

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

PLÍNIO DE SOUZA BARROS

RAFAEL PEREIRA BLUM

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO RESÍDUO DA BATATA
PROVENIENTE DA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2018

**PLÍNIO DE SOUZA BARROS
RAFAEL PEREIRA BLUM**

**PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO RESÍDUO DA BATATA
PROVENIENTE DA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel.

Orientador: Prof. MSc. Luis Alberto Chavez Ayala.

Coorientador: Prof^a Dr^a Alessandra C. Novak Sydney.

PONTA GROSSA

2018



TERMO DE APROVAÇÃO

Produção de Etanol a partir do Resíduo da Batata Proveniente da Indústria Alimentícia

por

Plínio de Souza Barros e Rafael Pereira Blum

Monografia apresentada no dia 14 de junho de 2018 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof.^o Dr.^o Luciano Fernandes
(UTFPR)

Prof.^a Dr.^a Maria Helene Giovanetti Canteri
(UTFPR)

Prof.^a Dr.^a Alessandra Cristine Novak Sydney
(UTFPR)
Coorientadora

Prof.^o MSc. Luis Alberto Chavez Ayala
(UTFPR)
Orientador

Profa. Dr.^a Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos orientadores Prof. MSc. Luis Alberto Chavez Ayala e Prof.^a Dr.^a Alessandra C. Novak Sydney por todo conhecimento e orientação que nos permitiram realizar o projeto, pela paciência que tiveram conosco nos vários momentos de dúvidas.

Aos Prof.^a Dr.^a Maria Helene Giovanetti Canteri e Prof. Dr. Luciano Fernandes pelos ensinamentos e auxílio na execução das práticas propostas.

Aos nossos familiares por todo incentivo e auxílio o qual nos fez chegar até aqui.

E a todos que direta ou indiretamente nos ajudaram na conclusão desse projeto, nossos agradecimentos.

RESUMO

BARROS, Plínio de Souza; BLUM, Rafael Pereira. **Produção de etanol a partir do resíduo da batata proveniente da indústria alimentícia** 2018. 37p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2018.

O Álcool etílico é uma fonte de energia limpa e renovável de grande importância para a economia brasileira, sua utilização vem desde a década de 70 devido à expansão canavieira. Devido a crescente preocupação ambiental e a redução de desperdício de alimentos, o álcool produzido no Brasil deixou de ser proveniente exclusivamente da cana-de-açúcar e houve necessidade de buscar outros meios para sua produção, como resíduos alimentícios, dentre os quais a batata. Neste trabalho, propôs-se a produção de álcool através da hidrólise com α -amilase, e consequente fermentação do resíduo de batata proveniente da indústria alimentícia. Para a hidrólise realizou-se um planejamento de experimentos variando-se o tempo, a temperatura, a razão resíduo/água e a enzima, obtendo a conversão de parte do amido presente no resíduo em açúcares fermentescíveis. Posteriormente realizou-se a fermentação do mosto através da levedura *Saccharomyces Cerevisiae*, onde parte dos açúcares foram convertidos em álcool, tendo como variáveis o tempo e a temperatura. O produto final apresentou 4,20 °GL de álcool, graduação alcóolica inferior a encontrada na literatura. Sugere-se a utilização de outras cepas de leveduras para o aumento da quantidade de açúcares fermentescíveis e de técnicas para quantificar melhor o etanol no processo.

Palavras-chave: Etanol. Batata. Hidrólise.

ABSTRACT

BARROS, Plínio de Souza; BLUM, Rafael Pereira. **Production of ethanol from potato residue from the food industry.** 2018. 37p. Undergraduate final project (Chemical Engineering) - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2018.

Ethyl alcohol is a source of clean and renewable energy of great importance for the Brazilian economy, its use comes from the 1970s due to the sugarcane expansion. Due to growing environmental concern and reduction of food waste, ethanol produced in Brazil was no longer exclusively produced from sugarcane and there was a need to seek other means for its production, such as food waste, including potatoes. In this work, the production of alcohol through the hydrolysis with α -amylase, and consequent fermentation of the potato residue from the food industry, was proposed. For the hydrolysis, experiments were carried out by varying the time, temperature, residue / water ratio and the enzyme, obtaining the conversion of part of the starch present in the residue into fermentable sugars. Later, the fermentation of the wort was carried out through the *Saccharomyces cerevisiae* yeast, where part of the sugars were converted to alcohol, having as variables the time and the temperature. The final product presented 4.20 °GL of alcohol, lower alcohol content than that found in the literature. It is suggested that other yeast strains should be used to increase the amount of fermentable sugars and techniques to better quantify the ethanol in the process.

Keywords: Ethanol. Potato. Hydrolysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular da celulose	15
Figura 2 - Estrutura molecular da hemicelulose	16
Figura 3 - Estrutura molecular da lignina.....	17
Figura 4 - Processo de produção do etanol.	17
Figura 5 - Quebra da cadeia de amido pela enzima α -amilase	19
Figura 6 - Quebra da cadeia de amido pela enzima β -amilase	20
Figura 7 - Fermentação	29
Figura 8 - Teste de Fehling	32

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Escala de refração versus solução alcoólica	30
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da batata	14
Tabela 2 - Composição da casca da batata	14
Tabela 3 - Teor de umidade da amostra de resíduo de batata.....	26
Tabela 4 – Diferença de °Brix em função de tempo	27
Tabela 5 - Aumento do °Brix em função do tempo.....	28
Tabela 6 – Refratometria de solução de etanol e água destilada.....	30
Tabela 7 - Densidade e °Brix inicial e final	32
Tabela 8 - Propriedades do produto final	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. OBJETIVO GERAL	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. ETANOL.....	12
3.2. BATATA NO BRASIL E NO MUNDO	12
3.3. COMPOSIÇÃO BATATA.....	13
3.4. AMIDO	14
3.5. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	15
3.5.1. Celulose.....	15
3.5.2. Hemicelulose	16
3.5.3. Lignina.....	16
3.6. PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL.....	17
3.6.1. Pré-tratamento térmico e mecânico.....	18
3.6.2. Hidrólise.....	18
3.6.3. Fermentação.....	20
3.6.4. Destilação.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1. PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	22
4.2. TEOR DE UMIDADE.....	22
4.3. TESTE DE IODO.....	23
4.4. DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES (AR)	23
4.5. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	24
4.6. PREPARO DO INÓCULO	24
4.7. FERMENTAÇÃO DOS HIDROLISADOS	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1. TEOR DE UMIDADE.....	26
5.2. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	26
5.3. FERMENTAÇÃO.....	29
5.4. ANÁLISE DO PRODUTO.....	30

5.5. DIFICULDADES ENCONTRADAS NO PROCESSO FERMENTATIVO	34
6. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

Álcool etílico é uma das mais importantes fontes de energia renovável, com grande importância em várias economias, inclusive na brasileira. Com a crescente preocupação com relação aos prejuízos ambientais causados pela queima dos combustíveis fósseis, vem aumentando a busca por novos métodos que propiciem a geração de energia limpa (NYCO, 2012).

No Brasil a busca por combustíveis renováveis vem crescendo desde a década de 70, com a expansão canavieira dos anos anteriores, e posteriormente seu declínio no mercado internacional do açúcar. Assim, era necessário dar continuidade na produção, a fim de minimizar os altos investimentos realizados no setor. Foi então que surgiu o programa Próalcohol, tendo como objetivos a diminuição das importações de petróleo e a garantia da continuidade de ocupação das usinas. Desse modo, ocorreu um crescimento na produção do álcool etílico anidro em destilarias, a fim de ser utilizado como combustível, ou para ser misturado à gasolina em substituição ao chumbo tetraetila (PIACENTE, 2006).

Para incentivar o consumo de álcool, o governo Brasileiro instituiu três mecanismos básicos: a fixação de preços, a concessão de empréstimos para investidores e a garantia de mercado para o produto. Desse modo, o programa Próalcohol manteve elevada a demanda no setor sucroalcooleiro e permitiu um acentuado aumento no comércio.

No ano de 2003 os carros Flex-Fuel começaram a ser produzidos em massa no Brasil, dando assim ao consumidor a possibilidade de escolher o combustível a utilizar no abastecimento do seu veículo. Desde então, o Governo Brasileiro tem criado condições de incentivo para que a produção de etanol atinja recordes. Isso fez com que o país tenha atualmente posição de destaque dentre os produtores mundiais e tenha se tornando o maior exportador de etanol (BRASIL, 2011).

O etanol Brasileiro é produzido majoritariamente a partir do beneficiamento da cana de açúcar, por exigir uma menor área de plantio frente a outras culturas, como o milho, amplamente utilizado nos Estados Unidos, maior produtor de álcool mundial. Nos últimos anos, diversas pesquisas na área energética têm descoberto novas técnicas de beneficiamento de resíduos que poderão vir a ser utilizadas na produção de etanol, o que impactaria positivamente na manutenção do meio ambiente. Anualmente, no Brasil são desperdiçadas 41 mil toneladas de alimentos, perda desde a colheita e pós colheita, na distribuição e no final da cadeia de consumo, no varejo, até em mercados e no hábito do consumidor, o que coloca o país entre os dez que mais desperdiçam alimentos no mundo. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura – FAO, cerca de 30% de todo alimento produzido no mundo é desperdiçado e perdido antes mesmo de chegar a mesa do consumidor final, o que gera um prejuízo econômico estimado em US\$ 94 bilhões anualmente.

Nesse contexto, é possível identificar uma forma de dar destinação adequada ao resíduo gerado pela indústria alimentícia no processamento da batata (nos dias atuais essencialmente comercializada como ração animal), produzindo álcool a partir do mesmo e incorporando valor agregado, gerando energia e preservando o meio ambiente.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Produzir etanol a partir do resíduo da batata proveniente de indústria alimentícia.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o acompanhamento da fermentação por meio da quantidade de sólidos solúveis (°BRIX).
- Determinar a eficiência da conversão do açúcar fermentescível do resíduo em álcool;
- Discorrer sobre as principais limitações e dificuldades encontradas no processo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. ETANOL

A preocupação com os prejuízos ambientais causados pela queima dos combustíveis fósseis, além das reservas mundiais de petróleo, vem aumentando a busca por combustíveis renováveis (NYCO, 2012).

A maior parte da produção do etanol é proveniente da cana-de-açúcar, milho, trigo e cevada. Entretanto, os usos de alguns dessas matérias-primas podem competir com a utilização desses como alimento. O etanol, produzido através de resíduo, surge como uma alternativa para a produção sem depender do aumento da área plantada. Além disso, apresenta-se como proposta para a utilização da biomassa, apresentando benefícios econômicos e ambientais (PACHECO, 2011).

Devido à grande quantidade de matéria prima, o Brasil tem potencial competitivo para estar à frente de outros países na produção do etanol, principalmente com a perspectiva de utilizar no processo a palha e o bagaço da cana-de-açúcar. Além disso, várias outras matérias-primas estão sendo estudadas, como possíveis opções para o uso em regiões onde a cana-de-açúcar não é cultivada (PACHECO, 2011).

O etanol é um combustível produzido através de elementos lignocelulósicos presentes na biomassa vegetal, dando preferência a recursos renováveis e não utilizados na alimentação humana (SANTOS et al., 2012). As principais biomassas que podem ser usadas no processo de produção são as advindas de resíduos agrícolas e industriais (KHAWLA, et al., 2013).

3.2. BATATA NO BRASIL E NO MUNDO

A batata é a terceiro alimento mais importante do planeta, sendo a primeira commodity não grão. Estima-se que um bilhão de pessoas consumam diariamente batata no mundo, sendo a produção mundial anual superior a 330 milhões de toneladas. Segundo a Associação Brasileira de Batata – ABBA (2016) no Brasil a produção anual supera 3,5 milhões de toneladas, empregando cerca de 5 mil produtores em 7 estados brasileiros (PR, SC, RS, MG, SP, GO e BA).

Segundo Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2017), a maior destinação da batata é para consumo in natura, sendo apenas 10% destinada a processamento industrial, na forma de batata palha, chips e pré-fritas congeladas. Em comparação ao Nordeste da Europa, em que dois terços são utilizados para processamento industrial, espera-se um crescente no processamento, em função da mudança de hábitos alimentares da população. Atualmente, a produção de batata pré-frita congelada é abastecida com apenas 26% (82 mil toneladas) do produto processado no Brasil, sendo os outros 74% (232 mil toneladas) provenientes de importação, principalmente da Argentina e Europa.

Segundo FAO (2016) - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, a produtividade brasileira teve um aumento de 28,1% nos últimos dez anos, devido a melhorias nas técnicas de cultivo empregadas, associadas ao selecionamento de sementes utilizadas. Em 2011, a produção atingiu 26,3 t/ha, tendo superado a média mundial (19,4 t/ha), mas ainda abaixo de países como Argentina (30 t/ha) e Chile (31,2t/ha). Dessa forma, espera-se que com o aumento da implementação de tecnologia no setor, a produtividade possa atingir patamares ainda maiores, visando garantir a competitividade da batata brasileira (ABBA, 2015).

3.3. COMPOSIÇÃO BATATA

O tubérculo da batata é constituído por 80% de água, aproximadamente 17% de carboidratos, em sua grande maioria amido, em suas diferentes formas, são absorvidos pelo organismo como glicose, após hidrólise enzimática. Entre 1% e 2% de sua composição é constituída por fibra, concentrada na casca, e 0,1% a 0,7% de açúcares simples, como glicose, frutose e sacarose. Depois dos carboidratos, as proteínas são os nutrientes mais abundantes no tubérculo, com cerca de 2% de sua composição (EMBRAPA, 2014). As tabelas 1 e 2, ilustram a composição química presente no tubérculo e casca, respectivamente.

Tabela 1 - Composição química da batata

Composição	Porcentagem (%)
Umidade	79,4
Carboidratos	17,6
Proteínas	1,8
Sais	1,1
Gorduras	0,1
Calorias	78,5 kCal

Fonte: PEREIRA, (2000)

Tabela 2 - Composição da casca da batata

Composição	Peso seco (%)
Umidade	6,78
Açúcar Redutor AR	0,32
Amido	48
Proteína	15,5
Gordura	0,6
Fibra	26,5

Fonte: KHAWLA, et. al., (2013)

3.4. AMIDO

O amido é uma das principais fontes de carboidratos consumidos na dieta humana em todo o mundo, devido ao baixo preço, associado à sua abundância. Apresenta-se na forma de grânulos com formatos e tamanhos variados, encontrado principalmente em leguminosas e tubérculos. Esse polissacarídeo é muito utilizado na indústria alimentícia, tanto em sua forma natural, como modificada, sendo suas maiores aplicações, na forma de espessantes e estabilizantes, pudins instantâneos, gelatinas, e principalmente no processamento de alimentos que necessitam de um elemento ligante (BATISTUTI, 2009).

O amido pode ser quebrado em molécula menores de açúcares fermentescíveis por meio da hidrólise ácida ou enzimática, para ser utilizado no processo de produção de etanol. O amido pode ser encontrado, por exemplo, em grãos amiláceos (milho, sorgo, cevada, trigo), raízes e tubérculos (batata, batata-doce, mandioca) (MACHADO,2006).

O amido é constituído por unidades de glicose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilopectina e a amilose. A amilopectina, uma das maiores biomoléculas conhecidas e com muitas ramificações, apresenta cadeia de resíduos de glucose ligados entre si. Tais ligações glicosídicas são do tipo alfa (1,4) e com ligações do tipo alfa (1,6) em menor quantidade- 5% (MYERS et al., 2000). Por sua vez, a amilose quase não apresenta ramificações, sendo suas ligações entre unidades de glucose conectadas do tipo alfa (1,4) e ligações do tipo alfa (1,6) inferiores a 1% (BALL *et al.*, 1998).

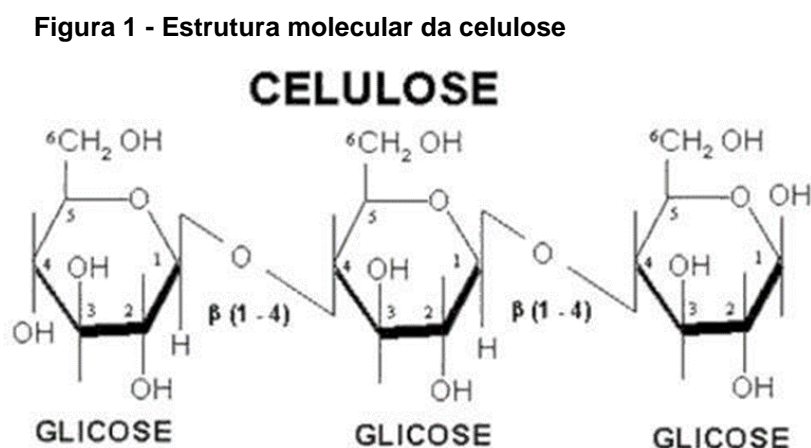
As proporções de amilose e amilopectina no amido, podem variar significativamente, dependendo da cultura e modificações genéticas, como no caso do milho “waxy”, cujo amido não apresenta amilose (NELSON, 1995).

3.5. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os materiais orgânicos mais abundantes no planeta são considerados os lignocelulósicos, que configuram cerca de 60% da biomassa vegetal da Terra. Estes materiais são compostos em sua maioria de celulose (30% a 50%), hemicelulose (15% a 35%) e lignina (10% a 30%), composições variáveis de acordo com o tipo da matéria-prima (SANTOS et al.,2012).

3.5.1. Celulose

A celulose é o principal material lignocelulósico e o polímero natural mais abundante no planeta. É um polissacarídeo com estrutura constituída por monômeros de glicose com ligações β -1,4-glicosídicas entre si formando uma cadeia (SOCCOL, 2017). A figura 1 apresenta a estrutura molecular da celulose.

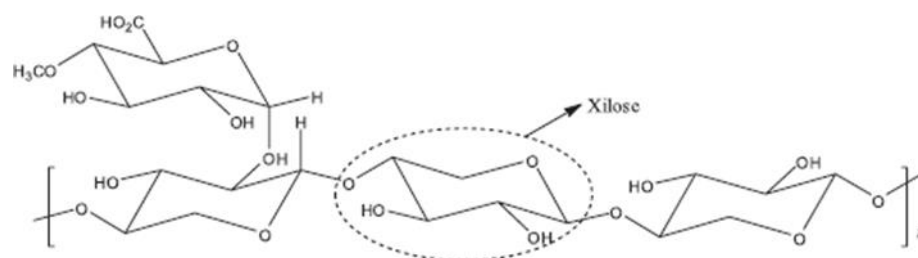


Fonte: Dicionário da saúde, 2012

3.5.2. Hemicelulose

A hemicelulose é um polissacarídeo amorfo composto por vários monossacarídeos (galactose, xilose, entre outros). Devido ao caráter amorfo, a hemicelulose se comparada a celulose tem maior suscetibilidade à hidrólise ácida. Se comparada a lignina à hemicelulose, esta tem a estrutura mais próxima à da celulose (SOCCOL, 2017). A figura 2 apresenta a estrutura molecular da hemicelulose.

Figura 2 - Estrutura molecular da hemicelulose

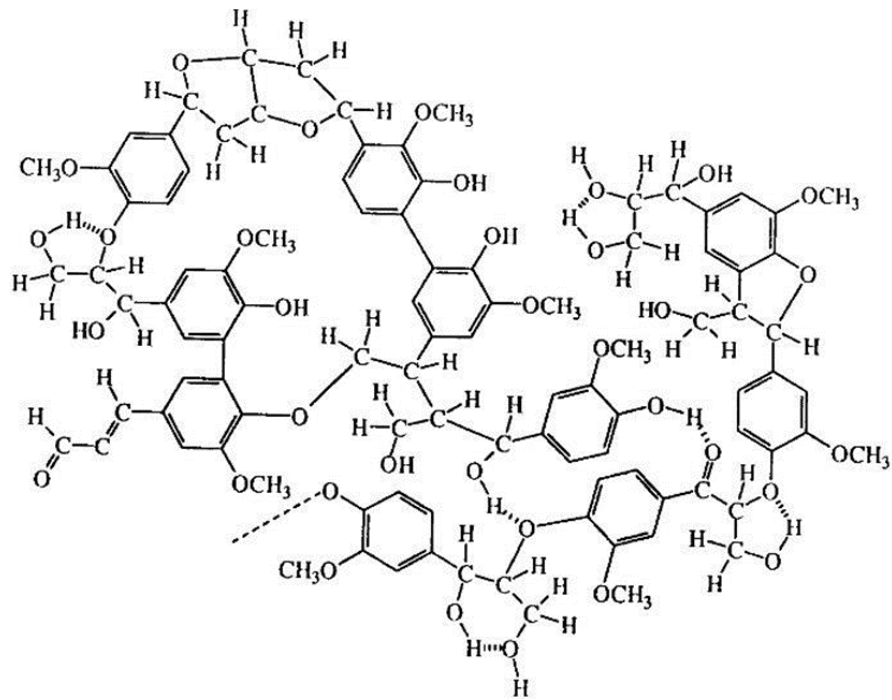


Fonte: SANTOS et al., (2012)

3.5.3. Lignina

A lignina é um polímero amorfo de grande dimensão, mais complexo que a celulose e a hemicelulose. Ela atua como uma barreira física que torna a planta resistente contra ataques biológicos (SANTOS et al., 2012). A figura 3 apresenta a estrutura molecular da lignina.

Figura 3 - Estrutura molecular da lignina

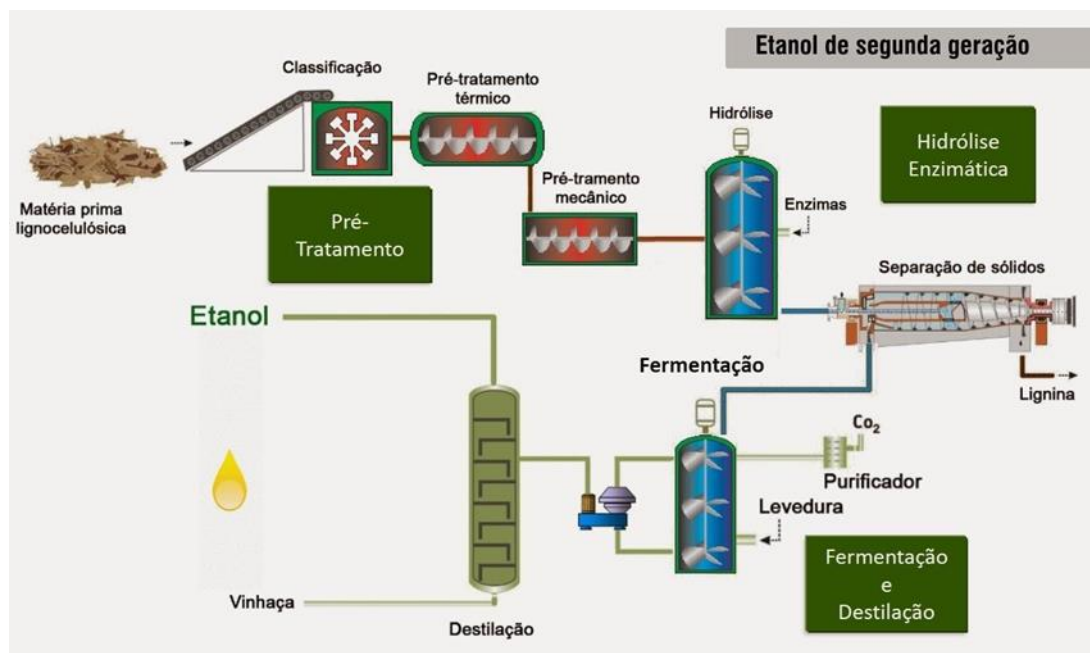


Fonte: Info escola – lignina, 2013

3.6. PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL

O processo de produção do etanol consiste basicamente em quatro etapas: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. A figura 4 apresenta o processo de produção do etanol.

Figura 4 - Processo de produção do etanol.



Fonte: Autopolis – desafios da agroindústria para o automóvel, 2015

3.6.1. Pré-tratamento térmico e mecânico

O pré-tratamento é o primeiro processo realizada na produção do etanol. A celulose encontra-se protegida pela lignina o que dificulta o processo de hidrólise, um dos motivos pelos quais é necessário o pré-tratamento (RABELO, 2010). O pré-tratamento tem como objetivo dissociar o complexo lignina-celulose, reduzir a cristalinidade, aumentar a área superficial da biomassa e evitar a formação de inibidores que possam prejudicar o processo de fermentação. Os tratamentos podem ser dos tipos físicos, químicos e biológicos. Alguns exemplos são: moagem, explosão de vapor e a termo-hidrólise, os tipos de tratamento têm diferentes impactos sobre a biomassa (MARTINS et al., 2014).

3.6.2. Hidrólise

A etapa da hidrólise tem a finalidade de quebrar as macromoléculas de celulose e hemicelulose em moléculas menores, para obter açúcares fermentescíveis, utilizados na fermentação. Isso pode ser feito por meio da hidrólise ácida ou da hidrólise enzimática (MARTINS et al., 2014).

3.6.2.1. Hidrólise Ácida

A quebra da cadeia de amido pode ser realizada através de ácidos inorgânicos, entre eles o ácido clorídrico e ácido sulfúrico. Dentre as principais vantagens de se empregar o método, estão a praticidade e baixo custo operacional, comparando-se ao método da hidrólise enzimática. Entretanto, esse método, acarreta inconveniências ao processo, entre as quais estão, destruição parcial dos açúcares e necessidade de correção de pH (HASHIM, 2010).

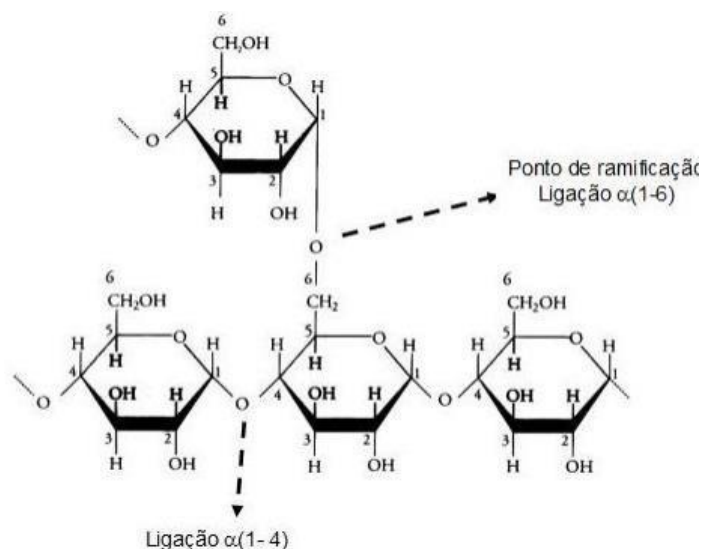
3.6.2.2. Hidrólise Enzimática

Para ser fermentado o amido necessita de uma hidrólise prévia para quebrar suas cadeias em moléculas menores de açúcares, para romper as ligações glicosídicas, além da água, são necessários agentes químicos ou enzimáticos (TORRES, 2012).

A hidrólise enzimática apresenta uma maior eficiência, em comparação com a ácida, uma vez que tais enzimas são empregadas especificamente para realizar a hidrólise do amido e também formam menos produtos de reversão, por esses motivos esse tipo de hidrólise vem sendo muito utilizada pela indústria. Dentre as enzimas mais importantes no processo de sacarificação do amido estão a α -amilase, β -amilase, e a amiloglicosidase (CRUEGER, 1993; TORRES, 2012).

As α -amilases (1,4) são enzimas extracelulares que hidrolisam as ligações α -1,4 glicosídicas, sendo endoenzimas, que cortam os substratos no interior da molécula. Sua ação não é inibida por ligações α -1,6 glicosídicas, entretanto estas não serão hidrolisadas. Estas enzimas têm maior fluidez, quando elevadas ao ponto de gelatinização do amido (CRUEGER, 1993; TORRES, 2012). Na figura 5, está indicada a quebra da cadeia de amido pela enzima α -amilase.

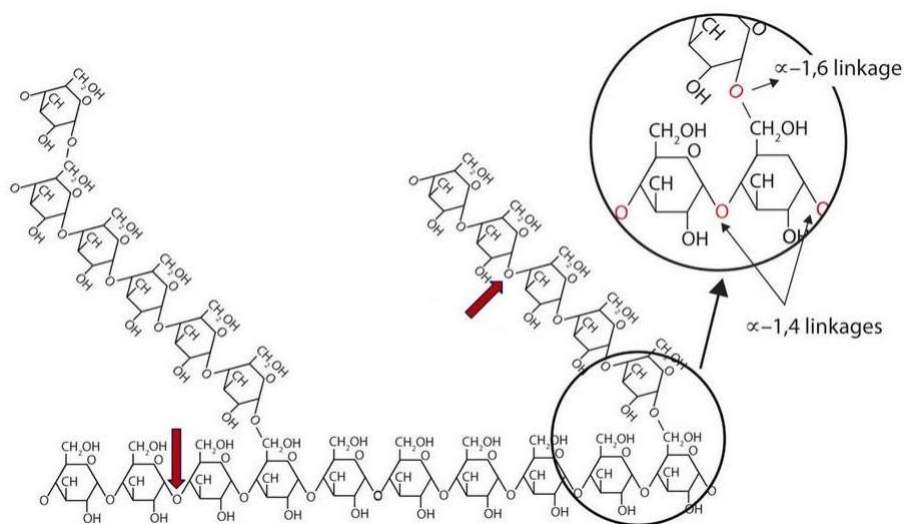
Figura 5 - Quebra da cadeia de amido pela enzima α -amilase



Fonte: Nutrição animal UESC, 2016

Já as enzimas β -amilases (α -1,4 glucan-maltohidrolases) são normalmente de origem vegetal, mas também podem ser produzidas por alguns microrganismos, entre eles *Bacillus polymyxa* e *Streptomyces sp.* As β -amilases bacterianas tem mais resistência ao calor, podendo atuar acima de 70 °C, atuando nas extremidades das cadeias de amilose, hidrolisando ligações α -1,4, produzindo glicose e mais lentamente ligações α -1,6 (CREGER, 1993).

Figura 6 - Quebra da cadeia de amido pela enzima β -amilase



Fonte: Nutrição animal UESC, 2016

A amiloglucosidase é uma enzima extracelular que quebra as ligações do tipo α -1,4 e α -1,6 a partir da extremidade não redutora da molécula para produzir glicose a partir do amido. Essa enzima é produzida por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus*. A amiloglucosidase é utilizada após o amido ter sido liquefeito com α -amilase, para obter glicose e dextrinas, que serão usadas como substrato na fermentação (PANDEY, 2005; TORRES, 2012).

3.6.3. Fermentação

Nessa etapa é produzido o etanol por meio da fermentação de açúcares fermentescíveis pelas leveduras. A levedura mais utilizada no caso da glicose é a *Sacharomyces cerevisiae*, que apresenta uma boa conversão de glicose a etanol e alta tolerância alcoólica (RABELO, 2010). No caso da conversão das pentoses em etanol, muito importante para a produção do etanol a partir de material lignocelulósico, estudos para seleção de melhores leveduras que possam fermentar as pentoses em etanol de maneira natural vem sendo realizados (MARTINS et al., 2014).

3.6.4. Destilação

Essa etapa tem o objetivo de purificar o etanol, separando das demais substâncias, por meio da diferença das volatilidades dos componentes. No fim dessa etapa o etanol apresentar alto teor de pureza (MARTINS et al., 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A matéria prima foi composta por resíduos de batata (*Solanum tuberosum*), fornecida pela Indústria de alimentos Vapza, situada no município de Castro, na Região dos “Campos Gerais”, no estado do Paraná. Realizou-se sua caracterização por meio de análises físico-químicas, descritas a seguir. A amostra foi tratada pelo método de hidrólise enzimática, convertendo o amido presente na mesma em glicose.

4.1. PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

O resíduo da batata foi recebido em embalagens de 1 kg, acondicionadas em embalagens hermeticamente fechadas. As amostras, que apresentavam aspecto pastoso, foram mantidas refrigeradas em temperaturas inferiores a 2 °C para maior conservação. O resíduo foi caracterizado em relação ao teor de umidade e teor de amido.

4.2. TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade da matéria-prima foi determinado a partir do método de gravimetria de volatilização. Com o auxílio de uma balança de precisão (OHAUS) pesou-se 20 g de amostra, previamente acondicionada em placa de petri, misturada com areia purificada com o intuito de impedir a formação de película que poderia dificultar a secagem da amostra. Realizou-se a secagem em estufa a 80 °C pelo período de 24 horas. O teor de umidade foi obtido pela diferença de massa da amostra antes e depois da secagem, em triplicata para validação do resultado obtido.

4.3. TESTE DE IODO

A comprovação da presença de amido na amostra foi determinada via teste de iodo, em que 1 g da matéria prima foi adicionada a 5 mL de água destilada em tubo de ensaio e homogeneizado, sendo em seguida acrescentada 1 gota de Lugol. O aparecimento de coloração azulada comprova a presença de amido no meio. Tal procedimento foi realizado antes, durante e após o processamento da matéria prima, com o intuito de verificar que todo o amido foi convertido em açúcares fermentescíveis.

4.4. DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES (AR)

A determinação dos açúcares redutores foi realizada pelo método de Fehling, que consistiu na mistura de 2 mL da solução de Fehling A (solução de 44,3 g L⁻¹ de sulfato de cobre) e 2 mL de Fehling B (solução de 346 g L⁻¹ de hidróxido de sódio) em um tubo de ensaio, com aquecimento até a fervura. E seguida, adicionou-se 4 mL da amostra a ser analisada, com aquecimento novamente até fervura. A presença de açúcares redutores é comprovada através da mudança de coloração, a qual passa de azul para vermelho tijolo, podendo assim, indicar a presença de açúcares na amostra antes do processamento.

O teor de sólidos totais foi obtido via refratômetro analógico em escala de grau Brix.

4.5. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Com o intuito de facilitar o processo de hidrólise, realizou-se tratamento físico no resíduo da batata, reduzindo o tamanho das partículas e tornando a amostra homogênea. O resíduo processado foi misturado na proporção de 1:1 (v/v) com água destilada em um Erlenmeyer de 250 mL; a acidez da solução foi corrigida para pH 6,0 com Hidróxido de Sódio. Em seguida, o material foi levado ao banho maria a temperatura constante de 90 °C, adicionou-se ao mosto 300 µL da enzima Termamyl 2x (α -amilase), pelo período de 30 minutos. Após esse período, ajustou-se a temperatura para 60 °C e a acidez para pH 4,5 com Hidróxido de Sódio, adicionando-se 300 µL da enzima AMG (Amiloglucosidase) sob temperatura constante, pelo período de 30 minutos. Para determinar o aumento dos açúcares redutores durante o processo de hidrólise foram retiradas amostras da solução a cada 30 minutos e realizadas as determinações de grau Brix com o auxílio do equipamento de refratometria e metodologia de Fehling.

4.6. PREPARO DO INÓCULO

Para o estudo utilizou-se a levedura para cerveja Safbrew WB-06 e fermento de pão da marca Fleischmann, ambos com cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Preparou-se um meio para desenvolvimento e estoque da levedura.

Para o fermento de pão foi pesado 5 g do produto e acondicionado em béquer de 100 mL. Em seguida, adicionou-se 5 g de sacarose e 50 mL de água a 40 °C, com repouso por 1 hora a fim da realização de multiplicação celular.

Para a levedura Safbrew WB-06, utilizada para fermentações de cerveja com alta concentração alcoólica, foi pesado 0,2 g do produto, conforme recomendação do fornecedor, em um bécker de 50 mL e adicionado 40 mL de água a 20 °C, mantendo em repouso por 1 hora para multiplicação celular.

4.7. FERMENTAÇÃO DOS HIDROLISADOS

A fermentação foi realizada utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a qual consegue suportar as dificuldades presentes no meio fermentativo (temperatura, alta concentração de etanol, acidez). As soluções hidrolisadas foram inoculadas com a solução contendo a levedura, permanecendo em repouso e temperatura controlada a 25 °C em estufa por 7 dias. A fermentação foi realizada em erlenmeyers fechados com válvulas do tipo Air-Lock.

Para o cálculo do teor alcoólico, foram utilizadas as equações 1 (diferença do °Brix) e 2 (diferença de densidade) que resultam no grau alcoólico em °GL (SMILEY, 1999).

$$(^{\circ}\text{Brix}_{\text{inicial}} - ^{\circ}\text{Brix}_{\text{final}}) * 4/7,4 \quad (1)$$

$$(\rho_{\text{inicial}} - \rho_{\text{final}}) * 1000/7,4 \quad (2)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. TEOR DE UMIDADE

A tabela 3 apresenta os resultados obtidos através dos experimentos para determinar o teor de umidade da amostra de resíduo de batata.

Tabela 3 - Teor de umidade da amostra de resíduo de batata

Amostra	Peso batata úmida (g)	Peso batata seca (g)	Teor de umidade (%)	% de extrato seco
1	18,097	2,343	87,053	12,947
2	27,818	3,610	87,023	12,977
3	23,648	3,031	87,183	12,817

Fonte: Próprio autor (2018)

Por meio da análise dos resultados, foi possível determinar que a amostra apresentou teor médio de umidade de aproximadamente 87% e 13% de matéria seca. Segundo PEREIRA (2000), a umidade da batata é de aproximadamente 79%. O material utilizado no experimento é um resíduo de batata de um processo industrial de descascamento via vapor, o que gerou o aumento do teor de umidade da amostra.

5.2. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Para comprovar a existência de amido na amostra, foi realizado o teste do lugol. Uma vez caracterizada a existência do mesmo, seguiu-se o processo para conversão do amido em açúcares fermentescíveis através a hidrólise enzimática.

A tabela 4 expressa a diferença de °Brix em função das enzimas com o tempo.

Tabela 4 – Diferença de °Brix em função de tempo

Amostra	Sem Enzima (°Brix)	α-Amilase (°Brix)		α-Amilase + Amyloglucosidase (°Brix)
		15 min. (90°C)	30 min. (90°C)	30 min. (60°C)
1	4,0	6,5	7,8	7,8
2	4,0	7,0	8,0	8,0
3	4,0	6,8	8,0	8,0
4	4,0	7,2	8,1	8,1
5	4,0	7,1	8,1	8,1
6	4,0	7,0	8,0	8,0

Fonte: Próprio autor (2018)

Observando os resultados obtidos pela refratometria, foi possível notar o aumento do teor de sólidos solúveis durante os 30 minutos de aquecimento da solução contendo α-amilase. Não notou-se alteração significativa do resultado expresso em °Brix ao utilizar a enzima amyloglucosidase, isso pode ter ocorrido devido a enzima α-amilase ter quebrado a maioria das cadeias maiores em açúcares fermentescíveis. Devido a isto a segunda enzima não foi utilizada no restante dos experimentos. Em seguida, as hidrólises foram realizadas retirando-se amostras em intervalos de 30 minutos, até o tempo total de 2 horas, para se otimizar o período de ação das enzimas.

A tabela 5 expressa os resultados obtidos na realização do experimento.

Tabela 5 - Aumento do °Brix em função do tempo

Amostra	Sem Enzima (°Brix)	α-Amilase (°Brix)			
		90°C			
		30 min.	1 h	1,5 h	2 h
1	4,0	8,0	9,5	9,5	9,5
2	4,0	7,8	9,3	9,4	9,4
3	4,0	8,0	9,5	9,5	9,5
4	4,0	8,0	9,4	-	-
5	4,0	7,7	9,1	-	-
6	4,0	8,1	9,4	-	-
7	4,0	7,7	9,1	-	-
8	4,0	7,8	9,1	-	-
9	4,0	8,1	9,4	-	-
10	4,0	7,9	9,4	-	-
Média	4,0	7,9	9,3	-	-

Fonte: Próprio autor (2018)

Analisando os resultados obtidos pode-se observar que trabalhando na temperatura de otimização 90°C, obtivemos aumento da escala °Brix até alcançado o período de 1 hora, após esse período não houve variação significativa de aumento da quantidade de açúcares fermentescíveis.

Através do método de Fehling, o qual estima a concentração de açúcares redutores e em sua maior parte fermentescíveis no meio aquoso pela variação de coloração, pode-se observar um aumento na quantidade de açúcares fermentescíveis no meio, evidenciado pela intensa coloração vermelho tijolo apresentada após o processo de hidrólise em comparação a coloração obtida anteriormente à hidrólise e através da alteração do pH do mosto, sendo um indício da efetividade do processo de hidrólise enzimática.

5.3. FERMENTAÇÃO

Na figura 7, está demonstrada a fermentação realizada em erlenmeyers com válvulas do tipo Air-Lock.

Figura 7 - Fermentação



Fonte: Próprio autor (2018)

Após a realização da fermentação com as leveduras Fleischmann e Safbrew WB-06, pode-se notar o consumo da maior parte dos açúcares fermentescíveis e aumento na produção alcoólica, evidenciado pela diminuição do °Brix e da densidade do mosto nas amostras realizadas com levedura Safbrew WB-06. Essa efetividade na conversão dos açúcares fermentescíveis em álcool pode ser devido ao fato da levedura Safbrew WB-06 ser específica para produção alcóolica em meio aquoso e por consequência apresentar melhor rendimento na fermentação do mosto aquoso da batata. Para a levedura Fleischmann, a fermentação não ocorreu de forma tão efetiva, uma vez que parte dos açúcares se mantiveram presentes na amostra, isto pode ser devido ao fato de tal levedura ser utilizada para fermentação sólida. Portanto, para realização dos cálculos foram utilizados os valores obtidos com a levedura Safbrew WB-06.

5.4. ANÁLISE DO PRODUTO

Para a determinação da quantidade de álcool obtida após o processo fermentativo, foi preparada uma curva padrão para comparação, constituída por álcool etílico 96°GL e água destilada, variando-se suas concentrações e analisando-as em refratômetro. Os valores obtidos podem ser observados na tabela 6.

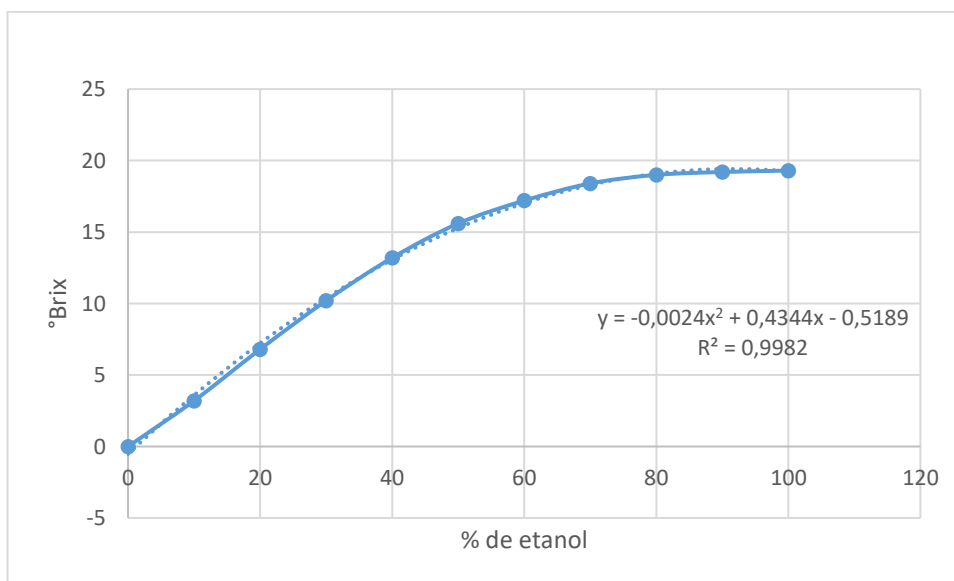
Tabela 6 – Refratometria de solução de etanol e água destilada

Etanol 96°GL (%)	Água destilada (%)	Escala °Brix
0	100	0
10	90	3,2
20	80	6,8
30	70	10,2
40	60	13,2
50	50	15,6
60	40	17,2
70	30	18,4
80	20	19,0
90	10	19,2
100	0	19,3

Fonte: Próprio autor (2018)

Através dos dados da tabela 6 foi possível gerar o Gráfico 1, que ilustra a curva de padrão do etanol obtida com o auxílio do refratômetro.

Gráfico 1 - Escala de refração versus solução alcoólica



Fonte: Próprio autor (2018)

Por meio da curva de calibração foi possível gerar uma equação com um R^2 de aproximadamente 1, o que indica que o modelo descreve bem as amostras. A partir do mosto fermentado foi retirada uma alíquota para realização da leitura no refratômetro, que apresentou o valor de 1,4% na escala do equipamento, sendo possível calcular o grau alcóolico do mosto de 4,4°GL.

Para acompanhar a conversão dos açúcares fermentescíveis presentes no mosto em álcoois foram realizados testes de Fehling nas amostras hidrolisadas, que apresentou intensa coloração vermelho tijolo indicando a existência de açúcares fermentescíveis. Quando iniciado o processo fermentativo, os testes foram novamente realizados a fim de se acompanhar a evolução do processo. Após 3 dias de fermentação, ainda era possível notar a existência açúcares, evidenciado pelo teste de Fehling que apresentou precipitados vermelho tijolo, por esse motivo a fermentação prosseguiu por um total de 7 dias. Após decorrido esse tempo, o teste não mais indicou concentrações consideráveis de açúcares fermentescíveis no meio, uma vez que não ocorreu mudança de coloração mantendo-se azul petróleo conforme ilustrado na figura 8, o que indica que os açúcares presentes no mosto foram consumidos.

Com tal metodologia não foi possível determinar com exatidão qual foi o tempo de fermentação. Além disso, não se pode afirmar que ocorreu a máxima conversão açúcares em álcoois, devido ao fato de não haver a comprovação de que todo amido presente na amostra foi convertido em açúcares durante o processo de hidrólise.

Figura 8 - Teste de Fehling

Fonte: Próprio autor (2018)

Para comprovar o teor alcoólico determinado através do refratômetro, utilizou-se a variação da densidade do mosto e sua diferença de °Brix, cujos valores são apresentados na tabela 7 (SMILEY, 1999).

Tabela 7 - Densidade e °Brix inicial e final

Etapa do processo	Densidade (g/ml)	°Brix
Hidrólise	1,030	9,3
e Pós Fermentação	1,001	1,4

Fonte: Próprio autor (2018)

A tabela 8 apresenta os resultados obtidos de teor alcoólico através da refratometria e dos cálculos estipulados.

Tabela 8 - Propriedades do produto final

Propriedade	Resultado
Álcool pelo °Brix	4,27 °GL
Álcool pela Densidade	3,91 °GL
Álcool pela curva de Etanol	4,40 °GL
Média	4,20 °GL

Fonte: Próprio autor (2018)

Tomando-se a média dos valores de graduação alcóolica obtidos através dos métodos de °Brix da densidade e pela curva de Etanol, podemos estimar um teor alcóolico de 4,20°GL, ou seja, para cada litro da solução composta de resíduo de batata com água destilada seguindo a proporção 1:1 v/v foi possível produzir 0,04 L de álcool, produção inferior ao encontrado por KHAWLA (2013) de 19.6 gL⁻¹.

Com o intuito de separar o álcool produzido dos demais componentes presentes no meio e elevar sua graduação alcóolica, pode-se destilar o mosto fermentado, obtendo assim um álcool de pureza superior. Tal método não foi empregado no projeto, permanecendo como alternativa para melhoramento da qualidade do produto.

Como sugestão para trabalhos futuros é interessante o uso de técnicas para quantificar melhor os açúcares redutores (AR) e o etanol no processo. Na determinação de açúcares pode-se utilizar métodos como o DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). O DNS por ser um método via espectrofotometria, é amplamente utilizado para determinar as concentrações de açúcares através das absorbâncias. Já o HPLC por ser bastante preciso é um método comumente utilizado tanto na quantificação de açúcares redutores como na de álcoois. A utilização desses métodos não é importante só para a detecção dos carboidratos no mosto, mas também para poder obter o percentual de etanol produzido a partir dos açúcares e comparar com os valores obtidos do produto, aumentando a eficiência do processo.

5.5. DIFICULDADES ENCONTRADAS NO PROCESSO FERMENTATIVO

Durante as tentativas de fermentação foram encontrados diversos fatores que dificultaram o processo, como a diluição das amostras, os melhores resultados foram obtidos seguindo a diluição de proporção 1:1 v/v, durante a realização dos primeiros experimentos o recipiente foi totalmente fechado, em virtude do processo fermentativo ocorreu o acúmulo do gás carbônico no Erlenmeyer, o que pode ter ocasionado a formação de ácido carbônico, acidificando o meio e causando a interrupção do processo de fermentativo, de modo a evitar a acidificação, nas tentativas posteriores foi utilizado a válvula Air-Lock liberando o gás carbônico gerado.

Outro fator observado foi a formação de ácido acético possivelmente causada pela contaminação do meio, nas tentativas posteriores, a abertura do Erlenmeyer se realizou dentro da capela esterilizada reduzindo assim a chance da ocorrência de contaminação do meio.

Quando realizada a hidrólise ácida, não ocorreu fermentação devido ao pH da solução não ter sido corrigido, ficando abaixo de 4pH, o que possivelmente ocasionou a morte dos microorganismos presentes no processo, decorrente da alta acidez do meio.

6. CONCLUSÃO

A produção de álcool a partir do resíduo da batata proveniente da indústria alimentícia se mostrou possível, entretanto o fermentado obtido apresentou graduação alcoólica inferior ao encontrado na literatura, tais valores podem ser associados as metodologias utilizadas na execução do projeto, as quais não são tão precisas, podendo apenas dar estimativas dos valores que poderiam ser alcançados. Como alternativa para melhorar o rendimento da conversão do amido em açúcares fermentescíveis, pode-se durante o processo de inoculação incorporar nutrientes ao meio, como glicose, fontes de nitrogênio para síntese das proteínas, ácidos graxos os quais aumentam a resistência a níveis mais elevados de álcool, melhorando assim o desenvolvimento das leveduras, alcançando maior conversão e níveis mais consideráveis de álcool após o processo fermentativo.

Apesar do fermentado final não apresentar alta graduação alcóolica, pode-se considerar um avanço no aspecto ambiental, uma vez que o volume de resíduos gerados pela indústria alimentícia no processamento da batata se aproxima de 40% de toda a matéria-prima, o que representa toneladas de resíduos gerados anualmente. A produção de álcool, pode ser uma das alternativas viáveis para a destinação adequada do rejeito industrial, agregando valor ao resíduo gerado e reduzindo a poluição ambiental, promovendo melhor qualidade de vida para a flora a fauna e a sociedade como um todo.

REFERÊNCIAS

ABBA Associação Brasileira de Batata – Disponível em:

<http://www.abbabatatabrasileira.com.br>, acesso novembro, 2017.

BALL, Steven G.; VAN DE WAL, Marion HBJ; VISSER, Richard GF. Progress in understanding the biosynthesis of amylose. **Trends in Plant Science**, 1998, 3.12: 462-467.

BATISTUTI, José Paschoal; VALIM, MFCFA; CÂMARA, Francisco Luiz Araújo. Amido de batata doce (*Ipomoea batatas* L, Lam): II–caracterização morfológica e estudo de algumas propriedades funcionais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 2009.

CRUEGER, W., CRUEGER, A., Biotecnologia: Manual de microbiologia industrial, Zaragoza: Acribia, p 216-224, 1993.

Dicionário da saúde disponível em: www.dicionariosaude.com/celulose/acesso, novembro 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Disponível em: <https://www.embrapa.br/> acesso novembro 2017.

EMBRAPA - <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata/composicao-nutricional-da-batata> - acesso, novembro 2017.

Estrutura molecular da lignina, disponível em: www.infoescola.com/compostos-quimicos/lignina/acesso, novembro 2017.

FAO Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura - Disponível em: <http://www.fao.org>, acesso novembro 2017.

GOVERNO BRASIL, Disponível em:

<http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/11/etanol>, acesso novembro, 2017.

HASHEM, Mohamed; DARWISH, Soumia MI. Production of bioethanol and associated by-products from potato starch residue stream by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biomass and bioenergy**, 2010, 34.7: 953-959.

IAA - Instituto do Açúcar e do Alcool. Brasil/Açúcar. Coleção Canavieira, n.8, Rio de Janeiro, 1980.

KHAWLA, Ben Jeddou, et al. Potato peel as feedstock for bioethanol production: A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, 2013, 52: 144-149.

MACHADO, C.N.M.; ABREU, F.R. Produção de álcool combustível a partir de carboidratos. **Revista de Política Agrícola**. Ano XV, Nº 3 p 64-78, 2006.

MARTINS, F, A; et al. A Produção do Etanol de Segunda Geração a Partir do Bagaço da Cana-de-açúcar. **Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção**, 2014, 2.3: 5-16.

MYERS, Alan M., et al. Recent progress toward understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. **Plant physiology**, 2000, 122.4: 989-998.

NELSON, O; Pan, D., Starch synthesis in maize endosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1995, 46.1: 475-496.

Nova Cana: Disponível em <https://www.novacana.com/estudos/projecoes-producao-cana-acucar-etanol-safra-2023-2024-fiesp-mb-agro/> Acesso Novembro, 2017.

Nutrição animal UESC – **Nutrição animal**, disponível em: www.nutricaoanimaluesc/home/extra/primeiro-credito/digestao-dos-carbhidratos, acesso novembro, 2017.

NYKO, Diego, et al. A corrida tecnológica pelos biocombustíveis de segunda geração: uma perspectiva comparada. 2010. Disponível em <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2406/1/BS%2032_A%20corrida%20tecnol%C3%B3gica%20pelos%20biocombust%C3%ADveis_P.pdf> Acesso em 20 de Nov. 2017.

PACHECO, Thályta Fraga. Produção de etanol: primeira ou segunda geração?. **Embrapa Agroenergia-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2011.

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C.R.; LARROCHE, C. *Enzyme Technology*. 1ª ed. New Delhi: **Asiatech Publishers**, Inc, 2005, 760-762.

PEREIRA, A. da S., et al. Cultivar de batata adaptada a sistema de produção de pequenos produtores, para processamento de "batata palha". **Embrapa Clima Temperado**, 2000, 3:2, 260-290.

PIACENTE, E., *Perspectivas do Brasil no mercado internacional de etanol*, **Tese Unicamp**, Campinas, 2006.

Processo de produção do etanol de segunda geração, disponível em: www.autopolis.com.br/os-desafios-da-agroenergia-para-o-automovel-10 acesso, novembro 2017.

RABELO, S, C, et al. Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 2010.

ROMEIRO, V. Coordenadora de Mudanças Climáticas, **World Resources Institute**, 2015.

SANTOS, Fernando A., et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, 2012, 35.5: 1004-1010.

SMILEY, I. (Ed.). Making Pure Corn Whiskey: a professional guide for amateur and micro-distillers. 1^a ed. **Canadian: An Amphora Society Publication**, 1999, 103-106.

SOCCOL, C, R; et al. Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria. 1^a ed, **Blucher**, 2017, 4, 287-289.

TORRES, Livia Maria; LEONEL, Magali; MISCHAN, Martha Maria. Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise do amido de gengibre. **Ciência Rural**, 2012, 42.7: 1327-1332.