimental 1.

A Tabela 15 apresenta os efeitos das variáveis sobre as respostas analisadas. Dentre as três variáveis estudadas, somente a concentração da enzima STARGEN 002 foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para produção de açúcar redutor e conversão do amido.

Tabela 15: Resultados estatísticos do Planejamento experimental 1.

Variáveis	Produção de AR (g/L)			
	Efeito	Erro padrão	t(8)	p-valor
STARGEN 002	4,84	1,92	2,51	0,0366
Pectinase	1,78	1,92	0,92	0,4199
Matéria-prima (farinha)	24,14	1,92	12,53	< 0,0001
Conversão do amido (%)				
STARGEN 002	7,90	3,31	2,39	0,0442
Pectinase	2,60	3,31	0,78	0,5189
Matéria-prima (farinha)	0,25	3,31	0,08	1,5459

As três variáveis apresentaram efeitos positivos nas duas respostas, indicando que ao passarem para níveis mais altos houve aumentos na produção de AR e na conversão do amido.

A concentração da enzima Pectinase, entretanto, não foi significativa estatisticamente, ou seja, neste estudo a análise mostrou que a sua adição não promoveu diferenças relevantes entre as respostas. Dessa forma, a enzima Pectinase não foi utilizada nos experimentos seguintes.

Embora a concentração da STARGEN 002 tenha apresentado efeito positivo, os níveis desta variável no novo planejamento experimental foram deslocados para níveis inferiores. Analisando-se os ensaios 7 e 8, pode-se ver que para se obter um aumento de 6,9% em AR, foi necessário utilizar 428% a mais de enzima. Isto é, o efeito desta variável, apesar de positivo, é pequeno, não justificando o investimento no aumento da concentração de STARGEN 002.

Já a variável “concentração de matéria-prima” foi deslocada para níveis superiores por apresentar efeito positivo significativo na produção de açúcares redutores e também efeito positivo, embora pequeno, na conversão de amido. Este resultado indica que ao se trabalhar com concentrações maiores de batata-doce, possivelmente serão alcançadas concentrações maiores de AR, mantendo-se a conversão de amido elevada.

Observando os resultados apresentados na Figura 17, o pré-tratamento, realizado por uma hora a 52°C, mostrou-se ser a fase crítica e decisiva na etapa de hidrólise. Portanto, no planejamento experimental seguinte, apenas essa fase foi selecionada para estudo.

A observação da continuidade da digestão do amido, mesmo após a redução da temperatura para 32°C, é um resultado positivo, visto que, no processo completo de obtenção de etanol esse procedimento é necessário para dar início à fermentação.

b) Planejamento experimental 2

Na Tabela 16, encontram-se os parâmetros e resultados referentes aos dezessete ensaios realizados a partir Planejamento experimental 2. A evolução do teor de açúcares redutores durante as cinco horas e meia de hidrólise pode ser vista nos gráfico das Figuras 18 e 19. Os ensaios foram divididos em dois grupos para uma melhor visualização dos dados.

Tabela 16: Matriz do Planejamento experimental 2 e resultados de produção de AR e conversão de amido.

Ensaio	STARGEN 002 ($\mu\text{L/g}$ farinha)	Matéria- prima (g/L)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Resultados	
				AR máx. (g/L)	X_{amido} máx. (%)
1	23(-0,5)	100(-0,5)	48(-0,8)	67,2	79,7
2	45(1)	100(-0,5)	48(-0,8)	72,0	87,9
3	23(-0,5)	130(1)	48(-0,8)	90,4	85,0
4	23(-0,5)	100(-0,5)	57(1)	68,2	81,0
5	45(1)	130(1)	48(-0,8)	91,1	85,6
6	45(1)	100(-0,5)	57(1)	69,7	84,8
7	23(-0,5)	130(1)	57(1)	85,7	81,5
8	45(1)	130(1)	57(1)	90,3	86,3
9	68(2,5)	110(0)	52(0)	82,2	91,7
10	7,5(-1,5)	110(0)	52(0)	84,1	93,9
11	30(0)	140(1,5)	52(0)	98,4	86,4
12	30(0)	90(-1)	52(0)	62,4	83,5
13	30(0)	110(0)	62(2)	74,5	81,2
14	30(0)	110(0)	32(-4)	73,7	80,3
15	30(0)	110(0)	52(0)	77,9	86,9
16	30(0)	110(0)	52(0)	81,7	91,5
17	30(0)	110(0)	52(0)	75,6	84,9

A média dos valores de conversão máxima, 85,4%, está um pouco abaixo dos 86,4% e 89,5% reportados por Wang *et al.* (2005) e Masiero (2012), respectivamente. Porém, resultados superiores foram alcançados, como nos ensaios 9 e 10, indicando um bom direcionamento dos resultados.

Considerando os dados apresentados nos gráficos abaixo, pode-se verificar que, para todos os experimentos, a hidrólise atinge um equilíbrio após 2 ou 3 horas do início da reação. Como um dos objetivos da pesquisa é otimizar o tempo dessa etapa, foi feita uma avaliação da produtividade de AR (Q_{AR}) ao final de duas horas de reação.

As respostas referentes à produção de açúcares redutores e a sua taxa de produtividade calculada nesse ponto estão expressos na Tabela 17.

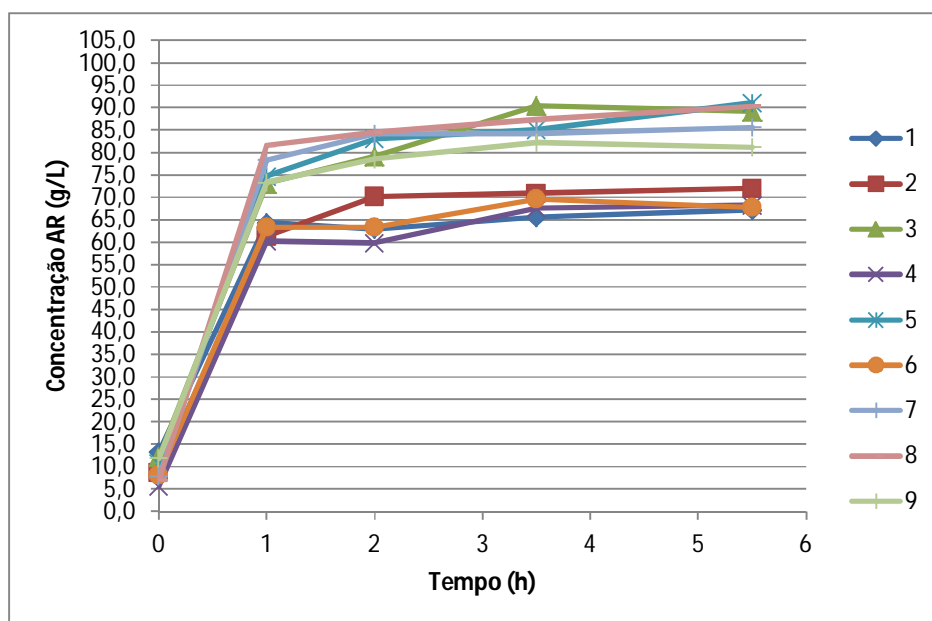


Figura 18: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise dos ensaios de 1 a 9 do Planejamento experimental 2.

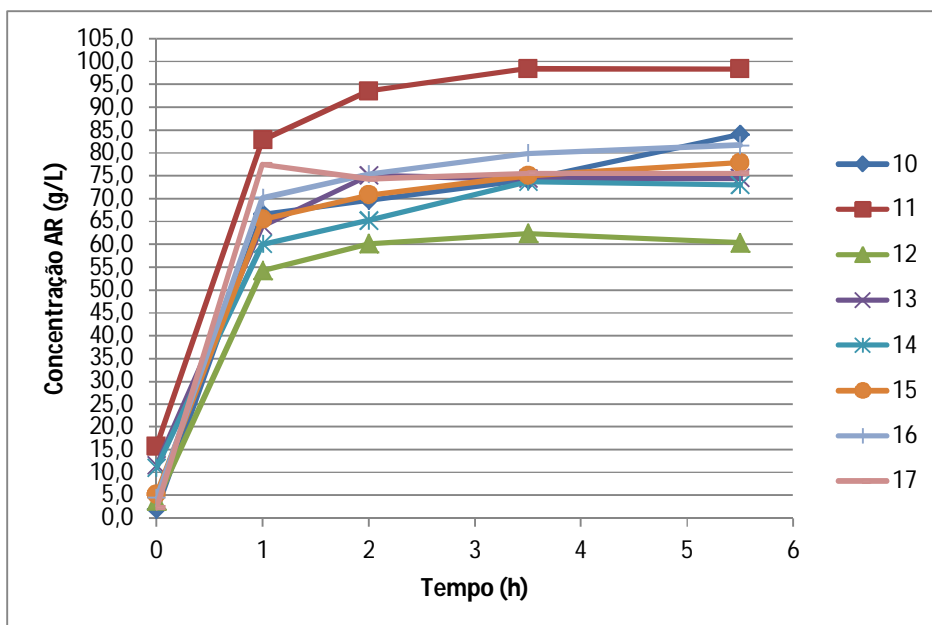


Figura 19: Evolução da concentração de açúcares redutores durante a hidrólise dos ensaios de 10 a 17 do Planejamento experimental 2.

Tabela 17: Matriz do Planejamento experimental 2 e resultados de produção de AR e produtividade após duas horas de hidrólise.

Ensaio	STARGEN 002 ($\mu\text{L/g}$ farinha)	Matéria- prima (g/L)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Resultados		
				AR $t=2\text{h}$ (g/L)	X _{amido} $t=2\text{h}$ (%)	Q _{AR, t=2h} (g/L.h)
1	23(-0,5)	100(-0,5)	48(-0,8)	64,3	75,8	29,2
2	45(1)	100(-0,5)	48(-0,8)	70,2	83,6	32,1
3	23(-0,5)	130(1)	48(-0,8)	79,2	73,5	36,6
4	23(-0,5)	100(-0,5)	57(1)	60,3	70,5	27,2
5	45(1)	130(1)	48(-0,8)	83,1	77,4	38,5
6	45(1)	100(-0,5)	57(1)	63,4	74,6	28,7
7	23(-0,5)	130(1)	57(1)	84,1	78,5	39,1
8	45(1)	130(1)	57(1)	84,6	79,0	39,3
9	68(2,5)	110(0)	52(0)	78,6	86,2	36,3
10	7,5(-1,5)	110(0)	52(0)	69,6	75,3	31,8
11	30(0)	140(1,5)	52(0)	93,6	81,8	43,8
12	30(0)	90(-1)	52(0)	60,2	78,2	27,1
13	30(0)	110(0)	62(2)	75,1	81,9	34,5
14	30(0)	110(0)	32(-4)	65,2	70,0	29,6
15	30(0)	110(0)	52(0)	70,8	76,8	32,4
16	30(0)	110(0)	52(0)	75,4	82,3	34,7
17	30(0)	110(0)	52(0)	74,3	81,0	34,2

Avaliando os dados das Tabelas 16 e 17 e comparando os ensaios 9 e 10, nos quais a concentração da enzima STARGEN 002 correspondia ao nível mais alto e mais baixo, respectivamente, nota-se que, após duas horas de reação, a produtividade do ensaio 10, bem como a conversão de amido se mostraram consideravelmente menor. Porém, avaliando a conversão máxima de amido alcançada (Tabela 16), observa-se uma vantagem, apesar de pequena, do ensaio 10 sobre o 9, sugerindo que apesar de uma taxa de produção menor, níveis mais altos de AR podem ser alcançados em um período mais longo. Seria um indício de que há a possibilidade de redução da concentração de enzima sem que a eficiência da hidrólise seja comprometida.

Através dos resultados alcançados foi possível obter os coeficientes de regressão de um modelo de segunda ordem para as variáveis codificadas e verificar a validade do modelo de produtividade em função das variáveis estudadas através da análise de variância (ANOVA).

Na Tabela 18, a qual descreve os coeficientes do modelo de regressão a partir da matriz codificada, os termos lineares estão associados à letra L e os termos quadráticos com a letra Q. Logo, o modelo completo ajustado fica caracterizado pela equação:

Produtividade de açúcares redutores = $33,14 + 1,10x_1 + 0,01x_1^2 + 6,29x_2 - 0,23x_2^2 + 0,13x_3 - 0,18x_3^2 - 0,62x_1x_2 + 0,82x_1x_3 - 1,33x_2x_3$

Onde x_1 corresponde à variável codificada da concentração de enzima, x_2 da concentração de matéria-prima e x_3 da temperatura.

Tabela 18: Coeficientes de regressão para a produtividade de AR.

Fatores	Coefficientes de Regressão	Erro padrão	t(7)	p
Média	33,14	0,79	41,75	<0,0001
Concentração de STARGEN 002 (L)	1,10	0,61	1,82	0,001
Concentração de STARGEN 002 (Q)	0,01	0,38	-0,02	0,981
Concentração de matéria-prima (L)	6,29	0,83	7,55	<0,0001
Concentração de matéria-prima (Q)	-0,23	0,99	0,23	0,824
Temperatura (L)	0,13	0,46	0,28	0,785
Temperatura (Q)	-0,18	0,16	-1,14	0,292
STARGEN 002 x MP	-0,62	0,99	-0,63	0,549
STARGEN 002 x Temperatura	-0,82	0,84	-0,97	0,363
MP x Temperatura	1,33	0,84	1,57	0,160

O valor obtido para o R^2 foi de 0,9464, indicando assim, que quase 95% da variabilidade na resposta podem ser explicadas pelo modelo. Este valor é considerado satisfatório para obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos.

A ANOVA para a produtividade de açúcares redutores, considerando todos os termos da equação do modelo, está apresentada na Tabela 19.

Tabela 19: Análise de variância para a produtividade de AR.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{calc}
Regressão	388,09	9	43,12	3,83
Resíduo	78,78	7	11,25	
Total	466,87	16		

O teste F verifica a significância do modelo frente ao erro (Rodrigues e Lemma, 2009). Nesse caso, o F calculado (3,83) foi superior ao tabelado (3,68) com nível de confiança de 95%, logo, o modelo se mostrou representativo.

A Figura 20 descreve os valores observados experimentalmente e os valores preditos pelos modelos associados às respostas de produtividade. Observa-se uma boa concordância entre eles. A Tabela 20 apresenta os valores experimentais, os preditos pelo modelo para a produtividade de AR, os erros de ajuste e os erros relativos para cada ensaio do planejamento.

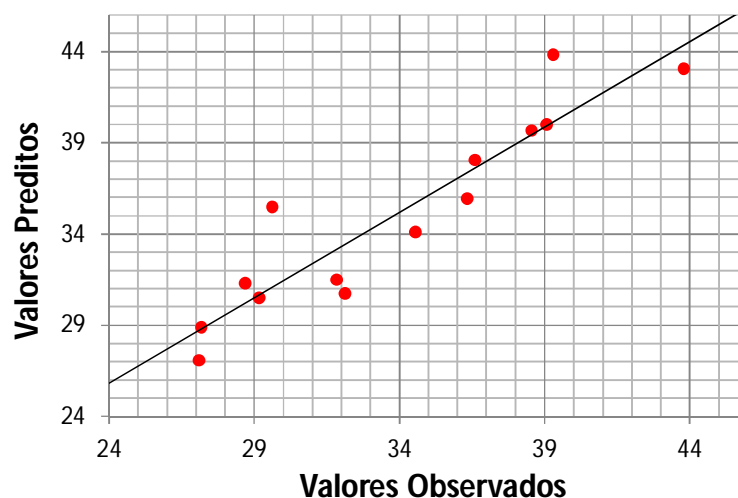


Figura 20: Valores observados versus valores preditos pelo modelo.

Tabela 20: Valores de produtividade experimentais, previstos pelo modelo e desvios para o delineamento.

Ensaio	Q Predita (g/L.h)	Q Experimental (g/L.h)	Erro de ajuste	Erro relativo (%)
1	30,53	29,15	-1,38	-4,7
2	30,74	32,10	1,36	4,2
3	38,08	36,58	-1,50	-4,1
4	28,90	27,15	-1,75	-6,4
5	39,68	38,53	-1,15	-3,0
6	31,32	28,68	-2,64	-9,2
7	40,03	39,06	-0,97	-2,5
8	43,85	39,28	-4,57	-11,6
9	35,95	36,31	0,36	1,0
10	31,51	31,81	0,30	0,9
11	43,09	43,78	0,69	1,6
12	27,08	27,08	0,00	0,0
13	34,12	34,53	0,41	1,2
14	35,50	29,61	-5,89	-19,0
15	33,14	32,40	-0,74	-2,3
16	33,14	34,69	1,55	4,5
17	33,14	34,16	1,02	3,0

Pode-se observar que os erros relativos foram baixos na região desejada em que as produtividades estão maximizadas. O maior erro relativo (-19,0%) corresponde ao ensaio feito na temperatura de 32°C, o que explica um valor encontrado de produtividade baixo e erro relativo mais alto.

O modelo foi considerado adequado ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$) para descrever as superfícies de resposta de produtividade. Assim, as descrições gráficas do modelo ajustado podem ser vistas nas Figuras 21 e 22.

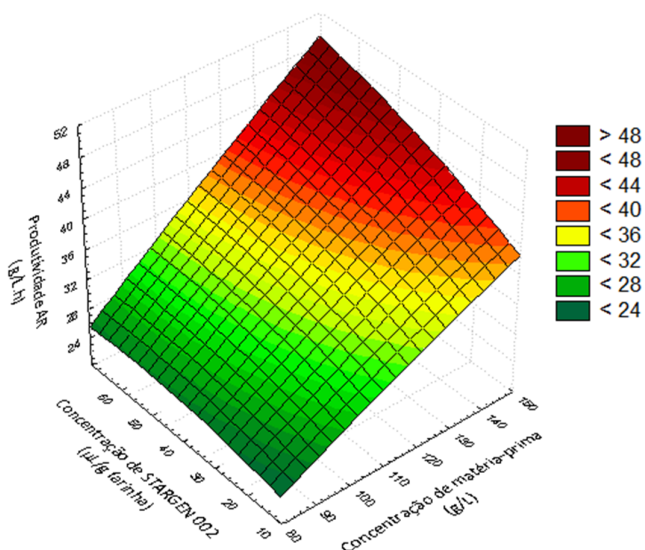


Figura 21: Superfície de resposta para a produtividade de açúcares redutores em função da concentração de matéria-prima e da concentração da enzima STARGEN 002.

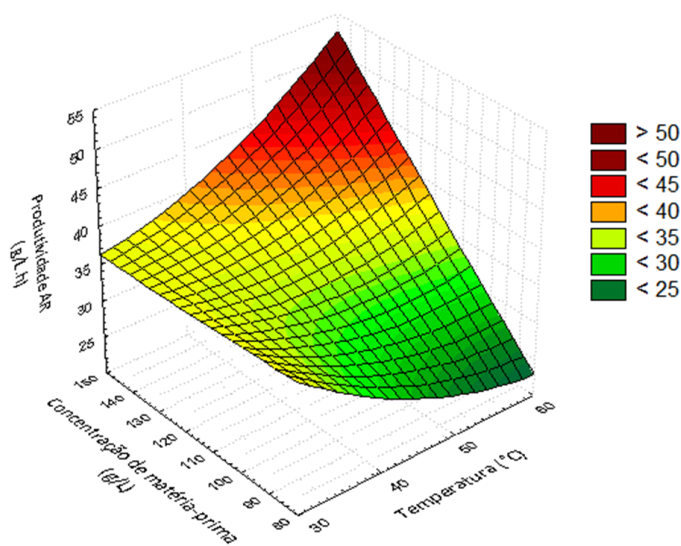


Figura 22: Superfície de resposta para a produtividade de açúcares redutores em função da concentração de matéria-prima e da temperatura.

Com base na Figura 21, pode-se observar que nas faixas estudadas não houve um ponto de máxima produtividade, mas sim uma região otimizada na qual a quantidade de matéria-prima aparenta ter uma influência maior que a concentração de STARGEN 002 sobre a taxa de produção de AR. O que indica que seria possível trabalhar com quantidades mínimas de enzima e máximas de farinha, dentro da faixa estudada. Sugere ainda, um potencial de alcançar produtividades maiores utilizando concentrações de matéria-prima superiores a 140 g/L.

A Figura 22 mostra que a produtividade de AR é beneficiada pelo aumento da temperatura quando se trabalha com concentrações de farinha mais elevadas. A temperatura de 52°C, que vinha sendo usada até então no pré-tratamento, mostrou bons resultados (produtividade superior a 35 g/L.h) para concentrações de matéria-prima maiores que 130 g de farinha/L.

Portanto, foram fixados os parâmetros de concentração de matéria-prima em 140 g/L (valor máximo avaliado) e de temperatura em 52°C para as próximas análises. Como a escolha da melhor condição de operação também passa pela minimização de custos, na próxima etapa a concentração de enzima foi avaliada em uma faixa inferior (3; 7,5 e 12 µL/g farinha) a até então utilizada.

5.2 Hidrólise e fermentação simultâneas

Os resultados referentes ao acompanhamento da temperatura durante o aquecimento do meio no pré-tratamento podem ser vistos no Apêndice II. Dessa análise conclui-se que são necessários cerca de 30 minutos até que o meio líquido esteja em equilíbrio térmico com o ar e atinja $51,8^{\circ}\text{C} \pm 0,7^{\circ}\text{C}$. Apenas após esse período inicia-se a contagem de duas horas do pré-tratamento. Note que este tempo é particular para este trabalho, podendo variar com o tamanho do equipamento e também de acordo com as características do líquido, tais como viscosidade e teor de sólidos.

Com os parâmetros de hidrólise enzimática estabelecidos na etapa anterior, foi reproduzido o processo de obtenção de etanol, com hidrólise e fermentação simultâneas após pré-tratamento. Os resultados médios dos ensaios feitos em duplicata podem ser vistos nas Tabelas 21 e 22.

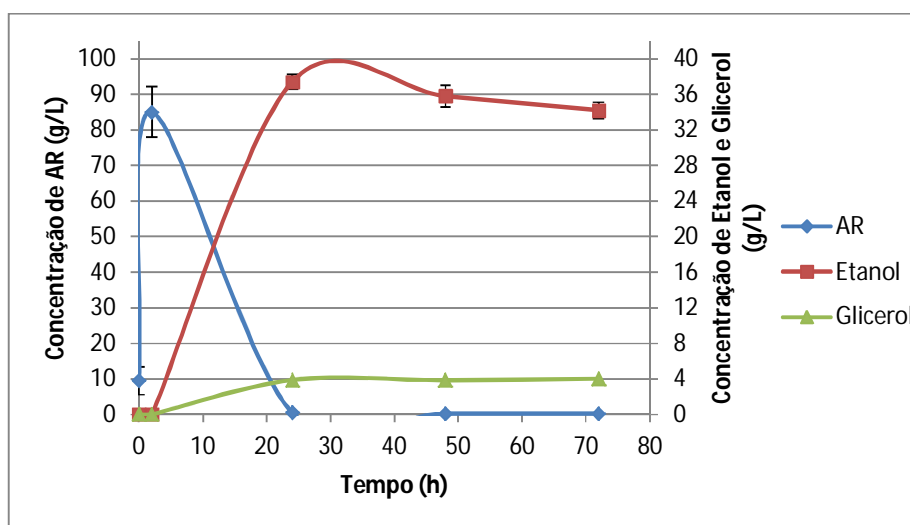
Tabela 21: Resultados do pré-tratamento.

Ensaio	STARGEN 002 (µL/g farinha)	Resultados do pré-tratamento		
		AR _{t=2h} (g/L)	AR _{t=2h} Desvio padrão	X _{amido t=2h} (%)
1	3	85,1	7,0	73,8
2	7,5	89,9	0,1	78,3
3	12	95,2	2,9	83,3

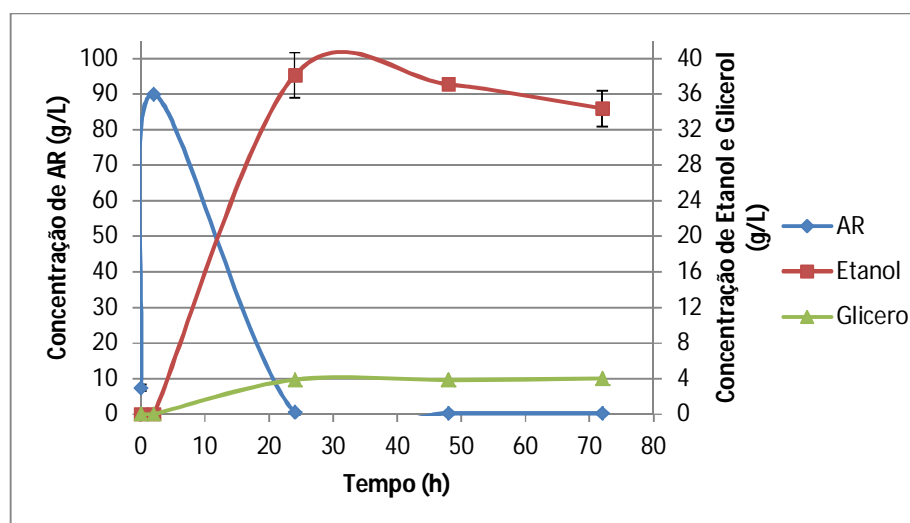
Tabela 22: Resultados da fermentação. Tempo de pré-tratamento incluso (*).

Ensaio	Resultados da fermentação							
	Etanol				Glicerol		AR	
	24h*		72h*		72h*		72h*	
	g/L	Dp	g/L	Dp	g/L	Dp	g/L	Dp
1	37,4	0,4	34,2	0,9	4,0	0,4	0,3	0,04
2	38,1	2,5	34,4	2,0	3,5	0,7	0,3	0,08
3	37,1	0,3	33,0	0,2	3,6	0,01	0,3	0,1

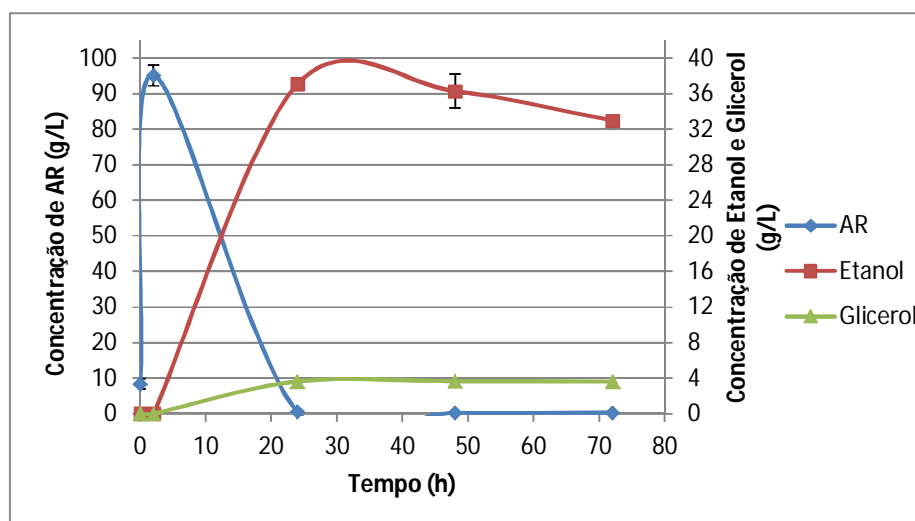
Os gráficos com os resultados dos ensaios ao longo das 72 horas de processo estão na Figura 23.



(a) 3 µL enzima/g farinha



(b) 7 µL enzima/g farinha



(c) 12 µL enzima/g farinha

Figura 23: Gráficos dos resultados médios dos ensaios de hidrólise e fermentação simultâneas com concentração de enzima (a) 3 (b) 7,5 e (c) 12 µL/g farinha.

Com os resultados da Figura 23 e da Tabela 22, não é possível concluir com precisão o tempo em que a fermentação encerra, ou seja, o momento de máxima produção de etanol. No entanto, com os dados que foram apresentados pode-se dizer que esse instante se aproxima das 24 horas de processo. Seriam necessárias mais informações, ou seja, uma coleta frequente de amostras em torno desse ponto para a identificação do tempo ótimo.

As eficiências das fermentações após 24 horas do início do processo, calculadas a partir do teor de amido e açúcares determinados na caracterização da batata-doce, estão na Tabela 23. Esses valores são inferiores, por exemplo: aos 83% publicados por Bialas *et al.* (2010) em seu estudo sobre o processo com sacarificação e fermentação simultâneas para produção de etanol combustível a partir do amido de milho, evidenciando a possibilidade de melhora na eficiência da etapa fermentativa. Adicionalmente, sob a ótica de programação da produção, o período de 24 horas é também o mais adequado, pois permitirá o melhor uso dos equipamentos e na jornada de trabalho padrão de 8 horas diárias.

Avaliando os resultados da fermentação e os expostos na Tabela 21, observa-se que o experimento que alcançou a máxima concentração de AR e máxima conversão de amido (Ensaio 3) não corresponde ao mesmo que obteve maior conversão em etanol (Ensaio 2). Considerando ainda os desvios dos ensaios quanto à produção de álcool (Tabela 22) e a pouca diferença entre os valores de eficiência da fermentação, conclui-se que a concentração de enzima na faixa estudada não interfere com relevância nos resultados finais de conversão em etanol.

Tabela 23: Eficiência da fermentação após 24 horas de processo.

Ensaio	Eficiência da Fermentação (24h) (%)	Desvio padrão
1	72,2	1,7
2	73,5	4,9
3	71,5	0,6

Enquanto nesta pesquisa foi alcançado 38,1 g/L de etanol, Duvernay *et al.* (2013) obtiveram, através do processo convencional, uma concentração de 67,8 g/L de etanol com concentração inicial de farinha de batata-doce 78,0% maior. Pode-se concluir então, que as eficiências dos processos foram equivalentes, não indicando, com relação a esse parâmetro, vantagem do método de hidrólise e fermentação simultâneas sobre o convencional.

A partir da eficiência máxima alcançada, correspondente ao ensaio 2, calcula-se um rendimento de 95,8 g etanol/kg de batata-doce. Comparando com o valor encontrado por Shen *et al.* (2012) (118,2g/kg), que utilizaram a batata-doce fresca para produção etanol, verifica-se um rendimento 18,9% inferior porém, alcançado em um tempo três vezes menor. A diferença dos resultados pode estar relacionada à diferença do pré-processamento da matéria-prima, ao uso de enzimas diferentes ou ainda a suplementação do meio, que não foi realizada nesta pesquisa.

5.3 Avaliação econômica do processo de hidrólise e fermentação simultâneas

Com base nos resultados apresentados neste capítulo para hidrólise e fermentações simultâneas, foram considerados os seguintes valores na avaliação econômica:

- Concentração inicial de matéria-prima (farinha): 140 g/L;
- Concentração de STARGEN 002: 3 µL/g farinha;
- Tempo de processamento: 24 horas;
- Conversão de amido na hidrólise enzimática: 90%;
- Eficiência da fermentação: 72,2%.

Apesar de ter sido observada na Tabela 21 uma conversão do amido de 73,8% ± 6,7% no pré-tratamento, o valor de 90% foi fixado por entender que a hidrólise não encerra no final dessa etapa, continuando simultaneamente à fermentação e, por ser esse um valor razoável com base nos demais resultados obtidos neste trabalho.

Na Tabela 24, encontram-se os parâmetros do processo que sofreriam alteração, com os resultados desse estudo, em comparação aos utilizados por Masiero (2012). Da mesma forma, os preços de insumos que tiveram alterações de 2012 para 2013 estão atualizados na Tabela 25.

Tabela 24: Parâmetros da produção de etanol que sofreriam modificações com as condições utilizadas nesse estudo.

Parâmetros	Masiero (2012)	Estudo (2013)	Relação
Energia elétrica (kWh/dia)	162	278	↑ 71,6%
Água (m ³ /dia)	5,8	6,9	↑ 19,0%
Enzima STARGEN 002 (L/dia)	62,8	5,0	↓ 92,0%
Rendimento (L EHC/ton raiz)	145,1	131,4	↓ 9,4%
Concentração final de etanol (g etanol/L)	21,6	37,4	↑ 73,1 %
Produção de vinhaça (L/L EHC)	43,7	25,3	↓ 42,1 %
Tempo total de processo (h)	72	24	↓ 66,7%

Tabela 25: Preços de insumos em 2013.

Insumo	Unidade	Valor 2013	Referência
Energia Elétrica	R\$/kWh	0,274	AES Sul, 2013
Lenha	R\$/m ³	38,00	MFRural, 2013
Diesel	R\$/L	2,33	ANP, 2013 (Média RS)
Enzima	R\$/L	19,08	GENENCOR, 2013

O aumento do consumo de energia elétrica se deve a etapa de preparação da farinha, adicionada ao processo após comprovados benefícios apresentados no Capítulo 4. Porém, diferentemente da análise preliminar apresentada, o consumo de energia dos equipamentos de corte, secagem e moagem estão incluídos nesta nova análise e correspondem aos modelos listados na Tabela 26.

Tabela 26: Equipamentos para a fabricação da farinha de batata-doce em escala industrial.

Equipamento	Capacidade (kg/h)	Potência (kW)
Máquina de corte	400	0,75
Micro-ondas industrial	210	5,4
Moinho	500	0,8

O rendimento em litros de EHC por tonelada de raiz apresentou um valor inferior devido ao teor de massa seca menor da batata-doce utilizada neste estudo e a menor eficiência da fermentação considerada nos cálculos. Esse resultado significa um consumo maior de matéria-prima para uma mesma produção de etanol.

Por outro lado, o teor de etanol por litro alcançou valores superiores devido a maior concentração de matéria-prima inicial. Com essa vantagem, a capacidade de produção de EHC da usina passa de 288,0 L/dia para 503,4 L/dia. Ao trabalhar com concentrações de farinha maior, mantendo níveis semelhantes de eficiência do processo, reduz-se a geração de vinhaça, e, portanto, eleva-se a capacidade de produção da usina em relação ao produto de interesse, no caso o etanol hidratado combustível.

Além disso, a redução de 92% do consumo de enzima, que no estudo que serviu como base correspondia a 75,4% das despesas da indústria, representa um avanço importante para a viabilidade econômica da batata-doce como matéria-prima para a produção de etanol. Com os resultados obtidos nessa pesquisa, a enzima passa a responder por 20,3% dos gastos totais da usina, que reduziram cerca de 70%.

Dessa forma, substituindo os dados nas planilhas montadas por Masiero (2012) chega-se a uma tabela (Apêndice III), na qual estão discriminados os custos de cada etapa do processo de acordo com os seus direcionadores, e a um custo agrícola de R\$ 0,42/L de EHC.

A soma dos valores de gastos agrícolas e de processamento resulta em um custo total do etanol hidratado de batata-doce de R\$ 1,35/L, valor a partir do qual começa a viabilizar a produção de etanol hidratado a partir dessa biomassa, principalmente se parte do que for produzido for destinado ao consumo próprio.

Capítulo 6 – Considerações finais

Esta dissertação de mestrado dá continuidade ao trabalho iniciado no GIMSCOP/UFRGS e documentado na dissertação de mestrado de Masiero (2012). A principal contribuição do presente trabalho foi aproximar a produção de etanol a partir de batata-doce de sua viabilidade econômica. As principais conclusões são a seguir discutidas.

6.1 Conclusões

O estudo referente ao pré-processamento da batata-doce para obtenção de etanol, mostrou um aumento significativo da concentração de açúcares redutores alcançada na hidrólise enzimática quando se trabalha com a farinha no lugar da matéria-prima fresca, independentemente do método de secagem aplicado. Esse aumento supera os 100% no caso da desidratação com micro-ondas, sendo este o melhor resultado alcançado. A análise estatística mostrou que há diferença significativa entre os resultados médios dos diferentes métodos de secagem. A seleção do método para a sequência do trabalho passou por uma análise econômica simplificada, na qual a secagem através do sol foi a única técnica com retorno financeiro positivo. Porém, a secagem com micro-ondas apresentou resultados econômicos promissores sendo escolhida como pré-processamento para a matéria-prima.

Na segunda etapa do trabalho, através do planejamento experimental que avaliou três variáveis do processo (concentração das enzimas STARGEN 002 e Pectinase e concentração de matéria-prima), ficou constatado que, para as mesmas condições, a Pectinase não apresentou benefícios com relação à eficiência de hidrólise, não justificando assim, a continuidade do seu uso. Com relação às demais variáveis, ficou evidenciada estatisticamente a possibilidade de trabalhar com faixas menores de STARGEN 002 e maiores de concentração de farinha na sequência do trabalho.

Com o estudo feito através de um segundo planejamento experimental fatorial, conclui-se que a produtividade de açúcar redutor está mais diretamente relacionada com a concentração inicial de farinha, do que com a quantidade de STARGEN 002. Dando assim, margem para serem avaliados níveis ainda mais baixos de concentração da enzima. A concentração de matéria-prima fixada para os experimentos seguintes foi de 140 g/L, valor máximo utilizado no planejamento. Ainda nessa etapa, na qual a temperatura foi adicionada como variável de resposta, ficou provado o efeito benéfico de o pré-tratamento acontecer em temperaturas mais elevadas ($>45^{\circ}\text{C}$) em meios com quantidades maiores de matéria-prima ($>130\text{ g/L}$) dentro das faixas estudadas.

Os experimentos com hidrólise e fermentação simultâneas atingiram concentrações de 38,1 g/L e eficiência de fermentação de $73,5\% \pm 4,9\%$. Este resultado não correspondeu a maior concentração de STARGEN 002 utilizada, sugerindo a possibilidade de utilizar a concentração mínima avaliada até então (3 $\mu\text{L/g}$ farinha), que alcançou $72,2\% \pm 1,7\%$ de eficiência na fermentação.

Com relação à comparação da análise econômica deste estudo com a realizada por Masiero (2012), observaram-se avanços importantes para viabilização do uso da batata-doce na produção de etanol. Tomando por base o preço médio de mercado do EHC de cana de açúcar em 2013 nos meses de novembro e dezembro, R\$ 1,23/L segundo dados da CEPEA (2013), pode-se considerar que o valor encontrado nesse trabalho (R\$ 1,35/L) tem grande potencial competitivo. Potencial, pois ainda existem meios para otimizar o processo e portanto, minimizar custos. As sugestões citadas na próxima seção direcionam futuros trabalhos com relação a esse objetivo.

6.2 Sugestões para trabalhos futuros

A análise econômica realizada nessa pesquisa para determinar o melhor tratamento da matéria-prima incluiu apenas custos de processamento. Dessa forma, a primeira sugestão para trabalhos futuros seria a realização de uma análise financeira completa, considerando custos de instalação e de processo. Particular atenção deve ser dada ao projeto do equipamento destinado à secagem por micro-ondas, pois existe potencial para melhorar o aproveitamento energético, bem como integrá-lo facilitando o corte das batatas e a produção de farinha. As rendas referentes à comercialização de resíduos como casca e vinhaça, podem também ser consideradas.

Sugere-se estudar um processo mecânico de agitação do meio mais eficiente para que concentrações maiores de matéria-prima possam ser testadas.

Em testes preliminares, foi observada a influência da granulometria da farinha de batata-doce seca por micro-ondas sobre a produção de etanol. Logo, sugere-se que seja feito um estudo do efeito desse fator no processo.

Como mencionado no item 5.3, seria importante uma análise mais precisa do comportamento da etapa de fermentação para identificação do final da reação e, portanto, do momento de maior conversão em etanol.

Com relação à hidrólise enzimática sugere-se comparar os resultados obtidos neste trabalho com outras enzimas comerciais desenvolvidas para este tipo de processo; e com o processo convencional em duas etapas, no qual o amido é completamente gelatinizado a temperaturas próximas a 100°C.

Referências Bibliográficas

AES SUL. Tarifas e Taxas. 2013. Disponível em: <http://www.aessul.com.br/grandesclientes/site/content/informacoes/tarifas_e_taxas.aspx> Acesso em: novembro de 2013.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Sistema de levantamento de preços (SLP). 2013. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/preco/>> Acesso em: novembro de 2013.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269. 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC_269_2005.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: dezembro de 2013.

ARAÚJO, N.Q.; CASTRO, H.F.; VISCONTI, A.E.S. Batata-doce: Parâmetros preliminares na tecnologia de produção de etanol. Informativo do INT, Rio de Janeiro, p.17-28, 1979.

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 89-105, 2008.

BASSO, L. C. **Fisiologia e ecologia da fermentação alcoólica**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ. WorkShop Etanol, Sessão 2, 2011.

BIALAS, W.; SZYMANOWSKA D.; GRAJEK W. Fuel ethanol production from granular corn starch using *Saccharomyces cerevisiae* in a long term repeated SSF process with full stillage recycling. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3126-3131, 2010.

BONDARUK, J.; MARKOWSKI, M.; BLASZCZAK, W. Effect of drying conditions on the quality of vacuum-microwave dried potato cubes. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 306–312, 2007.

BORZANI, W; AQUARONE, E.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial – Fundamentos**, v. 1, 1ª ed. São Paulo: Edgar Blucher Ltda., 2001.

CABELLO, C. Produção de álcool da mandioca. 2005. Disponível em: <http://www.abam.com.br/revista/revista10/prod_alcool.php>. Acesso em: agosto de 2012.

CELESTINO, S. M. C. Princípios de secagem de alimentos. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.

CEPEA/ESALQ. Indicador Semanal Etanol Hidratado CEPEA/ESALQ. 2013. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/etanol/>>. Acesso em: dezembro de 2013.

CGEE - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Projeto: Estudo sobre as Possibilidades e Impactos da Produção de Grandes Quantidades de Etanol visando à Substituição Parcial de Gasolina no Mundo – Relatório Final**. Brasília, Brasil, 2005.

COLLADO, L. S.; CORKE, H. Heat-moisture treatment effects on sweetpotato starches differing in amylose content. **Food Chemistry**, v. 65, p. 339-346, 1999.

COLLARES, R. M. **Otimização do processo de hidrólise da mandioca “in natura”, com o uso de enzimas amilolíticas e pectinolíticas**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 2011.

COMIS, D. Sweet Potato Out-yields Corn in Ethanol Production Study. 2008. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/is/pr/2008/080820.htm>>. Acesso em: dezembro de 2012.

COSTA, M. R. **Estudo comparativo das hidrólises ácida e enzimática de matéria primas amiláceas visando a obtenção de etanol**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil, 2010.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DIAMANTE, L. M; MUNRO, P. A. Mathematical modeling of the thin layer solar drying of sweet potato slices. **Solar Energy**, v. 51, n. 4, p. 271-276, 1993.

DUVERNAY, W. H.; CHINN, M. S.; YENCHO G. C. Hydrolysis and fermentation of sweetpotato for production of fermentable sugars and ethanol. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 527-537, 2013.

DRAPCHO, C. M.; NHUAN, N. P.; WALKER, T. H. **Biofuels Engineering Process Technology**. 1ª Ed., Nova Iorque: McGraw-Hill, 2008.

EMBRAPA Hortaliças. Batata-doce (*Ipomoea batatas*) – Composição e uso. In: Sistemas de Produção, 6. Brasília: Embrapa-CNPq, 2008. Versão eletrônica. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Batata-doce/Batata-doce_ipomoea_batatas/composicao_uso.html> Acesso em: agosto de 2012.

FAO/UN. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT-2011. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: agosto de 2012.

FELTRAN, J. C.; VALLE, T. R. **Batata-doce (*Ipomoea batatas* (L) Lam): Matéria-prima alternativa para produção de etanol**. Pesquisa científica - Instituto de Economia Agrícola, São Paulo, Brasil, 2008.

FERNANDES, A. F.; PEREIRA, J.; GERMANI, R.; OIANO-NETO, J. Efeito da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de casca de batata (*Solanum Tuberosum Lineu*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 56-65, 2008.

FERREIRA, J. M. R. **Efeito do tratamento por alta pressão na sorção de água pelo amido**. Dissertação (Mestrado), UA, Aveiro, Portugal, 2011.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Cultura de tuberosa latino americanas: Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, v.1, 224 p, 2001.

FUDHOLI, A. Review of solar dryers for agricultural and marine products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 1–30, 2010.

GANCEDO, J. M. Yeast carbon catabolite repression. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, p. 334-361, 1998.

GENENCOR. **STARGEN™ 002: Granular Starch Hydrolyzing Enzyme for Ethanol Production**. Danisco US Inc., 2009.

GONÇALVES, M. F. V. **Tratamento térmico dos amidos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) e de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) sob baixa umidade em microondas**. Dissertação (Mestrado), ESALQ, Piracicaba, SP, Brasil, 2007.

GONÇALVES, M. F. V.; SARMENTO S. B. S.; DIAS, C. T. S.; MARQUEZINI, N. Tratamento térmico do amido de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sob baixa umidade em micro-ondas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 270-276, 2009.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 425-437, 2002.

HARI KRISHNA, S.; CHOWDARY, G. V. Optimization of Simultaneous Saccharification and Fermentation for the production of ethanol from

lignocellulosic biomass. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1971-1976, 2000.

HINNMAN, N. D.; SCHELL, D. J.; RILEY, C. J.; BERGERON, P. W.; WALTER, P. J. Preliminary estimate of the cost of ethanol production for ssf technology. **Biochemistry and Biotechnology**, v. 34, p. 639-649, 1992.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253-267, 2001.

HOOVER, R.; MANUEL, H. The Effect of Heat-Moisture Treatment on the Structure and Physicochemical Properties of Normal Maize, Waxy Maize, Dull Waxy Maize and Amylomaize V Starches. **Journal of Cereal Science**, v. 23, p. 153-162, 1996.

HOOVER, R.; VASANTHAN, T. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. **Carbohydrate Research**, v. 252, p. 33-53, 1994.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal – Culturas temporárias e permanentes, v. 37, 2010. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf> Acesso em: agosto de 2012.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Ministério da Saúde, 2005.

IEA - INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. Statistics. Disponível em: <<http://www.iea.org/Textbase/stats/index.asp>>. Acesso em: junho de 2013.

JACOBS, H.; DELCOUR, J. A. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, 2895-2905, 1998.

KULP, K.; LORENZ, K. Heat Moisture Treatment of Starches. I Physicochemical Properties. **Cereal Chemistry**, v. 58, p. 46-48, 1981.

LEE, W. *et al.* Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*. **Renewable Energy**, v. 39, p. 216-222, 2012.

LEWANDOWICZ, G.; JANKOWSKI, T.; FORMAL, J. Effect of microwave radiation on physico chemical properties and structure of cereal starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 193-199, 2000.

LIMA, D. M.; COLUGNATI, F. A. B.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SALAY, E.; GALEAZZI, M. A. M. **Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 2ª ed., Campinas, SP, 2006.

MAGALHÃES, K. A. B. **Análise da sustentabilidade da cadeia produtiva de etanol de batata-doce no município de Palmas-TO**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil, 2007.

MASKAN, M. Microwave/air and microwave finish drying of banana. **Journal of Food Engineering**, v. 44, p. 71-78, 2000.

MASIERO, S. S. **Microusinas de etanol de batata-doce: Viabilidade econômica e técnica**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grando do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2012.

MATTA JUNIOR, M. D. **Caracterização do polvilho azedo e do amido de mandioca modificado pela acidificação láctica e oxidação por ozônio visando a expansão ao forno**. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, 2011.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MF RURAL. Preço da lenha. Disponível em: <<http://www.mfrural.com.br/busca.aspx?palavras=lenha>>. Acesso em: dezembro de 2013.

NOVOZYMES North America. Eric Otto; Jose Escovar-Kousen. **Ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF)**. US 20050026261/A1, 15 novembro 2002, 3 fevereiro 2005.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: Componentes dos alimentos e processos. v. 1, Porto Alegre: Artmed, 2005.

PADMAJA, G. Uses and Nutritional Data of Sweetpotato. **The Sweetpotato**, v. 1, p. 189-234, 2009.

PALAV, T.; SEETHARAMAN, K. Impact of microwave heating on the physico-chemical properties of a starch–water model system. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 596-604, 2006.

PANDEY A.; WEBB, C.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. **Enzyme Technology**. 1ª ed. New Delhi: Asiatech Publishers Inc., 2005.

PANESAR, P. S.; MARWAHA, S. S.; KENNEDY, J. F. *Zymomonas mobilis*: an alternative ethanol producer. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, p. 623-635, 2006.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP, Brasil, 2003.

PUROHIT, S. R.; MISHRA, B. K. Simultaneous Saccharification and Fermentation of Overnight Soaked Sweet Potato for Ethyl Alcohol Fermentation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 4, p. 56-59, 2012.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 311-319, 2001.

RAY, R. C.; TOMLINS, K. I. **Sweet potato: Post harvest aspects in food, feed and industry**. Nova Iorque: Nova Science Publishers, 2010.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. World Fuel Ethanol Production, 2012. Disponível em: <<http://ethanolrfa.org/pages/World-Fuel-Ethanol-Production>> Acesso em: agosto de 2012.

ROCHA, T. S.; CARNEIRO, A. P. A.; FRANCO, C. M. L. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 544-551, 2010.

RODRIGUES, L. G. S. M.; RODRIGUES F. M. Composição química-bromatológica do resíduo de biocombustível de batata-doce (*Ipomoea batatas* (LAM)). **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 234-245, 2012.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 2ª ed. Campinas: Cárita Editora, 2009.

SÁNCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5270-5295, 2008.

SANTANA, N. B. **Eficiência da hidrólise de amido de mandioca por diferentes fontes de enzimas e rendimento da fermentação alcoólica para produção de etanol**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 2007.

SANTANA, W. R.; MARTINS, L. P.; SILVEIRA, M. A.; SANTOS, W. F.; GONÇALVES, R. C.; SOUZA, F. R.; RESPLANDES, G. R. S.; LIMA, M. M. Identificação agrônômica de

genótipos de batata-doce em banco de germoplasma para fins industriais de etanol carburante. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 1, p. 31-34, 2013.

SHARIFFA, Y. N.; KARIM, A. A.; ZAIDUL, I. S. M. Enzymatic hydrolysis of granular native and mildly heat-treated tapioca and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 434-440, 2009.

SHARMA, A.; CHEN, C. R.; VU LAN, N. Solar-energy drying systems: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 1185–1210, 2009.

SHEN, Y.; GUO, J.; CHEN, Y. P.; ZHANG, H. D.; ZHENG, X. X.; YAN, J.; ZHANG, X. M.; LI, X. H. Effects of Glucose Releasing Rate on Cell Growth and Performance of Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) in Sweet Potato Medium for Fuel Ethanol Production Using *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v.10, p. 1-17, 2012.

SILVA, G. H. Processamento em batelada e contínuo de material amiláceo para a produção de etanol. **Boletim Técnico da Petrobrás**, n. 23, p. 49-57, 1980.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. Cultura da batata-doce. EMBRAPA Hortaliças - Sistema de Produção, v. 6, 2004. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/batatadoce/index.htm>>. Acesso em: agosto de 2012.

SILVA, J. S. **Polissacarídeos e componentes da parede celular**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil, 2010.

SILVEIRA, M. A. Batata-Doce: uma Nova Alternativa para a Produção de Etanol. **Álcool Combustível – Série Indústria em Perspectiva**, v. 1, p. 109-122, 2008.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.

SOUZA, A. F. B. C. **Avaliação do processo de hidrólise e fermentativo de biomassa de batata-doce [Ipomoea batatas (L) Lam] por meio de células imobilizadas para produção de etanol**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Tocantins, Palmas, TO, Brasil, 2005.

SRICHUWONG, S. *et al.* Sweet potato having a low temperature-gelatinizing starch as a promising feedstock for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p. 20-27, 2012.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C. Batata doce: potencial para novos produtos alimentícios. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2009. Disponível em: <<http://www.codeagro.sp.gov.br/camaras/bdnews/bd/batatadoce28102009.pdf>>. Acesso em: agosto de 2012.

TESTER, R. F.; KARKALAS, X. J. Hydrolysis of native starches with amylases. **Animal Feed Science Technology**, v. 130, p. 39-54, 2006.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. UNICADATA - 2012. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/>>. Acesso em: setembro de 2013.

VIEIRA, F. C. **Efeito do tratamento com calor e baixa umidade sobre características físicas e funcionais dos amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e de gengibre (*Zingiber officinale*)**. Dissertação (Mestrado), ESALQ, Piracicaba, SP, Brasil, 2004.

VIJAYAVENKATARAMAN, S.; INIYAN, S.; GOIC, R. A review of solar drying technologies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 2652-2670, 2012.

WANG, P.; SINGH, V.; XU, L.; JOHNSTON, D. B.; RAUSCH, K. D.; TUMBLESON, M. E. Comparison of enzymatic (E-mill) and conventional dry-grind corn processes using a granular starch hydrolyzing enzyme. **Cereal chemistry**, v. 82, p. 734-738, 2005.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 748-753, 2009.

WU, Y. V.; BAGBY, M. O. Recovery of Protein-Rich by-Products from Sweet-Potato Stillage Following Alcohol Distillation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 321-325, 1987.

YANG, J.; CHEN, J.-f., ZHAO, Y. -y., MAO, L. -c. Effects of Drying Processes on the Antioxidant Properties in Sweet Potatoes. **Agricultural Sciences in China**, v. 9, p. 1522-1529, 2010.

ZHANG, T.; OATES, C. G. Relationship between α -amylase degradation and physico-chemical properties of sweet potato starches. **Food Chemistry**, v. 65, p. 157-163, 1999.

ZHANG, Z.; WHEATLEY, C. C.; CORKE, H. Biochemical changes during storage of sweet potato roots differing in dry matter content. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 317-325, 2002.

Apêndice

Apêndice I – Resultados da caracterização da casca da batata-doce

Os resultados da composição centesimal da casca de batata-doce, resíduo do processo proposto neste trabalho, estão na Tabela 27. Os resultados das análises de macrominerais (fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre) e microminerais (cobre, zinco, ferro, manganês e boro) são apresentados na Tabela 28. Os valores usados nas Referências de Ingestão Diária (RID) se referem ao nível de ingestão diária de um nutriente que é considerado suficiente para atender as exigências de homem e mulher na fase adulta segundo Fernandes *et al.*, (2008) e a Resolução RDC nº 269 (ANVISA, 2005).

Os valores de minerais ou compostos orgânicos da casca da raiz provêm do solo e podem variar bastante devido às diferenças das variedades de batata-doce, assim como os tratamentos culturais, clima, local de plantio, maturação e armazenamento.

Tabela 27: Composição centesimal média da farinha de casca de batata-doce.

Parâmetro	Composição (%)
Umidade	5,7
Matéria Orgânica	88,8
Extrato Etéreo	2,0
Proteína Bruta	6,6
Fibra Bruta	6,9
Cinzas	11,2
Extrato Não Nitrogenado	73,2
pH	5,94
Nutrientes Digestivos Totais - NDT	74,0

Tabela 28: Teores de macro e microminerais da farinha de casca de batata-doce.

Parâmetro	Composição	RID
Fósforo total	0,26% (m/m)	700 mg
Potássio total	5,4% (m/m)	-
Cálcio total	0,62% (m/m)	1000 mg
Magnésio total	0,22% (m/m)	260 mg
Enxofre total	0,12% (m/m)	-
Cobre total	21 mg/kg	900 µg
Zinco total	22 mg/kg	7 mg
Ferro total	76 mg/kg	14 mg
Manganês total	90 mg/kg	2,3 mg
Boro total	21 mg/kg	20 mg

Apêndice II - Aquecimento no pré-tratamento

Na Tabela 29, encontram-se os resultados do aquecimento realizado no pré-tratamento de três ensaios. O *setpoint* da temperatura foi elevado durante o procedimento porque havia perdas de calor pela porta do shaker que precisou se manter semiaberta. O gráfico com os dados plotados pode ser visto na Figura 24.

Tabela 29: Resultados do acompanhamento do aquecimento de três experimentos através de termopares.

Tempo (min)	Termopares					
	Temperatura ar (SP*) (°C)	Temperatura do ar (°C)	Temp. líq. 1 (°C)	Temp. líq. 2 (°C)	Temp. líq. 3 (°C)	Desvio padrão
0	52	48	25	18	28	4,2
14	52	51	43	43	45	0,9
18	56	52	45	45	46	0,5
28	60	54	48	49	50	0,8
32	62	56	51	52	52	2,2
38	62	57	54	55	56	0,8

*SP: *Setpoint*

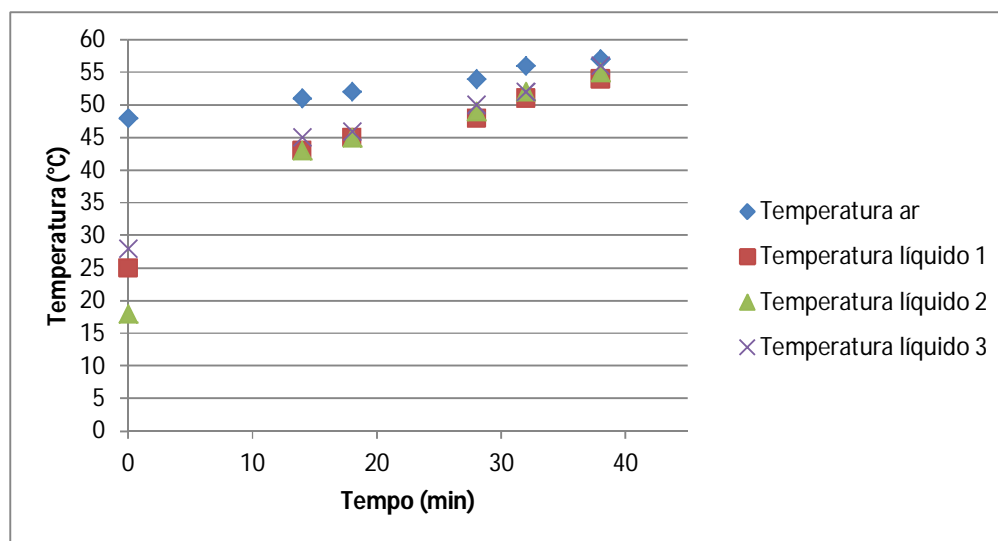


Figura 24: Gráfico da análise do aquecimento de três ensaios no pré-tratamento.

Apêndice III – Tabela de custos do processamento da batata-doce e produção de etanol.

Tabela 30: Custos diários para o processamento da batata-doce e produção de etanol.

Recursos	Mão-de-obra	Energia elétrica	Água	Nutrientes, Enzima, Antibióticos e Levedura	Lenha/Bagaçõ	Graxa e Óleo	Óleo Diesel	TOTAL por atividade	% por atividade
	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	%
Atividades	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	R\$/dia	%
Transporte	1,54	-	-	-	-	0,33	4,73	6,61	1,4%
Descarga	24,63	2,35	2,21	-	-	-	-	29,19	6,2%
Moagem	9,24	31,43	1,91	-	-	0,34	-	42,92	9,1%
Preparo do mosto	13,79	1,84	1,91	1,20	-	-	-	18,73	4,0%
Hidrólise	2,27	0,80	0,96	95,68	8,39	-	-	108,11	23,0%
Fermentação	2,27	15,09	-	1,80	-	-	-	19,16	4,1%
Destilação	109,17	19,31	-	-	-	-	-	128,48	27,3%
Geração de vapor	13,65	1,81	5,49	-	82,97	-	-	103,92	22,1%
Sistema de Resfriamento	-	2,41	-	-	-	-	-	2,41	0,5%
Armazenagem etanol	-	2,41	-	-	-	-	-	2,41	0,5%

Armazenagem da vinhaça	-	-	-	-	-	-	-	0,00	0,0%
Descarte da vinhaça	1,86	0,62	-	-	-	0,40	5,71	8,59	1,8%
TOTAL por recurso	178,42	78,07	12,48	98,68	91,35	1,08	10,44	470,52	
% por recurso	37,9%	16,6%	2,7%	21,0%	19,4%	0,2%	2,2%		