



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**LAYANE ARAÚJO DIAS VÍTOR**

**A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*  
Crantz), EM DIFERENTES TEMPOS DE AÇÕES ENZIMÁTICAS, VISANDO A  
PRODUÇÃO DE ETANOL**

**Palmas (TO)  
2018**

**LAYANE ARAÚJO DIAS VÍTOR**

**A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*  
Crantz), EM DIFERENTES TEMPOS DE AÇÕES ENZIMÁTICAS, VISANDO A  
PRODUÇÃO DE ETANOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Agroenergia como requisito parcial à  
obtenção do grau de Mestre em Agroenergia

Orientador: Dr. Erich Collicchio

Co-orientador: Dr. Guilherme Benko de Siqueira

Colaborador: Dr. Gustavo Azevedo Campos

**Palmas (TO)  
2018**

**A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz), EM DIFERENTES TEMPOS DE AÇÕES ENZIMÁTICAS, VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL**

**COMISSÃO EXAMINADORA**



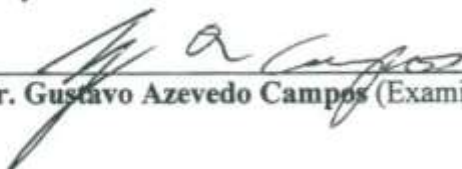
---

**Prof. Dr. Erich Collicchio** (Presidente da comissão)



---

**Prof. Dr. Dr. Guilherme Benko de Siqueira** (Examinador Interno)



---

**Prof. Dr. Gustavo Azevedo Campos** (Examinador Externo)

Palmas, 19/12 /2018.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

V845e VÍTOR, LAYANE ARAÚJO DIAS.

A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz), EM DIFERENTES TEMPOS DE AÇÕES ENZIMÁTICAS, VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL. / LAYANE ARAÚJO DIAS VÍTOR – Palmas, TO, 2018.

50 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Agroenergia, 2018.

Orientador: Erich Collicchio

Coorientador: Guilherme Benko de Siqueira

1. Bioetanol. 2. Amilácea. 3. Sacarificação. 4. Rendimento fermentativo. I. Título

**CDD 333.7**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu amado filho Pedro Lucas minha motivação e força diária. Aos meus pais Antônio de Carvalho e Maria Edileusa que são minha base e sempre me apoiaram nos meus estudos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela oportunidade de está finalizando mais uma etapa acadêmica na minha vida.

Ao meu Orientador Dr. Erich Collicchio pela paciência, ajuda compreensão, apoio e orientação durante todo período de realização do trabalho.

Ao meu Co-orientador Dr. Guilherme Benko de Siqueira pela inestimável ajuda, pela orientação, apoio, paciência, confiança e conhecimentos transmitidos para realização deste trabalho.

Ao Dr. Gustavo Azevedo Campos, pela orientação, apoio, paciência, força, confiança e incentivo ao longo dessa caminhada.

Ao meu filho Pedro Lucas a quem eu deixo esse legado, e agradece-lo pelos momentos em que estive ausente.

Aos meus pais Maria Edileusa Araújo Vítor e Antônio de Carvalho Vitor pelo apoio, incentivo e por seu amor incondicional.

A Eliane Regina Archangelo a quem estimo e por sempre acreditar e confiar em mim.

A pessoa de Layanni Sodré que meu deu todo suporte, apoio e incentivo para que eu fizesse o processo seletivo e ao seu esposo Weder Ferreira.

Ao meu colega e amigo do mestrado Ilys Janes Alves de Sousa, pela disposição em ajudar em tudo que foi necessário na parte laboratorial e análises de dados.

Ao meu amigo e Técnico do Laboratório de Solos e aproveitamento de resíduos agroindustriais Domingos Bonfim Ribeiro dos Santos, pelo apoio nos procedimentos laboratoriais.

A minha colega Marliana Amaro Silva pelo auxílio ao meu trabalho na fase laboratorial.

A Novozymes por ter cedido as enzimas utilizadas para realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas do mestrado que me deram toda força e apoio sempre que precisei.

A Universidade Federal do Tocantins, UFT por ter sido a minha segunda casa.

Ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida durante a realização desta pesquisa.

A Embrapa Pesca e Aquicultura por ter cedido as raízes de mandiocas analisadas nesse trabalho.

A Coordenadora Dr. Flávia Lúcia Tomani de Siqueira, pessoa que eu admiro por sua garra e determinação a frente do Programa de Pós-graduação em Agroenergia

## RESUMO

O uso da biomassa é considerado uma opção favorável para a produção de energia e biocombustível. Nesse contexto o etanol produzido a partir de fontes amiláceas como a mandioca, torna-se uma possível opção. O presente estudo teve o objetivo avaliar a eficiência da hidrólise do amido de mandioca, mediante diferentes tempos de ações enzimáticas, visando a produção de etanol. Para a realização deste trabalho utilizou-se quatro variedades de mandioca de indústria: BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira, cedidas pela Embrapa Pesca e Aquicultura. No laboratório de solos da UFT, as raízes passaram por um processo de lavagem, descascamento, ralação, secagem, trituração e peneiramento. Posteriormente foram pesadas 1g de amostra seca, de cada variedade, adicionada 40 ml de solução tampão com pH 5,0. No processo de hidrólise do amido foram utilizadas as enzimas Liquozyme Supra 2.2x e AMG 300L, a metodologia adotada para ao processo foi realizada em 3 tempos de hidrólises distintos: T1 (2h  $\alpha$  amilase e 3h amiloglicosidase), no T2 (3h  $\alpha$  amilase e 4,5h amiloglicosidase), e T3 (4h  $\alpha$  amilase e 6h amiloglicosidase). Foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para a interação, das variáveis: coeficiente de hidrólise; concentração de glicose no hidrolisado (g/L); glicose efetivamente fermentada (g/L); rendimento da fermentação (%); potencial de produção de etanol (mL/kgMS). Esse resultado evidencia que existe dependência entre os tempos de hidrólise do amido e as variedades de mandioca estudadas. Os resultados observados de menor coeficiente de hidrólise e glicose total para variedade Mucuruma, indicam que possam estar relacionados ao tempo de gelatinização do amido e isto pode ter influenciado estes parâmetros o que confere tempos de cozimento mais lento. A variedade BRS Tapioqueira é apontada como a variedade que obteve o maior potencial de produção de etanol de mandioca para o município de Palmas alcançando 329,11 ml/Kg.MS. Na análise da produção de gases durante a fermentação podemos concluir que o T2 de hidrólise foi o melhor dentro da variedade Tapioqueira.

**Palavras-chaves:** Bioetanol, amilácea, sacarificação e rendimento fermentativo.

## ABSTRACT

The use of biomass is considered a favorable option for the production of energy and biofuel. In this context ethanol produced from starchy sources such as cassava becomes a possible option. The present study had the objective to evaluate the efficiency of the hydrolysis of cassava starch, by means of different times of enzymatic actions, aiming the production of ethanol. Four cassava varieties of the industry were used: BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruma and BRS Tapioqueira, provided by Embrapa Pesca e Aquicultura. In the UFT soil laboratory, the roots underwent a process of washing, peeling, grating, drying, grinding and sieving. Subsequently we weighed 1 g of dry sample, of each variety, adding 40 ml of buffer solution with pH 5.0. In the process of hydrolysis of the starch were used the enzymes Liquozyme Supra 2.2x and AMG 300L, the methodology adopted for the process was carried out in three different hydrolysis times: T1 (2h  $\alpha$  amylase and 3h amyloglucosidase), T2 (3h  $\alpha$  amylase and 4, 5h amyloglucosidase), and T3 (4h  $\alpha$  amylase and 6h amyloglucosidase). Significant effects ( $P < 0.05$ ) were observed for the interaction of the variables: hydrolysis coefficient; concentration of glucose in the hydrolyzate (g / L); effectively fermented glucose (g / L); yield of the fermentation (%); potential of ethanol production (mL / kgMS). This result evidences that there is a dependence between the starch hydrolysis times and the cassava varieties studied. The observed results of lower hydrolysis and total glucose coefficients for the Mucuruma variety indicate that they may be related to the gelatinization time of the starch and this may have influenced these parameters which gives slower cooking times. The BRS Tapioqueira variety is indicated as the variety that obtained the highest potential of cassava ethanol production for the municipality of Palmas reaching 329.11 ml / Kg.MS. In the analysis of the gas production during the fermentation we can conclude that the hydrolysis T2 was the best within the Tapioqueira variety.

**Keywords:** Bioethanol, starch, saccharification and fermentative yield.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da planta de mandioca com seus produtos principais e possibilidades de usos .....	24
Figura 3 - Raízes raladas e acondicionadas em bandejas de alumínio, para secagem em estufa por 72 horas a 60°C .....	30
Figura 4 - Amostras sendo hidrolisadas com auxílio do banho metabólico .....	32
Figura 5 – Fluxograma do processo de conversão total do amido de mandioca em glicose....	33
Figura 8 – Estufa “box” de isopor utilizada para realização da fermentação da glicose.....	35
Figura 9 - Fluxograma do processo de produção de CO <sub>2</sub> , durante o processo de fermentação .....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção mundial de mandioca em raiz (milhões de toneladas) .....	18
Tabela 2 - Registros de área, produção e produtividade dos principais estados Brasileiros produtores de mandioca na safra 2016/2017 .....	19
Tabela 3 - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola no estado do Tocantins para a cultura da mandioca nas safras de 2017 e 2018.....	21
Tabela 4 - Comparativo de rendimento de diferentes matérias primas para a produção de álcool .....	25
Tabela 5 - Teores de amido em matéria seca (%MS) e produtividade (ton/ha) das variedades estudadas BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira.....	29
Tabela 6 - Tempos de ação das enzimas $\alpha$ e amiloglucosidade (T1, T2, T3) nas variedades BRS Tapioqueira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Caipira.....	32
Tabela 7 - Médias dos valores do coeficiente de hidrólise para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3 .....	38
Tabela 8 - Média dos valores de glicose total (g/L) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3 .....	39
Tabela 9 - Médias dos valores da glicose fermentada (g/L) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3 .....	40
Tabela 10 - Médias dos valores do rendimento da fermentação (%) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3 .....	40
Tabela 11 - Médias dos valores do potencial de produção de etanol (ml/Kg.MS) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3 .....	41
Tabela 12 - Comparação entre interceptos e coeficientes de regressão ajustados para cada tempo de hidrólise (T1, T2 e T3) dentro das variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira. E apresentação das equações de regressão, coeficiente de variação (CV%), e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para cada regressão .....	42

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T1.....	44
Gráfico 2 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T2.....	44
Gráfico 3 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T3.....	44
Gráfico 4 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade Tapioqueira. ....	46
Gráfico 5 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade BRS Formosa. ....	46
Gráfico 6 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade Mucuruma. ....	46
Gráfico 7 - Produção de CO <sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade BRS Caipira. ....	46

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1 Aspectos gerais da cultura da mandioca .....	17
3.2 Panorama do cultivo da mandioca no mundo e no Brasil.....	18
3.3 Processo de obtenção de etanol de mandioca .....	21
3.3.1 Amilose .....	22
3.3.2 Amilopectina.....	23
3.3.1 Hidrólise do Amido .....	25
3.3.2 Fermentação Alcoólica .....	27
3.3.3 Rendimento de etanol .....	28
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
4.1 Origem das amostras de raízes de mandioca .....	29
4.2 Preparo das amostras no laboratório .....	29
4.2.1 Processo de desidratação das raízes .....	29
4.2.2 Determinação do Teor de Amido .....	31
4.3 Processos de Hidrólise e Sacarificação do Amido.....	31
4.4 Determinação da Concentração de Glicose e Etanol .....	34
4.5 Fermentação e produção de CO <sub>2</sub> .....	34
4.7 Análises dos dados .....	37
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	47
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da demanda por energia tem pressionado o desenvolvimento de sistemas e tecnologias mais eficientes e a diversificação de fontes de suprimento, especialmente de energias limpas e renováveis. As tradicionais fontes energéticas fósseis e o gás natural, somam-se outras, como a nuclear, eólica e os biocombustíveis, que podem ser compostos por biocombustíveis sólidos, líquidos, biogases, resíduos industriais e resíduos urbanos, por exemplo, a biomassa (ADAMI; BACCHI, 2016).

De acordo com Ribeiro et. Al. (2011), o uso da biomassa é considerado uma opção favorável para a produção de energia e biocombustíveis, pois é capaz de conciliar o desenvolvimento econômico e a conservação ambiental, por ser uma fonte renovável, além de contribuir significativamente com a redução de emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE). Nesse cenário os biocombustíveis (biodiesel e etanol) ganham a cada dia mais espaço no contexto energético mundial, pois são renováveis, biodegradáveis, menos poluentes, de rápida produção e relativamente baratos,

Portanto, na busca incessante por opções de biocombustíveis que possam reduzir a dependência dos combustíveis fósseis, o etanol produzido a partir de fontes amiláceas, como a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), torna-se um bom aliado. Essa cultura possui vantagens para produção de etanol, dentre eles a possibilidade de cultivo em consócio, em diferentes regiões do país, inclusive em climas áridos; solos de baixa fertilidade; aproveitamento dos subprodutos do processamento; sem exigência de mecanização complexa e pouca utilização de fertilizantes ou herbicidas (PEDUZZI, 2009)

Segundo Valle, Feltran e Carvalho (2008), a colheita pode ocorrer durante todo o ano com uma pequena diminuição do teor de amido no verão.

Além disso, possui vantagens de processamento sobre outras matérias-primas amiláceas, pois requer menor temperatura de gelatinização e maior solubilidade em amilose, atingindo conversões acima de 94% (ULIBARRI; HALL, 1997) e rendimento de até 160 l de etanol por tonelada de mandioca processada (SORAPIPATANA; YOOSIN, 2011). Esses fatores podem promover uma resperspectivação dos complexos agroindustriais em direção aos pequenos empreendimentos, ampliando as políticas dedomínio social, ambiental e econômico nas comunidades agrícolas e de base familiar.

O processo de hidrólise enzimática é altamente empregado no processo de fabricação de álcool de fontes amiláceas (mandioca, milho, batata-doce e etc). Woiciechowski et al. (2002) afirmam que o elevado custo da hidrólise enzimática se dá devido ao tempo da hidrólise (horas) e ao alto custo das enzimas comerciais. Porém segundo Klosowski et al. (2006), a diminuição dos custos das enzimas amilolíticas podem ser alcançadas por meio da redução do consumo dessas enzimas utilizadas no processo de produção do álcool.

Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar a eficiência da hidrólise do amido de mandioca na produção de etanol, em diferentes tempos de ação das enzimas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a eficiência da hidrólise do amido de mandioca, mediante diferentes tempos de ações enzimáticas, com a finalidade de produção de etanol.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Quantificar o teor de coeficiente de hidrólise enzimática das variedades de mandioca estudadas;
- Analisar a cinética fermentativa das variedades de mandioca;
- Estudar o potencial da cultura para produção de etanol sobre diferentes tempos de ação das enzimas, através da estimativa de produção de CO<sub>2</sub>.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Aspectos gerais da cultura da mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* L. Crantz) é originária da América do Sul, na região sul da Amazônia (LEOTARD et al., 2009). Conforme Alves (2002), pertence à família Euphorbiaceae a qual têm como característica a presença de látex e glicosídeos cianogênicos.

Nos séculos XVI e XVII foi amplamente disseminada pelos portugueses para áreas tropicais e subtropicais da África, Ásia e Caribe. Esta cultura tornou-se rapidamente um alimento básico em muitos desses lugares devido sua tolerância às condições adversas de clima e solo.

Segundo Ereno (2008) o gênero *Manihot* é constituído por 98 espécies, sendo que 80 delas ocorrem no Brasil, 12 no México e o resto na América Central e do Norte.

De acordo com Sánchez (2004), as variedades de mandioca podem ser classificadas quanto ao teor de ácido cianídrico HCN encontrada nas raízes como: doces ou mansas, com teor abaixo de 180 mg/kg de HCN (em base úmida); intermediárias, com teores entre 180–300 mg/kg; e bravas ou de indústria, com teor maior que 300 mg/kg.

A cultura da mandioca apresenta elevado potencial de produção, por apresentar grande capacidade de produzir energia por unidade de área e de tempo, podendo produzir, segundo Rós et al. (2013) mais de 40 t/ha, quando cultivada em monocultivo e em condições favoráveis a cultura.

Segundo a ONU (2017), a população global atual é de 7,6 bilhões de habitantes e a previsão para 2030 é que cresça para 8,6 bilhões. Diante destes dados, o mundo precisa acelerar sua produção de alimentos, para suprir a grande demanda por alimentos da população.

A mandioca vem conquistando lugar de destaque em vários países do mundo. Sua facilidade de adaptação às mais diversas condições edafoclimáticas e pelo fato de suprir a necessidade alimentar da população mais carente, permitiram um significativo crescimento de produção nos últimos anos. Isso explica o fato desta cultura apresentar maior crescimento nos países mais pobres, com destaque no continente africano que lidera o ranking mundial de produção (GROXKO, 2016).

### 3.2 Panorama do cultivo da mandioca no mundo e no Brasil

A produção mundial de mandioca apresentou um crescimento contínuo, com maior destaque durante os anos de 2010 e 2014 quando registrou um aumento de 13% e passou de 243 milhões para 270 milhões de toneladas de raiz. Este crescimento deveu-se principalmente à contribuição de alguns países africanos, onde a cultura da mandioca se tornou um alimento de segurança nacional. Evidentemente, esta é uma das razões da expansão, além da forte resistência às intempéries climáticas, como as frequentes secas, propiciaram a propagação da mandiocultura em terras africanas.

Apesar da importância socioeconômica que a cultura desempenha naqueles países, boa parte da produção é oriunda de pequenas propriedades, com pouca tecnologia e resultando em baixas produtividades. A maioria de sua produção se destina ao consumo humano e na forma “in natura”. Dentre os principais países produtores de mandioca, no continente Africano, destaca-se a Nigéria que há vários anos assumiu a liderança na produção mundial e continua apresentando altas taxas de crescimento.

Nos últimos dados divulgados pela FAO (2014), a Nigéria produziu cerca de 55 milhões de toneladas de mandioca, contra 10 milhões de toneladas registradas no ano de 1970 como mostra a Tabela 1. No decorrer destes 44 anos a cultura experimentou um crescimento de 450%, resultando na média anual de 10%. Com estes resultados a Nigéria representa 37% da produção africana e cerca de 20% do total mundial. Na sequência aparece como destaque Gana que também está ampliando os plantios e amenizando os problemas crônicos da alimentação básica da sua grande maioria populacional.

Tabela 1 - Produção mundial de mandioca em raiz (milhões de toneladas)

Países	Anos						
	1970	2010	2011	2012	2013	2014	PART (%)
ÁFRICA	40,5	134,4	141,2	138,9	144,2	146,8	54,3
Nigéria	10,2	42,5	46,2	51,0	47,4	54,8	20,3
Congo	10,3	15,0	15,0	16,0	16,5	16,6	6,1
Gana	1,5	13,5	14,2	14,5	16,0	16,5	6,1
Outros	18,5	63,4	65,8	57,4	64,3	58,9	21,8
ÁSIA	23,1	75,0	80,5	89,0	88,6	90,7	33,6
Tailândia	3,2	22,2	21,9	29,8	30,2	30,0	11,1
Indonésia	10,7	24,0	24,1	24,2	23,9	23,4	8,7
Outros	9,2	29,0	34,5	35,0	34,5	37,3	13,8
AMÉRICA DO SUL	35,5	31,9	31,8	30,5	30,5	32,8	12,1



Brasil	30,0	25,0	25,4	23,0	21,5	23,2	8,6
Outros	5,5	6,9	6,4	7,5	9,0	9,6	3,5
Total	99,1	241,3	253,4	258,4	263,3	270,3	100,0

Fonte: FAO (2015)

A Ásia, comparado à África atingiu um desenvolvimento considerado bastante satisfatório, em destaque na Tailândia e Indonésia, juntas representam cerca de 60% da produção de mandioca na Ásia. Um dos resultados já alcançados, em específico nesses dois países asiáticos é a produtividade agrícola que gira em torno de 21.000 kg/ha contra 13.000 kg/ha alcançados na África. A Ásia aplicam pesados recursos nas pesquisas agrícola e industrial, nestes últimos anos vem se destacado no setor industrial de fécula e de “pellets”, visando essencialmente o mercado internacional.

A América do Sul que liderou a produção mundial até a década de 1970, reduziu drasticamente a sua participação e passou de 35% para apenas 12% no ano de 2014. Fato marcante ocorreu no Brasil que apesar de principal país desta região, a sua produção se estabilizou na faixa dos 22 a 23 milhões de toneladas e a participação mundial caiu de 30% para apenas 8% neste período.

Uma das características da mandiocultura brasileira é o seu consumo voltado ao mercado interno e com pouca expressão no comércio internacional, o que fragiliza com facilidade os preços quando a produção atinge maiores volumes.

De acordo com a Tabela 2, a produção brasileira de Mandioca está concentrada na Região Norte com 37%, no Nordeste 24%, no Sul com 22%, Sudeste 11% e Centro Oeste com 6%. Cabe destacar também que devido as frequentes secas no Nordeste, a sua participação reduziu e cedeu a primeira colocação à Região Norte.

Tabela 2 - Registros de área, produção e produtividade dos principais estados Brasileiros produtores de mandioca na safra 2016/2017

<b>REGIÕES /ESTADOS</b>	<b>Área (100 ha)</b>	<b>Produção (100 t)</b>	<b>Produtividades (kg/ha)</b>	<b>Participação (%)</b>
<b>NORTE</b>	485	7.406	15.270	36,3
Pará	240	4.194	17.475	20,5
Amazonas	86	832	9.675	4,1
Acre	40	1.323	33.075	6,5
Outros	119	1.057	8.882	5,2
<b>NORDESTE</b>	501	4.891	9.763	24,0
Bahia	159	1.746	10.981	8,6
Maranhão	153	1.334	8.719	6,5
Ceará	54	362	6.704	1,8
Outros	135	1.449	10.733	7,1

<b>SUL</b>	206	4.713	22.878	23,1
Paraná	124	3.200	25.806	15,7
R. G. do sul	60	1.070	17.833	5,2
S. Catarina	23	443	19.261	2,2
<b>SUDESTE</b>	119	2.193	18.615	10,7
M. Gerais	57	859	15.070	4,2
S. Paulo	43	1.066	24.791	5,2
Outros	19	268	14.105	1,3
C. OESTE	65	1.210	18.615	5,9
M. G do Sul	34	742	21.824	3,6
M. Grosso	19	281	14.790	1,4
Outros	12	187	15.583	0,9
<b>BRASIL</b>	1.376	20.413	14.835	100,0

Fonte: IBGE (2016)

Na Região Norte, destaca-se o estado do Pará que assumiu a liderança da produção brasileira de mandioca. A sua participação é da ordem de 4 milhões de toneladas e conta com um significativo número de casas familiares que produzem farinha e goma, bijus e tapiocas. É muito significativa a cultura de mandioca naquele Estado, pois desempenha forte influência sócio – econômica do seu povo. Na capital Belém, os produtos são largamente comercializados em mercados e em feiras livres e a origem desses produtos consumidos é proveniente da agricultura familiar. Nestes locais são ofertados a mandioca em raiz, a farinha e vários outros produtos derivados da mandioca, com destaque aos diversos tipos de molhos a partir das folhas.

Dada a importância desta cultura e o expressivo comércio nas principais cidades, o Estado do Pará apresenta o maior consumo “per capita” de farinha, estimado em 35 kg/ano. No Nordeste destacam-se os estados da Bahia, Maranhão e Ceará, que juntos representam 70% desta Região. O Nordeste concentra elevado número de pequenas fábricas ou casas de farinha, que normalmente são conduzidas pela mão de obra familiar. Esta Região, a exemplo do Norte não possui indústrias de fécula, limitando-se exclusivamente à produção de farinha.

A região Sudeste embora tenha menor participação na produção agrícola, tem grande influência na organização da cadeia produtiva da mandioca. Com destaque especial para o Estado de São Paulo que há muito tempo concentra vários órgãos de pesquisa, entre os principais o IAC a UNESP e o CEPEA. Apresentam altas produtividades agrícolas modernas indústrias e também concentra significativa parcela do mercado de farinha.

Por outro lado, a região Centro – Oeste é a mais recente, com alguns empresários que migraram do Paraná para o Mato Grosso do Sul em busca de novos horizontes e atraídos pela maior oferta de terras agrícolas. Atualmente, o estado do Mato Grosso do Sul é o segundo

produtor nacional de fécula. Já no Mato Grosso destacam-se as grandes extensões de soja e milho, com predominância da mecanização e com alta escassez de mão de obra no campo.

Segundo dados do IBGE (2018) o Tocantins teve na safra 2018 houve uma redução na área plantada, colhida e na produção da cultura, quando comparada a safra de 2017. Porém em se tratando do rendimento médio da cultura houve um aumento com variação de 14,7%, como pode ser analisado na tabela 3.

Tabela 3 - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola no estado do Tocantins para a cultura da mandioca nas safras de 2017/2018

<b>Produção</b>	<b>Período da Safra</b>	
	Safra 2017	Safra 2018
<b>Área plantada (ha)</b>	24.050	18.465
<b>Área colhida (ha)</b>	15. 615	12. 898
<b>Produção (t)</b>	264. 318	250. 465
<b>Rendimento médio (Kg/ha)</b>	16.927	19.419

Fonte: IBGE (2018).

Os principais municípios produtores são: Porto Nacional, Santa Rita do Tocantins, Ponte Alta do Tocantins, Monte do Carmo, Pindorama, Fátima, Santa Tereza do Tocantins, Santa Rosa, Brejinho de Nazaré e Novo Acordo.

A produtividade da cultura no estado é considerada baixa em torno de 10 a 15 t/ha de raízes. Para reverter esse quadro hoje o estado conta com ajuda do projeto Reniva (Rede de multiplicação e transferência de manivas-semente de mandioca com qualidade genética e fitossanitária) em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Ministério Agrário e Instituto de Desenvolvimento Rural do Estado do Tocantins (Ruraltins) com o objetivo de fornecer um material genético de alta qualidade, para que os produtores utilizem esse material em plantios, aumentando assim a produtividade da mandioca no estado (Embrapa, 2013).

### 3.3 Processo de obtenção de etanol de mandioca

O amido é o produto final do processo fotossintético e constitui a reserva de carbono das plantas. A sua formação ocorre devido à atividade de enzimas, tanto em organelas

fotossinteticamente ativas, onde o amido constitui uma reserva temporária, quanto nos amiloplastos (CEREDA, 2002).

Desta forma, o amido é a principal reserva energética das plantas. De acordo Leonel; Cereda (2002), as principais fontes de amido são: cereais, tais como milho, trigo, arroz, cevada, sorgo; tubérculos ou raízes, particularmente batata, batata-doce, mandioca e mandioquinha-salsa.

O amido puro é um pó branco, sem sabor e inodoro, insolúvel em água fria, apresentando grânulos parcialmente cristalinos e cuja morfologia, composição química e estrutura molecular são características de cada espécie em particular (PINTO, 2009)

Ele é constituído por amilose e amilopectina. A proporção destes polissacarídeos nas plantas é controlada geneticamente, mas, de modo geral, a relação é de 17% a 28% de amilose e 83% a 72% de amilopectina. Além destas substâncias, o grânulo contém compostos nitrogenados, lipídeos e minerais, presentes em pequenas proporções, porém podem influenciar as propriedades do amido (ARAÚJO et. al., 2008).

As propriedades físico-químicas dos amidos ditam sua funcionalidade em várias aplicações na indústria (YULIANA et al., 2012). As principais propriedades são gelatinização, poder de inchamento, solubilidade, retrogradação, capacidade de retenção de água e propriedades de pasta.

Tais propriedades estão relacionadas a estrutura do amido, como ao tamanho molecular, ao grau de cristalinidade, ao teor de amilose, a forma dos grânulos e a distribuição granulométrica (JIANG et al., 2012).

### **3.3.1. Amilose**

A amilose é uma molécula essencialmente linear, composta por unidades de D-glucose ligadas em alfa (1-4) com pequeno número de ramificações (SILVA et al., 2008).

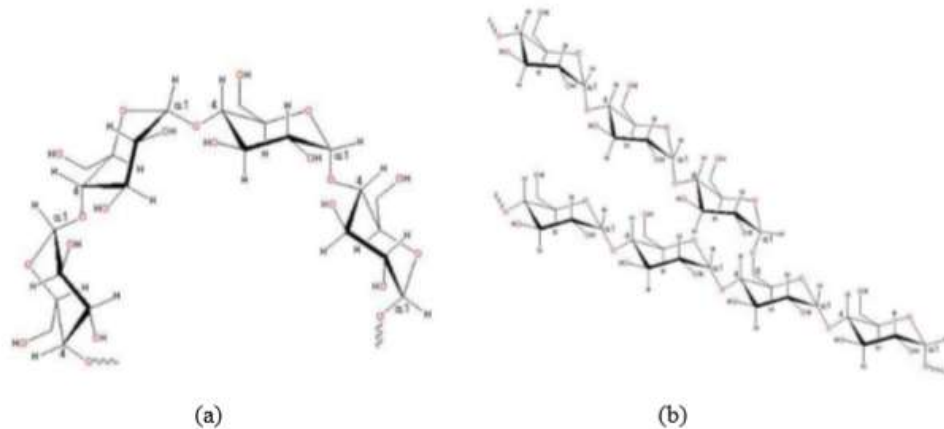
De acordo com Cebellos (2007) os fatores genéticos, ambientais como também a idade da planta influencia a composição de amilose no amido da mandioca. A fonte de amido pode influenciar de modo determinante diversos processos tecnológicos, dentre eles o processo metabólico (digestão). Esses processos estão fortemente relacionados a muitas características estruturais do amido como: teor de amilose, distribuição e comprimento das cadeias de amilopectina, cristalinidade no grânulo, sendo também associados a algumas etapas de gelatinização e retrogradação, etc.

### 3.3.2 Amilopectina

A amilopectina, de estrutura ramificada, representa a maior fração de amido com massa molar entre 104 e 106 kg/mol (CORRADINI et al., 2005).

Resumidamente o amido é um polímero de glicose, que possui configuração ramificada formada por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6. A Figura 4 apresenta a estrutura química da amilose (a) e da amilopectina (b).

Figura 1 – Estrutura química da amilose (a) e da amilopectina (b)



Fonte: Fonte: Costa (2010)

A parte mais importante da planta é a raiz de mandioca, que é rica em fécula, utilizada tanto na alimentação humana e animal quanto como matéria-prima para diversas indústrias (CEPLAC, 2012). Além da alimentação humana a mandioca também é utilizada na alimentação animal, cujas folhas e hastes podem ser fornecidas na forma de silagem, feno, ou mesmo frescas, e como matéria-prima para diversos produtos agroindustrializados (CARDOSO; GAMEIRO, 2006).

Devido ainda ao elevado teor de amido nas suas raízes, a mandioca é uma cultura com bom potencial para produção de etanol (FUKUDA; OTSUBO, 2003).

Na Figura 1, mostra como é feito o aproveitamento industrial de todas as partes da planta de mandioca, sendo aproveitada integralmente sem deixar resíduos, inclusive apresentando a obtenção de etanol.

Figura 2 - Fluxograma da planta de mandioca com seus produtos principais e possibilidades de usos



Fonte: Feltran (2016)

Segundo Venturini Filho; Mendes (2003), a produção de etanol a partir da mandioca segue uma linha industrial semelhante à fabricação de álcool a partir de cereais. As principais operações envolvidas na manufatura do álcool de mandioca pelo processo enzimático de hidrólise do amido são: pesagem, lavagem e descascamento, desintegração, cozimento, pré-sacarificação, fermentação, peneiragem, centrifugação, destilação, retificação e desifratção.

Ainda de acordo com os mesmos autores a produtividade de etanol para a mandioca é de 4,88 m<sup>3</sup>/ha.ano. Resultando em uma produção de 376 litros de álcool por tonelada de mandioca, enquanto a cana-de-açúcar produz entre 90 e 100 litros por tonelada. Vários produtos da mandioca, como a fécula, farinha, raspas, e a própria raiz podem ser usados na produção de álcool, com rendimento de 607,47; 515,2; 508,83 e 240,59 litros por tonelada, respectivamente.

Dados da FAO no ano 2008, citados por Rizzato; Felipe (2009) aponta que em termos mundiais a mandioca apresenta maior eficiência na conversão de álcool em relação às culturas da beterraba e cana-de-açúcar, como se observa na Tabela 4.

Tabela 4 - Comparativo de rendimento de diferentes matérias primas para a produção de álcool

Biomassas	Rendimento (ton/ha)	Eficiência na conversão (L/ton)	Rendimento do biocombustível (L/ha)
Beterraba	46	110	5060
Cana-de-açúcar	65	70	4450
Mandioca	12	180	2160
Milho	4,9	400	1960
Arroz	4,2	430	1806
Trigo	2,8	340	952
Sorgo	1,3	380	494

Fonte: FAO (2008)

De acordo com Kanthack et al. (2006) e Ferraz; Bruni; Del Branchi (2009) a produção de álcool de mandioca pode ser incentivada em regiões em que as condições de solo e/ou clima são impróprias para o cultivo da cana-de-açúcar, mas apropriadas à cultura da mandioca, que é menos exigente em fertilidade. Os mesmos sugerem que o cultivo da mandioca em regiões de baixa densidade demográfica e de baixa renda per capita, como forma de melhorar a distribuição de renda interna.

### 3.3.1 Hidrólise do Amido

Para que as culturas amiláceas consigam produzir álcool, é necessário que haja a quebra do amido, processo esse chamado de hidrólise, transformando o amido em açúcar para ocorra o processo de fermentação e posterior produção de álcool. No processo de hidrólise, além de água, há necessidade de agentes químicos ou enzimáticos capazes de romper as ligações glicosídicas (ZANIN et al., 2000).

Para a realização da hidrólise do amido pode ser utilizada a hidrólise ácida ou a hidrólise enzimática, contudo dentre esses dois métodos o último vem sendo muito utilizado na produção de etanol de fontes amiláceas.

A hidrólise ácida apresenta como vantagem o pequeno tempo de sacarificação, porém tem como desvantagens evidentes os problemas de corrosão dos equipamentos e a necessidade de neutralização da solução açucarada após a hidrólise, além de provocar certa destruição dos açúcares. Acrescenta-se a isso o fato de o processo gerar açúcares não fermentescíveis, o que diminui o rendimento da fermentação (MACHADO; ABREU, 2006).

Na hidrólise enzimática são utilizadas enzimas de origem vegetal ou microbiana. Em que o malte é bastante empregado e as enzimas comerciais obtidas de microrganismos (Venturini Filho; Mendes, 2003)

A hidrólise enzimática tem sido muito usada pelas indústrias na produção de etanol de amiláceos, por possuir uma das características importantes da catálise enzimática sua especificidade, que é consideravelmente maior do que a catálise química, quanto à reação e ao substrato (TORRES et. al. 2012).

No trabalho de Agustini e Emilio Junior (2007), obtiveram um rendimento na hidrólise do amido de mandioca catalisado pelas enzimas amilolíticas naturais (presentes na batata-doce) considerável, pois houve redução nos gastos do processo de hidrólise, resultando em uma taxa de conversão de 26%. Conseguiram obter uma quantidade final de produção de etanol de 39,19 mL/L ou 3,92%, com uma eficiência no processo fermentativo de 71,43%.

Os autores Torres et. al. (2012), analisaram as concentrações de enzimas amilolíticas na hidrólise do amido de gengibre. Seus resultados mostram que os rendimentos em açúcares presentes no hidrolisado após a filtração variaram de 55,41% (Termamyl 2X) e de 75,66% (AMG 300L) sobre o rendimento prático do processo de hidrólise.

Ismail et al. (2008) estudaram o processo de hidrólise termo-enzimática da fécula de mandioca por  $\alpha$ -amilase (na liquefação a 70 °C) e amiloglicosidase (na sacarificação a 80 °C). Observaram uma produção maior de glicose (204,5 g/L) a partir de soluções contendo 30% de fécula de mandioca e pela adição de 0,25% de amilase e 0,15% de amiloglicosidase.

Em seu estudo Moraes (2016), avaliou a produção de etanol de produtos resultantes do beneficiamento do arroz (arroz quebrado, integral e com casca), por meio de hidrólise enzimática utilizando as enzimas Liquozyme Supra 2.2X e AMG 300L. O trabalho apresentou resultados de maior concentração de etanol para o arroz gigante, arroz quebrado e o arroz integral com 46,03 g/L; 44,73 g/L e 42,32 g/L respectivamente.

Collares (2011), em seu trabalho variou as dosagens de pectinase, amiloglicosidase, diluição da solução (mandioca/água) e o tempo de hidrólise (4, 21, 38, 55 e 72 horas), no qual foi mantido a mesma dosagem da enzimas  $\alpha$ -amilase para todos os ensaios. Obtendo uma eficiência de 100% no tempo de 21 horas após a adição da última de enzima.



Foi identificada uma variedade de mandioca que dispensa o processo de hidrólise para obtenção de etanol. Essa variedade denominada mandioca açucarada é uma mutação genética encontrada na Amazônia que, em vez de amido, acumula glicose e alto teor de água nas raízes. Esta mutação, após processo de seleção e cruzamento, resultou em uma variedade produtiva com alto teor de açúcar fermentescível (ERENO, 2008).

Segundo Carvalho (2009) o processo de produção do etanol a partir dessa variedade de mandioca é similar ao da cana-de-açúcar, mais simples e barato que o etanol produzido com a mandioca convencional pois dispensa o processo de sacarificação, na qual amido é convertido em glicose. A eliminação desta etapa reduz em torno de 30% o consumo de energia no processo de produção de etanol de mandioca.

Pacheco et al. (2011), estudaram duas variedades de mandioca uma açucarada e uma variedade híbrida (mandioca açucarada + amilácea), que tem reserva de glicose e alto teor de amido. A mandioca açucarada após o processo de hidrólise enzimática atingiu 95 g/L de glicose, porém não foi totalmente consumida durante a fermentação alcoólica, produzido apenas 0,96 g/L de etanol. Já na hidrólise enzimática da mandioca híbrida foram gerados 167,4 g/L de glicose, na etapa de fermentação toda a glicose foi consumida, e obteve-se uma produção de 4,6 g/L de etanol. Segundo os autores reforçam que esses resultados com a nova variedade híbrida são apenas testes preliminares. Porém é notório que a mesma tem potencial para produção de etanol por ser facilmente hidrolisada e fornecer alto teor de glicose.

### **3.3.2 Fermentação Alcoólica**

Segundo Lehninger et al. (2000), a fermentação alcoólica é um fenômeno bioquímico muito complexo que provoca a transformação do açúcar em etanol, gás carbônico, ácido succínico, ácidos voláteis, ésteres, etc .

O processo da fermentação alcoólica caracteriza-se como uma via catabólica, na qual há a degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula de microrganismos (leveduras ou bactérias), ate a formação de etanol e CO<sub>2</sub>, havendo liberação de energia química e térmica (FILHO; MENDES, 2003).

Seu controle é feito pela observação de alguns parâmetros, tais como: tempo de fermentação, temperatura, pH, odor, açúcares no mosto, formação do produto desejado, entre outros (NOGUEIRA; FILHO, 2005).

O processo de fermentação da glicose é amplamente desenvolvido e já estabelecido. As leveduras do gênero *Saccharomyces* sempre foram os organismos mais utilizados na fermentação alcoólica, sendo a *Saccharomyces cerevisiae*, a principal espécie, que apresentam o melhor desempenho, mostrando uma melhor conversão de glicose em etanol, produtividade, tolerância alcoólica, resistência e robustez a inibidores e as bactérias, sendo que não apresentam muitas limitações fermentativas. Contudo para que a fermentação ocorra sem maiores problemas, é necessário que se controle os impactos negativos que os inibidores podem causar. As mesmas podem ser utilizadas na produção de alimentos para humanos (pão, bebidas, etc). Mais existem outros organismos que também são capazes de produzir etanol e um exemplo é a espécie de bactéria, *Zymomonas mobilis* (BETTIGA et al., 2008; MATSUSHIKA et al., 2009; CINELLI, 2012).

### 3.3.3 Rendimento de etanol

De acordo com Venturini Filho e Mendes (2003), a produtividade de etanol para a mandioca é de 4,88 m<sup>3</sup>/ha.ano. Isto resulta em uma produção de 376 litros de álcool por tonelada de mandioca, enquanto a cana-de-açúcar produz entre 90 e 100 litros por tonelada. O álcool pode ser produzido a partir de vários produtos originados da mandioca, como a fécula, farinha, raspas, bem como a própria raiz, com rendimentos de 607,47; 515,2; 508,83; e 240,59 litros por toneladas, respectivamente.

KOWALSKI et. al. (2017) em seu trabalho estudou os processos de hidrólise enzimática do caroço de abacate para produção de etanol de segunda geração produzindo 44L de etanol por tonelada de semente de abacate.

No trabalho realizado por Balin (2017), no qual foram estudadas treze variedades de mandiocas obteve um rendimento de etanol em média de 1819,16 L/ha.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1- Origem das amostras de raízes de mandioca

As raízes de mandioca utilizadas para realização deste trabalho foram cedidas pela Embrapa Pesca e Aquicultura provenientes do Reniva. As quais participaram de experimentos de avaliação de genótipos na região central do estado do Tocantins.

Foram selecionadas quatro variedades de mandioca de indústria, baseado nos teores de amido e na produtividade, que são: BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira. Os teores de amido em matéria seca (%MS) e a produtividade em toneladas por hectares (Tabela 5), são características muito importantes.

Tabela 5 - Teores de amido em matéria seca (%MS) e produtividade (ton/ha) das variedades estudadas BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira

<b>Variedades</b>	<b>Teor de amido (% MS)*</b>	<b>Produtividade (ton/ha)</b>
BRS Caipira	82,09	29,69
BRS Formosa	85,12	37,50
Mucuruna	85,61	27,58
BRS Tapioqueira	85,64	29,02

\* %<sub>MS</sub> = Teor de amido em porcentagem de matéria seca

Fonte: Elaborado pela autora

### 4.2 Preparo das amostras no laboratório

Após a realização da colheita foram retirados da área útil do plantio 5 kg de raízes de cada variedade, devidamente identificadas, embaladas, transportadas e armazenadas em um Freezer. Posteriormente essas raízes foram conduzidas ao Laboratório de Solos e Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais da Universidade Federal do Tocantins – UFT. Onde elas passaram por um processo de lavagem, descascamento e ralação para posterior processo de secagem.

#### 4.2.1 Processo de desidratação das raízes

A secagem do material ocorreu na estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C por 72 horas para retirada da umidade. O material foi disposto em bandejas de alumínio 850ml (Wyda®), no qual foram pesadas inicialmente antes de serem colocadas na estufa (Figura 3).

Figura 3 - Raízes raladas e acondicionadas em bandejas de alumínio, para secagem em estufa por 72 horas a 60°C



Fonte: Própria Autora

Ao término do período de pré-secagem, retirou-se o material da estufa, deixando-o resfriar, durante 1 hora, até que a umidade da amostra entrasse em equilíbrio com a umidade do ar, fazendo-se, em seguida, a pesagem. Esse processo é chamado de amostra seca ao ar (ASA).

Posteriormente as amostras foram processadas em um moinho de facas, obtendo-se a farinha com partículas menores de 1,0 mm. Após processadas, as mesmas foram identificadas e guardadas em embalagens de plásticas, sendo devidamente armazenadas no laboratório. A determinação da matéria pré seca das amostras foi calculada da seguinte forma:

$$MS (\%) = (Pf \times 100) / Pi$$

Pi = Peso inicial (amostra úmida) em gramas  
Pf = Peso final ( amostra seca) em gramas

#### 4.2.2 Determinação do Teor de Amido

A determinação do amido no processo foi realizada através da e, baseada na metodologia de Grossmann e Freitas (1950), onde se subtrai o valor da constante de 4,65 da matéria seca das raízes, conforme a seguir.

$$\% \text{ Amido} = MS - 4,65$$

$$MS = 15,75 + 0,0564 * R$$

R = valor do peso de 3kg de raízes na balança hidrostática

#### 4.3 Processos de Hidrólise e Sacarificação do Amido

Para o processo inicial da hidrólise, foram pesadas 1g de amostra moída (farinha de mandioca), em um tubo de ensaio de 100 ml, e posteriormente acrescentado 40 ml de solução tampão (citrato de sódio + fosfato de sódio), com pH 5,0 na concentração de 24,8 g/L.

Em seguida os tubos de ensaios identificados, foram acondicionados ao banho metabólico (Figura 4) Dubnoff – SL 157 (SOLAB).

A primeira etapa da hidrólise (T1) foi adicionada a enzima  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra 2.2x), na concentração de 30  $\mu$ l/g de farinha a uma temperatura de 90°C durante 2 horas para a ação da enzima.

Figura 4 - Amostras sendo hidrolisadas com auxílio do banho metabólico



Fonte: Própria Autora

Após o término da liquefação, o meio foi resfriado até atingir a temperatura de 60°C e a enzima sacarificante amiloglucosidase (AMG 300L), foi adicionada na concentração de 40 µl/g de farinha. Para esta etapa, o tempo de atuação da enzima foi de 3 horas (NOVOZYMES, 2002).

A metodologia descrita acima foi fundamentada segundo informações do fabricante (NOVOZYMES), sendo denominada de Etapa 1 ou Tempo de hidrólise 1 (T1). O restante dos ensaios foram conduzidos mantendo-se as temperaturas (90°C para enzima  $\alpha$  e 60°C para enzima  $\beta$ ), concentrações de enzima e pH. Variando apenas os tempos de hidrólise como nota-se na tabela 6.

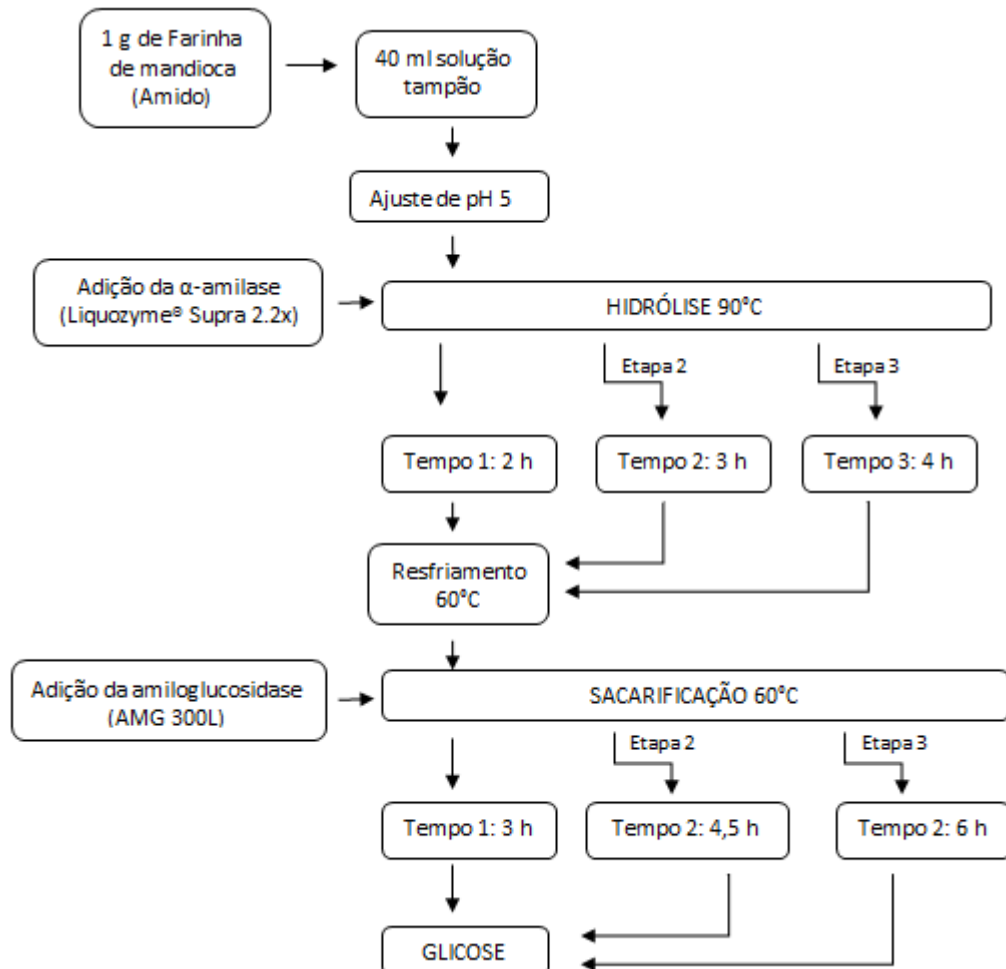
Tabela 6 - Tempos de ação das enzimas  $\alpha$  e amiloglucosidase (T1, T2, T3) nas variedades BRS Tapioqueira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Caipira

Tempos de hidrólise	Variedades			
	BRS TAPIOQUEIRA	BRS FORMOSA	MUCURUNA	BRS CAIPIRA
T1	2h $\alpha$ amilase 3h amiloglucosidase	2h $\alpha$ amilase 3h amiloglucosidase	2h $\alpha$ amilase 3h amiloglucosidase	2h $\alpha$ amilase 3h amiloglucosidase
T2	3h $\alpha$ amilase 4,5h amiloglucosidase	3h $\alpha$ amilase 4,5h amiloglucosidase	3h $\alpha$ amilase 4,5h amiloglucosidase	3h $\alpha$ amilase 4,5h amiloglucosidase
T3	4h $\alpha$ amilase 6h amiloglucosidase	4h $\alpha$ amilase 6h amiloglucosidase	4h $\alpha$ amilase 6h amiloglucosidase	4h $\alpha$ amilase 6h amiloglucosidase

Fonte: Elaborado pela autora

Na figura 5, observa-se claramente todo o processo realizado em laboratório passo a passo da conversão do amido de mandioca, as etapas realizadas para sua quebra e liberação da molécula de glicose.

Figura 5 – Fluxograma do processo de conversão total do amido de mandioca em glicose



Fonte: Elaborado pela autora

Após o término de cada etapa procedimento foi medido o volume final da solução com auxílio de uma proveta (100 ml). Em seguida para filtragem (Figura 6), utilizou-se filtro de papel (nº 103) ajustado ao funil de Büchner no qual estava acoplado ao Kitassato (2000 ml) e a sucção realizada com auxílio de uma Bomba de vácuo (200 watts).

Após as filtrações, o material transformado foi armazenado em tubos falcons de 15 ml e a mostra retida nos papéis filtros (Figura 7) foram colocadas na bandeja e levadas para estufa a 50 °C por 24 horas. Sendo posteriormente pesadas a fim de se obter o peso final pós-hidrólise.

Figura 6 - Amostra hidrolisada



Figura 7 - Amostras filtradas com material retido no papel filtro



Fonte: Própria autora

#### 4.4 - Determinação da Concentração de Glicose e Etanol

A determinação da concentração de Glicose e Etanol obtidos a partir da hidrólise enzimática do amido levou em consideração dois processos para estimar o rendimento de etanol. No primeiro processo foram utilizados a quantidade de açúcares fermentescíveis contidos no percentual de amido existente, na porção de substrato utilizado na hidrólise. Sendo o mesmo estimado a partir da diferença do peso do material no início e ao final do processo de hidrólise. Após a obtenção da produção total de  $\text{CO}_2$  foi possível então quantificar a glicose fermentada e o equivalente etanol produzido a partir da mesma equação estequiométrica descrita por Gay-Lussac. Onde o mesmo estabelece que a cada 100 kg de açúcares redutores total, produzem 46,49 kg de etanol e 48,9 kg de  $\text{CO}_2$  (FINGUERUT et al., 1985).

#### 4.5 Fermentação e produção de $\text{CO}_2$

A desassimilação de açúcares como a glicose, pode ocorrer de forma anaeróbia (fermentação) ou aerobiamente (respiração). Para este experimento utilizou-se a desassimilação



anaeróbia, cujos produtos finais são o álcool etílico e o dióxido de carbono (PELCZAR et. al., 1980).

Na fermentação alcoólica de açúcares, por ação de leveduras, os principais produtos obtidos em proporções equimolares são o etanol e o dióxido de carbono (Equação). Esse mecanismo foi quantificado pela primeira vez por Gay-Lussac, onde 100 kg de glicose rendem 51,1 kg de etanol e 48,9 kg de dióxido de carbono. O rendimento teórico de 51,1% em massa é conhecido como coeficiente de Gay-Lussac e é o dado básico na eficiência de conversão (Jackman, 1991).

A fermentação alcoólica foi obtida analogamente de acordo com as metodologias descritas por Blümmel; Orskov (1993) e Theodorou et al. (1994) que utilizaram sistemas baseados em seringas. No qual o volume do gás produzido foi medido com seringa para a construção das equações de produção de volume e massa de gás (CO<sub>2</sub>).

Para a realização das medições da produção de gás (CO<sub>2</sub>) e cinética de fermentação (*lag phase* e taxa de fermentação), utilizou-se tubos de vidro (volume 10 mL), contendo: 7 mL de solução hidrolisada (glicose) com 0,14g de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), obtendo uma relação final de 2% (p/v) de inóculo. Em seguida os tubos foram lacrados e levados a uma estufa com aquecimento (Figura 8) tipo *box* de “isopor” com temperatura variando de 34 - 38°C.

Figura 8 – Estufa “box” de isopor utilizada para realização da fermentação da glicose

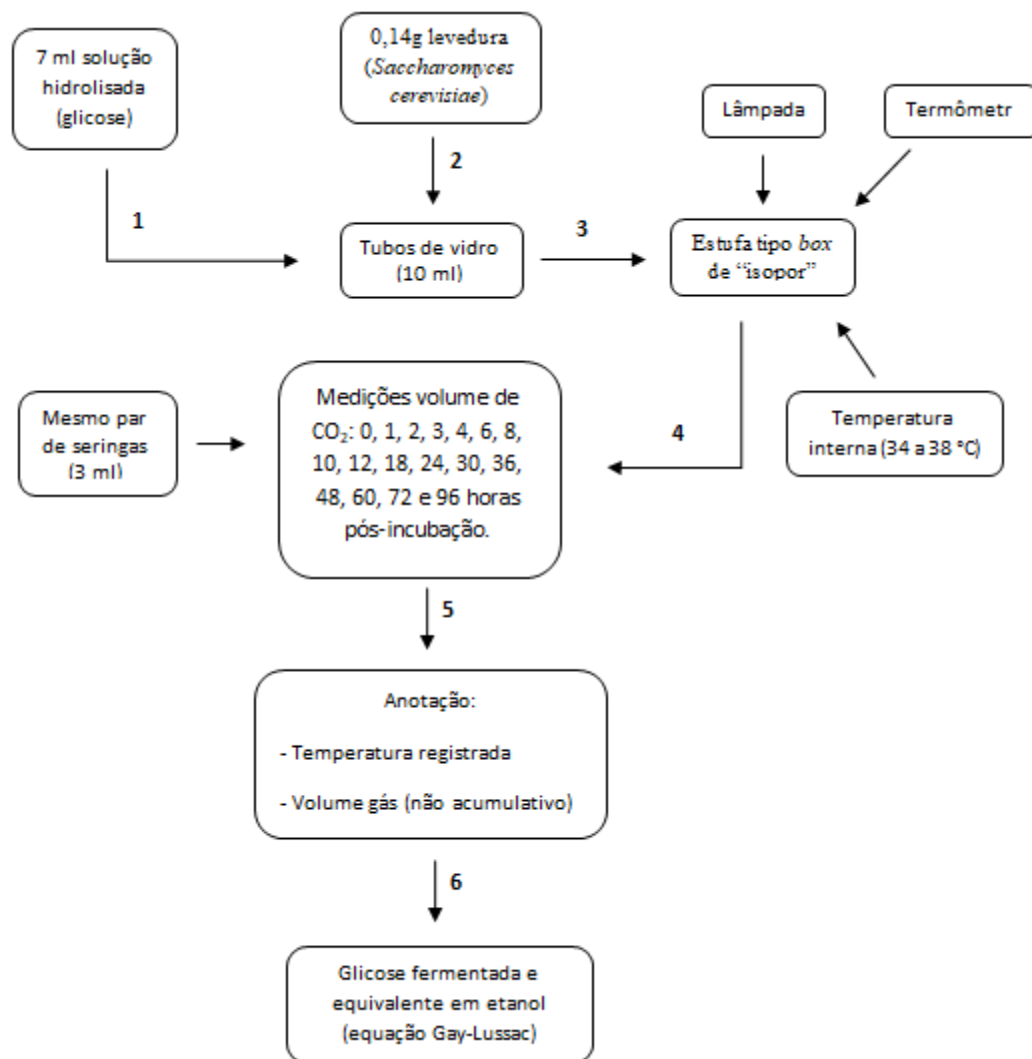


Fonte: Autora

À medida que o processo de fermentação foi iniciado, através da inoculação da levedura foram realizadas medições do volume de CO<sub>2</sub>: 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas pós-incubação (Figura 9).

O volume de gás produzido em cada horário foi medido utilizando-se sempre um mesmo par de seringas a fim de reduzir efeitos de variação entre diferentes seringas. A cada horário de coleta a temperatura da estufa foi anotada, permitindo ajuste do volume à temperatura para cálculos posteriores da massa de CO<sub>2</sub> produzida.

Figura 9 - Fluxograma do processo de produção de CO<sub>2</sub>, durante o processo de fermentação



Fonte: Elaborado pela autora

#### 4.7 Análises dos dados

As análises realizadas no laboratório foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA), com delineamento experimental DIC Fatorial 4x3x4 (4 variedades, 3 tempos de ação das enzimas e 4 repetições). Os resultados foram obtidos utilizando-se o programa SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott no nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Para melhor visualização dos resultados de fermentação foram gerados gráficos mostrando a cinética dos gases com auxílio do *software* BioEstat 5.0 (AYRES et al. 2007).

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados a seguir os efeitos observados para as seguintes variáveis: coeficiente de hidrólise; concentração de glicose no hidrolisado (g/L); glicose efetivamente fermentada (g/L); rendimento da fermentação (%); potencial de produção de etanol (mL/kgMS). Para todas as variáveis foram observados efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para a interação, evidenciando haver dependência entre os tempos de hidrólise do amido e as variedades de mandioca estudadas.

Observa-se na tabela 7, que o tempo de hidrólise houve influência no coeficiente de hidrólise para cultivar BRS Caipira obteve melhor resultado no T3, enquanto a Mucuruna apresentou uma redução nos tempos 2 e 3. Na tabela 7, pode-se observar que o tempo de hidrólise exerceu efeito significativo ( $P < 0,05$ ) sobre o coeficiente de hidrólise do amido, porém, com comportamento diferenciado entre as cultivares. Observando-se o efeito dos tempos de hidrólise dentro dos cultivares, ficou evidente que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os cultivares BRS Formosa e BRS Tapioqueira. Entretanto, para o cultivar BRS Caipira e Mucuruna os maiores coeficientes de hidrólise foram observados em T3 e T1, respectivamente.

Este comportamento pode ser decorrente do fato de que o amido é constituído basicamente por dois tipos de macromoléculas: amilose e amilopectina (BILIARDERIS, 1991). Além destes dois polímeros principais, alguns estudos têm mostrado a existência de um terceiro componente denominado material intermediário (TAPARELLI, 2005). A diversidade de características possíveis entre grânulos de amido, inclusive nos mesmos cultivares de uma

mesma matéria prima amilácea (COLLARES, 2011) pode configurar-se em um complicador ao processo de hidrólise enzimática do amido. Além disso, a mandioca apresenta uma proporção significativa de fibras o que pode dificultar também a hidrólise do amido (UNEJO; PASTORE, 2007). Em média o amido da mandioca possui teores médios de 17% de amilose e 83% de amilopectina (MARCON et. al., 2007).

Tabela 7 - Médias dos valores do coeficiente de hidrólise para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3

Variedades	Tempos de Hidrólise		
	T1	T2	T3
BRS Caipira	0,690 aB	0,617 cB	0,795 aA
BRS Formosa	0,757 aA	0,820 aA	0,742 bA
Mucuruna	0,832 aA	0,735 bB	0,670 bB
BRS Tapioqueira	0,775 aA	0,860 aA	0,845 aA

*Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (compara os tempos de hidrólise dentro das variedades) e letras maiúsculas na linha (compara variedades dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação:  $CV_{variedades} = 6,87\%$ ;  $CV_{tempos} = 9,99\%$ .*

Ballin (2017) estudando o potencial de geração de etanol a partir de treze variedades de mandioca reportou coeficientes de hidrólise variando de 0,874 à 0,929 quando submetidas à mesma metodologia de hidrólise descrita para o tratamento do tempo 1 (T1) deste ensaio. Porém, nenhuma das cultivares de mandioca reportadas no presente estudo foi investigada por este autor, o que pode explicar a divergência dos resultados encontrados.

Na tabela 8 estão apresentadas as médias encontradas para a glicose total (g/L) obtida a partir da hidrólise enzimática dos materiais nos diferentes tempos de reação enzimática estudados. Constatou-se que apenas a variedade Mucuruna, houve diferença ( $P < 0,05$ ) para a concentração de glicose total entre os tempos de reação. Porém, este comportamento não foi observado nas demais variedades. Já ao se analisar as diferenças entre as variedades dentro dos tempos de reação enzimática, foram observadas diferenças para a glicose total entre as variedades de mandioca, sendo os menores teores observados para BRS Caipira em T2 e BRS Formosa e Mucuruna em T3.

A concentração e diversidade química do amido, bem como a diversidade químicas da fibra entre os cultivares de mandioca (COLLARES, 2011 e UNEJO; PASTORE, 2007), podem ter determinado estes resultados. Desta forma, para se isolar o efeito de cada um destes fatores, é imperativo sua caracterização e quantificação, pois podem estar a interagir entre si,

condicionando o grau de hidrólise e conseqüentemente a glicose total observada no meio reacional.

Tabela 8 - Média dos valores de glicose total (g/L) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3

Variedades	Tempos de Hidrólise		
	T1	T2	T3
BRS Caipira	14,99 aA	13,66 bA	16,69 aA
BRS Formosa	16,75 aA	17,93 aA	15,72 bA
Mucuruna	18,35 aA	16,21 aB	14,14 bB
BRS Tapioqueira	17,16 aA	18,45 aA	18,63 aA

*Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (compara os tempos de hidrólise dentro das variedades) e letras maiúsculas na linha (compara variedades dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação:  $CV_{variedades} = 6,87\%$  ;  $CV_{tempos} = 9,99\%$ .*

Além dos fatores mencionados que podem estar exercendo influência sobre a hidrólise enzimática do amido da mandioca, Cebellos (2007) cita que além dos fatores genéticos, os ambientais como a idade da planta, também são importantes influenciando a composição quantitativa e qualitativa do amido.

Objetivando verificar o quanto da glicose total estava efetivamente disponível para a fermentação, a mesma foi quantificada de forma indireta pela produção de  $CO_2$  durante a fermentação. A esta fração de glicose efetivamente fermentada foi dado o nome de glicose fermentada e está expressa em g/L.

Também para a glicose fermentada (tabela 9), houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os fatores (cultivares e tempo de reacional), porém, não foi observado o mesmo padrão de semelhanças estatísticas quando comparado à glicose total. As variações aqui encontradas podem estar relacionadas com a efetividade enzimática para liberação de glicose livre em cada um dos tempos reacionais estudados, o que influenciará a disponibilidade deste monossacarídeo para o metabolismo fermentativo das leveduras. A explicação deste comportamento foi reportada por Rettori e Volpe (1999) que descrevem o fenômeno da repressão por glicose como sendo responsável pela efetividade fermentativa do meio reacional. Na presença de concentrações de glicose livre acima da concentração crítica, a glicose reprime a expressão dos genes que condicionam as enzimas do ciclo de Krebs, enzimas da cadeia respiratória e estruturas mitocondriais, impedindo que outros açúcares solúveis sejam metabolizados.

Tabela 9 - Médias dos valores da glicose fermentada (g/L) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3

Variedades	Tempos de Hidrólise		
	T1	T2	T3
BRS Caipira	11,32 aA	10,31 bA	12,74 aA
BRS Formosa	12,90 aA	12,94 aA	12,55 aA
Mucuruna	13,56 aA	8,74 bB	6,70bB
BRS Tapioqueira	12,88 aA	14,14 aA	11,71 aA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (compara os tempos de hidrólise dentro das variedades) e letras maiúsculas na linha (compara variedades dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. **Coefficientes de variação:**  $CV_{\text{variedades}} = 19,36\%$ ;  $CV_{\text{tempos}} = 20,97\%$ .

O rendimento fermentativo refere-se à proporção da glicose total que efetivamente foi fermentada e, por isso, está apresentada de forma relativa (%).

Na tabela 10 estão apresentadas as médias encontradas para o rendimento fermentativo (%) obtida pela proporção da glicose total que efetivamente foi fermentada, sendo apresentado de forma relativa (%). Neste caso, também foi verificado que apenas a variedade Mucuruna, apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de reação. Não sendo observado este comportamento nas demais variedades. Já para as demais variedades dentro dos tempos de reação enzimática, foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para o rendimento fermentativo, sendo os menores valores encontrados para Mucuruna em T2 e Mucuruna e Tapioqueira em T3.

Augustini e Emílio Júnior (2007) estudando a produção de álcool de mandioca a partir de hidrólise enzimática natural encontraram um rendimento fermentativo, um pouco abaixo da obtida neste presente trabalho, de 71,43%.

O rendimento fermentativo (%) obtido por Ballin (2017) variou de 53,01 para Cacau melhorada e de 70,50 para a BRS 399, no presente trabalho os valores de rendimento fermentativo oscilou na faixa de 74,37 e 78,43 para variedade Mucuruna e BRS Formosa, dentro do mesmo tempo de hidrólise (T1).

Tabela 10 - Médias dos valores do rendimento da fermentação (%) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3

Variedades	Tempos de Hidrólise		
	T1	T2	T3
BRS Caipira	76,25 aA	77,07aA	75,63 aA
BRS Formosa	78,43 aA	73,78 aA	79,43 aA
Mucuruna	74,37 aA	53,80 bB	48,76 bB

BRS Tapioqueira	74,90 aA	77,34 aA	62,66 bA
-----------------	----------	----------	----------

*Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (compara os tempos de hidrólise dentro das variedades) e letras maiúsculas na linha (compara variedades dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação:  $CV_{\text{variedades}} = 11,19\%$ ;  $CV_{\text{tempos}} = 11,73\%$ .*

De acordo com Lima, Basso e Amorim (2001) inúmeros fatores podem interferir na eficiência da fermentação, tais como: temperatura, pressão osmótica, pH, oxigenação, minerais, concentração da levedura e contaminação microbiana.

Na tabela 11 estão apresentadas as médias encontradas para o potencial de produção de etanol (ml/Kg.MS) obtida através da fermentação do material hidrolisado e da equação estequiométrica de Gay-Lussac. Neste caso, também foi verificado que apenas a variedade Mucuruna, apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de reação. Não sendo observado este comportamento nas demais variedades. Já para as demais variedades dentro dos tempos de reação enzimática, foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para o potencial de produção de etanol, sendo os menores valores encontrados para Caipira e Mucuruna em T2 e Mucuruna em T3.

Ballin (2007), obteve resultados de baixa produção de etanol para variedade BRS 369 sendo de 199,68 ml/Kg.MS e a máxima da variedade Água morna com 285,30 ml/Kg.MS. No presente trabalho a produção de etanol variou na faixa de 260,75 e 310,17 ml/Kg.MS para variedade BRS Caipira e Mucuruna, dentro do mesmo tempo de hidrólise (T1).

Tabela 11 - Médias dos valores do potencial de produção de etanol (ml/Kg.MS) para as variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira em função dos diferentes tempos de hidrólise: T1, T2 e T3

Variedades	Tempos de Hidrólise		
	T1	T2	T3
BRS Caipira	260,75 aA	234,91 bA	293,55 aA
BRS Formosa	295,15 aA	295,90 aA	287,13 aA
Mucuruna	310,17 aA	200,01 bB	153,55 bB
BRS Tapioqueira	293,28 aA	329,11 aA	267,37 aA

*Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (compara os tempos de hidrólise dentro das variedades) e letras maiúsculas na linha (compara variedades dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação:  $CV_{\text{variedades}} = 10,27\%$ ;  $CV_{\text{tempos}} = 11,32\%$ .*

Foram ajustadas regressões logarítmicas através do método de polinômios ortogonais para descrever a cinética de fermentação. Com o objetivo de realizar comparações dos modelos

logarítmico para cada tempo de hidrólise (T1, T2 e T3) dentro das variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira (Tabela 12). Para cada variedade de mandioca foram determinadas equações considerando o volume de CO<sub>2</sub> (cm<sup>3</sup>) como variável dependente e o tempo como variável preditora.

Desta forma, a significância do modelo de regressão pode ser determinada, avaliando a escolha do modelo matemático. Sendo assim, o ajuste de regressão logarítmico foi o que apresentou melhor coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). Portanto, buscou-se a comparação entre interceptos e coeficientes de regressão (Tabela 12), ajustados através deste modelo caracterizar a cinética fermentativa, evidenciando o tempo necessário para o consumo total da glicose disponível, bem como, determinar a taxa de fermentação. Todas as Equações de regressão foram significativas (P<0,05), representando que o modelo foi capaz de captar o comportamento da cinética de fermentação.

Tabela 12 - Comparação entre interceptos e coeficientes de regressão ajustados para cada tempo de hidrólise (T1, T2 e T3) dentro das variedades BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira. E apresentação das equações de regressão, coeficiente de variação (CV%), e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) para cada regressão

Regressões	Equações	R <sup>2</sup>
<b>BRS Caipira</b>		
T1	$Y = 6,998225^{Aa} + 3,276000^{Aa}. Ln T$	0,9413
T2	$Y = 8,453900^{Aa} + 3,602125^{Ba}. Ln T$	0,9413
T3	$Y = 11,660375^{Aa} + 3,718325^{Aa}. Ln T$	0,9233
<b>BRS Formosa</b>		
T1	$Y = 10,9835^{Aa} + 3,921625^{Aa}. Ln T$	0,9091
T2	$Y = 10,116375^{Aa} + 4,753975^{Aa}. Ln T$	0,9348
T3	$Y = 9,121575^{Aa} + 4,207150^{Aa}. Ln T$	0,9261
<b>Mucuruna</b>		
T1	$Y = 11,583750^{Aa} + 4,039975^{Aa}. Ln T$	0,9186
T2	$Y = 5,353775^{Ab} + 3,384150^{Ba}. Ln T$	0,9763
T3	$Y = 6,127950^{Ab} + 3,145375^{Aa}. Ln T$	0,9706
<b>BRS Tapioqueira</b>		
T1	$Y = 7,575550^{Aa} + 4,574900^{Aa}. Ln T$	0,9540
T2	$Y = 8,453900^{Aa} + 5,279700^{Aa}. Ln T$	0,9465
T3	$Y = 11,660375^{Aa} + 3,704475^{Ab}. Ln T$	0,9061
CV(%) <sub>Intercepto</sub> : 20,19		CV(%) <sub>Coef. Regressão</sub> : 9,47

**Legenda:**

Regressão:  $Y = a + b . LnT :$



*Médias dos interceptos (a) e coeficientes regressão (b) seguidos de mesma letra maiúscula (compara variedades dentro dos tempos) minúsculas (compara tempos dentro da variedade) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P > 0,05$ ).*

*Y: estimativa do volume de  $CO_2$  ( $cm^3$ ); T: tempo em horas (intervalo: 0,45 até 143,45); CV(%): coeficiente de variação; R2: coeficiente de determinação;*

A relação estabelecida entre o tempo de fermentação e a crescente concentração de  $CO_2$  formado, ilustra perfeitamente o perfil da fermentação, como pode ser visto nos gráficos. Constatou-se que após 105 horas de incubação, ocorreu a estabilização da curva de geração de  $CO_2$ , o que indica o fim do consumo de glicose e geração de etanol. Assim, para soluções contendo em média uma concentração de 16 g/L de glicose total em pH 5 a uma temperatura média de 33°C a duração de 150 horas mostrou-se satisfatória para concluir o processo fermentativo.

Isso acontece porque segundo Aquarone et al. (2001), no processo de fermentação alcoólica ocorre o consumo de açúcares pela levedura e conseqüentemente a liberação de gás carbônico. E ao consumo de açúcares ocorre uma redução dos teores de sólidos solúveis totais e quando ocorre a estabilização do teor de açúcares é consequência da existência de compostos não fermentáveis pelas leveduras presentes no meio.

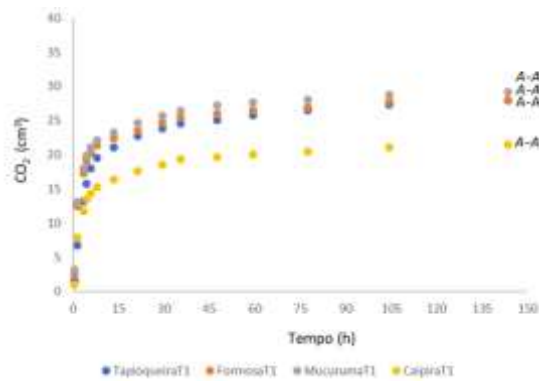
Ballin (2017), encontrou valores um pouco acima do encontrado neste trabalho 20 g/L de glicose total sobre mesmas as mesmas condições de pH, sobre temperatura média de 38°C com uma fermentação de duração total de 36 horas.

No gráfico 1 e 3, observa-se que não houve diferença significativa durante o tempo de incubação na produção de  $CO_2$  para as variedades dentro do T1 e T3. Vale ressaltar que a variedade Mucuruna manteve sua produção de gás superior durante todo o período de incubação em relação as demais no T1 e no T3 essa produção manteve-se baixa.

Por meio do gráfico 2, constata-se que até as 45 horas após a incubação, a BRS Formosa e BRS Tapioqueira apresentaram a mesma taxa de degradação, mas em seguida, a BRS Tapioqueira mostrou-se superior na produção de gás com 33  $cm^3$ .

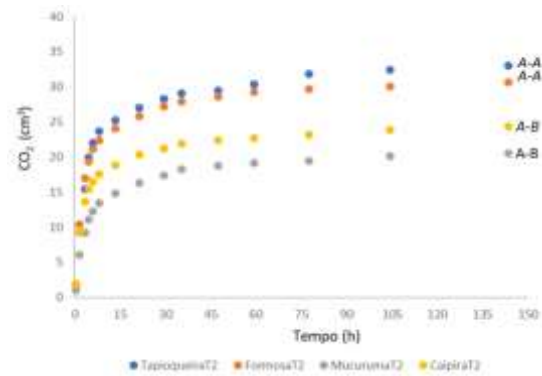
Já as variedades BRS Caipira e Mucuruna obtiveram baixa taxa fermentativa com 22 e 18  $cm^3$  de  $CO_2$ , respectivamente após as 135 horas de incubação.

Gráfico 1 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T1.



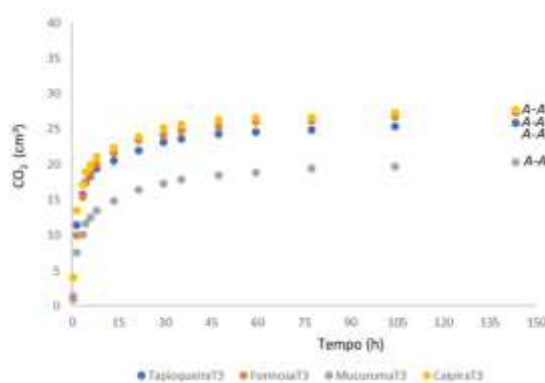
Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Gráfico 2 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T2.



Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Gráfico 3 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando variedades dentro do tempo T3.



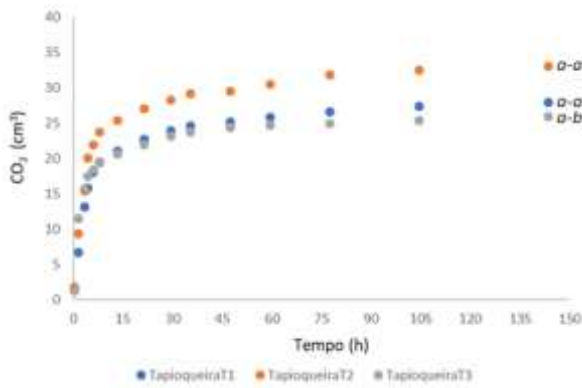
Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Através do gráfico 4, nota-se que a produção de gás se manteve relativamente baixa no T3 durante todo o período de incubação para BRS Tapioqueira. Os tempos de hidrólise são equivalentes na produção de gases para variedade BRS Formosa (Gráfico 5).

Já no gráfico 6, verifica-se que a taxa de fermentação para os tempos de hidrólise 2 e 3 coincidem na variedade Mucuruna que é de aproximadamente de  $17,5 \text{ cm}^3$  de gás, após a decorrência das 135 horas de incubação.

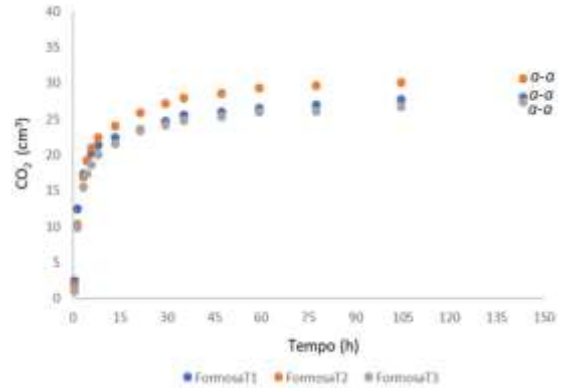
O gráfico 7, mostra que a taxa de fermentação se comportou de forma semelhante para variedade BRS Caipira, independente dos tempos de hidrólises, ou seja, não houve diferença significativa entre eles.

Gráfico 4 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade Tapioqueira.



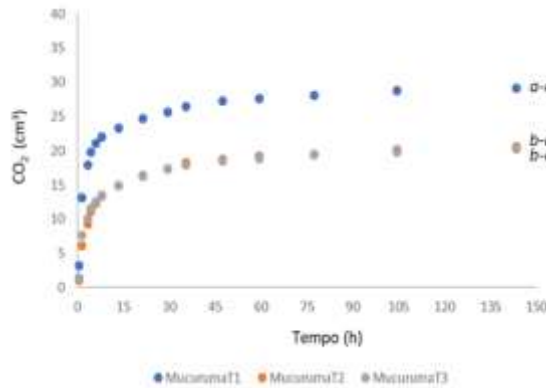
Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Gráfico 5 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade BRS Formosa.



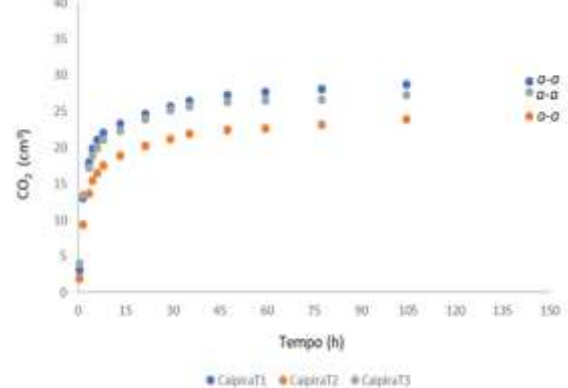
Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Gráfico 6 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade Mucuruma.



Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

Gráfico 7 - Produção de CO<sub>2</sub> em função do tempo incubação (cinética fermentativa) comparando tempos de hidrólise dentro da variedade BRS Caipira.



Médias dos interceptos (a) e coeficiente de regressão (b) (descritos na tabela 11) são comparadas entre si pela primeira e segunda letra maiúscula, respectivamente. Letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Scott-Knott.

## **6 CONCLUSÃO**

Os resultados observados de menor coeficiente de hidrólise e glicose total para variedade Mucuruma, indicam que possam estar relacionados ao tempo de gelatinização do amido e isto pode ter influenciado estes parâmetros o que confere tempos de cozimento mais lento. A variedade BRS Tapioqueira é apontada como a variedade que obteve o maior potencial de produção de etanol de mandioca para o município de Palmas alcançando 329,11 ml/Kg.MS. Na análise da produção de gases durante a fermentação podemos concluir que o T2 de hidrólise foi o melhor dentro da variedade Tapioqueira.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, A. C. de O.; BACCHI, M. D. Evolução da participação das fontes de energias renováveis nas matrizes energéticas dos países da América do Sul. **Revista Espacios**. v. 37, n 19, 2016.

AGUSTINI, D; EMILIO JUNIOR, H. Produção de álcool de mandioca a partir de hidrólise enzimática natural. SynergismusScientifica, PatoBranco, v. 2, p. 1-4, 2007.

ALVES, A. A. C. Fisiologia da mandioca. In: Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. cap.7, p.138-169. 2006

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; HASHIZUME, T. Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 523 p

AYRES, M., AYRES JÚNIOR, M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. 2007. BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Ong Mamiraua. Belém, PA.

BALLIN, F. **Avaliação do desempenho produtivo de variedades de mandioca na região central do estado do Tocantins e o rendimento de etanol por meio de hidrólise enzimática**. 2017. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agroenergia) – Universidade Federal de Tocantins, Palmas, TO, 2017.

BILIARDERIS, C. G. The structure and interactions of starch with Food. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. vol. 69, p. 60 – 78, 1991.

BLÜMMEL, M.; ORSKOV, E.R. Comparison of “in vitro” gas production and nylon degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v.40, n.12, p.109-119, 1993.

CARVALHO, L. J. C. B. Pesquisador defende o etanol de mandioca para uso local. *Biocombustíveis sem Foco*, ano I, n. 1, Jan/2009.

CEREDA, M. P. Propriedades Gerais do Amido. São Paulo: Fundação Cargill, v.1 2002. 221 p. (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas).

COLLARES, R. M. Otimização do processo de hidrólise da Mandioca “in natura”, com o uso de enzimas amilolíticas e pectinolítica. 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria - RS, 2011.

COSTA, M. R. Estudo comparativo das hidrólises ácida e enzimática de matérias primas amiláceas visando à obtenção de etanol. 2010. 48f. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) - Programa de pós-graduação em engenharia química, Universidade Federal de Alagoas, 2010.

CRUZ, J. L.; ALVES, A. A. C.; CLAIN, D. R. L.; ELLIS, D. D.; MORGAN, J.A. Elevated CO<sub>2</sub> concentrations alleviate the inhibitory effect of drought on physiology and growth of cassava plants. *Scientia Horticulturae*. Vol. 210. 2016. Pages 122-129. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816303442>>. Acessado em: 25/06/18.

ERENO, D. Etanol de mandioca doce. **Revista Fapesp**. n. 144. Fev/ 2008. Disponível em <[http://www.revistapesquisa.fapesp.br/site\\_teste/extras/imprimir.php?id=3457&bid=1](http://www.revistapesquisa.fapesp.br/site_teste/extras/imprimir.php?id=3457&bid=1)>. Acesso em 21/03/2018.

FERRAZ, F. M.; BRUNI, A. T.; DEL BIANCHI, V. L. Performance of an anaerobic baffled reactor (ABR) in treatment of cassava wastewater. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.40, n.1, p.48-53, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FINGUERUT, J.; LEIMER, K.H.; LUCREDI, H.A.; ROSSELL, C.E.V. Estequiometria da fermentação alcoólica a partir do caldo de cana. Piracicaba: Copersucar, n. 12, p. 45-48, 1985 (Boletim Técnico Copersucar 35/85).

FUKUDA, C.; OTSUBO, A. A. Cultivo da mandioca na região centro sul do Brasil. Embrapa Mandioca e Fruticultura: Sistemas de Produção. 2003. Disponível em:<[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca\\_centrosul/index.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_centrosul/index.htm)>. Acesso em 5 nov. 2018.

GROSSMANN, J.; FREITAS, A. C. Determinação do teor de matéria seca pelo peso específico em raízes de mandioca. **Revista Agrônômica**, v. 160/162, n. 4, p. 75-80, 1950.

GROXKO, M. Mandioca. **Mandioca - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Paraná, Departamento de Economia Rural – DERAL, p.1-23, 2016.

ISMAIL, K. K. S.; AHMAD, A. A.; INBA, T.; KASIM, K. F.; DAUD, Z. M. 2008. Thermoenzymatic hydrolysis of cassava starch by  $\alpha$ -amilase and amyloglucosidase. In: Proceedings of MUCET. Malaysian Technical Universities on engineering and Technology, March 15-16, Malaysia. 2008.

JACKMAN, E.A. Alcohol industrial. In: BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. *Biotecnología básica*. Zaragoza: Acríbia, 1991. 577p.

JIANG, Q. et al. Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea L.* species. **Food Hydrocolloids**, v.29, n.1, p.35-41, 2012. Disponível em: <<http://www-sciencedirect.ez6.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0268005X12000239>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

KANTHACK, R. A. D.; FURLANETO, F. P. B.; Valle, T. L.; FELTRAN, J. C.; CHERANTE, M.; VIEIRA, J. M.; BONISSONI, K. C. Inovações, desafios e estrangulamentos na cultura da mandioca em São Paulo. In: Workshop sobre Tecnologias em Agroindústrias de Tuberosas Tropicais, 4, 2006, Botucatu. Anais... Botucatu: UNESP, 2006. p.25-45.

LEAL, M. R. L. V.; VALLE, T. L.; FELTRAN, J. C.; CARVALHO, C. R. L. Outrasmatériasprimasparaetanol. In: CORTEZ, L. A. B. (Org.). *Bioetanol de cana de açúcar*. São Paulo: Blucher, 2010. p. 520-539.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2000, 839 p.

LEONEL, M. e CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, p.65-69. 2002.

LEONEL, M.; TORRES, L. M.; GARCIA, E. L.; SANTOS, T. P. R. dos; MISCHAN, M. M. Production of alcoholic beverage from ginger: Study of fermentation process and final product quality. *British Journal of Applied Science & Technology*, v. 9, n. 4, p. 318-326, 2015.

LEOTARD, G.; DUPUTIÉ, A.; KJELLBERG, F.; DOUZERY, E. J. P.; DEBAIN, C.; GRANVILLE, J. J. DE.; MCKEY, D. Phylogeography and the origin of cassava: New insights from the northern rim of the Amazonian basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.53, p.329-334, 2009.

LIMA U. A; BASSO, L. C; AMORIM, H. V. Produção de etanol. In: Lima, U.A. (Ed.). *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. Blucher, São Paulo; 2001.

MENEZES, T. J. B. Etanol o combustível do Brasil. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. 229 p. 1980.

MORAES, D.B. Produção de Etanol a partir da fração amilácea de *Oryza sativa* por hidrólise enzimática. Palmas, 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agroenergia), Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, 2016.

MARCON, M. J. A.; AVANCINI, S. R. P.; AMANTE, E. R., Propriedades químicas e tecnológicas do amido de mandioca e do polvilho azedo. 101 p, Ed. Da UFSC, Florianópolis, 2007.

NOVOZYMES. Ficha técnica: AMG 300L. 2002. Disponível em:<<https://www.emporiodolupulo.com.br/upload/download/index/upload/34/>>. Acesso em: 5 agos. 2017.

NOVOZYMES. Ficha de Informação do produto: Liquozyme Supra 2.2x. Araucaria – PR, 2015. Disponível em < <https://www.novozymes.com/pt> > Acesso em: 5 agos. 2017.

ONU. População mundial atingiu 7,6 bilhões de habitantes. 2017.Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2017/06/1589091-populacao-mundial-atingiu-76-bilhoes-de-habitantes>>. Acessado em: 20/04/2018.

PACHECO, T. F.; CARVALHO, F. B. P.; POLETTO, C. M. e BELÉM, S. Produção de etanol utilizando mandioca açucarada e híbrida. XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos.Caxias do Sul, 2011. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/39409/1/Sinaferm-Mandioca-Thalyta-et al.pdf>>. Acessado em: 15/07/17.

PEDUZZI, P. Produção de etanol a partir da mandioca pode ser mais barato que cana. Agência Brasil. 2009. Disponível em < <http://www.jornaldaciencia.org.br/Detail.jsp?id=61939> >. Acesso em 20 mar. 2018

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. Microbiologia. São Paulo: MacGRAW-HILL, 1980. 547 p.



PINTO, M. P. Otimização dos processos de produção de xaropes de glucose e dextrose monohidratada. Dissertação de Mestrado, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2009.

RETTORI, D.; VOLPE P. L. O. Microcalorimetria: Uma técnica aplicável ao estudo do diauxismo da *Saccharomyces cerevisiae*. *Quím. Nova* [online]. 2000, vol.23, n.2, p.257-261. Disponível em :<<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422000000200018>>. Acesso em 16 de dez. 2018.

RIBEIRO, R. M.; DIAS, L. A. S.; BERGER, P. G.; DIAS, D. C. F. S. **Agroenergia na mitigação das mudanças climáticas globais, na segurança energética e na promoção social**. Viçosa: UFV, 2011.

RIZATO, M.; FELIPE, F. I. Potencial econômico da produção de álcool de mandioca no norte do Brasil. In: XIII congresso brasileiro da mandioca, 2009.

RÓS, A. B.; HIRATA, A. C. S.; NARITA, N. Produção de raízes de mandioca e propriedades química e física do solo em função de adubação com esterco de galinha. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 247-254. 2013.

SÁNCHEZ, T. Evaluación de 6000 variedades de yuca. Cali: CIAT, 2004. (Programa de mejoramiento de yuca).

SILVA, R. M.; FERREIRA, G. F.; SHIRAI, M. A.; HAAS, A.; SCHERER, M. L.; FRANCO, C. M. L.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amidos modificados com pergamanato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n.1, p. 66-77, 2008.

SORAPIPATANA, C.; YOOSIN, S. Life cycle cost of ethanol production from cassava in Thailand. *Renewable and sustainable energy reviews*, n. 15, p. 1343 – 1349. 2011.

SOUZA, L. da S.; FIALHO, J. de F. Cultivo da mandioca para a região do cerrado: irrigação. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. Disponível em: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioc\\_a\\_cerrados/irrigacao.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioc_a_cerrados/irrigacao.htm). Acesso em: 04/05/2018.

TAPARELLI, J. R.; Modificação química do amido de mandioca e estudo da sua aplicação em revestimento couché. 2005, 101p. Dissertação (Mestrado – Faculdade de Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

TORRES, L. M.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise do amido de gengibre. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1327-1332, 2012.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetic of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 185-197, 1994.

ULIBARRI, R. L.; HALL, G. M. Saccharification of cassava flour starch in a hollow-fiber membrane reactor. *Enzyme and microbial technology*, n. 21, p. 398 – 404. 1997.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M.; Pectinase: Aplicações industriais e perspectivas; *Quím. Nova*, Vol. 30, Nº2, 388 – 394, 2007.

VALLE, T. L.; FELTRAN, J. C.; CARVALHO, C. R. L. Mandioca para a produção de etanol. Instituto Agronômico (IAC) Campinas. 2008.

VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. P.; Fermentação Alcoólica de raízes tropicais. In: Cereda, M. P., et. al. (coord.). **Tecnologias, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, Vol 3, Fundação Cargill, 2003.

YULIANA, M. et al. Defatted cashew nut shell starch as renewable polymeric material: Isolation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.87, n.4, p.257-2581, 2012. Disponível em: <<http://www-sciencedirect.ez6.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S014486171101037X>>. Acesso em: 4 nov. 2018.

WOICIECHOWSKI, A. L.; NITSCHKE, S.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. C. Acid and enzymatic hydrolysis to recover reducing sugars from cassava bagasse: an economic study. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Vol. 45, n.3: pp 393-400. 2002.

ZANIN, G. M. et al. Brazilian bioethanol program. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.84-86, p.1147-1161, 2000.