

MARTA CRISTINA DE MENEZES PAVLAK

**ESTUDO DA FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO DE BATATA-DOCE
UTILIZANDO DIFERENTES LINHAGENS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

PALMAS

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARTA CRISTINA DE MENEZES PAVLAK

**ESTUDO DA FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO DE BATATA-DOCE
UTILIZANDO DIFERENTES LINHAGENS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins para a obtenção do Título de Mestre em Agroenergia

Orientadora: D. Sc. Solange Cristina Carreiro
Área de Concentração: Ciências Agrárias

PALMAS

2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Palmas**

P338e Pavlak, Marta Cristina de Menezes
Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. / Marta Cristina de Menezes Pavlak – Palmas, 2010.
61 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Mestrado em Agroenergia, 2010.
Orientadora: Prof.ª. Dr.ª. Solange Cristina Carreiro.

1. Etanol. 2. Amido. 3. Energia Renovável. 4. Rendimento. 5. Eficiência.
I. Título.

CDD 660.62

**Bibliotecário: Paulo Roberto Moreira de Almeida
CRB-2 / 1118**

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS –A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizada 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.

Marta Cristina de Menezes Pavlak

ESTUDO DA FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO DE BATATA-DOCE
UTILIZANDO DIFERENTES LINHAGENS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins para a obtenção do Título de Mestre em Agroenergia

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada a ____/____/____ considerou o candidato (a):

Aprovado (a) **Reprovado (a)**

Prof. Dr. Márcio Antônio da Silveira
(Membro Interno)

Prof. Dra. Paula Benevides de Moraes
(Membro Externo)

Prof. Dra. Solange Cristina Carreiro
(Presidente)

AGRADECIMENTOS

E lá se vão mais dois anos. Nesse tempo, estive cercada por pessoas que me ensinaram muitas coisas e colaboraram para que pudesse chegar até aqui... Quero revelar meus sinceros agradecimentos aos que me fizeram sorrir, chorar, sentir, viver... crescer...

À minha família, pela base sólida que sempre me deu força para encarar a vida de frente. A minha mãe por cumprir este papel magistralmente e pelo amor intenso e incondicional. Ao meu pai por ser tão pai em minha vida, pelos pés no chão e pelo carinho sempre.

À Nika, à Dinda e à Mariana, que nunca deixaram de me encorajar nessa difícil caminhada.

À professora Solange, que foi mais que orientadora, foi conselheira e acima de tudo, exemplo de profissional.

Aos demais professores, pela disponibilidade em transmitir o conhecimento.

Aos amigos de sempre, Thiago, Janaína e Luciana. Impossível imaginar essa caminhada sem vocês.

Às maravilhosas amigas que ganhei durante o mestrado: Isis e Samira.

Às “Emilys” do laboratório, que estavam sempre por ali pra dar uma mãozinha: Agelles, Ana Letícia, Ju e Rose.

Aos amigos “twitteiros” pelo riso garantido que já ajudou a aliviar muita tensão.

A todos os funcionários do LASPER pela ajuda na condução do experimento.

À empresa Fermentec, em especial à Silene Cristina Paulillo, pelo apoio na análise das amostras e pelos inúmeros e-mails respondidos.

À CAPES, pelo apoio financeiro durante parte do programa de mestrado.

Ao CEULP/ULBRA pela confiança depositada em mim; aos coordenadores, colegas de trabalho e amigos que fiz na Instituição, por sempre terem uma palavra de apoio e de conforto.

Enfim, a todos que passaram pela minha vida até aqui, levando um pouco de mim e deixando um pouco de si... Dividam comigo os méritos desta conquista, porque ela também pertence a vocês.

Tal como nas bebidas alcoólicas, há duas maneiras de obter ideias: por fermentação ou por destilação.(...) A nossa época é de fermentação. Aproveitem enquanto dura.

(Rui Tavares)

RESUMO

A preocupação ambiental tem se somado à redução dos estoques e à alta dos preços dos combustíveis fósseis para valorizar as fontes de energia renováveis e menos poluentes. O etanol é o mais adequado substituto para os combustíveis derivados do petróleo, sendo diversas as fontes para sua obtenção. Qualquer matéria prima com um alto conteúdo de açúcar, ou de ingredientes que se convertam em açúcares como o amido ou celulose, pode ser utilizada para produzir etanol. Entre as fontes amiláceas, destaca-se a batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)). O desempenho do processo fermentativo é afetado por diversos fatores, entre eles pela linhagem de levedura que o executa e pela forma de condução do processo. Esse trabalho objetivou avaliar o rendimento da fermentação do mosto hidrolisado de uma cultivar de batata-doce utilizando três linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, além de avaliar o efeito de três formas de condução do processo fermentativo no rendimento, na eficiência e na viabilidade da levedura ao final do processo. Dos parâmetros avaliados, apenas a viabilidade celular apresentou diferença significativa. A linhagem PE-2 apresentou maior viabilidade (99,3%). Já as linhagens JP-1 e de panificação mostraram menor viabilidade celular, 98,1% e 98,3%, respectivamente, não diferindo entre si estatisticamente. Na interação entre os parâmetros avaliados, as médias variaram entre 97,1% e 99,5%. O processo de fermentação em batelada simples pode ser indicado para qualquer das linhagens. A linhagem PE-2 seria a mais indicada para a fermentação do hidrolisado de batata-doce, pois apresentou rendimento superior em relação às outras linhagens estudadas.

Palavras-chave: etanol; amido; energia renovável; rendimento; eficiência.

ABSTRACT

The environmental concern has been added to the reduction and rising prices of fossil fuels for enhance renewable and less polluting energy. Ethanol is the most suitable substitute for oil-based fuels and there are several sources for its achievement. Any raw material with a high content of sugar or ingredients that will turn into sugar such as starch or cellulose can be used to produce ethanol. The sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) stands out among the sources of starch. The performance of the fermentation process is affected by several factors, including the yeast that performs and the way in leading the process. The aim of this work was to evaluate the efficiency of the fermentation of a hydrolyzed must of sweet potato using three strains of *Saccharomyces cerevisiae*. It was also evaluated the effect of three forms of the processes conduction in the fermentation yield, efficiency and viability of yeast at the end process. Among the parameters evaluated, only the cell viability showed significant difference. The strain PE-2 showed higher viability (99.3%). The JP-1 strains and the baker yeast showed lower cell viability, 98,1% and 98,3%, respectively, with no statistically differences between them. In the interaction between the evaluated parameters, the mean ranged between 97.1% and 99.5%. The fermentation process in batch is indicated for any of the strains. The strain PE-2 would be the most suitable for the fermentation of the hydrolysed sweet potato, because it showed superior performance compared to the other studied strains.

Key words: ethanol; starch; renewable energy; yield; efficiency.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. BIOCOMBUSTÍVEIS	14
2.2. MATÉRIAS-PRIMAS PARA PRODUÇÃO DE ETANOL.....	17
2.3. ETANOL DE AMILÁCEOS	21
2.3.1. Amido	22
2.3.2. Hidrólise e sacarificação	23
2.4. PROCESSO FERMENTATIVO	24
2.4.1. Bioquímica da fermentação	25
2.4.2. Fatores que afetam a fermentação	27
2.4.3. Microrganismos fermentadores	28
2.4.4. Formas de condução da fermentação	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1. LINHAGENS DE LEVEDURA	35
3.2. PREPARO DO INÓCULO	35
3.3. PREPARO DO MEIO DE FERMENTAÇÃO.....	36
3.4. CONDUÇÃO DA FERMENTAÇÃO	38
3.5. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	38
3.6. CÁLCULO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS	39
3.6.1. Fator de conversão de substrato em etanol ($Y_{p/s}$)	39
3.6.2. Eficiência do processo fermentativo	40
3.7. DELINEAMENTO ESTATÍSTICO.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Evolução da produção nacional de etanol por safra.....	16
Figura 02. Produção mundial de etanol.....	16
Figura 03. Estrutura da amilose.....	22
Figura 04. Estrutura da amilopectina.....	22
Figura 05. Via metabólica da fermentação alcoólica por <i>S. cerevisiae</i>	26
Figura 06. Fluxograma de produção do etanol de batata-doce	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Resumo do quadro das análises de variância para viabilidade (%), rendimento (g/g), eficiência (%) e balanço de massa (L/ha) do processo fermentativo do hidrolisado de batata-doce	41
Tabela 02. Fator de conversão do substrato em etanol ($Y_{p/s}$) utilizando diferentes linhagens de <i>S. cerevisiae</i> e diferentes processos fermentativos	42
Tabela 03. Eficiência do processo fermentativo (%) utilizando diferentes linhagens de <i>S. cerevisiae</i> e diferentes processos fermentativos	43
Tabela 04. Balanço de massa da produção de etanol a partir do hidrolisado de batata-doce	45
Tabela 05. Viabilidade celular (%) das linhagens estudadas nos diferentes processos fermentativos	47

1. INTRODUÇÃO

Desde a primeira crise do petróleo, em 1970, e com o surgimento do Proálcool, a produção de biocombustíveis vem sendo cogitada como parte de uma solução duradoura para o problema energético mundial (SOUZA et al., 2008).

O etanol é o biocombustível que possui a tecnologia mais consolidada (MAPA, 2006) e é produzido principalmente a partir de fontes renováveis, por meio da conversão de açúcares ou de amido (SZWARC, 2008).

O Brasil, devido a sua grande variação territorial e diversificação climática, pode usufruir de diversas culturas, muitas delas com características para a produção de etanol (MARCOCCIA, 2007)

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) tem se apresentado como uma alternativa viável para a produção de etanol. Estudos na Universidade Federal do Tocantins apontam para produtividades variando de 120 a 199 litros de etanol por tonelada de raiz (SILVEIRA, 2008).

Grande parte do etanol produzido no Brasil é obtida da fermentação por *S. cerevisiae* (LIN & TANAKA, 2006). As linhagens utilizadas podem ser de panificação ou linhagens que tenham sido isoladas de processos fermentativos, selecionadas com base nas características de eficiência fermentativa.

As leveduras selecionadas têm sido utilizadas com excelentes resultados em muitos países, onde os produtos finais obtidos são de qualidade mais uniforme que os produzidos por fermentações espontâneas. Portanto, a seleção da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma fermentação completa, assim como para melhorar as características finais do produto (DEQUIN, 2001).

Outro aspecto importante durante a fermentação é o modelo de processo fermentativo utilizado. A escolha do processo mais adequado dependerá das propriedades cinéticas dos microrganismos e tipo de material a ser fermentado, além dos aspectos econômicos (CHANDEL et al., 2007).

Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo comparar o rendimento e a eficiência do processo fermentativo do mosto hidrolisado de batata-doce, utilizando três diferentes linhagens de *S. cerevisiae*, sendo duas linhagens

industriais e uma linhagem de panificação, bem como determinar a melhor forma de alimentação das dornas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIOCOMBUSTÍVEIS

A preocupação ambiental tem se somado à redução dos estoques e à alta dos preços dos combustíveis fósseis para valorizar as fontes de energia renováveis e menos poluentes. Nesse sentido, o Brasil tem muito a contribuir, pois possui uma matriz energética com 46% de fontes renováveis, num mundo que só utiliza 15% (MAPA, 2009).

Por isso, nos últimos anos, a conversão de biomassa em etanol combustível está recebendo atenção especial, sendo considerada a alternativa mais limpa de combustível líquido para os combustíveis fósseis. Avanços significativos têm sido feitos em relação à tecnologia da fermentação para produção de etanol (LIN & TANAKA, 2006).

O etanol é o mais adequado substituto para combustíveis derivados do petróleo. Conhecendo todos esses benefícios, o governo brasileiro, na década de 70, apoiou a produção de etanol através da criação do Proálcool (Programa Nacional do Álcool).

O Proálcool foi criado em 14 de novembro de 1975 pelo Decreto n° 76.593, quando, no período de um ano, os preços do petróleo mais do que triplicaram (OLIVEIRA, 2004). O objetivo do Programa era estimular a produção de etanol, visando o atendimento das necessidades do mercado interno e externo e da política de combustíveis automotivos. De acordo com o Decreto, a produção do etanol oriundo da cana-de-açúcar, da mandioca ou de qualquer outro insumo deveria ser incentivada por meio da expansão da oferta de matérias-primas, com especial ênfase no aumento da produção agrícola, na modernização e ampliação das destilarias existentes e na instalação de novas unidades produtoras e armazenadoras (ANCIÃES et al., 1981).

Dados apresentados por Baccarin (2005) mostram a estagnação ocorrida entre os anos de 1986 e 1995, quando os baixos preços pagos aos produtores de etanol devido à queda brusca dos preços internacionais do petróleo impediram a elevação da produção interna do produto. Houve nessa época, inclusive, intenso debate sobre a continuidade do Proálcool. Essa combinação de desestímulo à

produção de etanol e de estímulo à sua demanda gerou a crise de abastecimento da entressafra 1989-90 (LEME, 2004).

Mais de trinta anos após o início do Proálcool, o Brasil vive agora uma nova expansão do mercado de etanol, com o objetivo de oferecer, em grande escala, o combustível alternativo. Com o crescimento nas vendas de veículos *flex-fuel*, que podem ser movidos à gasolina, etanol ou uma mistura dos dois combustíveis, o consumo de álcool hidratado voltou a aumentar, principalmente porque o preço desse combustível está bem abaixo do cobrado pela gasolina (DI GIULIO, 2006).

O Plano Nacional de Agroenergia apresenta uma proposta de Pesquisa, Desenvolvimento, Inovação e Transferência de Tecnologia para os anos de 2006 a 2011, para a geração de energia de biomassa no Brasil. O Plano aponta como principais fatores que tem impulsionado o desenvolvimento tecnológico para aproveitamento da biomassa energética as mudanças climáticas, a transição para uma nova matriz energética e a crescente demanda por energia.

Atualmente, cerca de 85% da produção mundial de biocombustíveis líquidos é representada pelo etanol. Os maiores produtores de etanol, Brasil e EUA, dão conta de quase 90% da produção mundial. O restante é produzido por países como Canadá, China e Índia (FAO, 2008).

A Figura 01 mostra que apesar do estancamento das vendas de veículos a bioetanol hidratado durante os anos 1990, a demanda desse biocombustível se manteve mais ou menos constante graças ao uso da mistura com gasolina, mantendo em operação as unidades produtoras em níveis relativamente estáveis até o começo da presente década, quando se iniciou o novo ciclo de crescimento (LEITE, 2009).

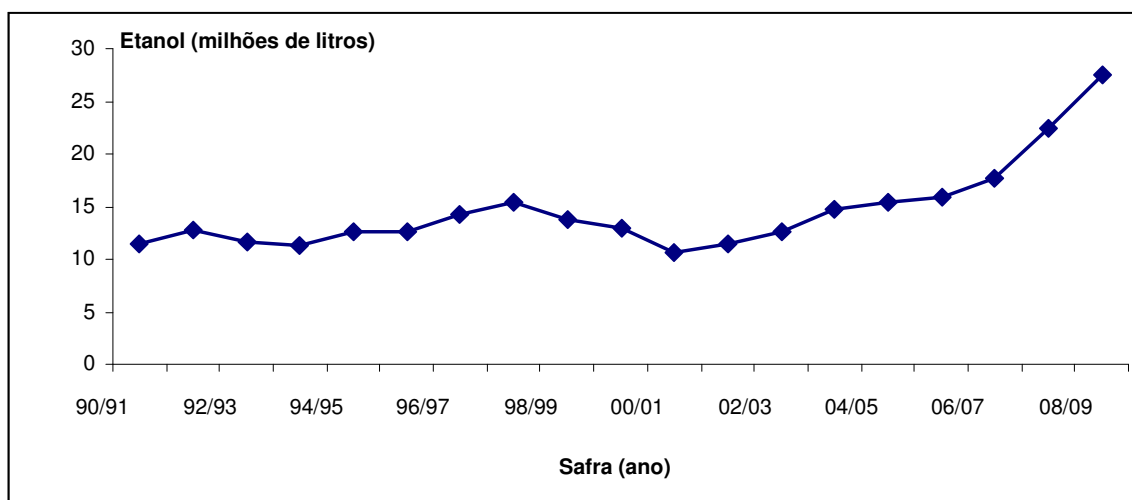


Figura 01. Evolução da produção nacional de etanol por safra

Fonte: MAPA (2009); ÚNICA (2009).

O mesmo efeito de estagnação nos anos 90 pode ser visualizado na Figura 02, que mostra a produção mundial de etanol entre os anos de 1975 e 2005. O novo ciclo de crescimento é notado após o ano 2000, momento em que medidas de incentivo à produção de etanol começaram a ser adotadas pelos Estados Unidos ou outros países, contribuindo para uma vertiginosa expansão da produção mundial de etanol (MASIERO & LOPES, 2008).

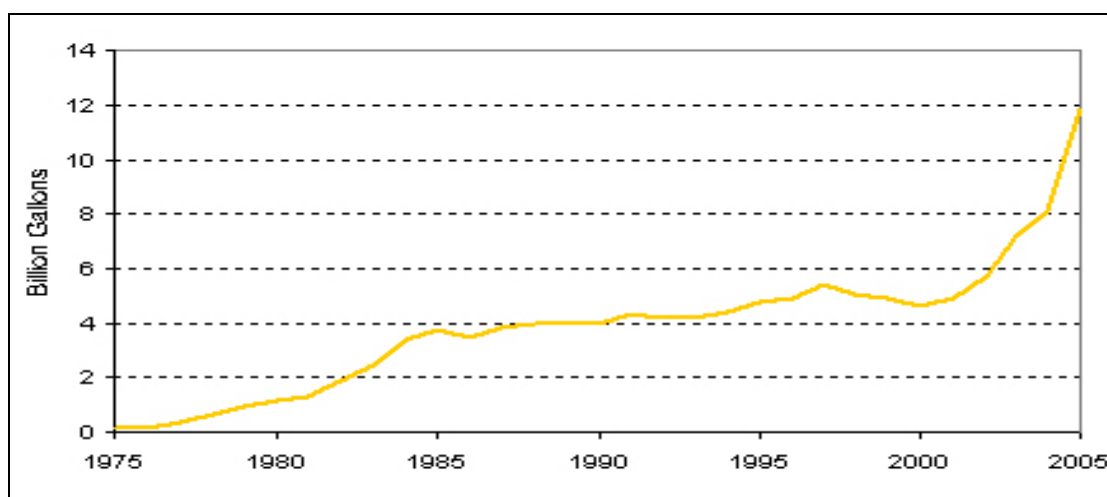


Figura 02. Produção mundial de etanol

Fonte: EARTHTRENDS, 2007

2.2. MATÉRIAS-PRIMAS PARA PRODUÇÃO DE ETANOL

Diversas são as fontes para obtenção de etanol. Qualquer matéria prima com um alto conteúdo de açúcar, ou de ingredientes que se convertam em açúcares como o amido ou celulose, pode ser utilizada para produzir etanol (FAO, 2008).

Há várias maneiras de classificar as matérias-primas para a produção de etanol. Pode-se classificá-las em matérias açucaradas, agrupando a cana, a beterraba açucareira, sorgo sacarino, milho sacarino, melaços, mel de abelhas e frutas; em matérias amiláceas e feculentas, agrupando grãos amiláceos, raízes e tubérculos feculentos como mandioca, batata-doce, babaçu; e em matérias celulósicas, incluindo palhas, madeiras, resíduos agrícolas e resíduos sulfíticos de fábricas de papel (STUPIELLO, 1982 apud SANTANA, 2007)

Entre as matérias-primas açucaradas, a cana-de-açúcar é a mais abundante e de baixo custo no mercado brasileiro, o que possibilita a produção de etanol em larga escala para diversos usos que variam desde o uso combustível até o consumo humano através da produção de cachaça (DORNELLES & RODRIGUES, 2006). A principal vantagem dos materiais açucarados é o fato de não necessitarem de nenhum tratamento anterior à fermentação, tornando o processo menos oneroso, ao contrário dos materiais amiláceos e lignocelulósicos, que requerem um pré-tratamento, a fim de serem convertidos a substratos fermentescíveis (SUN & CHENG, 2002).

Estima-se que, atualmente, em torno de 40% da produção mundial de bioetanol são oriundos da fermentação de açúcares originários de matérias-primas como cana-de-açúcar e beterraba; o restante vem de grãos como o milho, e uma pequena parte vem de fontes fósseis (gás natural e carvão) (LEITE, 2009).

Durante o Proálcool, a produção de cana-de-açúcar foi aperfeiçoada em diversos aspectos tecnológicos e econômicos, enquanto a produção de etanol de mandioca foi praticamente abandonada, sem maiores investimentos e estudos (SANTANA, 2007).

Com o objetivo de aperfeiçoar o processo fermentativo de caldo de cana para produção de etanol, alguns trabalhos foram desenvolvidos (DUARTE et al, 1996; TEIXEIRA et al, 1997; SILVA et al, 2006; LIMTONG et al, 2007).

A biomassa lignocelulósica é uma opção recente para obtenção de etanol. Tem recebido bastante destaque por não apresentar os entraves das outras matérias-primas, que esbarram em limitações como a expansão da área plantada, como no caso da cana-de-açúcar, e a competição com a produção de alimentos, como no caso de grãos e tubérculos (BASTOS, 2007).

Alguns autores (CHUNG & DAY, 2008; DAWSON & BOOPATHY, 2006) tem associado a possibilidade de produzir etanol a partir do bagaço da cana-de-açúcar, elevando o rendimento do processo tradicional de produção de etanol.

A estrutura básica da biomassa lignocelulósica consiste de três polímeros básicos: celulose (44%), hemicelulose (30%) e lignina (26%). Apenas os dois primeiros polímeros podem ser transformados em açúcares fermentescíveis e ainda não há tecnologia disponível para converter a lignina (BASTOS, 2007). O custo de produção do etanol de biomassa lignocelulósica é relativamente elevado e os principais desafios são o baixo rendimento e o alto custo do processo de hidrólise (SUN & CHENG, 2002).

Devido às condições empregadas nos pré-tratamentos térmicos e químicos da biomassa lignocelulósica, é originada uma série de compostos que podem atuar como inibidores potenciais tanto da hidrólise enzimática, quanto da fermentação. Os tipos de compostos tóxicos e suas concentrações em hidrolisados lignocelulósicos dependem tanto da matéria-prima, quanto das condições operacionais empregadas no pré-tratamento. Os produtos de degradação, que são potenciais inibidores da fermentação, se agrupam em três categorias: derivados furânicos (furfural e 5-hidroximetilfurfural - HMF), ácidos orgânicos fracos (como ácido acético) e derivados fenólicos (PALMQVIST & HAHN-HÅGERDAL, 2000).

A produção de etanol por fermentação de substratos amiláceos vem sendo objeto de pesquisas que buscam aperfeiçoar a conversão desses materiais de um modo mais rápido e a menores custos (SALLA, 2008). Segundo Gray et al. (2006), a grande quantidade de pesquisas privilegiando as fontes amiláceas se deve principalmente à presença dessa matéria-prima no cenário econômico norte-americano.

No Brasil, há inúmeros estudos sobre a produção de etanol a partir de mandioca (GATTÁS & DOIN, 1989; OSTROWSKI et al, 2006; CAMILI & CABELLO, 2007; SOARES et al., 2008; MACHADO & PEDROTTI, 2009). Há

ainda estudos no sentido de utilizar mais de um substrato no mesmo processo fermentativo, com o objetivo de aumentar o rendimento em etanol. Bringhenti et al. (2007), adicionaram ao resíduo da produção de farinha de mandioca, melaço de cana-de-açúcar, o que promoveu um aumento de 112% na produção de etanol, em relação ao substrato sem aditivo. Kosugi et al. (2009) avaliaram a possibilidade de fermentar além do amido da mandioca, a fibra de celulose presente no vegetal. Aproximadamente 75% do etanol produzido no Brasil é proveniente do caldo-de-cana, com rendimento próximo de 85 litros por tonelada de cana (GOLDEMBERG & LUGON, 2007).

Salla (2008) realizou uma análise das energias requeridas e liberadas para o sistema de produção de etanol a partir da mandioca, da cana-de-açúcar e do milho. A afirmação de que a mandioca consome menos energia do que a cana-de-açúcar e do milho, no processo de obtenção do etanol, se confirmou em todos os quesitos pesquisados, seja no tocante a produção agrônômica, ao processamento industrial ou às repercussões ambientais nos agroecossistemas de cultivo.

Entre as fontes amiláceas, destaca-se ainda a batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)), que apresenta alto teor de carboidrato na forma de amido e açúcares redutores que podem ser fermentados para a produção de etanol (VENTURINI FILHO & MENDES, 2003). Estudos realizados por Araújo et al (1978), durante o Proálcool, apresentaram rendimento de 158 litros de etanol por tonelada de raiz de batata-doce.

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) é originária das Américas Central e Sul, sendo encontrada desde a Pensínsula de Yucatam, no México, até a Colômbia. Relatos de seu uso remontam de mais de dez mil anos. É uma espécie dicotiledônea pertencente à família botânica *Convolvulaceae*, que agrupa aproximadamente 50 gêneros e mais de 1000 espécies, sendo que dentre elas, somente a batata-doce tem cultivo de expressão econômica (SILVA et al., 2008).

A batata-doce é cultivada em 111 países, sendo que aproximadamente 90% da produção é obtida na Ásia, apenas 5% na África e 5% no restante do mundo. Apenas 2% da produção estão em países industrializados como os Estados Unidos e Japão (WOOLFE, 1992). O maior país produtor de batata-doce é a China, com uma produção anual estimada em 100 milhões de toneladas (WHEATLEY & BOFU, 1999; FAO, 2008). No Japão, a batata-doce é utilizada

como matéria-prima para produção de amido comercial e amido para fabricação de xaropes de glicose e frutose.

Em 2008, o Brasil produziu 548,5 mil toneladas de batata-doce, com a região Sul respondendo pelo maior volume, 247 mil toneladas (IBGE, 2008). De acordo com a classificação da FAO (2008), o Brasil é o 16º maior produtor de batata-doce, com uma área plantada de 45.597 ha e rendimento médio estimado em 12,04 t/ha, sendo a região Nordeste a maior produtora de batata-doce no país, de acordo com dados do IBGE.

O potencial da batata-doce de produzir grandes quantidades de alimento a baixo custo e com baixo uso de insumos, de maneira sustentável, torna esta espécie particularmente interessante como opção para a agricultura familiar em todas as regiões do país (MONTEIRO et al., 2007).

Esses fatores aliados a algumas outras características agrônômicas contribuem para destacar as características favoráveis da batata-doce. Entre eles, pode-se citar: um ciclo curto de produção (4 a 5 meses), rusticidade no campo, adaptação às condições tropicais, possibilidade de produção em condições de solo de baixa a média fertilidade, e principalmente, baixo custo de produção (SOUZA et al., 2005).

Deste modo, a sua importância envolve, além da inclusão social da agricultura familiar, a possibilidade de diversificação na matriz agroenergética, e o uso de áreas poucos favoráveis às grandes culturas (SOARES et al., 2008).

Para a produção de etanol, em tese, é interessante o desenvolvimento de variedades que acumulem açúcares diretamente fermentescíveis na raiz, assim não necessitariam do processo de sacarificação (VALLE et al., 2009).

Estudos desenvolvidos na Universidade Federal do Tocantins (UFT) com clones de batata-doce apontam rendimentos entre 120 e 199 litros de etanol por tonelada de raiz (SILVEIRA, 2008). Tavares et al. (2007) observaram expressiva influência da produtividade agrícola da cultura na viabilidade da utilização da batata-doce, como matéria-prima para a produção de etanol. A produtividade agrícola dos clones de batata-doce estudados na UFT varia de 32,17 a 65,50 toneladas por hectare, valores bem superiores aos registrados pelo IBGE (2008), o que aponta para a utilização viável da batata-doce desenvolvida nestes estudos para produção de etanol.

2.3. ETANOL DE AMILÁCEOS

Para produzir etanol a partir do amido que é necessário romper as ligações entre as unidades de glicose, que pode ser convertido em etanol por leveduras (CARDONA & SÁNCHEZ, 2007).

2.3.1. Amido

O amido é o segundo polímero renovável mais abundante na natureza. É barato e totalmente biodegradável, composto apenas por unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e α -1,6 (SOARES, 2008).

Depois dos açúcares mais simples (sacarose, glicose, frutose, maltose), o amido é o principal carboidrato que os vegetais superiores sintetizam pelo processo de fotossíntese. Dentre as matérias-primas para sua extração destacam-se as raízes e tubérculos, como a mandioca e a batata, e os cereais como o milho, o trigo e o arroz (CARVALHO et al., 2002). A fórmula química é representada por $(C_6H_{10}O_5)_n$.

O amido é composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: amilose e amilopectina. Grande parte da sua funcionalidade está ligada a estas duas macromoléculas, assim como a organização física das mesmas dentro da estrutura granular (BILIADERIS, 1991). A proporção entre amilose e amilopectina é variável com a fonte botânica, o que irá conferir características específicas ao amido.

O teor de amilose na batata-doce varia de 20 a 25%, dependendo da variedade considerada (GONÇALVES, 2007; VIEIRA, 2004).

A Figura 03 mostra a estrutura da amilose. A amilose é formada por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4 que lhe dão configuração retilínea (LIMA et al., 2001).

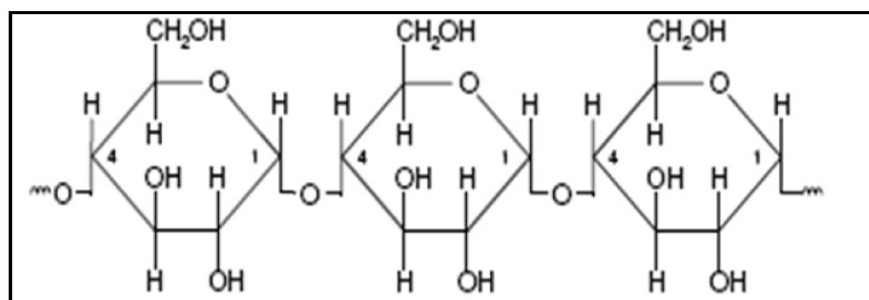


Figura 03. Estrutura da amilose

Fonte: CONTRERAS et al. (2008)

Já a amilopectina, como pode ser visualizado na Figura 04, é um polímero de maior peso molecular, em que as moléculas de glicose em ligações α -1,4 e α -1,6 proporcionam configuração espacial ramificada (LIMA et al, 2001).

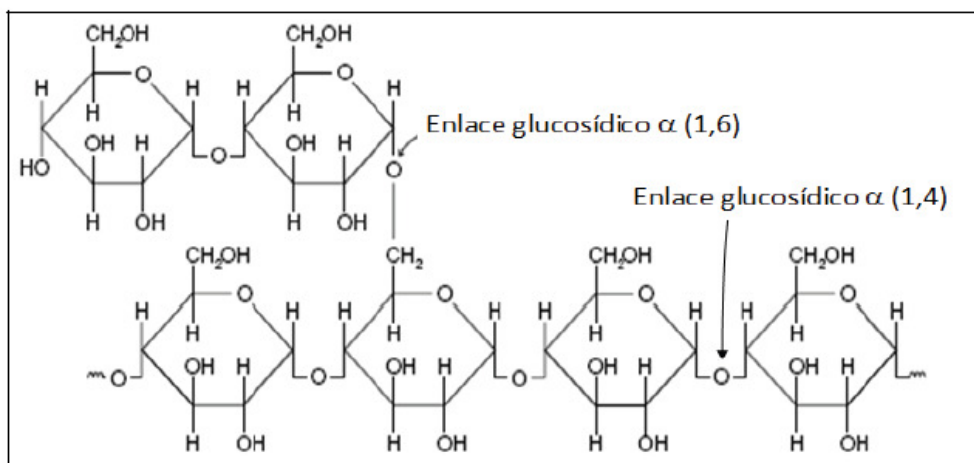


Figura 04. Estrutura da amilopectina

Fonte: CONTRERAS et al. (2008)

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria. Quando a temperatura da suspensão é maior que a força de ligação de hidrogênio, o grânulo de amido começa a inchar irreversivelmente e ocorre a geleificação. A geleificação é o primeiro passo para o processo de hidrólise, pois as enzimas atacam muito lentamente o amido granular (CEREDA & VILPOUX, 2003).

Vieira (2004) observou que os grânulos de amido de batata-doce apresentam formato arredondado e poligonal, com diâmetro médio variando de 20,3 a 26,2 μm .

2.3.2. Hidrólise e sacarificação

Para que ocorra a conversão do amido em etanol é necessário que este seja transformado em açúcares mediante o processo de hidrólise.

Os amidos podem ser hidrolisados por via química ou por via enzimática. Os hidrolisados por enzimas são os mais importantes amidos modificados comerciais. A hidrólise enzimática vem sendo preferida nos estudos atuais, devido ao caráter fortemente poluidor da hidrólise ácida. Porém, além do investimento inicial, a tecnologia enzimática exige mão de obra mais especializada, assim como laboratórios e análises mais sofisticados (SUMERLY et al., 2002).

Os processos enzimáticos são mais eficientes e não-poluentes, sendo amplamente empregados nos países mais desenvolvidos. Com a evolução da microbiologia e da química orgânica, tornou-se possível a obtenção de enzimas, principalmente de origem fúngica, as quais atuam sobre os amidos com a propriedade de convertê-los em glicose (MACEDO, 1993).

As enzimas são os agentes mais importantes nas reações de hidrólise. As enzimas amilolíticas pertencem à categoria das enzimas que catalisam as reações de hidrólise, e mais particularmente, à categoria das enzimas que catalisam as reações de amido (CEREDA & VILPOUX, 2003).

As enzimas amilolíticas podem ser classificadas de acordo com sua ação, sendo as mais utilizadas a α -amilase e amiloglucosidase.

A α -amilase é classificada como endo-enzima, por cortar ao acaso as ligações glicosídicas no interior da molécula, catalisando apenas a hidrólise das ligações α -1,4 do amido, transformando-o em α -dextrinas de alto peso molecular. A ação da α -amilase sobre a amilose produz apenas dextrinas. A α -amilase é considerada uma enzima liquidificante, porque reduz drasticamente a viscosidade de pastas geleificadas de amido (SUMERLY et al., 2002).

A amiloglucosidase é uma enzima liquidificante e sacarificante, que hidrolisa completamente o amido em glicose a partir de uma extremidade não redutora. É a única capaz de hidrolisar ao mesmo tempo as ligações α -1,4 e α -1,6. O resultado da conversão enzimática do amido por amiloglucosidase é a transformação total em unidades de glicose (CARVALHO et al., 2002).

Segundo Cereda & Vilpoux (2003) para que as enzimas possam ser empregadas com o máximo de desempenho, devem existir algumas condições, tais como:

- Especificidade: Para cada fase da reação, há necessidade de apenas um tipo de enzima;

- pH adequado: Todas as enzimas são sensíveis às variações da concentração hidrogeniônica (H^+) do meio. Existe um pH no qual a atividade enzimática é máxima, que pode ser básico ou ácido em função da enzima. O pH ótimo de uma enzima não é obrigatoriamente igual ao pH do seu meio natural;

- Temperatura controlada: Como para o pH, as enzimas têm uma temperatura ou uma faixa de temperatura na qual a atividade é máxima. Em geral, é preferível usar enzimas que suportam alta temperatura para permitir aumento da cinética da reação e proteger o meio contra contaminações microbianas.

- Unidade da atividade enzimática: A unidade internacional de atividade enzimática, o katal (kat), foi definido como a quantidade de enzima que transforma um mol de substrato por segundo, sob condições experimentais padrão. Para uma unidade menor usa-se a quantidade de enzima que transforma μ mol de substrato por minuto. Apesar desta normatização internacional, cada fabricante de enzima define as próprias unidades em condições experimentais particulares.

O amido de batata-doce quando comparado a outras tuberosas, apresenta elevada suscetibilidade enzimática (VIEIRA, 2004).

Para simplificar o processo fermentativo por eliminação da etapa de sacarificação, inúmeras linhagens de *S. cerevisiae* tem sido geneticamente modificadas para conter os genes responsáveis pela produção de glicoamilase e α -amilases. Porém, a habilidade desses microrganismos em decompor o amido é insatisfatória devido ao limite de secreção das enzimas amilolíticas (SHIGECHI, 2004)

2.4. PROCESSO FERMENTATIVO

Em termos de tecnologia fermentativa, desde o início do Proálcool até o presente obtiveram-se avanços significativos no rendimento do processo de

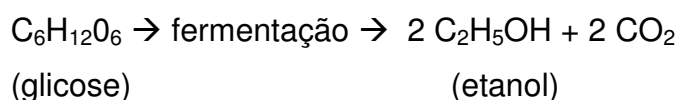
transformação dos açúcares em etanol (82% do máximo estequiométrico, 0,511 gramas de etanol por grama de açúcares redutores totais como glicose, em 1970 para 91,2% em 1999, estável até hoje). Houve ganho no teor alcoólico do vinho final (de em torno de 6ºGL para em torno de 8,5ºGL) e ganhos de produtividade (redução do tempo de fermentação de em torno de 16 horas para 8 horas) (EEL/USP, 2006).

Após a hidrólise do material amiláceo, tem início a fermentação alcoólica, que é o processo bioquímico, que ocorre no citoplasma da levedura alcoólica, responsável pela transformação do açúcar em etanol (CEREDA & VILPOUX, 2003). Esse processo se desenvolve em condições de anaerobiose, ou seja, em ausência de oxigênio livre (MARAFAANTE, 1993).

2.4.1. Bioquímica da fermentação

Na fermentação alcoólica, a transformação de um mol de glicose (180 g) em etanol e CO₂, libera uma quantidade de energia equivalente a 56 kcal, das quais aproximadamente 40 kcal são desprendidas com o oxigênio, o calor restante (16 kcal) é armazenado como energia química na forma de ATP. Por esta razão é que, durante o processo de fermentação, há uma elevação de temperatura, obrigando assim o emprego de refrigeração para manter a temperatura na faixa ótima para a atividade da levedura alcoólica.

De forma simplificada, a estequiometria da fermentação alcoólica é representada como segue:



Do ponto de vista bioquímico, a fermentação consiste na degradação da glicose em etanol. Esta glicose é obtida, no caso de materiais amiláceos, pela hidrólise do amido, e entra na via glicolítica. Por uma seqüência de reações, conhecida como glicólise (Figura 05), a glicose é convertida em piruvato. Em leveduras ocorre a formação de etanol a partir do piruvato por duas etapas. A primeira consiste na sua descarboxilação para formar acetaldeído e CO₂. Esta

reação é catalisada pela enzima piruvato descarboxilase. Na segunda reação, o acetaldeído é reduzido a etanol pela ação da enzima álcool desidrogenase I (ADH1) (LEHNINGER, 2000).

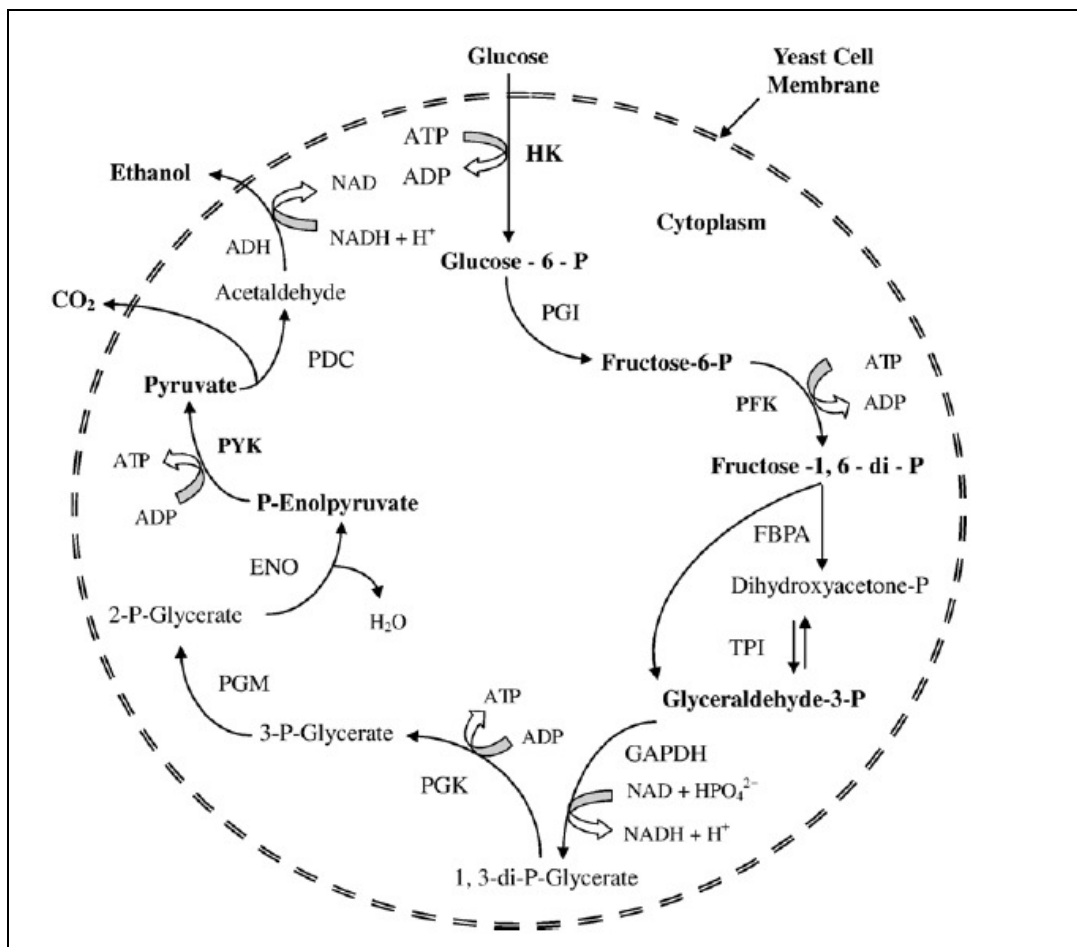


Figura 05. Via metabólica da fermentação alcoólica por *S. cerevisiae*

Abreviações: HK: hexoquinase, PGI: fosfoglucoisomerase, PFK: fosfofrutoquinase, FBPA: frutose bifosfato aldolase, TPI: triose fosfato isomerase, GAPDH: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, PGK: fosfoglicerato quinase, PGM: fosfogliceromutase, ENO: enolase, PYK: piruvato quinase, PDC: piruvato descarboxilase, ADH: álcool desidrogenase.

Fonte: BAI et al. (2008)

Segundo Marafante (2003), na fermentação pode-se distinguir basicamente três fases principais: preliminar, intermediária e final.

A fase preliminar é caracterizada por um período em que a levedura apresenta pouca atividade, tanto de multiplicação como de produção de etanol. A duração desta fase é variável de acordo com o processo de fermentação, podendo durar de 3 horas a meia hora, ou mesmo ser nula.

Já na fase intermediária ocorre uma grande dissipação de energia, com conseqüente produção de etanol, CO₂ e aumento do número de células de levedura. Esta fase pode durar de 6 a 18 horas, dependendo da concentração inicial e atividade do fermento, quantidade e qualidade dos sais minerais de suplementação, concentração de açúcar do mosto, temperatura, bem como do nível de contaminação.

A fase final é a fase em que praticamente todo o açúcar já foi transformado em etanol e biomassa, onde a multiplicação da levedura é quase nula e a produção de etanol é muito pequena. A duração deste período é também variável com os fatores mencionados para a fase intermediária, mas pode estar entre 2 e 6 horas.

2.4.2. Fatores que afetam a fermentação

Dentre os diversos fatores que afetam a fermentação, Lima et al. (2001) citam a temperatura, o pH, a presença de inibidores, nutrição mineral e orgânica, concentração de açúcares, e a possibilidade de contaminação bacteriana.

A temperatura ótima para a produção industrial de etanol situa-se na faixa entre 26°C a 35°C. As altas temperaturas de fermentação favorecem a contaminação bacteriana, o aumento do tempo de fermentação e o estresse da levedura.

As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de pH, sendo adequadas as entre 4,0 e 5,0. A tolerância à acidez é uma característica importante para as leveduras industriais.

O processo fermentativo pode ser inibido não só pelos seus próprios produtos, como o etanol, como por diferentes substâncias que podem estar presentes no mosto. Assim, alguns minerais, como potássio e cálcio, podem se apresentar em quantidade excessiva, acarretando efeitos negativos. Recentemente, o alumínio foi identificado como elemento estressante para a levedura, acarretando queda da viabilidade celular.

As leveduras exigem uma fonte de carbono elaborada – glicose ou outro açúcar – que fornece a energia química necessária. Algumas vitaminas, como tiamina e ácido pantotênico, também são exigidas. O meio deve, igualmente,

fornecer nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em menor quantidade.

WOOLFE (1992) apresenta valores de composição média da batata-doce, onde estão presentes alguns minerais que podem colaborar no processo fermentativo, como por exemplo, cálcio (32 mg/100g) e fósforo (39mg/100g).

Aumentando-se a concentração de açúcares, aumenta-se a velocidade de fermentação, a produtividade e, dentro de certos limites, acarreta menor crescimento da levedura. Entretanto, elevado teor de açúcares acarreta um estresse osmótico da levedura. Portanto, dependendo do processo de fermentação, existe uma faixa considerada ideal.

A contaminação bacteriana, principalmente de *Lactobacillus* e *Bacillus*, está sempre presente, e dependendo de sua intensidade, compromete o rendimento do processo fermentativo (LIMA et al., 2001), pois desses microrganismos resultam a ocorrência de fermentações secundárias como láctica, acética, dextrânica e butírica (VENTURINI FILHO & MENDES, 2003).

Oliva-Neto & Yokoya (1994, apud CHERUBIN, 2003) encontraram uma relação negativa causada pela presença de *L. fermentum* durante a fermentação alcoólica em processo de batelada alimentada. Por meio da comparação dos resultados apresentados do 2º e do 17º ciclo, houve aumento da contaminação bacteriana e o rendimento fermentativo foi reduzido de 92% para 49%.

2.4.3. Microrganismos fermentadores

A utilização de microrganismos requer cuidados, pois esses são extremamente sensíveis à variações ambientais do seu meio fermentativo, tais como temperatura, concentração de substrato e produto, variação de pH, entre outros fatores (MANTOVANELI, 2005). A temperatura ótima para a fermentação é de 5-10°C acima do ótimo para o crescimento da levedura, que se encontra na faixa de 25-30°C (WATSON, 1987 apud MALTA, 2006).

O desempenho do processo fermentativo é muito afetado pelo tipo de levedura que o executa. As leveduras são os microrganismos mais importantes na obtenção de etanol por via fermentativa. O crescimento destas leveduras durante a fermentação é influenciado por diferentes fatores como pH, concentração de

nitrogênio e açúcar, conteúdo de etanol e ainda pela temperatura de fermentação (HEARD & FLEET, 1988).

Grande parte do etanol produzido no Brasil é obtida da fermentação por *Saccharomyces cerevisiae*, por ser um gênero de levedura reconhecido como seguro (*Generally Recognized as Safe* - GRAS). Porém, metaboliza apenas açúcares simples, como sacarose, glicose e frutose (FREITAS, 1999), o que justifica a necessidade das etapas de hidrólise e sacarificação, quando a matéria-prima é rica em amido. A produção de etanol a partir de açúcares derivados de amido e sacarose foi comercialmente dominada pela levedura *S. cerevisiae* (LIN & TANAKA, 2006). Devido a sua capacidade fermentativa, é utilizada na indústria de panificação, na produção industrial de cervejas, vinhos, aguardentes e outras bebidas fermentadas e na produção de etanol carburante (NAGASHIMA, 1990).

Saccharomyces cerevisiae, pertencente ao filo Ascomycota, apresenta-se predominantemente na forma unicelular, com células tipicamente esféricas ou ovais, não formando micélios. Possui reprodução assexuada, geralmente por brotamento (TORTORA *et al.*, 2002). É um aeróbio facultativo, ou seja, tem a habilidade de se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose (ausência de oxigênio molecular). Os produtos finais da metabolização do açúcar irão depender das condições ambientais em que a levedura se encontra. Assim, enquanto uma porção do açúcar é transformada em biomassa, CO₂ e H₂O em aerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO₂ em anaerobiose (LIMA *et al.*, 2001).

O objetivo primordial da levedura, ao metabolizar anaerobicamente o açúcar é obter energia (ATP), que será empregada na realização de diversos trabalhos fisiológicos e biossínteses, necessários à manutenção da vida, crescimento e multiplicação, para perpetuar a espécie. O etanol e o CO₂ resultantes se constituem, tão somente, de produtos de excreção, sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose (LIMA *et al.*, 2001).

Apesar de leveduras geneticamente modificadas para apresentar alta eficiência em fermentação (LALUCE & MATTON, 1984; LEE *et al.*, 2001; KNOX *et al.*, 2003; TAVARES, 2005) e que possam metabolizar todas as formas de açúcares, reduzindo os custos de operação estarem disponíveis desde a década de 1980, essas são muitas vezes substituídas no ambiente industrial por leveduras selvagens mais robustas que contaminam o mosto em fermentação

(WHEALS et al., 1999). Na década de 1990, foi adotada uma estratégia alternativa que consistiu na seleção entre os contaminantes de leveduras selvagens entre aquelas que combinaram alta eficiência de fermentação com persistência prolongada no sistema. Nos últimos anos, essas estirpes têm sido amplamente adotadas pelas indústrias. Um dos exemplos mais bem-sucedidos é a linhagem PE-2 (BASSO et al. 2008), atualmente usado por 30% das destilarias brasileiras, gerando 10% do bioetanol mundial.

Dequin (2001) sugere a utilização de leveduras selecionadas para otimizar o processo fermentativo, o que tornará o produto final mais competitivo no mercado. Além disso, leveduras selecionadas melhoram os parâmetros de qualidade e garantem uma melhor padronização das características desejadas.

Basso et al. (2008) relatam um programa de seleção de leveduras realizado durante os últimos 12 anos com o objetivo de selecionar linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação adequada de cana-de-açúcar com reciclo de células, como é realizado em plantas de etanol brasileiro. Como resultado, são apresentadas algumas evidências mostrando o impacto positivo de cepas de leveduras selecionadas para aumentar a produção de etanol e reduzir os custos de produção, devido ao seu maior desempenho de fermentação (alta produtividade de etanol, redução da produção de glicerol e formação de espuma, manutenção da alta viabilidade celular durante reciclagem).

Alencar et al (2009) analisaram a capacidade fermentativa de vinte e oito linhagens de *S. cerevisiae*. A partir dos resultados obtidos, os autores puderam concluir que a quantidade de etanol produzido pela linhagem depende do estado fisiológico das leveduras.

Segundo Alves (1994, *apud* MALTA, 2006), a viabilidade celular é extremamente importante para o desenvolvimento do processo fermentativo e a tolerância da levedura ao produto da fermentação (etanol) é determinante na produtividade em etanol de fermentações em escala industrial.

Este aspecto é extremamente importante porque a tolerância da levedura ao seu produto de fermentação, o etanol, é bastante significativa em relação à eficiência de produção de etanol em fermentações em escala industrial. Tem sido verificado também que a presença de álcoois superiores (n-butanol, isoamílico), ácidos graxos e seus ésteres mesmo em baixas concentrações, juntamente com o etanol, agem de maneira sinérgica intoxicando a célula da levedura, levando-

a à morte e conseqüentemente diminuindo a viabilidade celular (ANTONINI, 2004).

Gutierrez (1993) constatou que, num processo fermentativo, a levedura de panificação apresenta maior produção de álcoois superiores do que leveduras industriais selecionadas. Em destilarias, é de grande interesse para a produção de etanol que haja menor formação de álcoois superiores.

Não existe um método absoluto para determinação da viabilidade celular de uma população de células de levedura. Para estimar a proporção de células viáveis em uma cultura ou processo fermentativo, métodos baseados no plaqueamento ou observação microscópica têm sido utilizados. Os métodos de contagem direta são rápidos e simples, exigem um mínimo de equipamento, permitindo que seja observada, simultaneamente, a morfologia celular (ANTONINI, 2004).

No controle da viabilidade celular nos processos de produção de levedura (fermento prensado) e fermentação alcoólica (etanol), a coloração das células com azul de metileno ou eritrosina e o cultivo por plaqueamento são os mais empregados (ANTONINI, 2004).

Outros microrganismos apresentam potencial para a produção de etanol em grande escala, utilizando como substratos resíduos agroindustriais ricos em carboidratos (FREITAS, 1999). A bactéria *Zymomonas mobilis*, que inicialmente foi isolada de mostos fermentados de cidra, apresentou habilidades promissoras de transformar açúcar em etanol e CO₂, em condições comparáveis àquelas exibidas pelas leveduras (CEREDA & VILPOUX, 2003; NETO et al., 2005, ERNANDES & GARCIA-CRUZ, 2009).

O alto rendimento e produtividade em etanol observado para *Zymomonas* são uma conseqüência de sua fisiologia exclusiva. *Zymomonas* é o único microrganismo que metaboliza glicose anaerobicamente usando a via Entner–Doudoroff (ED) como oposição à via Embden–Meyerhof (EM) ou glicolítica (MATTHEW et al., 2005 apud LIN & TANAKA, 2006). *Saccharomyces cerevisiae*, assim como muitos microrganismos, metaboliza glicose pela via EM. A via ED tem rendimento de apenas metade em ATP/mol de glicose que a via EM. Como conseqüência, *Zymomonas* produz menos biomassa que a levedura, e mais carbono é canalizado para a fermentação. Também, como uma conseqüência do

baixo rendimento em ATP, *Zymomonas mobilis* mantém alto fluxo de glicose através da via ED (SPRENGER, 1996).

Apesar de sua vantagem como etalonogênico, *Z. mobilis* não está bem adaptada para a conversão de todos os recursos da biomassa porque fermenta somente glicose, frutose e sacarose. Além disso, é preferível *S. cerevisiae* pela indústria, devido à robustez dessa levedura.

A capacidade de microrganismos em produzir etanol a partir de material lignocelulósico também tem sido investigada por muitos pesquisadores (DELGENES et al., 1996; ZHANG et al., 2008). Em diversos trabalhos, *Pichia stipitis* tem apresentado resultados promissores na conversão de xilose em etanol a partir de hidrolisados de biomassa lignocelulósica (SLININGER et al., 2006; JEFFRIES, 2007; MOORE, 2008; GUPTA et al., 2009).

2.4.4. Formas de condução da fermentação

Um processo fermentativo pode ser conduzido de três formas: batelada, batelada alimentada ou processo contínuo. A escolha do processo mais adequado dependerá das propriedades cinéticas dos microrganismos e tipo de material a ser fermentado, além dos aspectos econômicos (CHANDEL et al., 2007).

A maior parte do etanol produzido hoje mundialmente é obtida pela operação em batelada simples ou descontínua, já que os custos de investimento são baixos, não exige muito controle e pode ser realizado com mão de obra não qualificada. Outra vantagem da operação em batelada é a maior flexibilidade que pode ser conseguida através de um biorreator para fabricação de produtos diferentes (ÇAILAK & SUKAN, 1998).

Na fermentação em batelada simples ou descontínua, substrato e cultura de levedura são colocados juntamente com os nutrientes no biorreator. Esse método é o mais seguro quando se tem problemas de manutenção e assepsia, pois ao final de cada batelada o reator deve ser esterilizado (SCHMIDELL & FACCIOTI, 2001).

A fermentação descontínua pode levar a baixos rendimentos e/ou produtividades, quando o substrato adicionado de uma só vez no início da

fermentação exerce efeitos de inibição, repressão, ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam (CARVALHO & SATO, 2001a).

O processo descontínuo alimentado, também conhecido como batelada alimentada ou *fed-batch*, pode ser considerado uma combinação da batelada e de operações contínuas. Assim como o processo de batelada simples, é muito popular na indústria do etanol (ÇAILAK & SUKAN, 1998).

O processo descontínuo alimentado é definido como uma técnica onde um ou mais nutrientes são adicionados ao fermentador durante o cultivo e em que os produtos aí permanecem até o final da fermentação. Devido à flexibilidade de utilização de diferentes vazões de enchimento de dornas com meio nutriente, é possível controlar a concentração de substrato no fermentador, de modo que o metabolismo microbiano seja deslocado para uma determinada via metabólica, levando ao acúmulo de um produto específico (CARVALHO & SATO, 2001b).

As principais vantagens em se utilizar o processo descontínuo alimentado, são a possibilidade de um melhor controle da fermentação e da utilização mais eficiente dos componentes do meio, devido a minimização dos efeitos do controle do metabolismo celular e da formação de produtos tóxicos, além da prevenção da inibição por substrato ou precursores (CARVALHO & SATO, 2001b).

Bildeaux et al. (2006) conduziram o processo fermentativo em batelada alimentada descontínuo para reduzir a formação excedente de NADH durante a fermentação alcoólica utilizando *S. cerevisiae*, e conseqüentemente, a produção indesejada de glicerol.

O processo contínuo de alimentação é caracterizado por possuir uma alimentação contínua, de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume de reação mantido constante através da retirada contínua de caldo fermentado (FACCIOTI, 2001). O processo contínuo de fermentação alcoólica pode ser conduzido com uma ou mais dornas ligadas em série. O sistema de dornas ligadas em série deve ser preferido, por apresentar maior produtividade. Nos processos contínuos, o cuidado com infecções deve ser redobrado, visto que as dornas estão permanentemente cheias, dificultando a limpeza e higienização, além de exigir mais mão-de-obra (VENTURINI FILHO & MENDES, 2003).

Os objetivos deste trabalho foram: avaliar o rendimento e eficiência da fermentação do mosto hidrolisado da cultivar de batata-doce denominada "Duda"

utilizando três linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e avaliar o efeito de três formas de condução do processo fermentativo no rendimento, na eficiência e na viabilidade da levedura ao final do processo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. LINHAGENS DE LEVEDURAS

Foram utilizadas três linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As linhagens industriais (JP-1 e PE-2) fazem parte da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos da Universidade Federal do Tocantins – UFT e a linhagem comercial (Fleischmann[®]) é a mesma utilizada no procedimento padrão de fermentação de batata-doce da micro-usina instalada no Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a partir de Fontes Renováveis (LASPER).

A linhagem JP-1 foi isolada em uma destilaria de Japungu – PB (SILVA FILHO et al., 2005). A linhagem PE-2, nomeada também como *S. cerevisiae* CCA193 (BRUNETTO et al., 2006) foi isolada na destilaria Usina da Pedra, situada no município de Serrana – SP (BASSO et al., 2008).

3.2. PREPARO DO INÓCULO

As linhagens mantidas em estoque a -20°C foram reativadas em Ágar Sabouraud-glicose (2% de glicose; 1% peptona; 0,5% de extrato de levedura; 1,8% de ágar), pela técnica de estriamento. As placas foram incubadas a 25° C por 48 horas.

O inóculo foi obtido pelo cultivo das linhagens em caldo-de-cana estéril diluído em água destilada até a concentração de 5º Brix, enriquecido com 0,5% de extrato de levedura. Os frascos foram mantidos a 30°C, sob agitação de 150rpm em shaker marca Tecnal, modelo TE-421. Nas primeiras 24h, foi realizado o crescimento em 4 erlenmeyers de 500 ml, contendo 250ml de caldo-de-cana estéril cada. Após o consumo dos açúcares, que foi acompanhado pelo decréscimo do °Brix, o conteúdo dos frascos foi colocado em um pré-multiplicador juntamente com 2L de caldo-de-cana a 5º Brix estéril. Após o consumo dos açúcares, foi acrescentado ao pré-multiplicador 6L de caldo-de-cana estéril, na concentração de 10º Brix.

Após o consumo do açúcar disponível no meio de crescimento, o inóculo foi decantado sob refrigeração e o sobrenadante desprezado. A concentração utilizada para iniciar a fermentação foi padronizada em 10 g de biomassa (peso úmido) por litro de mosto.

3.3. PREPARO DO MEIO DE FERMENTAÇÃO

A cultivar de batata-doce escolhida para esse experimento foi a denominada “Duda”, que é uma cultivar de película externa roxa e polpa branca, de formato irregular, alongado, redondo e muito desuniforme. É uma cultivar tardia, sendo que a colheita deve ser realizada 180 dias após o plantio, para um melhor aproveitamento da indústria, podendo ser colhida com até 7 meses. A produtividade média obtida, nos últimos cinco anos, foi de 65,5 t/ha. O teor de matéria seca é de 40,4%, podendo conferir neste caso rendimentos de 161,04 litros de etanol por tonelada de raiz (SILVEIRA, 2008).

O preparo do mosto para fermentação seguiu o protocolo utilizado pelo Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a partir de Fontes Renováveis (LASPER) e patenteadado por Stefanoni Jr. (INPI, 2009).

A Figura 06 mostra o fluxograma para a produção do mosto de batata-doce.

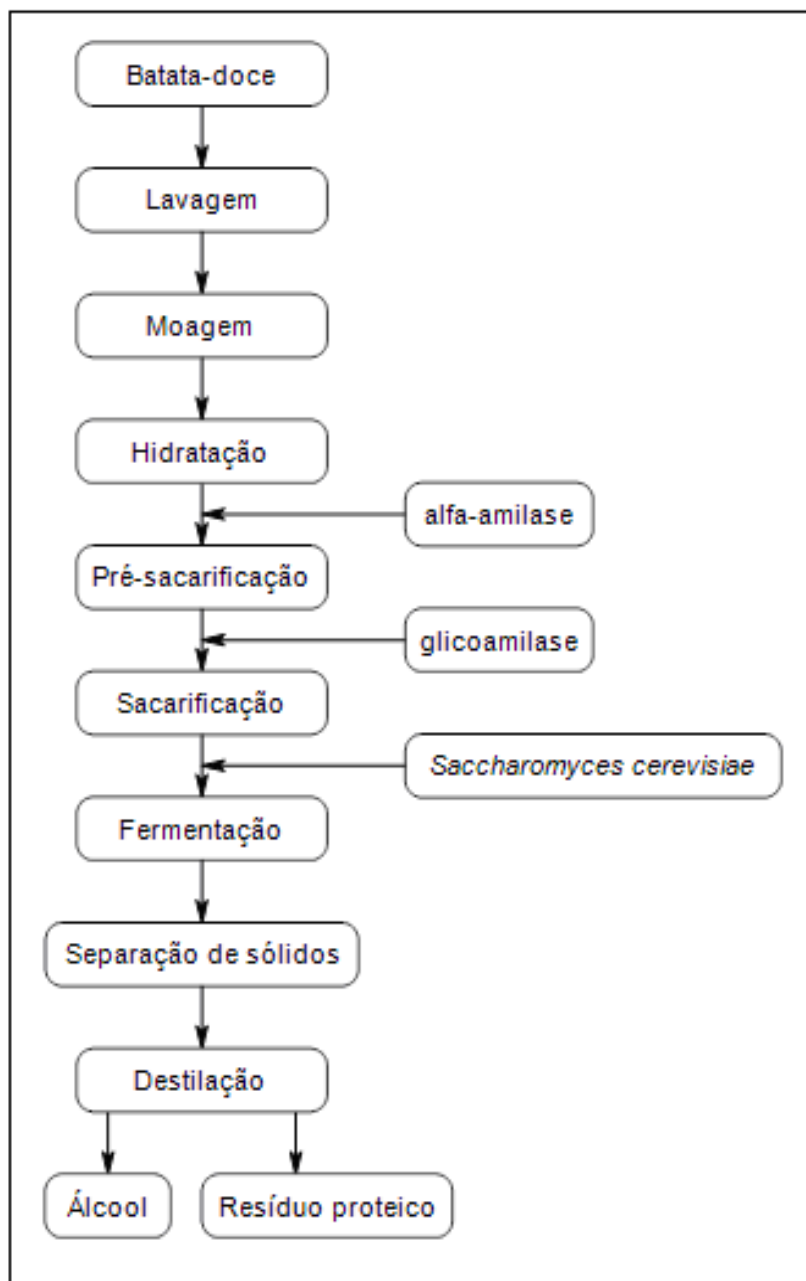


Figura 06. Fluxograma de produção do etanol de batata-doce

FONTE: Adaptado de SILVEIRA (2008)

Para obtenção do hidrolisado de batata-doce, primeiramente a matéria-prima foi submetida a lavagem e trituração. A batata triturada foi misturada com água na razão 1:1,2.

Logo após, a mistura foi submetida a aquecimento a 90 °C para geleificação do amido. Quando a temperatura de 90 °C foi alcançada, adicionou-se a enzima α -amilase Termamyl 120L[®], na concentração de 1,5 mL/kg de batata, e a mistura foi mantida nessa temperatura por 1 h, para hidrólise da cadeia linear do amido. Em

seguida, o pH foi reajustado com ácido clorídrico 1M para as condições ótimas de atuação da enzima glicoamilase, entre 4,0 e 4,5. A temperatura foi reduzida para 60°C, e a enzima amiloglicosidase AMG 300[®] foi adicionada, na concentração de 1,5 mL/kg de batata. Essa temperatura foi mantida por 1h, a fim de que as dextrinas produzidas pela primeira enzima pudessem ser hidrolisadas em monômeros de glicose.

Após concluída a etapa de hidrólise, o mosto foi resfriado até aproximadamente 30°C, a concentração de sólidos solúveis foi ajustada para 12^ºBrix com água e o inóculo foi adicionado. O pH final do mosto ficou na faixa entre 4,0 e 5,0, faixa ótima de atuação da levedura.

Todo o processo de produção do mosto foi conduzido na micro-usina de batata-doce do LASPER. A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente por 36h, variando-se o processo fermentativo.

3.4. CONDUÇÃO DA FERMENTAÇÃO

Em cada batelada foram utilizados 5,0L de hidrolisado de batata-doce. A batelada alimentada foi realizada com uma e com duas alimentações.

Na primeira, a fermentação teve início com 2,5L de hidrolisado, sendo adicionado o restante após 18h de fermentação. No processo de batelada alimentada com duas alimentações, a fermentação foi iniciada com 2,0L de hidrolisado, sendo adicionado a cada intervalo de 12h, 1,5L de hidrolisado.

Decorrido o tempo de fermentação, alíquotas foram recolhidas com o objetivo de analisar teor de açúcares redutores, concentração de sólidos solúveis, concentração de etanol e viabilidade celular.

3.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

A concentração de açúcares redutores foi determinada antes e após o processo fermentativo, seguindo a metodologia descrita por MILLER (1959), utilizando-se o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). O ensaio baseia-se numa reação de oxi-redução entre o açúcar redutor e o ácido 3,5-dinitrosalicílico,

sendo acompanhada por espectrofotômetro em comprimento de onda de 540nm (TORRES & VIOLANTE, 2007). Os sólidos solúveis foram medidos com o uso de um refratômetro ótico portátil marca Tecnal – Atago, modelo Atago N1E.

Para as análises de etanol, 25 ml do mosto fermentado foram destilados por arraste de vapor, utilizando microdestilador de álcool, Mod. TE-012, Marca Tecnal. As amostras foram congeladas e enviadas para a empresa FERMENTEC, situada em Piracicaba – SP, responsável pela determinação da concentração de etanol, utilizando densímetro digital Anton Paar, modelo DMA4500.

A viabilidade celular foi analisada por contagem direta em Câmara de Neubauer, utilizando-se coloração diferencial das células pela solução de azul de metileno, em microscópio binocular marca Tecnal - Coleman, modelo N107 em aumento de 100x.

3.6. CÁLCULO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS

3.6.1. Fator de conversão de substrato em etanol ($Y_{p/s}$)

A Equação 1 expressa a quantidade de etanol formada por unidade de açúcar consumido, o que resulta no que comumente se chama de rendimento da fermentação.

$$Y_{p/s} = \frac{P_F - P_O}{S_T - S_R} \quad (1)$$

Onde:

$P_{F(g)}$ = massa de etanol final (g/100g)

$P_{O(g)}$ = massa de etanol inicial (g/100g)

$S_{R(g)}$ = massa de substrato residual no meio (g/100g)

$S_{T(g)}$ = massa de substrato total no meio (g/100g)

3.6.2. Eficiência do processo fermentativo

A eficiência das fermentações foi calculada, utilizando-se os valores de etanol produzido (g/100g) e dos açúcares redutores (AR) presentes no caldo (g/100g), segundo a Equação 2

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{Etanol}_{\text{g/100g}}}{\Delta S \cdot 0,511} \times 100 \quad (2)$$

ΔS = massa de substrato consumida na fermentação (g/100g)

3.7. DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Os tratamentos foram dispostos em uma esquema fatorial 3 x 3, constituído por 3 linhagens de levedura (JP1, PE2, PAN) e 3 processos fermentativos (Batelada simples, batelada com uma alimentação e batelada com duas alimentações). Cada tratamento foi realizado em triplicata. Os dados experimentais foram analisados estatisticamente pelos procedimentos de análise de variância, por meio do programa ASSISTAT[®]. Para efeito de comparação de médias, foi utilizado o teste Tukey, a 1% e a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos parâmetros estudados objetivou verificar a influência tanto das leveduras e da forma de condução do processo fermentativo, quanto a interação entre essas duas variáveis, conforme pode ser visualizado na Tabela 01.

Tabela 01. Resumo do quadro das análises de variância para viabilidade (%), rendimento (g/g), eficiência (%) e balanço de massa (L/ha) do processo fermentativo do hidrolisado de batata-doce

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>Rendimento</i>	<i>Eficiência</i>	<i>Balanço de Massa</i>	<i>Viabilidade</i>
		<i>QM</i>	<i>QM</i>	<i>QM</i>	<i>QM</i>
Leveduras	2	0,00245 ns	98,33610 ns	4029765 ns	3,69370 **
PF	2	0,00219 ns	84,10153 ns	3449703 ns	0,70259 **
Levedura x PF	4	0,00115 ns	42,77350 ns	1755914 ns	0,89537 **
Tratamentos	8	0,00173 ns	66,99616 ns	2747824 ns	1,54676 **
Resíduo	18	0,00234	91,81498	3766505	28,8017
Total	26				
CV (%)		10,10262	10,21154	10,21184	0,23508

** significativo ao nível de 1% de probabilidade; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo; Abreviações: FV: Fonte de Variação; GL: Grau de Liberdade; QM: Quadrado Médio; CV – Coeficiente de variação em %; PF – Processo Fermentativo

Os coeficientes de variação oscilaram entre 0,23 e 10,21, revelando assim boa precisão experimental e permitindo que as inferências sobre os resultados sejam seguras.

De acordo com os resultados da análise de variância (Tabela 01) não houve diferença significativa para os parâmetros eficiência e balanço de massa. Da mesma forma, não houve interação significativa entre linhagem de levedura e forma de condução do processo fermentativo em relação aos parâmetros estudados, excetuando-se a viabilidade, que apresentou diferença estatística ao nível de 1% de probabilidade.

A Tabela 02 mostra as médias do fator de conversão do substrato em etanol, para as diferentes linhagens da levedura *S. cerevisiae*.

Tabela 02. Fator de conversão do substrato em etanol ($Y_{p/s}$) utilizando diferentes linhagens de *S. cerevisiae* e diferentes processos fermentativos

<i>Levedura</i>	<i>Processo Fermentativo</i>			<i>Média</i>
	<i>Batelada</i>	<i>Bat. Alim. 1</i>	<i>Bat. Alim 2</i>	
Panificação	0,48	0,44	0,46	0,46
JP-1	0,50	0,43	0,48	0,47
PE-2	0,49	0,50	0,49	0,49
Média	0,49	0,46	0,48	

Os valores de máximo e mínimo foram muito próximos, variando de 0,43 a 0,50, comprovando baixa variação no rendimento do processo fermentativo com as variáveis estudadas.

Ribeiro & Horii (1999) obtiveram valores entre 0,43 e 0,46 para fermentação de caldo-de-cana utilizando três linhagens diferentes de *S. cerevisiae*, entre elas, uma linhagem comercial, que apresentou desempenho intermediário (0,44) na produção de etanol, valor inferior ao encontrado nesse trabalho.

Conforme mostrado na Tabela 02, não houve variação no rendimento do processo fermentativo, mesmo havendo mudanças na forma de alimentação da fermentação, fato que vem em contrariedade ao estudado por Andrietta & Tosetto (2003) que avaliaram a influência da velocidade de alimentação de substrato em processos de produção de etanol em batelada alimentada. De acordo com os autores, o rendimento fermentativo diminui com o aumento do tempo de enchimento.

Souza (2005) analisou o processo fermentativo do hidrolisado de batata-doce por meio de células imobilizadas para produção de etanol e obteve rendimentos oscilando entre 0,073 e 0,834.

Gonzáles (2004) utilizou *S. cerevisiae* em um meio sintético de sacarose para obtenção dos parâmetros cinéticos desta fermentação, tanto em batelada quanto em batelada alimentada. No processo em batelada, obteve fator de conversão de substrato em etanol igual a 0,55, enquanto para batelada

alimentada, esse valor variou entre 0,50 e 0,51, dependendo da vazão utilizada durante a alimentação.

A Tabela 03 apresenta os valores para eficiência do processo fermentativo, considerando as variáveis linhagens de levedura e processo fermentativo.

Tabela 03. Eficiência do processo fermentativo (%) utilizando diferentes linhagens de *S. cerevisiae* e diferentes processos fermentativos

<i>Levedura</i>	<i>Processo Fermentativo</i>			<i>Média</i>
	<i>Batelada</i>	<i>Bat. Alim. 1</i>	<i>Bat. Alim 2</i>	
Panificação	94,8	87,6	90,8	91,1
JP-1	98,2	85,7	95,0	93,0
PE-2	97,5	98,8	96,2	97,5
Média	96,8	90,7	94,0	

Maior eficiência foi obtida pela linhagem PE-2 (97,5%), seguida da linhagem JP-1 (93,0%). A linhagem comercial apresentou menor eficiência de fermentação.

Quanto ao processo fermentativo, melhor eficiência foi obtida com a fermentação em batelada (96,8%), seguida pela fermentação em batelada com duas alimentações (94,0%). A fermentação em batelada com uma alimentação apresentou menor eficiência de fermentação (90,7%).

A linhagem de *S. cerevisiae* PE-2 apresentou eficiência fermentativa superior em qualquer dos processos fermentativos estudados, enquanto as linhagens de panificação e JP-1 mostraram maior eficiência na fermentação em batelada simples.

SOUZA (2006) estabeleceu um processo fermentativo utilizando células livres de *S. cerevisiae* comercial, a partir de clones de batata-doce selecionados para as condições de Palmas – TO e obteve eficiência de 92% no processo fermentativo, valor muito próximo ao obtido neste estudo (91,1%).

Santana (2007) obteve maior teor alcoólico na produção de etanol a partir de amido de mandioca com linhagens de *S. cerevisiae*, em relação à linhagem de *S. diastaticus*,

Urbano et al. (2007) encontraram eficiência de 96,18% no processo fermentativo de manipueira utilizando *S. cerevisiae* comercial.

Silva et al. (2008) avaliaram a influência de diferentes variáveis, entre elas o °Brix (10 - 20%), sobre a eficiência do processo fermentativo de cana-de-açúcar. A eficiência do processo fermentativo variou entre 86,64% e 94,45%.

Concatto et al. (2003) analisaram a eficiência do processo de produção de etanol produzido por *Z. mobilis* e perceberam que valores semelhantes foram obtidos tanto em regime descontínuo como em descontínuo alimentado, cerca de 95% em relação ao máximo teórico.

Loss et al. (2006) analisaram a influência de três linhagens comerciais de *S. cerevisiae* na produção de aguardente de milho maltado e obtiveram eficiência variando entre 64,2% e 77,5%.

Kiransree et al. (2000) utilizaram duas linhagens termotolerantes de *S. cerevisiae* para avaliar a capacidade de produção de etanol a 37°C e 42°C em fermentação submersa de diversos substratos amiláceos e notaram maior quantidade de etanol produzidos da fermentação de trigo e batata-doce, nas mesmas condições em que amido de arroz, de batata, sorgo doce e amido solúvel produziram uma quantidade menor de etanol, o que corrobora a informação de que batata-doce é um bom substrato para a produção de etanol. Porém, em fermentação em estado sólido, maior quantidade de etanol foi produzida a partir de arroz e sorgo doce, em ambas as temperaturas,

A cultivar de batata-doce denominada “Duda” é considerada a mais produtiva para a indústria, nas condições do Tocantins, em função de sua elevada produtividade, por combinar em um único genótipo elevado teor de matéria seca e produtividade (SILVEIRA, 2008).

Ainda de acordo com Silveira (2008), a produtividade média dessa cultivar é de 65,5 t/ha e a produtividade em etanol gira em torno de 161 L/ton, o que gera uma produção de 10.467 litros de etanol por hectare.

Partindo desses dados, juntamente com dados de composição da batata-doce no que tange à concentração de amido (24,4%), e dos rendimentos alcoólicos obtidos neste trabalho para as três linhagens de levedura, estabeleceu-se o balanço de massa da produção de etanol de batata-doce (Tabela 03).

Tabela 04. Balanço de massa da produção de etanol a partir do hidrolisado de batata-doce.

<i>Levedura</i>	<i>Balanço de massa (L/ha)</i>			
	<i>Batelada</i>	<i>Bat. Alim. 1</i>	<i>Bat. Alim 2</i>	<i>Média</i>
Panificação	19.195,5	17.746,5	18.389,5	18.443,8
JP-1	19.882,0	17.354,0	19.239,5	18.825,2
PE-2	19.740,5	20.007,0	19.489,5	19.889,0
Média	19.606,0	18.369,2	19.039,5	

Os valores obtidos nesse estudo foram superiores aos registrados por Silveira (2008), variando de 17.354 L/ha a 20.007 L/ha.

SANTANA (2007) produziu etanol a partir de mandioca utilizando *S. cerevisiae* e *S. diastaticus* e encontrou valores de 1860 L/ha e 1769 L/ha, respectivamente.

A responsabilidade pelo aumento cada vez maior da produtividade em etanol deve-se aos avanços tecnológicos, pois, conforme citado por Goldemberg (2000), a produção brasileira de etanol passou de 2.633 litros por hectare, em 1977, para 3.811 litros, em 1985 (uma média de aumento anual de 4,3%). Em 1989, a média de produtividade no Estado de São Paulo era de 4.700 litros de etanol por hectare, aumentando para 5.100 litros em 1996.

A produtividade brasileira atual atinge os 6.800 litros de etanol por hectare de cana-de-açúcar, podendo chegar aos 8 mil litros. Com tal produtividade, o Brasil tem os custos mais baixos do mundo. Só para comparar, os Estados Unidos conseguem entre 3.500 e 4.000 litros de álcool por hectare, a partir do milho (COLLATO, 2008).

Embora a análise estatística não tenha apontado diferença significativa entre os valores de eficiência do processo fermentativo, bem como do balanço de massa para produção de etanol, como pode ser visto na Tabela 07, respectivamente, é importante ressaltar que, em caso de aumento de escala, a diferença de 6,4% existente entre a eficiência das linhagens comercial e PE-2, deve ser considerada, ou seja, a cada hectare processado pode haver um acréscimo de aproximadamente 1.500 L de etanol apenas efetuando a troca de microrganismo fermentador.

Faz-se necessário um estudo de viabilidade econômica com a finalidade de mostrar se o ganho com aumento de rendimento em etanol com a linhagem industrial compensaria os gastos com a pré-multiplicação da linhagem na indústria ou com a linhagem liofilizada fornecida por algumas empresas do ramo, pois a linhagem comercial não demanda tais custos, porém, apresenta rendimento inferior.

Outro fator que deve ser analisado é referente à alteração de escala do experimento. Parâmetros como rendimento e eficiência obtidos em bancada tendem a ser maiores, visto que as condições do processo, são mais facilmente controladas. Siqueira et al (2008) estudaram a produção de etanol a partir de melaço de soja em laboratório, em escala piloto e industrial. Os autores perceberam que o aumento de escala foi satisfatório, embora tenha havido pequenas diminuições, de 169,8L em escala de laboratório para 163,6 e 162,7L de etanol por tonelada de melaço em pó, obtido em escala piloto e industrial, respectivamente.

Ainda analisando a Tabela 01, verificou-se diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F entre as três linhagens de leveduras avaliadas. Estes resultados evidenciam a existência de superioridade na viabilidade celular entre as linhagens estudadas. Considerando-se as formas de condução do processo fermentativo, não houve diferença significativa na viabilidade celular, porém, a análise de variância permitiu a verificação de diferença significativa na interação entre linhagem de levedura e forma de condução do processo fermentativo a 5% de probabilidade pelo teste F, de forma que nota-se variação nos valores da viabilidade celular dependendo da forma com que foi realizada a fermentação e com o tipo de levedura que a executou.

A Tabela 05 mostra as médias de viabilidade celular obtidas após 36h de fermentação do mosto hidrolisado de batata-doce, utilizando as diferentes linhagens da levedura *S. cerevisiae*, onde é analisada também a influência da forma de condução do processo fermentativo.

Tabela 05. Viabilidade celular (%) das linhagens estudadas nos diferentes processos fermentativos.

<i>Levedura</i>	<i>Processo Fermentativo</i>			
	<i>Batelada</i>	<i>Bat. Alim. 1</i>	<i>Bat. Alim 2</i>	<i>Média</i>
Panificação	98,3 bB	98,9 aA	97,1 c	98,1 B
JP-1	98,4 bA	98,3 bA	98,2 b	98,3 B
PE-2	99,3 aA	99,2 aA	99,5 a	99,3 A
Média	98,7 a	98,8 a	98,3 b	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si a 5% pelo teste de Tukey.

A viabilidade celular é sem dúvida um aspecto importante no controle da fermentação alcoólica. Quanto maior esse número, melhor será o desempenho do processo (STECKELBERG, 2001). Os valores de máximo e mínimo demonstram valores muito próximos, variando de 97,1% a 99,5%, comprovando baixa variação na viabilidade celular.

A linhagem PE-2 apresentou maior viabilidade (99,3%). Já as linhagens JP-1 e de panificação mostraram menor viabilidade celular, 98,1% e 98,3%, respectivamente, não diferindo entre si estatisticamente.

Cherubin (2003) avaliou a viabilidade celular de três linhagens na fermentação alcoólica quando em cultura mista com contaminantes bacterianos. Os resultados obtidos mostraram que houve redução de viabilidade nos tratamentos realizados com a linhagem comercial, porém, os tratamentos com a linhagem PE-2 apresentaram menores reduções de viabilidade, não havendo diferença estatística para este item entre as duas linhagens industriais (PE-2 e M26).

As médias de viabilidade celular quando analisadas as formas de condução do processo fermentativo variaram entre 98,3% e 98,7%. Já na interação entre as linhagens de leveduras e as formas de condução do processo fermentativo, as médias variaram entre 97,1% e 99,5%. Os melhores resultados foram obtidos em batelada descontínua alimentada com uma alimentação para as três linhagens. No processo em batelada simples, as leveduras que apresentaram viabilidade celular mais elevada foram as linhagens industriais JP-1 e PE-2. Para batelada

descontínua alimentada com duas alimentações, a linhagem que apresentou melhor resultado foi a PE-2.

Na indústria de etanol a partir de cana-de-açúcar é interessante manter altos níveis de viabilidade celular, devido ao fato de haver reciclo de células, o que significa dizer que após a fermentação, as células da levedura são coletadas por centrifugação e tratadas com ácido sulfúrico em pH 2,0-2,5 por 1-2 h, a fim de reduzir a contaminação bacteriana, e inoculadas novamente em caldo-de-cana (WHEALS et al., 1999).

No processo de produção de etanol a partir de batata-doce, não há a possibilidade de reciclo de células, devido a dificuldade de separação destas do vinhoto. Assim, a cada nova fermentação são inoculadas novas células da levedura, o que faz com que a viabilidade seja sempre alta, pois, nos casos onde ocorre reciclo de células, a viabilidade tende a diminuir a cada novo ciclo de fermentação.

Aranha (2002) realizou um estudo para analisar o efeito do alumínio sobre a fermentação alcoólica e conduziu a fermentação de caldo-de-cana com cinco ciclos da levedura *S. cerevisiae* (linhagem comercial e PE-2). A presença de alumínio afetou minimamente a viabilidade da linhagem PE-2, enquanto a presença do metal induziu maior queda na viabilidade da levedura comercial. Tal fato sugere que a linhagem PE-2 seja mais tolerante que a comercial à ação tóxica do alumínio.

Malta (2006) analisou os parâmetros de propagação de *S. cerevisiae* comercial para produção de cachaça de alambique e percebeu que a viabilidade celular não sofreu interferência da presença de micronutrientes (sais de Cu, Zn, Fe, Mn).

É comum no processo de fermentação alcoólica a infecção por bactérias contaminantes, o que causa queda da viabilidade celular das leveduras, e conseqüentemente menor rendimento, devido às toxinas e ácidos excretados no mosto (SKINNER & LEATHERS, 2004).

Oliveira-Freguglia & Horii (1998) analisaram a viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* em cultura mista com bactérias do gênero *Lactobacillus fermentum*. Os resultados comparativos entre cultura bacteriana inativada por esterilização e cultura ativa apresentaram reduções de cerca de 46% e 96% da viabilidade, respectivamente, nas primeiras 12 horas, em relação

ao controle que se manteve constante, ao nível de 96%. A viabilidade celular de *S. cerevisiae* foi afetada apenas no cultivo misto com *L. fermentum* ou *B. subtilis* ativos, que reduziram em 73,5% e 59,2% a viabilidade da levedura *S. cerevisiae*, respectivamente.

Ainda não há estudos sobre contaminação bacteriana na produção de etanol a partir de batata-doce, porém, como o substrato é submetido a um processo de hidrólise a temperatura de 90°C antes da fermentação, existe menor possibilidade de contaminação bacteriana, contanto que a etapa de fermentação seja conduzida de forma asséptica. Isso pode explicar os altos valores obtidos para viabilidade celular para todas as linhagens estudadas.

Portanto, a viabilidade, rendimento e eficiência do processo fermentativo do presente estudo são promissores para a produção de etanol utilizando a batata-doce como matéria-prima, podendo ainda ser sugerida a utilização da linhagem PE-2 no processo, por ter apresentado maiores valores de viabilidade e rendimento do processo fermentativo.

5. CONCLUSÃO

Os parâmetros avaliados (rendimento, eficiência do processo fermentativo e balanço de massa da produção de etanol) não apresentaram diferença significativa para nenhuma das variáveis estudadas, nem para a interação entre elas.

Com análise do balanço de massa, foi possível computar um volume variando entre 17.354 e 20.007 litros de etanol por hectare de batata-doce.

O processo de fermentação em batelada simples pode ser indicado para qualquer das linhagens.

A linhagem PE-2 seria a mais indicada para a fermentação do hidrolisado de batata-doce, pois apresentou rendimento entre 4,5 e 6,4% superiores em relação às linhagens JP-1 e de panificação.

A linhagem PE-2 mostrou maior viabilidade celular que as demais linhagens estudadas (JP-1 e PE-2). A forma de condução do processo fermentativo não afetou a viabilidade celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, E.M.B.; SOUZA-MOTTA, C.M.; WALTER, B.S.; SANTOS, R.M.P.; MARQUES, O.M.; QUEIROZ, L.A. Fermentation capacity of *Saccharomyces cerevisiae* cultures. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 4, p. 819-824, 2009.
- ALVES, D.M.G. **Fatores que afetam a produção de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. 1994, 128p. (Dissertação- Mestrado em Microbiologia). apud MALTA, H.L. **Estudo de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique**. (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 2006.
- ANCIÃES A. et al. **Avaliação tecnológica do álcool etílico**. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ. Brasília. 1981.
- ANDRIETTA, S. R. ; TOSETTO, G. M. Avaliação da influência da velocidade de alimentação sobre o rendimento e produtividade dos processos de produção de etanol operando em batelada alimentada . In: **Anais do XI VSinaferm - Simpósio Nacional de Fermentação**, Florianópolis. 2003.
- ANTONINI, Sandra Regina Ceccato. **Métodos de análises e monitoramento microbiológico em laboratório de destilaria**. Universidade Federal de São Carlos (Apostila). 2004.
- ARANHA, D.A.D. **Efeitos do alumínio sobre a fermentação alcoólica**. (Dissertação – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). ESALQ/USP. Piracicaba – SP. 2002.
- BACCARIN, J.G. **A constituição da nova regulamentação sucroalcooleira**. Brasília: Universidade de Brasília, Centro de Estudos Avançados Multidisciplinares, Núcleo de Estudos Agrários; São Paulo: Editora UNESP. v. 5. n. 22, 2005.
- BAI, F.W.; ANDERSON, W.A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances** v. 26, p. 89–105, 2008.
- BASSO, L. C.; AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J.; LOPES, M.L. Yeasts selection for fuel production in Brazil. p. 1155 – 1163. **Federation of European Microbiological Societies**, 2008.
- BASTOS, V.D. Etanol, álcoolquímica e biorrefinarias. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, mar. 2007. Disponível em: <http://ag20.cnptia.embrapa.br/Repositorio/alcoolquimica_000fxewwis802wyiv80soht9hogzht0d.pdf> Acesso em 01 Jan. 2010.

BILDEAUX, C.; ALFENORE, S.; CAMELEYRE, X.; MOLINA-JOUVE, C.; URIBELARREA, J.; GUILLOUET, S.E. Minimization of glycerol production during the high-performance fed-batch ethanolic fermentation process in *Saccharomyces cerevisiae*, using a metabolic model as a prediction tool. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 3, p. 2134-2140. 2006.

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v. 69. p. 60-78, 1991.

BRINGUENTI, L. CABELLO, C. URBANO, L.H. Fermentação alcoólica de substrato amiláceo hidrolisado enriquecido com melão de cana. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 429-432, 2007

BRUNETTO, H.G.; MIRANDA, V.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Filamentação induzida por álcool isoamílico em linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae* e seus efeitos sobre os parâmetros fermentativos. **Biológico**, v.68, n.1/2, p.25-82, jan./dez., São Paulo. 2006

ÇAILAK, B. SUKAN, F.V. Comparison of different production processes for bioethanol. **Turkey Journal Chemical**. v. 22, p. 351-359. 1998.

CAMILI, E.A.; CABELLO, C. Produção de etanol de manipueira tratada com processo de flotação. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Mandioca**, Paranavaí – PR. 2007.

CARDONA, C.A.; SÁNCHEZ, O.J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities – Review. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 2415-2457, 2007.

CARVALHO, L. J. C. B.; CEREDA, M. P.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; VILPOUX, O. F. Introdução. p. 13 - 21. In **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. v. 1 – Propriedades gerais do amido. Fundação Cargill, 2002.

CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. **Fermentação descontínua**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 193-204. (Biotecnologia Industrial; v.2)

_____. **Fermentação descontínua alimentada**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 205-218. (Biotecnologia Industrial; v.2)

CHANDEL, A.K.; ES, C.; RUDRAVARAM, R.; NARASU, M.L.; RAO, L.V.; RAVINDRA, P. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal. **Biotechnology and Molecular Biology**. v. 2, n. 1, p. 14-32, 2007

CHERUBIN, R.A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. (Tese – Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba – SP. 2003.

CHUNG, C. DAY, D.F. Cellulosic ethanol production from sugarcane bagasse using lime. **30th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals**. New Orleans – LA. 2008. Disponível em: <<http://sim.confex.com/sim/30th/techprogram/P5420.HTM>> Acesso em 08 Abr. 2010.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. (Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas; v. 3). Fundação Cargill, 2003.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido**. (Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas; v. 1). Fundação Cargill, 2002.

COLLATO, V. Relatório Final da Subcomissão Especial para tratar da Agroenergia e Meio Ambiente. **Comissão de Agricultura, Pecuária, Abastecimento e Desenvolvimento Rural**. 2008. Disponível em <<http://apache.camara.gov.br/portal/arquivos/Camara/internet/comissoes/capadr/su bcomissoes/rel2agroenergia130808.pdf>> Acesso em 18 jan. 2010.

CONCATTO, K.; MALVESSI, E.; SILVEIRA, M.M. Formulação de meio de crescimento e produção de glicose-frutose oxidoreductase e etanol por *Zymomonas mobilis*. **Anais do XIV Simpósio Nacional de Fermentações**, Florianópolis. 2003.

CONTRERAS, O.I.P.; PERILLA, J.E.P.; ENCISO, N.A.A. Revisión de La modificación química del almidón con ácidos orgânicos. **Revista Ingeniería e Investigación**, v. 22, n. 02, 2005.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 9, p. 1695-1699. 2007.

DELGENES, J.P.; MOLETTA, R.; NNAVARRO, J.M. Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis*, and *Candida shehatae*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 19, n. 03, p. 220-225. 1996.

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 5-6, p. 577- 588, 2001.

DI GIULIO, Gabriela. Motor bicombustível ganha cada vez mais consumidores. **Inovação Uniemp**, Campinas, v. 2, n. 1, Mar. 2006 . Acesso em: 14 Nov. 2009.

DORNELLES, A.S.; RODRIGUES, S. Fermentação alcoólica de caldo-de-cana utilizando grãos de kefir. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p.386-390, 2006

DUARTE, J.C.; CELLIGOI, M.A.P.C.; BUZATO, J.B. Fermentação alcoólica por *Zymomonas mobilis* CP4 ou por *Saccharomyces cerevisiae* em caldo de cana

com e sem suplemento lipídico. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. v 39, n. 2, p. 285-293. 1996.

EARTHTRENDS – **Environmental Information**. 2007. Disponível em: <<http://earthtrends.wri.org/updates/node/292>> Acesso em 25 Dez. 2009.

ERNANDES, F.M.P.G.; GARCIA-CRUZ, C.H. *Zymomonas mobilis*: um microrganismo promissor para a fermentação alcoólica. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 361-380, 2009.

EEL/USP – Escola de Engenharia de Lorena. **Workshop produção de etanol**. Disponível em: <http://www.apta.sp.gov.br/cana/anexos/termo_referencia_etanol.pdf> Acesso em 07 Nov. 2009.

FACCIOTI, M.C.R. **Fermentação contínua**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 223-246. (Biotecnologia Industrial; v.2)

FAO. **El estado mundial de la agricultura y la alimentación. BIOCOMBUSTIBLES: perspectivas, riesgos y oportunidades**. Roma. 2008.

FREITAS, G. C. de. **Fermentação de diferentes fontes de amido por *Klebsiella oxytoca* etanologênica**. (Dissertação – Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 1999.

GATTÁS, E.A.L.; DOIN, P.A. Efeito da adição de nutrientes na fermentação alcoólica de meio de cultivo elaborado com fécula de mandioca. **Alimentação e Nutrição**. v. 1. P. 61-69, São Paulo, 1989.

GRAY, K. A.; ZHAO, L.; EMPTAGE, M. Bioethanol. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, n. 2, p. 141 - 146, 2006.

GOLDEMBERG, J. Pesquisa e Desenvolvimento na Área de Energia. **São Paulo em Perspectiva**. v. 14, n. 3, p. 91-97, 2000.

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energia e meio ambiente no Brasil. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 21, n. 59, 2007.

GONÇALVES, M.F.V. **Tratamento térmico dos amidos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) e de mandiocinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) sob baixa umidade em microondas**. (Dissertação – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). ESALQ/USP. Piracicaba - SP, 2007.

GONZALES, T.A. **Estudo fenomenológico do reator batelada alimentada utilizando dois processos fermentativos distintos**. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2004.

GUPTA, R.; SHARMA, K.K.; KUHAD, R.C. Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic

ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498. **Bioresource Technology**. v. 10, n. 3, p. 1214-1220. 2009.

GUTIERREZ, L.E. Produção de álcoois superiores por linhagens de *Saccharomyces* durante a fermentação alcoólica. **Scientia Agricola**. Piracicaba - SP, v. 50, n. 3, 1993.

HEARD, G.M.; FLEET, G.H. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. **Journal of Applied Bacteriology** v. 65, p. 23-28. 1988.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**, v. 35, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2008/tab2.pdf>>. Acesso em 06 Nov. 2009

JEFFRIES, T.W. Improving the performance of *Pichia stipitis* for xylose fermentation. **SIM Annual Meeting & Exhibition**. Denver. 2007. Disponível em: <<http://sim.confex.com/sim/2007/techprogram/P3039.HTM>> Acesso em 18 Jan. 2010.

KIRANSREE, N.; SRIDHAR, M.; RAO, L.V. Characterisation of thermotolerant, ethanol tolerant fermentative *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production. **Bioprocess Engineering** v. 22, p. 243-246. 2000

KNOX, A.M. PREEZ, J.C. KILIAN, S.G. Starch fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* strains transformed with amylase genes from *Lypomyces kononenkoae* and *Saccharomycopsis fibuligera*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 34, p. 453-460. 2004.

KOSUGI, A.; KONDO A.; UEDA, M.; MURATA, Y.; VAITHANOMSAT, P.; THANAPASE, W.; MOR, Y. Production of ethanol from cassava pulp *via* fermentation with a surface-engineered yeast strain displaying glucoamylase. **Renewable Energy**. v. 34, n. 5, p. 1354-1358. 2009.

LALUCE, C. MATTOON, J.R. Development of Rapidly fermenting strains of *Saccharomyces diastaticus* for direct conversion of starch and dextrans to ethanol. **Applied and Environmental microbiology**, v. 48, n. 1. p. 17-25. 1984.

LEE, D.H. CHOI, J.S. LEE, S.C. HWANG, Y.I. Ethanol fermentation of corn by a recombinant *Saccharomyces* having glucoamylase and alpha-amylase activities. **Journal of Food Sciences and Nutrition** v. 6, n. 4, p. 206–210. 2001.

LEITE, R.C.C., 2009. **Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Brasília – DF, 2009.

LEME, R.M. **Álcool combustível derivado da cana-de-açúcar e o desenvolvimento sustentável**. 5^o Agrener GD - Energia no Meio Rural e Geração Distribuída, Campinas, 2004.

LEHNINGER. **Princípios de bioquímica**. Editora Sarvier. 4ª ed.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H. V. **Produção de etanol**. São Paulo: Edgard Blücher. p.1-43. (Biotecnologia Industrial; v.3). 2001

LIMTONG, S.; SRINGIEW, C.; YONGMANITCHAI. Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 17, p. 3367-3374. 2007

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology** v. 69. p. 627–642. 2006.

LOSS, R. A. ; MARGARITES, A. C. ; FARIAS, D. ; CAZAROTTO, S. ; COLLA, L. M. ; BERTOLIN, T. E. Influência de diferentes fermentos comerciais na produção de aguardente de milho maltado. **Anais da XVI Mostra de Iniciação Científica da Universidade de Passo Fundo**. 2006.

MACEDO, L. C.H. **Álcool etílico**. Da cachaça ao cereal. Coleção Brasil Agrícola. Ícone Editora. São Paulo, 1993.

MACHADO, A.M.C.; PEDROTTI, A. Perspectiva energética para pequenas unidades fabris: casas de farinha no município de Campo do Brito – SE. **Revista Brasileira de Agroecologia** v. 4, n. 2, 2009.

MALTA, H.L. **Estudos de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique**. (Dissertação – Mestrado em Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 2006.

MANTOVANELI, I. C. C. **Modelagem híbrido neuronal de um processo de fermentação alcoólica**. (Dissertação – Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2005.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia. **PNA - Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011**. 2. ed. rev. - Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

_____. **Anuário Estatístico da Agroenergia**. 2009. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> Acesso em: 05 Nov. 2009

MARAFANTE, L. J. **Tecnologia da fabricação do álcool e do açúcar**. São Paulo. Editora Ícone, 2 ex. 1993.

MARCOCCIA, R. **A participação do etanol brasileiro em uma nova perspectiva na matriz energética mundial**. (Dissertação – Programa Interunidades de Pós-Graduação em Energia) Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

MASIERO, G.; LOPES, Heloisa. Etanol e biodiesel como recursos energéticos alternativos: perspectivas da América Latina e da Ásia. **Revista brasileira de política internacional**, Brasília, v. 51, n. 2, Dec. 2008.

MATTHEW H.; ASHLEY O.; BRIAN K.; ALISA E.; BENJAMIN J.S. **Wine making 101**. 2005 apud LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology** v. 69. p. 627–642. 2006.

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

MONTEIRO, A. B.; MASSAROTO, J A.; GASPARINO, C. F.; SILVA, R. R.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FILHO, J. C. S. Silagens de cultivares e clones de batata-doce para alimentação animal visando sustentabilidade da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 2 n. 2. 2007.

MOORE, J.M. Fermentation of biomass derived glucose/xylose mixture to ethanol using several strains of *Pichia stipitis*. 30th symposium on Biotechnology for fuels and chemicals. New Orleans, 2008. Disponível em <<http://sim.confex.com/sim/30th/techprogram/P5810.HTM>> Acesso em 18 Jan. 2010.

MORAES, I.O.; VIEIRA, J.A.G. Propriedades físicas e secagem de batata-doce. **Alimentos e Nutrição**, v. 4, p. 79-87. São Paulo, 1992.

NAGASHIMA, M. **Progress in ethanol production with yeasts**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 57-8. (Yeast: biotechnology and biocatalysis). 1990

NETO, D.C.B BUZATO, J.B.; CELLIGOI, M.A.P.C.; OLIVEIRA, M.R. Otimização da produção de etanol por *Zymomonas mobilis* na fermentação do melaço de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, v. 26, n. 1, p. 17-22, 2005.

OLIVEIRA, R.F. **PROÁLCOOL: Fonte alternativa de energia**. (Monografia). Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP. Recife – PE. 2004.

OLIVEIRA-FREGUGLIA, R. M.; HORII, J.. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* em cultura mista com *Lactobacillus fermentum*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 3, 1998.

OSTROWSKI, A.P.; VARGAS, F.; PIZZINATTO, L.E.; ARAÚJO, J.H.B. Obtenção de álcool etílico a partir de amido de mandioca. **Mostra de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar – I MICIT**. Camboriú – SC. 2006.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates I: inhibition and detoxification. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 17-24, 2000.

RIBEIRO, C. A. F.; HORII, J.. Potentialities of yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae* for sugar cane juice fermentation. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, 1999.

SALLA, D.A. **Análise energética de sistemas de produção de etanol de mandioca, cana-de-açúcar e milho**. (Tese – Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu – SP. 2008.

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

SHIGECHI, H.; KOH, J.; FUJITA, Y.; MATSUMOTO, T.; BITO, Y.; UEDA, M.; SATOH, E.; FUKUDA, H.; KONDO, A.,. Direct production of ethanol from raw corn starch via fermentation by use of a novel surface-engineered yeast strain codisplaying glucoamylase and α -amylase. **Applied Environmental Microbiology**. v. 70, p. 5037–5040. 2004

SILVA FILHO, E.A.; MELO, H.F.; ANTUNES, D.F.; SANTOS, S.K.B.; RESENDE, A.M.; SIMÕES, D.A.; MORAIS JUNIOR, M.A. Isolation by genetic and physiological characteristics of a fuel-ethanol fermentative *Saccharomyces cerevisiae* strain with potential for genetic manipulation. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 481–486, 2005.

SILVA, J.A.; DAMASCENO, B.P.G.L.; SILVA, F.L.H.; MADRUGA, M.S.; SANTANA, D.P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008.

SILVA, J.B.C.; LOPES C.A.; MAGALHÃES, J.S. **Batata-doce (*Ipomoea batatas*)** – Sistemas de Produção n.º 6. Embrapa Hortaliças. Versão Eletrônica. Jun/2008. Disponível em:
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Batata-doce/Batata-doce_Ipomoea_batatas/origem.html> Acesso em 03 Nov. 09.

SILVA, J. A.; SILVA, L.H.; ALVES, R.R.N.; SANTANA, D.P. Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °Brix na produção dos metabólicos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, 2006.

SILVEIRA, M.A. (Coord.). A cultura da batata-doce como fonte de matéria-prima para o etanol. **Boletim Técnico – UFT**. Palmas – TO. 2008.

SCHMIDELL, W.; FACCIOTI, M.C.R. **Biorreatores e processos fermentativos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 178-192. (Biotecnologia Industrial; v.2)

SKINNER, K.A.; LEATHERS, T.D. Bacterial contaminants of fuel ethanol. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 401-408. 2004.

SLININGER, P.J.; DIEN, B.S.; GORSICH, S.W.; LIU, Z.L. Nitrogen source and mineral optimization enhance D-sylose conversion to ethanol by yeast *Pichia stipitis* NRRL Y-7124. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 72, n. 06, p. 1285-1296. 2006.

SOARES, L.H.B. ALVES, B.J.R. URQUIAGA, S. BOODEY, R.M. Balanço Energético na Produção de Bioetanol de Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) **Circular Técnica Embrapa**. Seropédica, RJ. Julho, 2008.

SOUZA, A.F.B.C. **Processo fermentativo de biomassa de batata doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] por meio de células imobilizadas para produção de etanol**. (Dissertação – Mestrado em Ciências do Ambiente). Universidade Federal do Tocantins – UFT. Palmas, 2005.

SOUZA, F. R.; SILVEIRA, M. A ; TAVARES, I. B; SOUZA, A. F. B. C. Quantificação de diferentes concentrações enzimáticas de alfa.-amilase e amiloglicosidase em fermentação de meio hidrolisado para produção de álcool a partir da cultura de batata-doce. **Anais I Congresso Científico Universidade Federal do Tocantins**, Palmas, 2005.

SOUZA, V. CUNHA, V.S. RODRIGUES, J.M. **A Metrologia Química e o Desenvolvimento de Material de Referência Certificado para Álcool Etílico Combustível: uma Ferramenta para a Competitividade no Mercado Internacional**. Cap. 10. In: IEL – Instituto Euvaldo Lodi – **Álcool Combustível**. Série Indústria em Perspectiva. 168 p. Brasília, 2008.

SPRENGER G.A. Carbohydrate metabolism in *Zymomonas mobilis*: a catabolic highway with some scenic routes. **FEMS Microbiology Letters**. v. 145. p. 301-307.1996

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas**. (Tese – Doutorado Engenharia Química). Campinas – SP. 2001.

STUPIELLO, J.P. Matérias-primas para a obtenção do Álcool. In: Furtado, J. S. **Fermentações Industriais & Transformações Microbianas**. Sociedade Brasileira de Microbiologia. São Paulo, p. 66–69. 1980 apud SANTANA, N.B. **Eficiência da hidrólise de amido de mandioca por diferentes fontes de enzimas e rendimento da fermentação alcoólica para produção de etanol**. (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – UFV. 2007.

SUMERLY, R.; SUMERLY, H.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F. **Hidrólise do amido**. p. 377 - 448. (Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas; v. 3). Fundação Cargill, 2002.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: a review. **Bioresource Technology** v. 83, p. 1 - 11. 2002

SZWARC, A. Uso do Álcool Combustível e o Meio Ambiente. Cap. 7. In: IEL – Instituto Euvaldo Lodi – **Álcool Combustível**. Série Indústria em Perspectiva. 168 p. Brasília, 2008.

TAVARES, I. B.; SANTANA, W. R.; SILVIEIRA, M. A.; SOUZA, R. C.; MAGALHAES, K. A. B.; MAGALHÃES FILHO, L. N. L.; CARDOSO, L. M.; OLIVEIRA, H. S.; VIDAL, A. S. C.; VIEIRA, G. E. G.; ALVIM, T. C. Rendimento potencial de etanol de acessos de batata-doce cultivados no tocantins.. In: **Congresso Internacional de Agroenergia e Biocombustíveis**, Teresina. 2007.

TAVARES, L.Z. **Otimização do processo de produção de etanol por levedura amilolítica recombinante utilizando técnicas de modelagem matemática**. (Tese – Doutorado em Biotecnologia). Universidade de São Paulo. 2005.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J. G.; BEISMAN, D. A. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, 1997.

TORRES, E.R.B.; VIOLANTE, F.A. Uma revisita à síntese do ácido 3,5-dinitrosalicílico. **Anais da 59ª Reunião Anual da SBPC**. Belém – PA. 2007. Disponível em <<http://www.servicos.sbpnet.org.br/sbpc/59ra/senior/livroeletronico/resumos/R7559-1.html>> Acesso em 14 Jan. 10.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiology**. 6 ed. Califórnia: Art Méd, 2002.

URBANO, L.H.; SUMAN, P.A.; LEONEL, M. Rendimento de processo de produção de etanol a partir de maniveira. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Mandioca**. Paranaíba – PR. 2007.

ÚNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. **Produção de etanol do Brasil**. São Paulo – SP. 2009. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica/>>. Acesso em 25 Dez. 2009.

VALLE, T.L.; FELTRAN, J.C.; CARVALHO, M.R.L. **Mandioca para a produção de etanol**. 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_4/mandioca/index.htm>. Acesso em: 23/12/2009.

VENTURINI FILHO, W.G.; MENDES, B.P. **Fermentação alcoólica de raízes tropicais**. (Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas; v. 3) Fundação Cargill, 2003.

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

WATSON, K. Temperature Relations In: The Yeasts:, vol.2, c.3, p.41-71. Edited by ROSE, A. H. and HARRISON, J.S. 2 edition. **Academic Press**, 1987 apud MALTA, H.L. **Estudo de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique.** (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 2006.

WHEALS, A.E.; BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G.; AMORIM, H.V. Fuel ethanol after 25 years. **Trends in Biotechnology**. v. 17, n. 12, p. 482–487. 1999.

WHEATLEY, C. C; BOFU, S. Sweet potato starch in China. **Current status and future prospects**. 1999.

WOOLFE, J. A. **Sweet potato: an untapped food resource**. **Cambridge University Press**. 1992.

ZHANG, J.X.; TIAN, S.; LIU, J.K.; ZHANG, Y.Z.; YANG, X.S. Progress of engineered *Saccharomyces cerevisiae* of xylose metabolism and fermentation for ethanol production. **Microbiology**. v. 35, n. 4, p. 572-576. 2008.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)