

Avaliação do processo fermentativo do caldo de mandiocaba (*Manihot esculenta crantz*) para produção de etanol

Evaluation of the fermentation process of cassava broth (*Manihot esculenta crantz*) for ethanol production

Milena Costa Souza^{1*}, Kelly Roberta Pinheiro de Sousa², Joice Meneses da Conceição³, Gabriela Renata Cabral Cordeiro³, Beatriz de Lima Santos², Tarcísio da Conceição Ferreira⁴, Lucas de Sousa Martins²; Ana Cristina de Souza Cabral⁵

RESUMO

A Mandiocaba açucarada é uma raiz tipicamente brasileira utilizada para diversos fins comerciais ou para consumo. Dentre as suas utilidades ela se destaca por ser uma matéria prima que pode ser usada na produção de etanol. Este trabalho teve por objetivo avaliar as variáveis agitação, filtração e nutrientes no processo de fermentação alcoólica da mandiocaba pelo método de Análise de Variância Multifatorial. Os resultados obtidos na caracterização físico-química da raiz e do caldo, revelaram que a mandiocaba possui 87,71% de água e 6,8% de açúcares redutores; 5,04% de açúcares redutores, pH 6,65, respectivamente. A ANOVA demonstrou que a correlação entre os dados está estatisticamente bem ajustada com $R^2 = 0,99$, indicando a conversão do °Brix em etanol e CO_2 . As variáveis agitação e filtração, foram os parâmetros mais significativos no trabalho, influenciando diretamente no processo fermentativo. Na cinética de formação de CO_2 o ensaio 05 apresentou maior produção no intervalo de 12h, em relação ao consumo de °Brix todos os ensaios expressaram valores finais semelhantes. Para análise de rendimento e eficiência os ensaios 01 e 08 destacam-se como maior e menor valores de álcool produzido, respectivamente.

Palavras-chave: Variáveis; Mandiocaba; Fermentação.

ABSTRACT

Sugary Cassava is a typically brazilian root used for various commercial purposes or for consumption. Among its uses, it stands out for being a raw material that can be used in the production of ethanol. This work aimed to evaluate the variables agitation, filtration and nutrients in the process of alcoholic fermentation of cassava using the Multifactorial Analysis of Variance method. The results obtained in the physicochemical characterization of the root and juice revealed that cassava has 87.71% water and 6.8% reducing sugars; 5.04% reducing sugars, pH 6.65, respectively. ANOVA demonstrated that the correlation between the data is statistically well-adjusted with $R^2 = 0.99$, indicating the conversion of °Brix to ethanol and CO_2 . The variables agitation and filtration were the most significant parameters in the work, directly influencing the fermentation process. In the kinetics of CO_2 formation, test 05 showed greater production in the 12 h interval, in relation to the consumption of °Brix, all tests expressed similar final values. For the

¹ Suez-Water Technologies & Solutions.

*E-mail: milenacosta2512@gmail.com

² Universidade Federal do Pará

³ Universidade do Estado do Pará

⁴ Faculdade Metropolitana

⁵ Dalmass

analysis of yield and efficiency, tests 01 and 08 stand out as the highest and lowest values of alcohol produced, respectively.

Keywords: Variables; Cassava; Fermentation

INTRODUÇÃO

O petróleo continua sendo a principal fonte de energia utilizada ao redor do mundo, porém a sua instabilidade político-econômica e a preocupação com o meio ambiente desencadearam pesquisas por novas fontes renováveis, limpas e economicamente sustentáveis. A matriz energética brasileira é composta em grande parte por fontes renováveis, dentre as quais merecem destaque a biomassa, que tem como uma das principais produções o etanol. Neste sentido, sabe-se que qualquer produto pode ser utilizado para sua obtenção por meio de um método fermentativo, desde que a matéria prima utilizada seja rica em carboidratos (DO NASCIMENTO, 2018).

A produção de etanol no Brasil, perpassa por quatro etapas: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. Estes processos são responsáveis por evitar que inibidores sejam formados e dificultem o processo fermentativo; quebra de macromoléculas de celulose e hemicelulose em moléculas menores, para obter açúcares fermentescíveis; utilização de açúcares pelas leveduras, na conversão de glicose em etanol e o processo de separação do etanol do mosto, respectivamente (BARROS, BLUM, 2018).

É neste cenário, que a mandioca açucarada se destaca, pois além de ser uma matéria prima brasileira, possui açúcares livres em suas raízes, dispensando a etapa de hidrólise do processo, demonstrando assim seu grande potencial para produção de Etanol. Soma-se a isto, seu baixo investimento e custo de produção. No Brasil, a maior parte da utilização da mandioca, está relacionada a seu uso na produção de farinha e de alimentos de mesa. Esta característica se torna um dos principais problemas para os produtores e processadores desta matéria prima que destacam a pouca diversidade para o emprego desta raiz (HOPPE; SHIKIDA; SILVA, 2009).

O etanol também chamado de Álcool etílico (C_2H_5OH) pode ser obtido através da fermentação do açúcar, hidratação do etileno ou pela redução do acetaldeído. Tendo como características ser um álcool primário, isto é, o átomo de carbono que se acha unido ao

grupo hidroxila está ligado somente a um átomo de carbono. É um álcool saturado, com ligações simples entre dois carbonos. (DE SOUZA, 2013; OMETTO, 2005).

O etanol pode ser basicamente produzido pelas vias: sintética e fermentativa, esta última, segue sendo mais utilizada devido a grande quantidade de matéria-prima natural que pode ser utilizada, neste caso, qualquer produto rico em carboidrato. Assim, dependendo da matéria prima adotada e do método de processamento, o etanol pode ser classificado em primeira (Utilização de agentes fermentativos para metabolização do substrato), segunda (biomassa de resíduos sejam industriais, vegetais ou urbanos) e terceira geração (novas fontes para produção de biomassa, como por exemplo as microalgas) (DE LIMA, 2017).

A via fermentativa não necessita de etapas preparatórias, o etanol tem se destacado por ser uma fonte energética renovável, sustentável e limpa, todavia a busca por novas matérias-primas deve ser crescente, haja vista que nem todas as áreas estão propícias para plantação de cana de açúcar somasse ainda o período de intersafra desta matéria-prima (DE SOUZA, 2013).

Neste sentido, a mandiocaba (*Manihot esculenta crantz*) gera interesse devido sua maior produtividade, desenvolvimento aceitável em solo com baixa fertilidade e apresentar boa resistências a doenças. O Brasil, se destaca ainda como o segundo maior produtor de mandioca (10% da produção mundial), obviamente a sua produção não visa substituir a cana de açúcar, porém, servirá como opção para pequenos produtores onde a viabilidade da produção de cana de açúcar é baixa, além de auxiliar no período de intersafra (PACHECO et al., 2011)

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma das culturas alimentares mais importantes, consumida por milhões de pessoas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (EL-SHARKAWY, 2006). Entre as variedades de mandioca cultivadas no estado do Pará figura a mandioca açucarada, conhecida por mandiocaba, manicuera ou manicoera, que, ao contrário de amido, acumula açúcares em suas raízes (DE SOUZA, MONTEIRO, 2011).

A mandioca açucarada é muito utilizada pelos indígenas da Amazônia na alimentação. Alguns acessos apresentam elevada produtividade e altos teores de açúcares nas raízes (CARVALHO et al., 2004; DE SOUZA, MONTEIRO, 2011), o que a destacou

entre pesquisadores e produtores do Brasil e do Mundo. Esses acessos diferenciados podem vir a ser empregados na produção de álcool combustível de forma direta a partir da glicose.

A fermentação alcoólica consiste na conversão da glicose em etanol pela ação de microrganismos. A *Saccharomyces cerevisiae* é uma das espécies mais exploradas comercialmente dentre as inúmeras outras leveduras, por apresentar empregabilidade na indústria de produção de etanol, sendo utilizada em diversos processos fermentativos como: panificação, cervejaria e fabricação de vinho devido sua capacidade de converter açúcar em etanol, ácidos orgânicos e gás carbônico. Funciona ainda como fonte para se obter enzimas, devido sua grande manipulação em cepa em plantas industriais. Tem como levedura ascomicética, anaeróbica facultativa e tem seu crescimento celular influenciado por fatores como: temperatura, pH, componentes do meio de cultura e disponibilidade de oxigênio para a célula (DAS NEVES, 2003).

A Contaminação Bacteriana por *Lactobacillus* e *Bacillus* pode comprometer o rendimento do processo de fermentação industrial, quando esse apresenta condições de assepsia incompleta. Fatores como a alta temperatura, o aumento no tempo de fermentação e o estresse da levedura favorecem a contaminação bacteriana que está associada a formação de ácido lático que pode ocasionar a floculação de levedura (LIMA et al, 2001)

Segundo De Sousa e Monteiro (2011), a aeração é uma prática que consiste em introduzir ar no mosto no início da fermentação, a fim de favorecer o desenvolvimento de leveduras e, conseqüentemente, favorecer a transformação completa dos açúcares fermentáveis. O controle da temperatura é um fator de grande importância durante o processo de fermentação, pois a levedura trabalha bem entre temperaturas de 25°C e 30°C. Valores de temperatura acima destes citados podem gerar enfraquecimento da levedura, criar boas condições para o aparecimento de outros microrganismos e ocasionar maiores perdas de álcool por evaporação, já temperaturas inferiores a 25°C diminuem a atividade da levedura.

Os nutrientes são necessários para o bom desenvolvimento da fermentação, afetando a velocidade e a multiplicação da levedura. A concentração adequada de nutrientes do mosto é de suma importância, pois se presentes em quantidades insuficientes ou exageradas, podem refletir de forma negativa sobre o processo fermentativo. Uma alta

concentração, resulta em alto teor alcoólico, que pode resultar em toxidez à levedura por desestabilizar a membrana plasmática. Os nutrientes participam do metabolismo do fermento como ativadores das enzimas. No caso, quando uma quantidade de nutrientes é insuficiente, o fermento reproduz e conduz a fermentação lentamente ou mesmo sua reprodução é impossível (DE SOUZA, 2013).

Para que ocorra um bom processo de fermentação o pH deve se encontrar com um valor adequado para os as leveduras, que deve ser em torno de 5 a 6, que é considerado um valor ótimo para seu crescimento. O pH ideal para a produção de etanol, a partir de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, deve apresentar valor em torno de 4,5. O pH é um fator importante para as fermentações industriais devido à sua importância tanto no controle da contaminação bacteriana, quanto ao seu efeito sobre o crescimento da levedura, taxa de fermentação e formação de subprodutos (SOUSA; MONTEIRO; DE SOUZA, 2013)

Para se obter fermentações mais rápidas, maior produtividade, maior controle de bactérias contaminantes são necessárias elevadas concentrações de leveduras na dorna. Em contrapartida, estes elevados teores de levedura exigem maior energia de manutenção, tendo como consequência maior consumo de substrato para manutenção das células vivas. Ressaltando assim, a importância de obter-se um teor ótimo de levedura na dorna (LIMA et al., 2001)

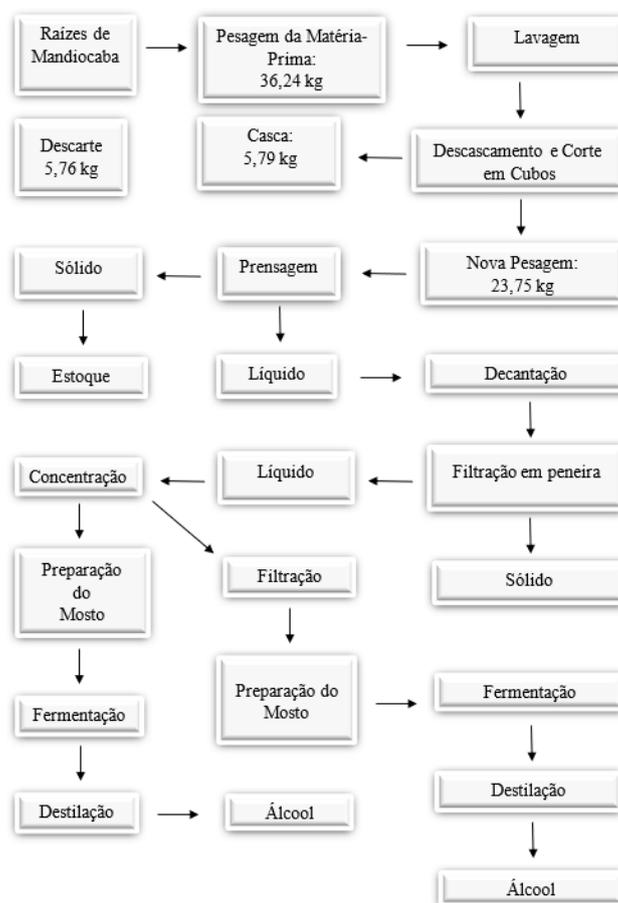
Durante o processo da fermentação alcoólica origina-se uma série de compostos que podem atuar como inibidores potenciais. Entre eles podem ser citados os metabólitos secundários contaminantes totais e, até mesmo, o etanol produzido no processo. A natureza e concentração desses compostos dependem das condições do processo, como temperatura do meio e tempo de fermentação (SILVA et al., 2008). O etanol afeta diretamente a membrana celular das leveduras, devido ao estresse causado pela exposição das mesmas ao etanol. (FERNANDES, 2008)

Este trabalho então, utiliza o caldo da mandiocaba como matéria-prima para produção de álcool, especificamente a obtenção de etanol, por meio de um processo fermentativo. Na perspectiva, de se agregar um valor e empregabilidade diferenciada desta raiz.

MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento deste trabalho ocorreu seguindo as etapas constantes no fluxograma 01:

Fluxograma 01- Processamento da Mandiocaba visando a produção de etanol



Fonte: Os autores (2021)

Recebimento e tratamento da matéria-prima

A matéria-prima mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) fornecida por um produtor rural do Município de Cametá-PA, foi devidamente conduzida ao Laboratório de Operações e Separação – LAOS, da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UFPA.

O material foi pesado e lavado em água abundante com o auxílio de uma esponja, para eliminação dos resíduos de solo. Após a lavagem, as partes que apresentavam danos foram descartadas, e em seguida, parte do material foi separada, embalada e congelada para posterior realização das análises físico-químicas, e o restante foi descascado e cortado em cubos para facilitar o processo de prensagem.

Obtenção do Caldo de Mandiocaba

A extração do caldo foi realizada em prensa hidráulica modelo SIWA FMB, capacidade para 1 litro (L) e 15 toneladas. Após a prensagem o caldo passou pela etapa de filtração, utilizando peneira mesh 65, para retirada das partículas sólidas deixadas pela raiz. Em seguida, o caldo filtrado foi submetido ao processo de decantação, (Figura 01) durante 12 horas (h) para a separação do amido e do restante das partículas sólidas em suspensão. Após, o caldo sobrenadante foi acondicionado em garrafas de polietileno e armazenado sob refrigeração à - 4 °C.

Figura 01- Processo de decantação; (a): início da decantação (a esquerda), (b): final do processo de decantação (a direita)



Fonte: Os autores (2021)

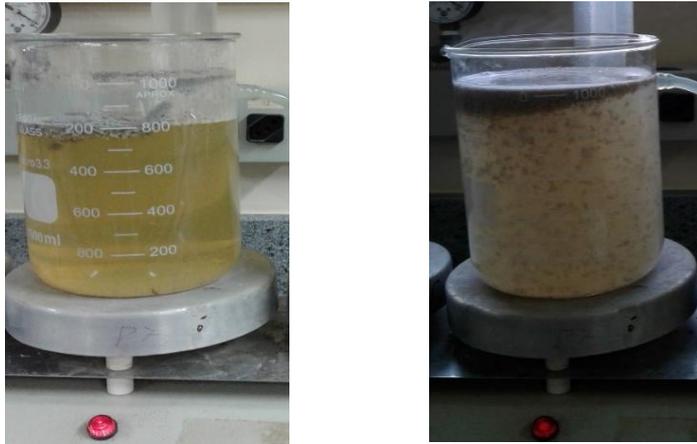
Processo de Fermentação

O processo de fermentação foi dividido em três seções (A, B e C), a saber:

(A) Concentração do Caldo

A concentração do caldo foi feita com o auxílio de chapa aquecedora (Quimis, modelo: Q261-22), (Figura 02), durante 4 horas, tendo como objetivo aumentar a concentração do substrato. A concentração foi acompanhada através de medidas do °Brix até que o mesmo alcançasse 15 °Brix.

Figura 02-Processo de concentração do caldo (a esquerda): início da concentração, (b): durante a concentração (a direita)



Fonte: Os autores (2021)

Após a concentração, parte do caldo filtrado (CCF) e parte não filtrada (CC) foram acondicionados em garrafas de polietileno em guardadas sob refrigeração até o momento da fermentação.

(B) Preparação do Mosto

O caldo concentrado foi submetido primeiramente à correção do pH para 4,8, com ácido sulfúrico 0,1 N (PA-ACS Nox Lab solutions) de acordo com SOUZA, 2013. Após a correção do Ph, cerca de 200 mL de caldo era transferido para erlenmeyer de 300 m L, seguido da adição da levedura *Saccharomyces Serevisiae* (10 g/L), previamente ativada em 20 mL de caldo. A levedura usada foi a comercial de panificação caseira adquirida em comércio local. Os nutrientes, quando adicionados de acordo com o planejamento experimental, foram Sulfato de amônio e Fosfato de potássio (1 g/l cada) de acordo com Friedich, (1999) e eram adicionados ao caldo antes da adição da levedura. Ao finalizar a preparação do mosto, o erlenmeyer era lacrado com papel alumínio e levado à etapa de fermentação

(C) Planejamento experimental

Para realização dos testes de fermentação foi realizado um planejamento experimental (Tabela 01), otimizado pelo método de delineamento fatorial completo 2^3 (NETO *et al.*, 1996) em duplicata, sendo as variáveis: Agitação (X_1), filtração (X_2) e nutrientes (X_3); a resposta, o Etanol.

Tabela 01-Planejamento Experimental

Ensaio	Níveis Codificados			Níveis Reais		
	X ₁	X ₂	X ₃	Agitação	Filtração	Nutrientes
1	-1	-1	-1	não	não	Não
2	1	-1	-1	sim	não	não
3	-1	1	-1	não	sim	não
4	1	1	-1	sim	sim	não
5	-1	-1	1	não	não	sim
6	1	-1	1	sim	não	sim
7	-1	1	1	não	sim	sim
8	1	1	1	sim	sim	sim

Legenda: Considere sim= 1 e não= -1

Fonte: Os autores (2021)

Acompanhamento da Fermentação

A fermentação do mosto de Mandiocaba foi realizada em estufa (Quimis, modelo: Q314M242) à 28 °C, (Figura 03), e para agitação dos experimentos utilizou-se mesa agitadora (Quimis, modelo: Q 225-21) introduzida em estufa. Durante o processo de fermentação, a cada 1 hora verificou-se a perda de CO₂, em seguida alíquotas eram retiradas para verificar o valor do °Brix, essa leitura foi feita em refratômetro de bancada (Quimis, modelo: Q767BOV-OW), esse procedimento foi realizado até o tempo de 12 horas. A agitação foi inserida de acordo com o planejamento experimental.

Figura 03-Fermentação em estufa à 28°C



Fonte: Os autores (2021)

Ao final da fermentação as amostras passaram pelo processo de centrifugação por 5 min à 3.000 rpm para retirar as células em suspensão, evitando a continuidade do processo fermentativo.

Etapa de destilação

As amostras foram submetidas ao processo de destilação (Figura 04) com controle da temperatura em torno de 80 °C (levando em consideração a temperatura de evaporação do etanol 78°C).

Figura 14-Esquema de destilação



Fonte: Os autores (2021)

O final da destilação ocorreu a partir do aumento de temperatura, quando esta atingia 85°C. A concentração de etanol foi determinada por meio de densímetro digital.

Cálculo do Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica e do processo

(a) Cálculo da porcentagem de etanol teórico:

O cálculo para rendimento ideal de etanol é obtido a partir da equação de Gay-Lussac $C_6H_{12}O_6 + \text{levedura} \rightarrow 2CH_2 - CH_2 - OH + 2CO_2 + \text{calor} + \text{levedura}$, onde:

180 gramas de ART (Sacarose, Glicose e Frutose) ————— 92 gramas de etanol

Glicose (°Brix) ————— valor teórico do etanol

$$\text{Etanol teórico \%} = \frac{\text{valor teórico do etanol (g)}}{\text{volume do mosto (mL)}} \times 100$$

(b) Cálculo do Rendimento de álcool produzido:

Para calcular o rendimento real de álcool dividiu-se o volume de etanol produzido em cada ensaio pelo volume de mosto inicial (200 mL), onde:

$$\text{Volume de álcool produzido (mL)} = \frac{\text{Volume de destilado x teor alcoólico}}{\text{volume de mosto}}$$

Sendo este volume de mosto, o final, após o processo de fermentação, o volume de destilado foi obtido após o processo de destilação no qual foi medido o teor alcoólico através de densímetro digital.

$$\text{Rendimento de etanol \% (v/v)} = \frac{\text{volume de álcool produzido (mL)}}{\text{volume do mosto (200 mL)}} \times 100$$

(c) Eficiência da fermentação:

Para o cálculo usamos os valores de açúcares (°Brix) consumidos pelos valores de °Brix no início do processo de fermentação.

$$\text{Eficiência da fermentação \%} = \frac{\text{Açúcares consumidos}}{\text{Açúcares reductores inicial}} \times 100^3$$

(d) Rendimento do Processo

É obtido através da razão entre o álcool produzido %(v/v) pelo álcool teórico %(v/v). Para esse cálculo deve-se encontrar antes, o valor de Álcool produzido (%) e álcool teórico (%), dados por: volume de etanol obtido na destilação dividido pelo volume de mosto inicial (200 mL - início da fermentação) x 100 e açúcares consumidos divididos pelo volume de mosto inicial (200 mL - início da fermentação) x 100, respectivamente.

$$\text{Rendimento \% (v/v)} = \frac{\% \text{ Álcool produzido}}{\% \text{ Álcool teórico}} \times 100$$

Caracterização Físico-Química da Raiz

A raiz de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) foi caracterizada quanto à Umidade (AOAC,1997), Cinzas (AOAC,1997), Proteínas (AOAC,1997), Lipídeos (BLIGH; DYER, 1959), Fibras (AOAC,1997), Açúcares Totais e Redutores por LANE e EYNON (Titulação de oxirredução, segundo AOAC, 1984).

Caracterização Físico-Química do Caldo

O caldo extraído da Raiz foi caracterizado quanto ao Potencial hidrogeniônico (pH), utilizando pHmetro digital (PHTEX Ref: pH 100), Acidez Total titulável seguindo o método 942.15 (AOAC, 1997), e Sólidos Solúveis Totais (°Brix), leitura em Refratômetro de bancada (Quimis, Q767B0V-0W), seguindo o método 932.12 (AOAC, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela de Caracterização físico-química da Raiz de mandioca:

A tabela (02) apresenta as características físico-químicas da raiz de mandioca:

Tabela 02- Caracterização físico química da raiz

Umidade (%)	Cinzas (%)	Açúcares Totais (%)	Açúcares Redutores (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (g/100 mL)	Fibras totais (%)
87,71 ± 0,37	0,88 ± 0,03	7,06 ± 0,2	6,8 ± 0,1	1,26 ± 0,06	1,36 ± 0,02	1,03 ± 0,13

Fonte: Os autores (2021)

Como pode-se observar na tabela (02), a raiz de mandioca possui em sua composição 87,71% de água, fator determinante na escolha da matéria prima para fermentação. Na raiz o valor de açúcares redutores é quase a quantidade de açúcar total, ou seja, o percentual de açúcares simples (glicose) é aproximadamente o total de açúcar presente na mandioca. Sendo assim, diferentemente das muitas matérias-primas, a mandioca não precisa passar pelo processo de hidrólise da sacarose, diminuindo o consumo de energia no processo, evitando a utilização de ácidos que produzem efluentes poluentes, favorecendo assim, o balanço econômico e ambiental na produção do etanol.

A Tabela (03) apresenta as principais características físico-químicas do caldo da mandioca:

Tabela 03- Característica físico química do caldo

Acidez Titulável (%)	Açúcares Totais (%)	Açúcares Redutores (%)	Glicose (g/L)	Densidade (g/cm ³)	pH	°Brix
0,15 ± 0,01	5,97 ± 0,10	5,04 ± 0,03	6,62 ± 0,16	1,024 ± 0,01	6,65 ± 0,07	8 ± 0,01

Fonte: Os autores (2021)

O pH é um dos fatores que influenciam diretamente no resultado da fermentação, por isso deve-se fazer a correção do resultado real 6,65 para 4,8 de acordo com o (SOUZA, 2013). Outro parâmetro que merece atenção são os Açúcares Redutores 5,04%, pois a glicose é o substrato para a *Saccharomyces* que o converterá em álcool e CO₂.

Matriz de planejamento – ANOVA

A tabela (04), apresenta os 8 ensaios (em duplicata) realizados a partir do planejamento experimental e os valores de redução do °Brix, obtidos através da fórmula:

$$\text{RedBrix} = \text{InBrix} - \text{EndBrix}$$

Tabela 04- Redução do °Brix.

Ensaio	Variáveis Independentes			Variáveis dependentes		
	Agitação	Filtração	Nutrientes	InBrix	EndBrix	RedBrix
1	-1	-1	-1	18,11	8,09	10,03
2	1	-1	-1	15,36	4,82	10,54
3	-1	1	-1	14,61	5,32	9,29
4	1	1	-1	15,36	4,82	10,54
5	-1	-1	1	18,11	7,58	10,53
6	1	-1	1	15,36	5,32	10,04
7	-1	1	1	15,11	5,32	9,79
8	1	1	1	15,36	5,32	10,04
9	-1	-1	-1	18,11	8,09	10,03
10	1	-1	-1	15,36	4,82	10,54
11	-1	1	-1	14,61	5,07	9,54
12	1	1	-1	15,36	5,32	10,04
13	-1	-1	1	18,11	7,83	10,28
14	1	-1	1	15,36	5,32	10,04
15	-1	1	1	15,11	5,07	10,04
16	1	1	1	15,36	5,32	10,04

Legenda: InBrix = valor do °Brix no início da fermentação; EndBrix = valor do °Brix no final da fermentação; RedBrix = valor de redução do °Brix no processo fermentativo.

Fonte: Os autores (2021)

A tabela (04) representa as variáveis independentes codificadas Agitação, filtração e Nutrientes e as respostas obtidas em função do °Brix (InBrix, EndBrix e RedBrix) nas quais foram aplicados a ANOVA com coeficiente de regressão maior ou igual 95% e erro

em 5 %. Rodando a Anova (Figura 05) podemos verificar que o coeficiente de regressão de Pearson (R^2) foi mais significativo para a coluna final de °Brix com valor 0,99, ou seja, essa está estatisticamente mais bem distribuída, conforme objetivo do trabalho que consiste no maior consumo de açúcar para produção de etanol:

Figura 05- Coeficientes de regressão.

Dependnt Variable	Test of SS Whole Model vs. SS Residual (Dados Redução Brix completo2)										
	Multiple R	Multiple R ²	Adjusted R ²	SS Model	df Model	MS Model	SS Residual	df Residual	MS Residual	F	p
InBrix	1,000000	1,000000	1,000000	26,48640	7	3,783771	0,000000	8	0,000000	8,843118E+15	0,000000
EndBrix	0,995271	0,990565	0,982309	23,08445	7	3,297779	0,219877	8	0,027485	1,199864E+02	0,000000
RedBrix	0,940285	0,884136	0,782755	1,67784	7	0,239692	0,219877	8	0,027485	8,720946E+00	0,003318

Fonte: Os autores (2021)

A figura 06, apresenta o teste de significância das variáveis independentes que apresentam a grande média, agitação e filtração, bem como interação agitação-filtração como as mais significantes estudadas, onde o coeficiente de Fischer marcado em vermelho demonstra que as mesmas não estão na região de hipótese nula, ratificando a sua significância:

Figura 06- Teste de significância de variáveis.

Effect	Multivariate Tests of Significance (Dados Redução Brix completo2)					
	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,000054	147577,2	1	8	0,000000
Agitação	Wilks	0,043384	176,4	1	8	0,000001
Filtração	Wilks	0,020775	377,1	1	8	0,000000
Nutrientes	Wilks	3,504000		1	8	
Agitação*Filtração	Wilks	0,020775	377,1	1	8	0,000000
Agitação*Nutrientes	Wilks	3,504000		1	8	
Filtração*Nutrientes	Wilks	3,504000		1	8	
Agitação*Filtração*Nutrientes	Wilks	3,504000		1	8	

Fonte: Os autores (2021)

O Teste de Tukey conforme, figura 07:

Figura 07- Teste de Tukey.

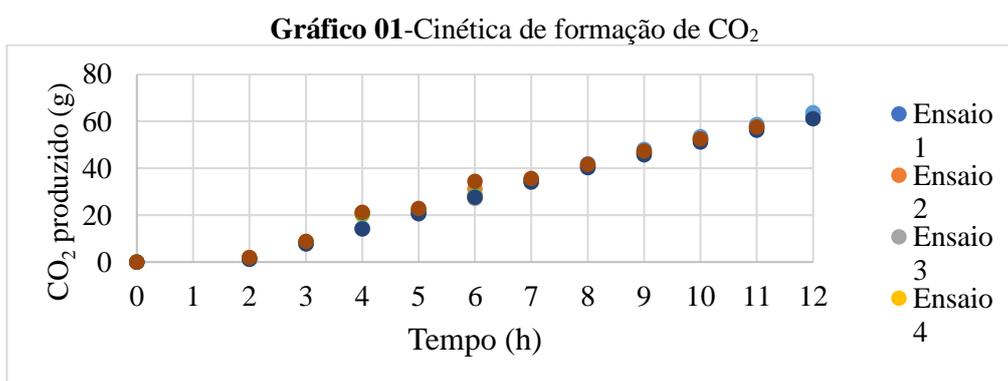
Cell No.	Tukey HSD test; variable RedBrix (Dados Redução Brix completo2)					
	Agitação	Filtração	Nutrientes	RedBrix Mean	1	2
3	-1	1	-1	9,41375		****
4	-1	1	1	9,91475	****	****
1	-1	-1	-1	10,02675	****	****
8	1	1	1	10,04000	****	****
6	1	-1	1	10,04000	****	****
7	1	1	-1	10,29050	****	
2	-1	-1	1	10,40400	****	
5	1	-1	-1	10,54100	****	

Fonte: Os autores (2021)

Após a verificação do teste de tukey (Figura 07), podemos visualizar que o ensaio cinco apresentou melhor performance, ou seja, foi o mais significativo, seguido do ensaio um. Isso demonstra que as variáveis agitação e filtração influenciaram negativamente no processo, devido à uma vedação inadequada dos erlenmeyers, onde ocorreu o processo fermentativo, pois o aumento de oxigênio faz com que o lêvedo transforme o açúcar em ácido acético em vez de etanol, segundo Cardoso et.al., (2007). Na filtração pode-se ter retirado parte do substrato do meio além de poder ter ocorrido contaminação do mesmo, o que corrobora essa influência negativa.

Cinética de formação de CO₂

O gráfico (01) representa as curvas cinéticas de formação de CO₂ da fermentação do caldo de mandioca, no qual é possível observar 08 ensaios obtidos através do planejamento experimental.



Fonte: Os autores, 2021.

Podemos observar através da reação (01) de produção de álcool que as leveduras sintetizam o açúcar em etanol e dióxido de carbono:

Reação 01:



Sendo o álcool e o CO₂ estequiometricamente proporcionais (FRIEDRICH, 1999), logo a liberação de dióxido de carbono indica a produção de Etanol. Então, através do valor de massa de CO₂ desprendida nos Erlenmeyer de fermentação pode ser convertida em massa de etanol presente no meio multiplicando-o pela razão 0,51/0,49.

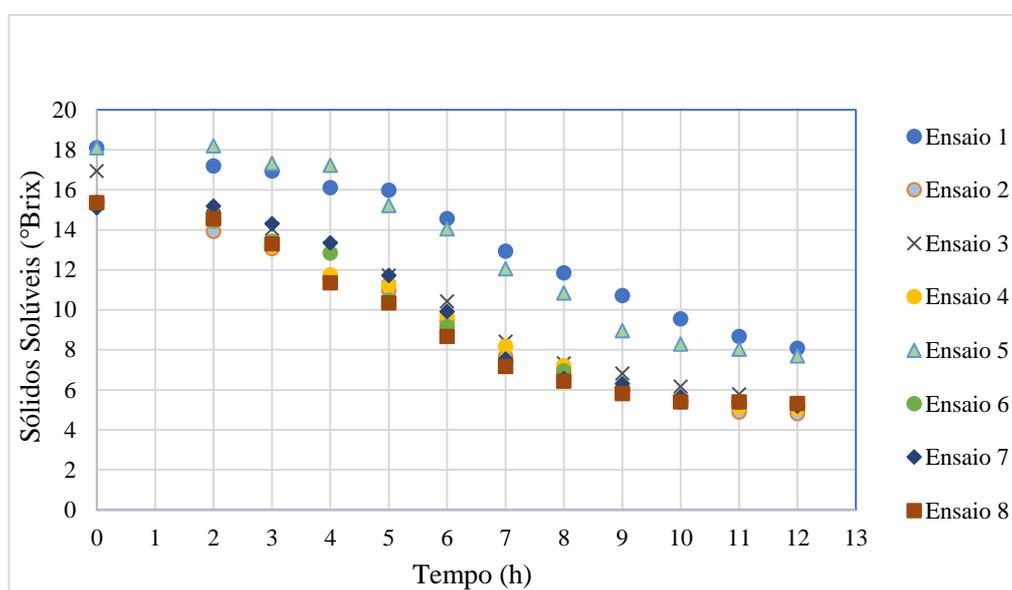
A cinética de produção de dióxido de carbono na fermentação alcoólica do caldo de mandioca, mostrou que no intervalo entre 4 e 6h de fermentação, o ensaio 08 teve

um aumento considerável na produção em relação aos outros ensaios. Após as 12h de fermentação, quem apresentou maior produção foi o ensaio 5. Tanto o ensaio 05 quanto 08 estavam com nutrientes, a diferença entre eles é o fato de o ensaio 05 não ter sofrido agitação durante a fermentação e nem passou por filtração no preparo do mosto (Tabela 02), já o 08 sim.

Cinética de consumo do °Brix

O gráfico (02), apresenta as curvas de cinética de redução do °Brix nos 08 ensaios obtidos através do planejamento experimental.

Gráfico 02- Cinética de redução do Brix



Fonte: Os autores (2021)

De acordo com os resultados apresentados no gráfico 02, todos os ensaios levaram a uma concentração final de °Brix próxima, porém observa-se que no ensaio 5 foi onde houve um consumo maior do substrato. A concentração de açúcares decresceu em função do consumo destes pelos microrganismos, até que chegasse a um valor e permanecesse constante, onde os fatores de conversão são baixos, devido à falta de substrato no meio.

Conforme os açúcares são consumidos, aumenta a liberação de etanol e CO₂, sendo que a velocidade de metabolização do açúcar, produção de produto e tempo de processo são dependentes das condições em que o meio se encontra (LIMA *et al.*, 2001). Normalmente, espera-se que a fermentação alcoólica acuse esta atenuação completa (0 °Brix) em um período de 24 a 36 horas (LIMA, 1999), no caso deste trabalho a

fermentação teve duração de 12h, alcançando o valor mínimo de °Brix 4,81 referente ao ensaio 02.

Resultados do rendimento e da Eficiência

A tabela (05) apresenta os valores dos parâmetros avaliados nos ensaios de 01 a 08, os quais revelam que o álcool apresentou um maior e menor rendimento de 3,8273 % a 1,7971 %, nos ensaios 01 e 08, respectivamente. Demonstrando diferença significativa em relação aos valores teóricos de etanol.

Tabela 05- Rendimento e Eficiência

Ensaio	Porcentagem Etanol teórico (% v/v)	Rendimento de álcool produzido (% v/v)	Eficiência da fermentação (%)	Eficiência do processo (%)
01	6,3541	3,8273	60,2338	55,3597
02	6,6800	1,9552	29,2693	68,6263
03	7,4466	3,3086	44,4306	61,2645
04	6,5212	1,9270	29,5497	66,9954
05	6,5932	3,4231	51,9195	57,4426
06	6,3625	1,9571	30,7605	57,7468
07	6,2831	2,8807	45,8477	57,9737
08	6,3625	1,7971	28,2450	65,3646

Fonte: Os autores (2021)

Na análise da eficiência na fermentação, as maiores porcentagens se encontram nos ensaios 01 e 05, os quais apresentaram maior transformação do açúcar em álcool e dióxido de carbono.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho pode-se constatar a eficiência da Raiz de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na produção de Etanol, pois possui um alto teor de açúcares livres em suas raízes, além disso a água constitui maior parte de sua composição, fato extremamente importante na escolha do tubérculo. Através da análise do planejamento experimental pode-se concluir que dentre as variáveis avaliadas Agitação, filtração e nutrientes, as que tiveram mais influência no processo foram agitação e filtração. Observou-se que essa influência foi negativa, uma vez que diminuíram o rendimento de álcool.

Ressalta-se, portanto, a importância da não filtração após o processo de concentração do caldo e de se fazer a fermentação em um sistema com controle adequado da agitação. A Análise dos dados de Rendimento e Eficiência nos mostra que os ensaios quemais produziram etanol foram o cinco e o um, ressaltando a influência negativa da agitação e filtração. Demonstra também, que o processo fermentativo foi bom, pois teve uma boa eficiência. Se o rendimento no cultivo da mandioca for melhorado, de forma a reduzir o custo da matéria-prima, a competitividade do etanol de mandioca poderá ser atingida, chegando a ser, em algumas regiões, mais barato que o da cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS

- BARROS, P.S.; BLUM, R.P. **Produção de etanol a partir do resíduo da batata proveniente da indústria alimentícia**. 2018. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2018.
- CARVALHO, L. J. C. B.; SOUZA, C. R.; CASCARDO, J. C. M.; JÚNIOR, C. B.; CAMPOS, L. Identification and characterization of a novel cassava (*Manihot esculenta* Crantz) clone with high free sugar content and novel starch. **Plant Molecular Biology**, v.56, n.4, p.643-659, 2004.
- DAS NEVES, L.C.M. **Obtenção da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando Saccharomyces cerevisiae W303-181**. 2003. 172 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- DE LIMA, G. F. N. **Fermentação alcoólica do hidrolisado de Manipueira**. 2017. 41 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em produção Sucoalcooleira, Universidade Federal da Paraíba, Centro de tecnologia e desenvolvimento regional, João Pessoa, 2017.
- DE SOUSA, J.L.U.; MONTEIRO, R.A.B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol. **FAZU em Revista**, n. 8, p. 100- 107, 2011.
- DE SOUZA, L.S.S. **Avaliação do processo de produção de etanol pela fermentação do caldo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 2013. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.
- DO NASCIMENTO, T.M. **Potencial da batata doce para produção de etanol**. 2018. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química Industrial), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.
- EL-SHARKAWY, M. A. International research on cassava photosynthesis, productivity, ecophysiology, and responses to environmental stresses in the tropics. **Photosynthetica**, v. 44, n. 04, p. 481-512, 2006.

FERNANDES, P. M. B et al. **Ácidos Graxos de Membrana e Trealose na Resposta de Levedura a Alta Pressão Hidrostática**. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

HOPPE, S.; ASSIS SHIKIDA, P. F.; DA SILVA, J. R. Análise econômico-financeira da implantação de uma destilaria para produção de álcool carburante a partir da mandioca. **Revista Brasileira de Gestão Urbana**, v. 1, n. 2, p. 245-257, 2017.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. 2ª ed. São Paulo: Blucher, 2001.

OMETTO, A. R. **Avaliação do ciclo de vida do álcool etílico hidratado combustível pelos métodos EDIP, exergia e emergia**. 2005. 200 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PACHECO, T.F.; DE PAIVA CARVALHO, F.B.; POLETTO, C. M.; BELÉM, S. **Produção de Etanol Utilizando Mandioca Açucarada e Híbrida**. In: XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos. Caxias do Sul, RS: INAFERM, 2011.

SILVA, J.A.; DE LIMA DAMASCENO, B.P.G.; DA SILVA, F.L.H.; MADRUGA, M.S.; DE 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, 2008.

Recebido em: 20/11/2021

Aprovado em: 15/12/2021

Publicado em: 17/12/2021