

Artigo

Estudo da Produção de Álcool Utilizando como Matéria-Prima a *Cyperus esculentus* (Tiririca)**Pereira, S. C. L.; Gallina, A. L.; Banczek, E. P.; Maia, G. A. R.; Rodrigues, P. R. P.****Rev. Virtual Quim.*, 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 10 de julho de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**Study of Alcohol Production Using as Feedstock the *Cyperus esculentus* (tiririca)**

Abstract: Environmental problems caused by fossil fuels use and the need for a new path based on renewable energy sources leads biomass fuels development. Biofuels are considered strategic option for power generation, among them stands out ethanol. In order to minimize the competition with the food chain, the starch sources are alternatives biofuel obtainment, including the *Cyperus esculentus* (CE). This work aimed to study the ideal conditions for obtaining ethanol from CE flour fermentation, using the enzymatic route for the hydrolysis reaction. The factorial design used was 3^2 , in order to verify the influence of independent variables: fermentation time (h) and yeast concentration (g L^{-1}) in enzymatic route, and degree alcoholic as the response ($^{\circ}\text{GL}$). The tests in the raw material were realized, humidity content determination, starch content, reducing sugars (AR), chemically analyzed and scanning electronic microscopy (SEM) and UV-vis to determine the $^{\circ}\text{GL}$ response. The samples presented values humidity content 55.05%, starch content 52.38% and AR 12.23%. The SEM images showed elements protoxilema and protofloema. With the factorial design were achieved optimal conditions (15 g L^{-1} yeast concentration and 30 hours for fermentation time) for the production of ethanol with $24.27 \text{ }^{\circ}\text{GL}$.

Keywords: Ethanol; enzymatic hydrolysis; sustainability; biomass.

Resumo

Os problemas ambientais causados pelo uso de combustíveis fósseis e a necessidade de um novo caminho baseado em fontes energéticas renováveis impulsionam o desenvolvimento de combustíveis produzidos a partir da biomassa. Os biocombustíveis são considerados uma opção estratégica para a geração de energia, entre eles destaca-se o etanol. Visando minimizar a competição com a cadeia alimentar, as fontes amiláceas são alternativas para obtenção do biocombustível, entre elas a *Cyperus esculentus* (CE). Este trabalho teve como objetivo estudar as condições ideais para a obtenção de etanol a partir da fermentação da farinha de CE, utilizando a rota enzimática para a reação de hidrólise. Foi utilizado planejamento fatorial (3^2), a fim de verificar a influência das variáveis independentes: tempo de fermentação (h) e concentração de levedura (g L^{-1}) para a rota enzimática em relação à resposta grau alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$). Para caracterização da matéria-prima foram realizados ensaios de determinação de teor de umidade, teor de amido, açúcares redutores (AR), análise química elementar e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Após a fermentação, foram realizadas medidas de UV-vis para determinação do $^{\circ}\text{GL}$. As amostras apresentaram valores de teor de umidade de 55,05%, teor de amido de 52,38% e de AR de 12,23%. As imagens de MEV mostraram elementos de protoxilema e protofloema. Com o planejamento fatorial alcançou-se as condições ideais (15 g L^{-1} para concentração de levedura e 30 h para o tempo de fermentação) para obtenção de etanol com teor alcoólico de $24,27 \text{ }^{\circ}\text{GL}$.

Palavras-chave: Etanol; hidrólise enzimática; sustentabilidade; biomassa.

* Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Química, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, n° 03, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

✉ prprodriues@gmail.com

DOI:

Estudo da Produção de Álcool Utilizando como Matéria-Prima a *Cyperus esculentus* (Tiririca)

Simone Cristina L. Pereira,^a André L. Gallina,^b Everson P. Banczek,^a
Guilherme A. R. Maia,^a Paulo Rogério P. Rodrigues^{a,*}

^a Universidade Estadual do Centro Oeste, Laboratório do Grupo de Pesquisa em Eletroquímica – GPEL®, Departamento de Química, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, nº 03, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

^b Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, CEP 85770-000, Realeza-PR, Brasil.

* prprodrigues@unicentro.br

Recebido em 22 de janeiro de 2016. Aceito para publicação em 10 de julho de 2016

1. Introdução

2. Materiais e Métodos

2.1. Ensaio de caracterização da matéria-prima

2.2. Ensaio de fermentação

3. Resultados e Discussão

3.1. Ensaio de caracterização da matéria-prima

3.2. Ensaio de fermentação

4. Conclusões

1. Introdução

O impacto ambiental causado pelos combustíveis fósseis tornou-se uma grande preocupação na sociedade moderna, pois estes são responsáveis por uma parcela significativa da emissão de gases que contribuem para o aquecimento global.¹ Os problemas ambientais, juntamente com o elevado preço do petróleo e a necessidade de um novo caminho baseado em fontes energéticas com baixa poluição, impulsionam o desenvolvimento e a utilização de combustíveis oriundos da biomassa. Estes biocombustíveis minimizam os impactos

ambientais, tornando-se uma opção estratégica para produção de energia. O etanol destaca-se como um dos mais importantes recursos alternativos aos combustíveis fósseis.²

Diferentes matérias-primas são utilizadas para a produção de etanol, como o milho, a beterraba, a mandioca, entre outras. As várias matérias-primas agrícolas podem ser utilizadas desde que contenham em sua composição carboidratos fermentáveis, formados essencialmente de açúcares e amido.³ Entre as fontes de biomassa vegetal para a produção de etanol, destacam-se três grupos de matérias-primas, as açucaradas (melaço de cana-de-açúcar, cana-de-açúcar,

sorgo sacarino, etc.), as celulósicas (sabugos, resíduos de madeira, palhas de amendoim, bagaços residuais) e as amiláceas (mandioca, batata, milho, sorgo sacarino) que são ricas em amido.⁴

No Brasil, a produção de etanol é realizada a partir de matérias-primas açucaradas desde meados da década de 70, intensificando-se com a criação do Programa Nacional do Álcool (PROÁLCOOL), no qual o governo tentou intervir com objetivo de incentivar a produção deste biocombustível, buscando reduzir a dependência do petróleo.^{5,6}

A extração do etanol a partir da fermentação alcoólica do mosto da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) é dominante no Brasil, principalmente devido ao clima e a indústria açucareira já consolidada. O Brasil é o segundo produtor mundial deste biocombustível, atrás somente dos Estados Unidos da América, que utiliza o milho como matéria-prima.

A obtenção do etanol por meio da cana-de-açúcar e do milho gera discussões relacionadas ao aumento do cultivo exclusivo à produção do etanol, pois ambos fazem parte da cadeia alimentar humana, ocorrendo a competição entre a produção de alimentos e de energia.⁷ Na atual conjuntura do mercado nacional de etanol, é notória a existência de uma competição entre a produção de açúcar e a de biocombustível, e desta forma cria-se a necessidade de buscar maneiras de minimizar a dependência da produção nacional de etanol em relação a cana-de-açúcar.^{6,7}

As fontes amiláceas são alternativas viáveis à obtenção do etanol combustível, porém, se faz necessário que a matéria-prima passe pelo processo de hidrólise prévia, cuja finalidade é a conversão do amido em açúcares fermentescíveis.⁸ A hidrólise pode ocorrer pela rota enzimática, empregando as enzimas amilases, ou pela rota química, que utiliza ácidos inorgânicos. A hidrólise ácida do material amiláceo é de baixo custo, tornando-se acessível à produção do etanol combustível, mas o rendimento final é baixo

quando comparada à rota enzimática. A hidrólise enzimática proporciona maior seletividade e rendimento de reação.⁹

Entre os diferentes tipos de biomassa amilácea, pode-se citar a *Cyperus esculentus*, uma erva daninha conhecida também como tiririca, e considerada uma “praga” pelos agricultores. Possui características particulares, como um eficiente sistema vegetativo de reprodução por rizomas, bulbos e tubérculos, podendo desenvolver-se nos mais variados tipos de solo, o que resulta conseqüentemente em uma grande amplitude de distribuição geográfica. O uso desta erva daninha como matéria-prima poderá trazer benefícios tanto à obtenção do etanol, possibilitando o alcance de aumentos em sua produção, quanto aos demais cultivares que estão inclusos na cadeia alimentar.^{9,10}

Existem alguns fatores críticos que afetam a fermentação alcoólica, como a concentração de substrato, concentração de levedura, temperatura de fermentação, pH, concentração de extrato de levedura e suplementação de nutrientes e micronutrientes.¹¹ Encontrar uma solução ótima para um problema de processamento, através da seleção de um conjunto de fatores potencialmente importantes, nas várias etapas do processo, é tarefa difícil que exige um grande número de ensaios experimentais. Para aumentar a eficiência na busca da solução ótima de tais problemas, várias técnicas estatísticas têm sido propostas, particularmente os planejamentos fatoriais. Entre esses, destaca-se a metodologia da superfície de resposta, MSR.¹²⁻¹⁵

A MSR permite desenvolver modelos matemáticos que podem ser otimizados, possibilitando uma melhoria na qualidade dos processos, porém a otimização de um processo fermentativo, quer se tenha em mente um aumento do rendimento ou produtividade, quer se deseje uma melhora na produção, implica, via de regra, na realização de estudos de caráter experimental para se observar a influência das variáveis no processo e de que modo pode-se trabalhar com as mesmas.¹⁵

O objetivo do trabalho foi estudar a obtenção de etanol a partir da fermentação da farinha de *Cyperus esculentus* (CE), avaliando-se a eficiência da hidrólise pela rota enzimática. O planejamento fatorial aplicado foi 3^2 , utilizando-se da metodologia de superfície de resposta, a fim de verificar a influência das variáveis tempo de fermentação (h) e concentração de levedura (g L^{-1}) em relação a resposta grau alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$).

2. Materiais e Métodos

A CE foi cultivada em uma área de 1 x 2 m, no Centro Estadual de Educação Profissional Arlindo Ribeiro, Guarapuava-PR. Após a colheita, as amostras foram lavadas com água e secas em estufa, a 105 °C por 48 horas. Em seguida, os tubérculos da CE foram moídos em um moinho de facas, com rotor circular modelo MA-048. A farinha dos tubérculos de CE, seca e moída, passou por uma peneira da marca MARCONI de 5 mm.

2.1. Ensaios de caracterização da matéria-prima

2.1.1. Ensaios de teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade utilizou-se a diferença de massa entre as massas úmidas e secas, submetidas à secagem em estufa BIOPAR modelo S150BD, a uma temperatura de 105 °C, até peso constante, por um período aproximado de 48 h.¹⁶

2.1.2. Ensaios de teor de amido

Para a dosagem do teor de amido nas amostras dos tubérculos da CE, inicialmente procedeu-se a hidrólise de 1 g da amostra

com 50 mL de solução de HCl 1 mol L^{-1} , em micro-ondas, por 20 min e potência de 900 W, visando a digestão ácida para a transformação do amido em açúcares redutores e posterior neutralização com solução de hidróxido de sódio a 10% (m/v) para a análise de açúcares redutores. Foi realizada a titulação seguindo a metodologia de Lane-Eynon, o qual se baseia na redução do Cu^{+2} (Fehling) a óxido cuproso.¹⁷

2.1.3. Ensaios de teor de açúcares redutores

Para a determinação de açúcares redutores (AR) nas amostras da farinha de *Cyperus esculentus*, utilizou-se a metodologia analítica de titulação de Lane-Eynon, do Instituto IAL, que consiste no uso do chamado licor de Fehling (solução A + solução B).¹¹ Ao proceder a determinação de AR, preparam-se as soluções de Fehling A, composta de sulfato de cobre e hidróxido de sódio, e Fehling B, composta de sal duplo de tartarato de sódio e potássio, com a função de complexar os íons de cobre na solução. Ao proceder o aquecimento destas soluções, ocorre a oxidação dos açúcares bem como a redução do cobre, resultando no precipitado da titulação.¹⁸

2.1.4. Análise química elementar

Foram realizadas análises químicas elementares de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio. Após a caracterização da matéria-prima, a farinha foi analisada por MEV. O microscópio eletrônico de varredura empregado foi da marca Tescan, modelo VEGA3 XMU. Os ensaios de MEV foram realizados com aumentos de 100 e 1000x, utilizando 5 keV de energia.

2.2. Ensaios de fermentação

A Figura 1 representa as etapas do processo fermentativo para obtenção de etanol a partir da *Cyperus esculentus*.

Para a obtenção do etanol a partir do amido presente nos tubérculos da *Cyperus*

esculentus (tiririca), foi necessário realizar um processo prévio de hidrólise para convertê-lo em açúcares simples e, posteriormente, promover a fermentação. Foram utilizadas as enzimas purificadas α -amilase e amiloglucosidase (Sigma-Aldrich) para a rota enzimática.

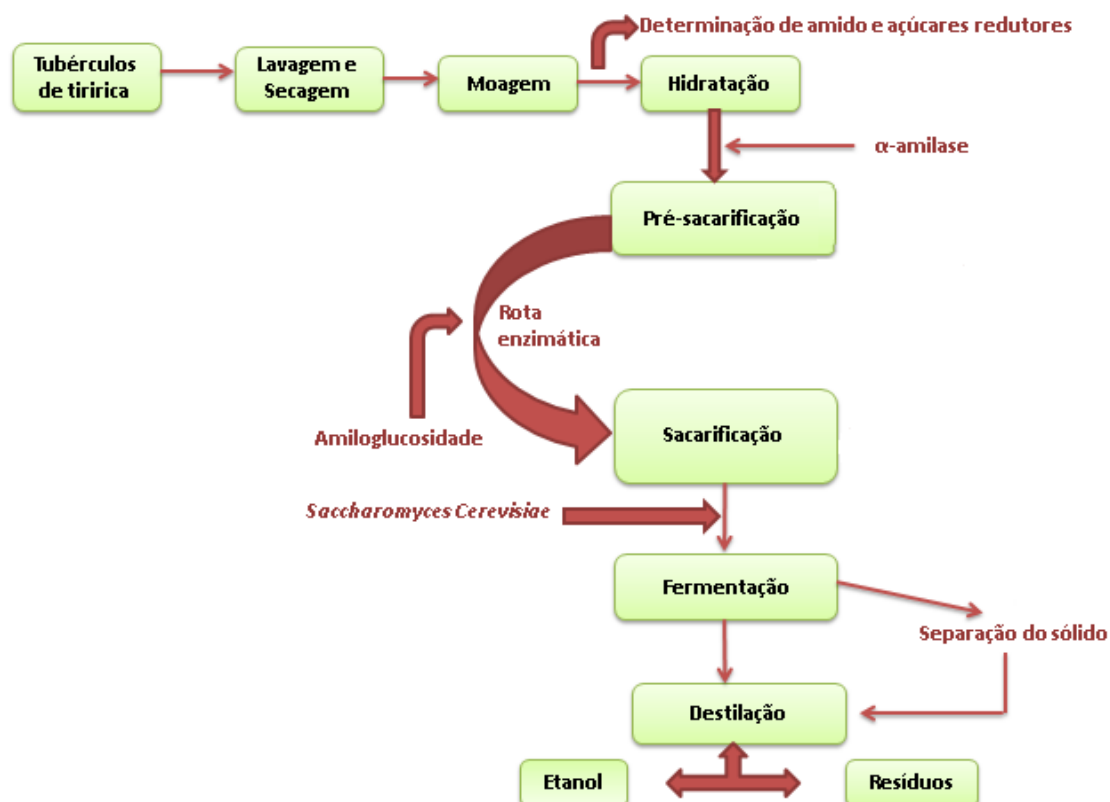


Figura 1. Fluxograma das etapas do processo de obtenção de etanol

As hidrólises foram realizadas em frascos de Erlenmeyer de 250 mL. Foram utilizadas 3,0 g da farinha em 50 mL de tampão de McIlvaine (pH = 5,6) para cada experimento. As amostras ficaram em temperatura de 90 °C por 1 h e a enzima α -amilase 750 U (unidades) por grama de substrato foi adicionada. As amostras foram deixadas em temperatura ambiente, 20 °C, e foi ajustado o pH das mesmas com solução de HCl 1 mol L⁻¹ para valores entre 4,0 e 4,5. Posteriormente, as amostras foram submetidas a temperatura de 60 °C e assim foi adicionada a

amiloglucosidase 0,5 U (unidades) por grama de substrato.¹⁹

Após a adição das enzimas, as amostras foram mantidos em banho termostático (QUIMIS, 0334M – 28) por 2 h e 30 min. Todas as amostras foram centrifugadas (Hettich Zentrifuger MIKRO 220R) por 5 min na rotação de 5000 rpm, sendo que os sobrenadantes foram filtrados e autoclavados (CS da Prismatec Autoclaves), por 10 min à 1 atm em temperatura de 120 °C.

2.2.1. Planejamento fatorial (3^2)

Foi realizado um planejamento fatorial para a fermentação da rota enzimática visando a sua otimização, ou seja, para avaliar as condições favoráveis de fermentação. O planejamento fatorial utilizado foi 3^2 com três repetições no ponto

central, totalizando 11 ensaios. No preparo do inóculo para os hidrolisados enzimáticos utilizou-se a linhagem de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As variáveis analisadas foram o tempo de fermentação (X_2) e a concentração de levedura (X_1), conforme Tabela 1, em 50 mL de mosto, e a resposta grau alcoólico, °GL (Y). O software empregado foi STATISTICA 7.1[®].

Tabela 1. Variáveis do planejamento fatorial 3^2 para o processo de fermentação alcoólica do mosto da CE

Variáveis independentes originais	Variáveis e níveis codificados		
	x_1	x_2	x_3
	(-1)	(0)	(+1)
X_1 = Concentração de levedura ($g L^{-1}$)	10	15	20
X_2 = Tempo (h)	12	24	36

2.2.2. Determinação do teor alcoólico (°GL)

A determinação do teor alcoólico (°GL) dos destilados foi realizada conforme a norma NBR 13920. Para este ensaio, foi utilizado um espectrofotômetro UV-vis da Spectrum UV-Vis, spectrophotometer SP 2000 UV, no comprimento de onda $\lambda = 600$ nm.²⁰

3. Resultados e Discussão

3.1. Ensaios de caracterização da matéria-prima

Os resultados de caracterização da farinha de tiririca com relação aos teores de umidade, de amido e açúcares redutores são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização física da farinha de tiririca

Componente	Teor em massa (% m/m)
Umidade (base úmida)	55,05 ± 2,81
Amido (base seca)	52,38 ± 3,31
Açúcares redutores (base seca)	12,23 ± 1,76

O teor de umidade da farinha de tiririca foi inferior aos relatados na literatura para outras matérias-primas amiláceas, como a mandioca (*Manihot esculenta*) e a junça (*Cyperus esculentus* L), com teores de umidades de 68,2% e 64,6% respectivamente. As diferenças apresentadas

podem interferir na quantidade de etanol presente nos destilados, pois a presença de umidade favorece as mudanças provenientes de processos fisiológicos. A junça foi relatada na literatura com teor de 46,99% de amido e, conforme Tabela 2, o valor encontrado para a tiririca foi de 52,38%. Vale ressaltar que

quanto maior o teor de amido maior será o potencial para a sua conversão por enzimas amilolíticas ou por ácidos, propiciando uma excelente fonte de carbono para diversos micro-organismos, bem como condução de fermentações etanólicas eficientes.^{21,22}

Para o teor de açúcares redutores, o valor encontrado de $12,23 \pm 1,76\%$ (Tabela 2) foi satisfatório quando comparado aos valores

encontrados para outras fontes amiláceas, por exemplo, a mandioca, que apresenta um valor de 10,5% de teor de açúcares redutores,^{21,22}, indicando a potencialidade da *Cyperus esculentus*, como matéria-prima para a produção de etanol.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise elementar da farinha dos tubérculos de *Cyperus esculentus*.

Tabela 3. Análise química elementar da farinha de tiririca

Elementos químicos	(% m/m)
Carbono	$39,83 \pm 0,22$
Hidrogênio	$6,52 \pm 0,02$
Nitrogênio	$1,59 \pm 0,12$
Oxigênio	$52,06 \pm 0,08$

Os resultados da Tabela 3 reiteram que a CE possui elevado potencial para a aplicação na fermentação alcoólica sendo excelente fonte de carbono para a *Saccharomyces cerevisiae*.²³

As Figuras 2(a) e 2(b) apresentam as imagens de MEV do tubérculo da *Cyperus esculentus*. Podem-se observar na micrografia da Figura 2a, os elementos de protoxilema e protofloema maduros, com as

funções de transporte de água e nutrientes inorgânicos e de transporte de substâncias orgânicas, respectivamente. Esta distribuição de feixes vasculares é característica de monocotiledôneas de caule tuberoso, caso da espécie *Cyperus esculentus*. Na micrografia da Figura 2(b) é apresentada outra característica comum a estas angiospermas, a distribuição atactostélica, entendida como o arranjo irregular dos vasos no caule.^{24,25}

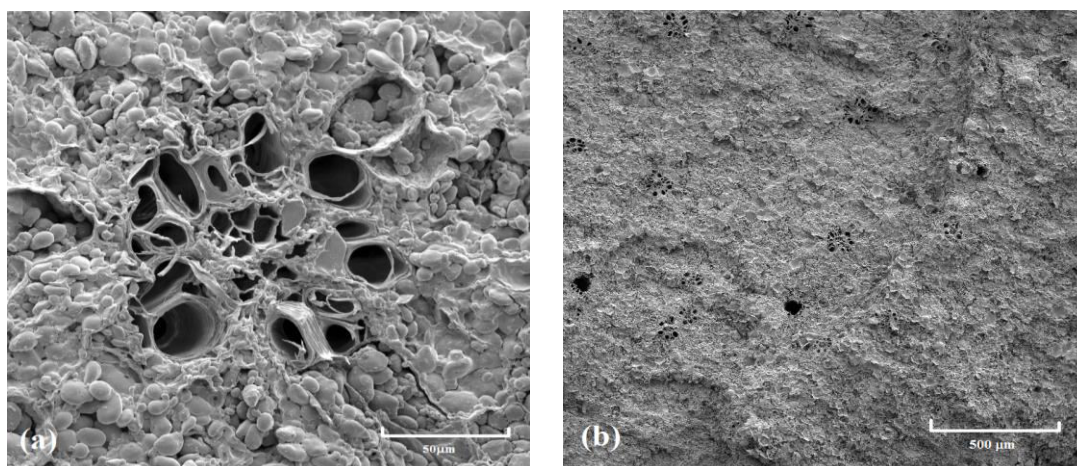


Figura 2. (a) Micrografia de seção transversal do caule de *Cyperus esculentus* com aumento de 1000x (b) Micrografia de seção transversal do caule de *Cyperus esculentus* com aumento de 100x

3.2. Ensaios de fermentação

Para otimizar as condições de fermentação alcoólica foi empregada a metodologia de superfície de resposta (MSR) em um planejamento fatorial 3^2 . O planejamento foi composto por 9 ensaios, com duas repetições no ponto central para estimar a variância do erro.²⁶ A região experimental, ou seja, os limites superiores e inferiores, de cada uma das variáveis independentes foram escolhidos por ensaios preliminares. Quanto ao ambiente, as leveduras se desenvolvem numa ampla faixa

de temperatura, sendo que o intervalo ótimo de crescimento situa-se entre 26 e 36 °C.^{15,27} Tendo como base esta informação, a temperatura utilizada nos ensaios experimentais foi de 36 °C, controlados em estufa BIOPAR modelo S150BD.

Na Tabela 4 estão apresentadas as variáveis independentes codificadas, os níveis de variação em valores originais e os resultados do grau alcoólico de etanol de tirica obtidos via rota enzimática, expressas em valores médios de duas repetições dos ensaios de fermentação.

Tabela 4. Variáveis do processo do planejamento fatorial e teores alcoólicos da rota enzimática

Ensaios	x_1	x_2	Grau alcoólico (° GL)
1	-1	-1	0,48 ± 0,56
2	0	-1	7,00 ± 0,98
3	+1	-1	5,34 ± 1,32
4	-1	0	6,21 ± 0,12
5	0	0	29,08 ± 1,62
6	+1	0	4,16 ± 1,59
7	-1	+1	21,48 ± 1,43
8	0	+1	10,52 ± 1,60
9	+1	+1	6,36 ± 1, 21
10	0	0	28,15 ± 1,41
11	0	0	28,87 ± 0,57

O modelo quadrático ajustado para o rendimento da fermentação alcoólica via rota enzimática, contendo as variáveis independentes codificadas, está representado pela equação 1. O valor de R^2 foi de 0,7075, ou seja, 70,75% da variação total em torno da média são explicados pela regressão do modelo proposto, em que Y = grau alcoólico (°GL); x_1 = concentração de

levedura; x_2 = tempo; x_1^2 = termo quadrático da concentração de levedura; x_2^2 = termo quadrático do tempo e x_1x_2 = termo de interação entre concentração de levedura e tempo.

A análise de variância, ANOVA (Tabela 5), mostra que o modelo proposto foi significativo em nível de 95% para todos os termos da equação.

$$Y = 23,82 - 2,05x_1 + 4,25x_2 - 11,32x_1^2 - 7,74x_2^2 - 4,99x_1x_2$$

Equação 1

Tabela 5. Análise de variância para fermentação alcoólica de tiririca via rota enzimática usando o planejamento fatorial 3^2

Fonte de variação	G.L.	Soma dos quadrados	Quadrado médio	$F_{\text{calculado}}$	F_{tabelado}
Regressão	5	710,38	142,07	597,18*	5,05
Linear	2	133,97	66,98	281,54*	5,79
Quadrática	2	476,61	238,30	1001,68*	5,79
Interação	1	99,80	99,80	419,50*	6,61
Falta de ajuste	3	360,92	120,30	504,41*	
Puro erro	2	0,47	0,23		
Total	10	1071,30			

* Significativo em nível de 95%.

Para o teste F, o $F_{\text{calculado}}$ (F_c) é superior ao F_{tabelado} (F_t), mostrando que o modelo apresentou uma regressão significativa, com os respectivos graus de liberdade. Barros Neto e colaboradores²⁸ afirma que uma regressão pode ser significativa do ponto de vista do teste F, mas pode não servir para realizar previsões, uma vez que cobre uma faixa pequena da variação dos fatores estudados. O critério estabelecido por Box e Wetz,²⁹ citados por Barros Neto e colaboradores,²⁸ sugere que para uma regressão ser significativa não apenas

estatisticamente, mas também para fins preditivos, o valor de F_c para a regressão deve ser maior que o valor de F_t . Como mostrado na Tabela 5, o valor de $F_c = 597,18$ para a regressão é significativo em nível de 95%, pois $F_t = 5,05$, então $F_c > F_t$. A análise de variância ANOVA mostra que todos os termos da regressão, linear, quadrático e de interação foram significativos em nível de 95%.

Na Figura 4 foram apresentados os valores preditos pelo modelo e os observados experimentalmente.

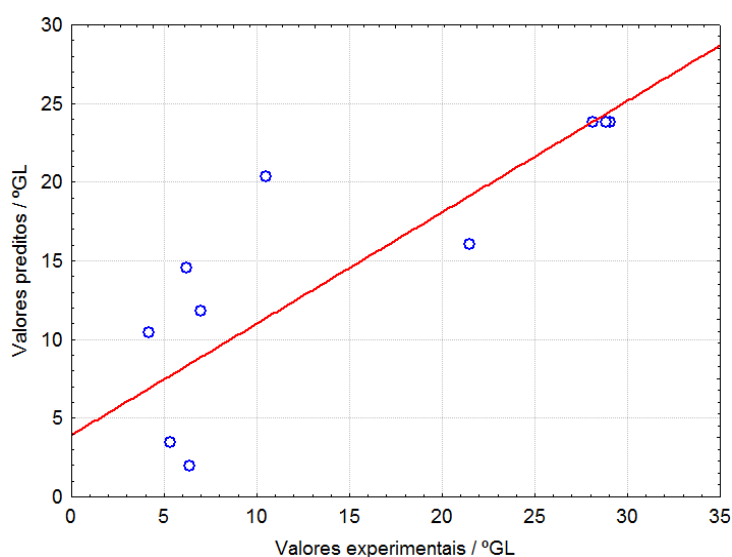


Figura 4. Valores preditos pelo modelo versus valores observados experimentalmente para o processo de fermentação alcoólica da CE

Foi possível observar, na Figura 4, que os valores experimentais se mostraram afastados da linearidade prevista, comprovando a falta de ajuste do modelo, que foi significativo conforme apresentado na Tabela 5. No entanto, o modelo pode ser

utilizado levando em consideração a análise de variância da regressão e de todos os termos da equação.

Na Figura 5 foi apresentado o diagrama de Pareto para a otimização do processo de fermentação alcoólica da CE.

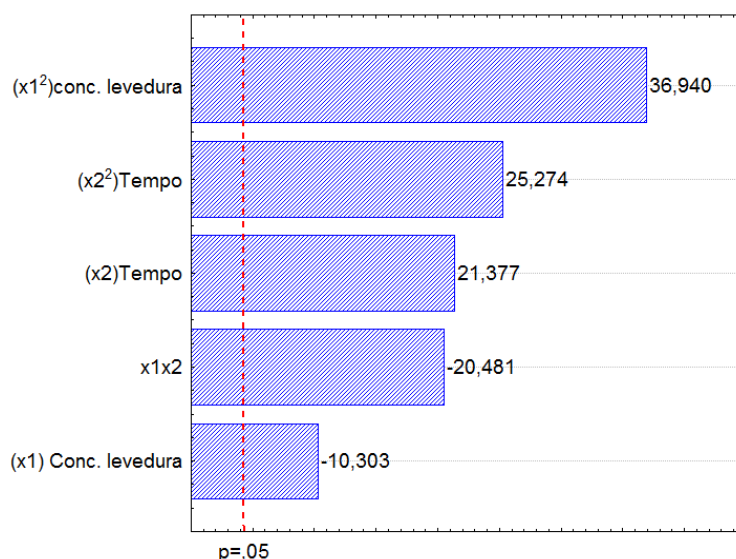


Figura 5. Diagrama de Pareto para os efeitos do processo de fermentação alcoólica da CE

De acordo a Figura 5, verifica-se que para o processo estudado, o fator x_1^2 foi o mais importante com efeito de +36,94 e o fator concentração de levedura (x_1) apresentou efeito com valor de - 10,30 no processo, isto significa que ao se elevar a concentração de levedura do nível inferior para o superior do planejamento ocorre uma diminuição na

variável resposta °GL, porém todos os fatores apresentaram um nível de significância a $p > 0,05$.

A superfície de resposta da região de combinação binária entre as variáveis: concentração de levedura e tempo de fermentação pode ser observada por meio das curvas de nível apresentadas na Figura 6.

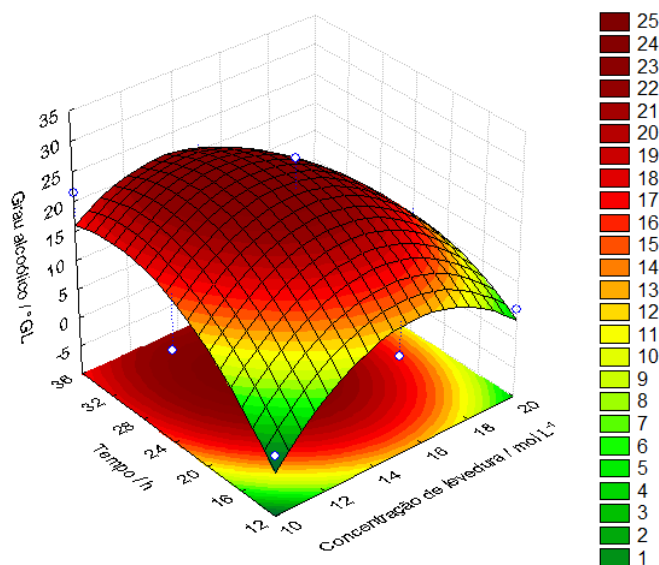


Figura 6. Superfície de resposta para o grau alcoólico (°GL) em função da X_1 (concentração de levedura) e X_2 (tempo reacional) para a fermentação da rota enzimática

A superfície de resposta (Figura 6) mostrou como resposta estimada um rendimento de etanol próximo a 25 °GL nas seguintes condições da fermentação: concentração de levedura próxima do ponto central (15 g L⁻¹), tempo de fermentação

entre o limite superior (36 h) e o ponto central (24 h).

A Figura 7 apresenta a condição otimizada do processo de fermentação alcoólica da CE via hidrólise enzimática.

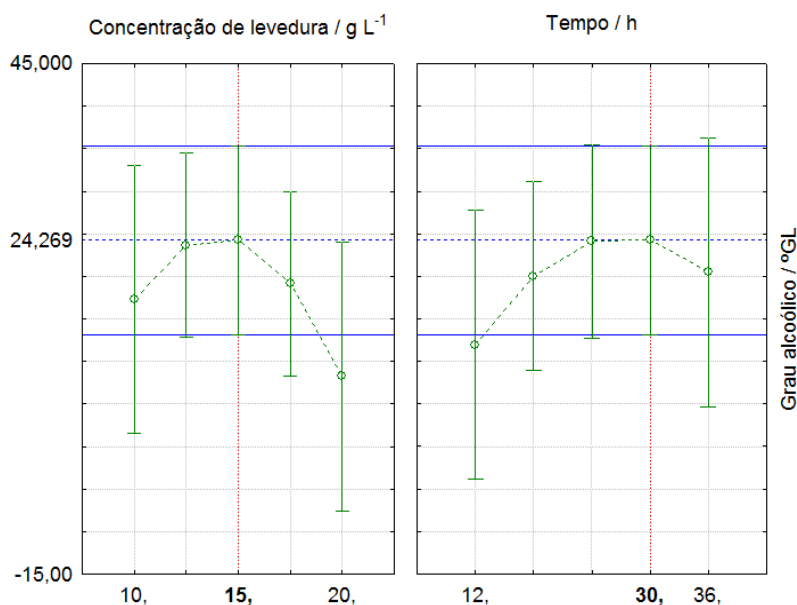


Figura 7. Valores de concentração de levedura, tempo de fermentação e grau alcoólico otimizados para o processo de fermentação alcoólica de tiririca via rota enzimática

As condições ideais apontadas pelo planejamento foram de 15 g L⁻¹ para

concentração de levedura e de 30 h para o tempo de fermentação. As variáveis

independentes nas concentrações otimizadas conforme Figura 7 apresentaram um valor máximo de 24,27 °GL, sendo que este valor é menor que o apresentado no planejamento no ensaio 5 com valor de 29,08 °GL.

De acordo com Curvelo-Santana,³⁰ o etanol produzido a partir da fermentação alcoólica do mosto da mandioca apresenta valor de 3,71 °GL, para o grão de milho esse valor foi de 8,00 °GL³¹ e para a fermentação alcoólica do mosto da mandioca doce o valor ficou em 0,80 °GL,³² sendo assim a rota enzimática apresentou valor de grau alcoólico satisfatório na otimização com valor de 24,26 °GL, superior aos obtidos por outras fontes amiláceas citadas. Esse resultado já era esperado, visto que na hidrólise enzimática ocorre a quebra das macromoléculas de amido formando apenas açúcares redutores, e estes açúcares são necessários e essenciais para a *Saccharomyces cerevisiae*.³³

4. Conclusões

Cyperus esculentus apresentou elevada potencialidade para o uso como matéria-prima para a produção de etanol por meio do processo de fermentação alcoólica, devido aos valores de teor de açúcares redutores (12,23 ± 1,76 %) e de 24,27 °GL.

A fermentação alcoólica via rota enzimática se mostrou eficiente para o processo de produção de etanol utilizando-se a CE.

O uso do planejamento fatorial utilizando a superfície de resposta foi eficiente e relativamente simples como estratégia de otimização, podendo ser considerado de grande utilidade na pesquisa e desenvolvimento de processos de fermentação alcoólica.

Agradecimentos

Ao CNPq, a CAPES, a FINEP, e a Fundação Araucária.

Referências Bibliográficas

¹ Meehl, G. A.; Stocker, T. F.; Collins, W.D.; Friedlingstein, P.; Gaye, A.T.; Gregory, J. M.; Kitoh, A.; Knutti, R.; Murphy, J. M.; Noda, A.; Raper, S.C.B.; Watterson, I. G.; Weaver, A. J.; Zhao, Z.-C. Em *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*; Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M.; Miller, H.L., eds.; Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007, cap. 10. [Link]

² Um futuro com energia sustentável: Iluminando o caminho. Disponível em: <http://www.fapesp.br/publicacoes/energia.pdf>. Acesso em: 10 julho 2016.

³ Maia, G. A. R.; Borsato, D; Rodrigues, P. R. P.; Payret Arrúa, M. E.; Weirich Neto, P. H.; Kurchaidt, S. M.; Antunes, A. C.; Pereira, J. A. A.; Antunes, S. R. M.; Production of ethanol from jerivá, *Syagrus romanzoffiana*. *Materials and processes for energy: communicating current research and technological developments* (A. Méndez-Vilas, Ed), 2013, 335.

⁴ Costa, M. R.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Alagoas, 2010. [Link]

⁵ Ministério da Agricultura e Pecuária. Portaria - MAPA. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 maio 2016.

⁶ Goldemberg, J. Bioenergia no Estado de São Paulo: situação atual, perspectivas, barreiras e propostas. *Imprensa Oficial do estado de São Paulo* 2008, 152. [Link]

⁷ Goldemberg, J. Biomassa e Energia. *Química Nova* 2009, 32, 582. [CrossRef]

- ⁸ Lopes, A. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2013. [Link]
- ⁹ Lorenzi, H. *Plantas daninhas do Brasil; terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais*, 2a. ed., Nova Odessa: São Paulo, 2000.
- ¹⁰ Kuva, M. A.; Pitelli, R. A.; Christoffoleti, P. J.; Alves, P. L. C. A. Períodos de Interferência de Plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. I – Tiririca. *Planta Daninha* **2000**, *18*, 241. [CrossRef]
- ¹¹ 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* **2008**, *31*, 1073. [CrossRef]
- ¹² Barbosa, A. M.; Giese, E. C.; Dekker, R. F. H.; Borsato, D.; Briones, A.; Úbeda, J. Extracellular β -glucosidase production by the yeast *Debaryomyces pseudopolymorphus* UCLM-NS7A: Optimization using response surface methodology. *New Biotechnology* **2010**, *27*, 374. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³ Pauly-Silveira, N. D.; Cavallini, D. C. U.; Manzoni, M. S. J.; Miguel, D. P.; Borsato, D.; Rossi, E. A. Optimization of a synbiotic formulation of soy yoghurt containing yacon extract by response surface methodology. *International Journal of Probiotics and Prebiotics* **2010**, *5*, 211. [Link]
- ¹⁴ Aguirre-Ganzález, M.; Taborda-Ocampo, G.; Dussan-Lubert, C.; Nerin, C.; Rosero-Moreno, M. Optimization of the HS-SPME technique by using response surface methodology for evaluating chlorine disinfection by-products by GC in drinking water. *Journal of Brazilian Chemical Society* **2011**, *22*, 2330. [CrossRef]
- ¹⁵ Maia, G. A. R.; Antunes, S. R. M.; Weirich Neto, P. H.; Borba, S.; Coppo, R. L.; Borsato, D. Optimisation of the alcoholic fermentation of aqueous jerivá pulp extract. *Acta Scientiarum* **2014**, *36*, 699. [Link]
- ¹⁶ IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4a. ed., IAL: São Paulo, 2008.
- ¹⁷ Silveira, R. L.; Chiesa, V. B.; Tavares, I. B.; Souza, R. C. De; Silveira, M. A. Da; Alves, D. C.; Junior, W. P. De O. Caracterização físico-química e clones de batata-doce de polpa alaranjada nas condições de Palmas-To. *Estudos* **2011**, *38*, 365. [Link]
- ¹⁸ Tavares, J. T. De Q.; Cardoso, R. L.; Costa, J. A.; Fadigas, F. S.; Fonseca, A. A. Interferência do ácido ascórbico na determinação de açúcares redutores pelo método de Lane e Eynon. *Química Nova* **2010**, *33*, 805. [CrossRef]
- ¹⁹ Stroparo, E.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2011. [CrossRef]
- ²⁰ NBR 13920; ABNT Associação Nacional de Normas Técnicas. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/53288875/NBR-13920-Teor-Alcoolico-De-Aguardente-De-Cana>. Acesso em: 12 janeiro 2016.
- ²¹ Collares, R. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011. [Link]
- ²² Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos – CNNPA/ANVISA – Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Normas técnicas especiais. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf>. Acesso em: 25 fevereiro 2016.
- ²³ Ortiz, S.; Simionatto, E. L.; Barros, A. A. C., Avaliação da capacidade fermentativa e do crescimento celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* CCT-3174. *XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, Florianópolis, Brasil, 2014. [Link]
- ²⁴ Taiz, L.; Zeiger, E.; *Fisiologia Vegetal*, 5a. ed., Artmed: Porto Alegre, 2013.
- ²⁵ Kerbauy, G. B.; *Fisiologia Vegetal*, 2a. ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2012.
- ²⁶ Calado, V.; Montgomery, D. C. Planejamento de Experimentos usando o Statistica. São Paulo: E-papers Serviços Editoriais Ltda, 2003.
- ²⁷ Lima, U. A.; Aquarone, E.; Borzani, W. *Tecnologia das Fermentações*. São Paulo, Edgard Blucher, Biotecnologia, v.1, 1975.
- ²⁸ Barros Neto, B. Scarmínio, I. S. Bruns, R. E.; *Planejamento e Otimização de Experimentos*. Campinas: Editora da UNICAMP, SP, 299p., 2003.
- ²⁹ Box, G. E. P.; Wetz, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. Wisconsin: University of Wisconsin, Tec. Report., 1973, 9. [Link]

³⁰ Curvelo-Santana, J. C. ; Ehrhardt, D. D. ; Tambourgi, E. B. Otimização da produção de álcool de mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2010** 30, 613. [[CrossRef](#)]

³¹ Farias, D. ; Margarites, A. C. ; Reinehr, C. O.; Colla, L. M. ; Costa, J. A. V. ; Bertolin, T. E. Potencial amilolítico do grão de milho maltado no processo de sacarificação do mesmo cereal. *Ciência e Agrotecnologia* **2009**, 33, 855 [[CrossRef](#)]

³² Souza, L. S. S. ; Pereira, A. M. ; França, L. F. ; Corrêa, N. C. F. Otimização dos parâmetros operacionais da fermentação alcoólica da mandioca doce (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* **2014**, 16, 147. [[Link](#)]

³³ Surmely, R.; Alvarez, H.; Cereda, M. P.; Vilpoux, O. F. Em Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, 2003, cap. 15.