

# **ESTUDO SOBRE A TEMPERATURA DE LIQUEFAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE MICRO-ONDAS NO PROCESSO DE HIDRÓLISE DO AMIDO DE BATATA-DOCE PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL**

C. M. SCHWEINBERGER<sup>1</sup>, L. F. TRIERWEILER<sup>1</sup>, T. R. PUTTI<sup>1</sup>, P. R. A. SERAFINI<sup>1</sup>, G. LORENZI<sup>1</sup> e J. O. TRIERWEILER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Intensificação, Modelagem, Simulação, Controle e Otimização de Processos (GIMSCOP)  
Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
E-mail para contato: {Crisms, Luciane, Jorge}@enq.ufrgs.br

**RESUMO** – A produção de etanol no Rio Grande do Sul é inexpressiva diante do seu consumo, fato este que se deve, principalmente, à inaptidão do clima gaúcho para a produção de cana-de-açúcar. Diante desta realidade, há um mercado oportuno para matérias-primas alternativas. A batata-doce foi selecionada para o estudo devido ao seu elevado potencial de produtividade agroindustrial. Experimentos foram realizados em etapas. Primeiramente, avaliou-se o desempenho da hidrólise do amido, sob diferentes temperaturas, na etapa de liquefação, sendo constatado o melhor resultado na temperatura de 85°C. Na segunda etapa, empregou-se o aquecimento prévio com micro-ondas, a temperatura de 85°C serviu como referência. Mediante os resultados de hidrólise e fermentação, concluiu-se que a inclusão da etapa de aquecimento por micro-ondas é bastante promissora, já que o tempo de aquecimento é rápido (2,5 minutos) e a temperatura de liquefação pode ser reduzida.

## **1. INTRODUÇÃO**

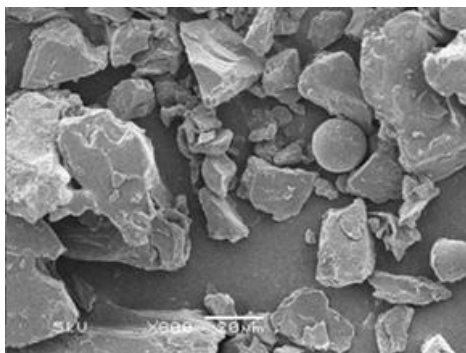
Conforme os dados disponíveis em Unica (2014), em 2012 o Rio Grande do Sul produziu 7 milhões de litros de etanol hidratado combustível (EHC), enquanto o Estado consumiu 115 milhões de litros de EHC e 616 milhões de litros de etanol anidro. A baixa produção gaúcha se deve à inaptidão do clima para a produção de cana-de-açúcar. Diante de tal demanda há um mercado oportuno para matérias-primas alternativas.

Masiero (2012) estudou a viabilidade de microusinas de etanol ( $1000 \text{ L} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) no Rio Grande do Sul envolvendo quatro matérias-primas: cana-de-açúcar, sorgo sacarino, mandioca e batata-doce. A pesquisa abrangeu o levantamento de dados teóricos de produtividade agrícola ( $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), concentração de açúcares, concentração de amido nas matérias-primas amiláceas e custos. Após a análise dos indicadores financeiros Valor Presente Líquido (VPL), Taxa Interna de Retorno (TIR), Tempo de Retorno do Investimento e, ponderando a produtividade média dessas matérias-primas no Estado, Masiero (2012) concluiu que o sorgo sacarino e a batata-doce eram as matérias-primas viáveis.

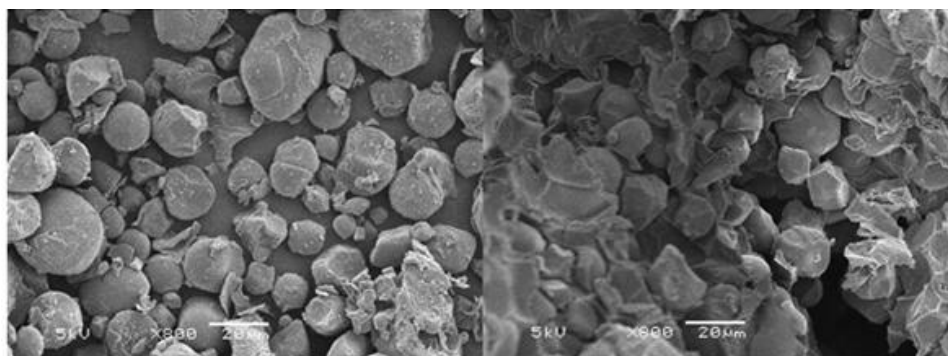
Como o processo de produção a partir do sorgo sacarino já se encontra mais maduro, no grupo GIMSCOP do Departamento de Engenharia Química da UFRGS foram iniciados experimentos de produção de etanol a partir de batata-doce. Masiero (2012) realizou seus ensaios utilizando a enzima

amilolítica Stargen 002, produzida pela Genencor® e desenvolvida para atuar sobre o amido na forma granular, mas, sob a recomendação de um pré-tratamento em temperaturas entre 49 – 63°C. Masiero (2012) realizou o pré-tratamento de 1h a 52°C, porém para a obtenção de uma eficiência satisfatória de hidrólise, foi necessária uma elevada quantidade de enzima (26,2 µL/g de batata in natura), inviabilizando o processo financeiramente.

Risso (2014) deu sequência ao trabalho de Masiero (2012), concentrando sua pesquisa no pré-processamento da matéria-prima, onde o método selecionado foi a secagem da batata, utilizando micro-ondas e posterior moagem para a obtenção de uma farinha. A aplicação de energia em temperaturas acima de 90 °C, sob a presença de água, torna o amido mais suscetível a hidrólise devido à sua completa gelatinização, o que ocorre nas condições de secagem. Contudo, os resultados de Risso (2014) indicaram que há distinção na eficiência de hidrólise de acordo com o método de aquecimento. Mediante imagens obtidas com microscopia eletrônica de varredura, o método de secagem por micro-ondas demonstrou ser mais agressivo aos grânulos de amido, quando comparado ao aquecimento em estufa a 105°C ou solar, como pode ser visualizado na Figura 1. Observa-se nas imagens da batata seca em micro-ondas e também do aquecimento solar que a estrutura esférica original do amido sofreu maior descaracterização, sendo um possível efeito causado pela energia eletromagnética. Com seu método, Risso (2014) conseguiu baixar a dosagem da enzima Stargen 002 para 1 µL/g de batata in natura, o que significa uma redução de 96% em relação à dosagem utilizada por Masiero (2012).



Micro-ondas



Estufa a 105 °C

Secador solar

Figura 1 – Grânulos de amido após processos de secagem. Fonte Risso (2014).

No presente trabalho, os experimentos foram realizados com a batata-doce in natura e enzimas diferentes da Stargen 002, mas a dosagem enzimática foi na mesma concentração utilizada por Risso (2014). Foram utilizadas enzimas com temperaturas ótimas de operação superiores à recomendada pelo fabricante para a Stargen 002. Primeiramente, foram feitos experimentos variando a temperatura na liquefação, empregando métodos convencionais de aquecimento: ar quente em agitador rotativo ou água quente em banho-maria. Em um segundo momento, foram realizados experimentos utilizando micro-ondas para um aquecimento prévio, com o objetivo de reduzir a temperatura na etapa de liquefação.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. Métodos analíticos**

A batata foi caracterizada, medindo-se o teor de umidade, glicose, frutose e glicose total, que consiste na glicose livre somada com a proveniente do amido. O teor de umidade foi determinado por método gravimétrico em estufa a 105°C. Os monossacarídeos, glicose e frutose, foram determinados após a extração com álcool, onde aproximadamente 15g de batata junto com 100 mL de álcool 70% e 0,5g de carbonato de cálcio foram aquecidos em banho-maria a 85°C durante 1h. Na determinação de glicose total, aproximadamente 2g de batata fresca triturada junto com 25 mL de água destilada e 1 mL de ácido clorídrico foram aquecidos em autoclave a 1 atm durante 2h. Os métodos descritos foram baseados no que consta em Figueiredo (2008). Nesta caracterização, três ou mais batatas foram trituradas em processador doméstico. O conteúdo foi homogeneizado para a amostragem e os experimentos foram realizados em triplicata. Este procedimento foi feito em três períodos, caracterizando batatas em tempo de colheitas diferentes. As amostras de hidrólise enzimática e fermentação foram centrifugadas a 5241g durante 30 minutos e o sobrenadante foi analisado. A determinação de açúcares e etanol foi efetuada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com a coluna Hi-Plex H da Agilent, tendo como fase móvel água. A temperatura da coluna foi de 60°C, o detector utilizado foi RID (Refractive Index Detector), a vazão da fase móvel foi de 0,6 ml/min e volume de amostra injetado foi de 20 µL.

### **2.2. Estudo sobre o efeito da temperatura de liquefação na hidrólise**

Neste estudo foi quantificada a produção de glicose em experimentos submetidos a diferentes temperaturas de liquefação. Foram testadas duas enzimas comerciais de liquefação: Spezyme RSL e GC 626, ambas produzidas pela Genencor®. Segundo o fabricante, a Spezyme RSL possui temperatura ótima entre 83 – 88°C e pH ótimo entre 5 – 5,3; a GC 626 possui temperatura ótima em torno de 62°C e pH ótimo entre 3,5 – 4. Em todos os experimentos as enzimas de liquefação foram adicionadas na mesma dosagem: 0,25 µL/g de batata e o tempo da operação foi de 1 h. Após a etapa de liquefação, iniciou-se a sacarificação utilizando a enzima Distillase SSF, também produzida pela Genencor®, sendo a dosagem desta enzima de 0,75 µL/g de batata. A sacarificação foi realizada no pH 4,5 a 32 °C durante 24 h. A Figura 2 apresenta uma representação esquemática dos experimentos realizados.

Como consta na Figura 2, previamente às etapas de liquefação e sacarificação, foi realizada uma

etapa de redução de viscosidade, que consistiu em submeter os meios à ação da enzima Pectinex Ultra AFP, produzida pela Novozymes® para atuar sobre substâncias pécicas. Ensaios preliminares demonstraram que a utilização de pectinase é recomendável quando se utiliza uma elevada concentração de batata, isto é, para razão massa de batata[kg]:volume de água[L] de diluição igual ou superior a 1,5:1. Trabalhar nestas concentrações é necessário para a obtenção de um vinho com a concentração de etanol igual ou superior a 10% v.v<sup>-1</sup>.

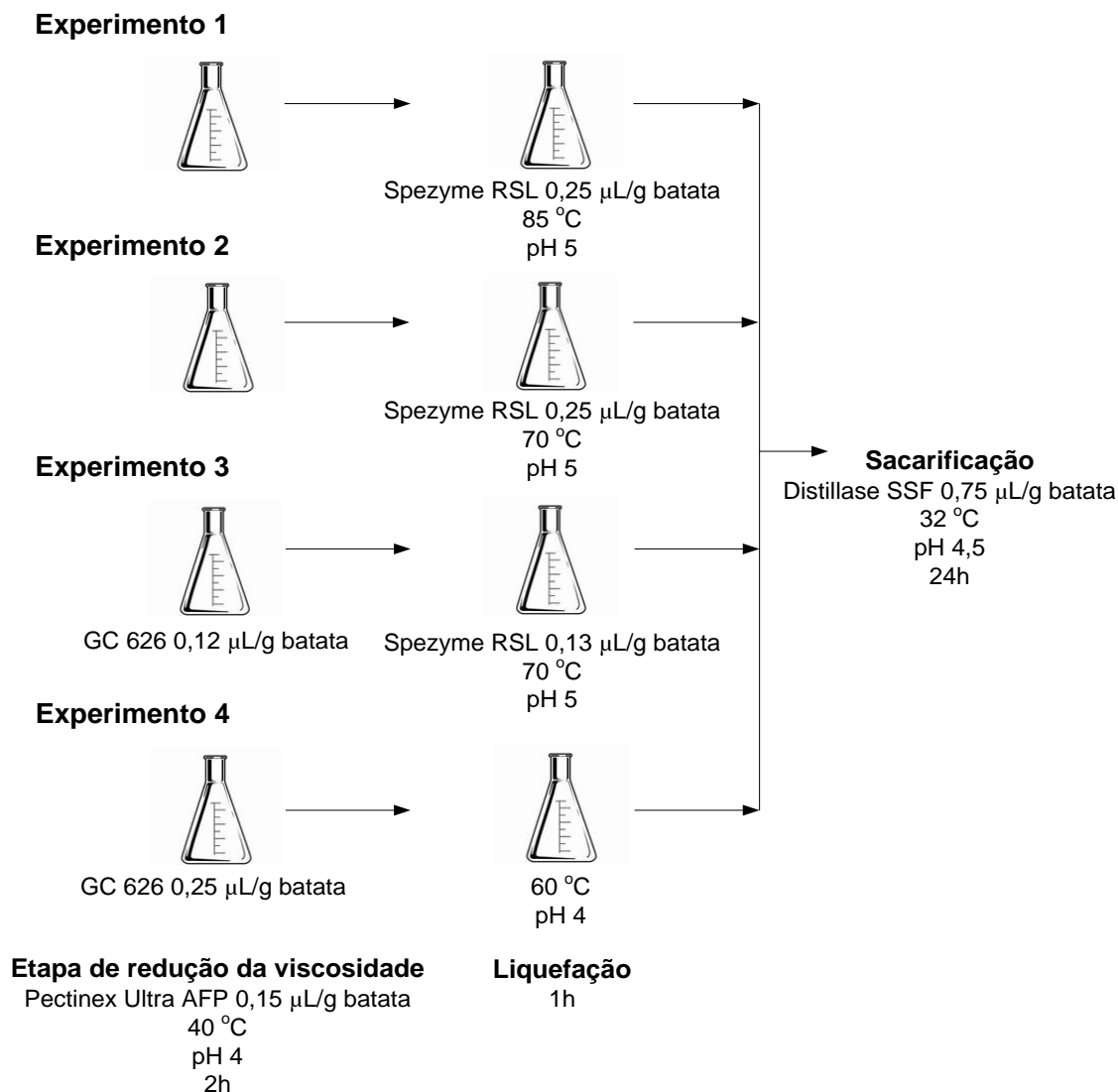


Figura 2 – Descrição dos experimentos.

As batatas foram adquiridas no mercado local de Porto Alegre/RS, sendo de polpa e casca brancas. A concentração batata:água utilizada foi de 2:1. O pH foi controlado por meio de solução tampão de ácido cítrico e citrato de sódio. Os experimentos foram realizados em erlenmeyers de 250 mL com conteúdo de mosto de 200 g. Para o controle de contaminação foram empregados 10 mL

de solução do antibiótico doxíciclina na concentração 3,4 g/L. Todos os experimentos foram realizados em shaker a ar sob a agitação de 175 rpm, com exceção da etapa onde ocorreu aquecimento a 85°C, neste caso o aquecimento foi realizado em banho-maria com agitações manuais a cada 5 min.

As médias dos resultados foram comparadas segundo teste de Tukey.

### 2.3. Estudo sobre o efeito do micro-ondas na hidrólise

Os resultados do estudo descrito na seção 2.2 foram parâmetros para a definição dos experimentos com o micro-ondas. Portanto, as justificativas para o estabelecimento das condições experimentais são discutidas na apresentação dos resultados (Seção 3). A metodologia é equivalente a já apresentada, porém, nestes experimentos, foi adicionada uma etapa anterior à liquefação, que consistiu no aquecimento prévio em micro-ondas doméstico. Nestes experimentos optou-se por reduzir a concentração da batata para 1,5:1, objetivando tornar o meio mais fluido. Também foram realizados experimentos de fermentação, utilizando 0,0175 g/g de batata da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepa CAT-1 produzida pela LNF.

## 3. RESULTADOS

Na etapa de caracterização da batata obteve-se o teor de umidade 67,83%, glicose 2,24%, frutose 1,41% e glicose total 21,09%.

Os resultados do estudo sobre o efeito da temperatura de liquefação na hidrólise são apresentados na Tabela 1 (experimentos realizados em triplicata).

Tabela 1 – Efeito da temperatura de liquefação na hidrólise.

Experimento	Temperatura de liquefação (°C)	Enzima	Concentração média de Glicose* (g/L)	Desvio padrão
1	85	Spezyme RSL	173,24 <sup>a</sup>	4,63
2	70	Spezyme RSL	70,99 <sup>b</sup>	3,07
3	70	Spezyme RSL + GC 626	68,08 <sup>b</sup>	2,53
4	60	GC 626	42,04 <sup>c</sup>	1,08

\*As médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes, segundo o teste de Tukey com 95% de confiança. Utilizou-se a concentração de batata 2:1.

Considerando os dados da caracterização da batata e a concentração da mesma no mosto, o resultado teórico esperado na hidrólise era de  $169,84 \pm 10,76$  g/L, o que indica que, apenas no experimento 1, o resultado máximo foi alcançado.

Segundo Srichuwong *et al.* (2012), em geral a gelatinização do amido de batata-doce ocorre entre 60 a 85°C. O melhor resultado obtido na temperatura de 85°C provavelmente se deve à completa gelatinização do amido. Os ensaios a 85°C apresentaram diferença visível em relação aos demais, ocorrendo um maior escurecimento, grânulos mais entumecidos e vítreos, que são características físicas da gelatinização.

No que se refere à comparação do desempenho das duas enzimas de liquefação testadas, os resultados não são muito conclusivos. Avaliando os resultados dos experimentos 2 e 3 aparentemente não há diferença, mas, para uma afirmação mais correta, seriam necessários mais experimentos ampliando a abrangência das variáveis de estudo.

Deu-se sequência ao estudo, utilizando micro-ondas para pré-aquecer os meios até a temperatura 85°C, já que esta temperatura se demonstrou importante para uma boa hidrólise. Optou-se por utilizar apenas a Spezyme RSL neste estudo, que foi adicionada logo após o pré-aquecimento com micro-ondas. Além da hidrólise foi realizada fermentação, iniciada simultaneamente com a sacarificação. Foram realizados três experimentos com quatro repetições, o primeiro experimento consistiu no método convencional de aquecimento a 85°C em banho-maria, para fins de comparação. O segundo experimento consistiu no aquecimento prévio em micro-ondas, seguido por liquefação em agitador orbital a 70°C. O terceiro experimento foi realizado da mesma forma, mas em agitador orbital a 60°C. Nos ensaios com micro-ondas a Pectinex Ultra AFP não foi adicionada, pois se desejou avaliar se o método com micro-ondas também implicaria em resultados positivos sobre a redução da viscosidade. Os resultados destes experimentos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Produção de etanol em diferentes condições de liquefação e SSF.

Experimento	Resumo	Etanol (% v.v <sup>-1</sup> )*	
		24 h	48 h
1	Convencional, com a Pectinex Ultra AFP	10,82 <sup>a</sup>	10,72 <sup>a</sup>
2	Micro-ondas, shaker a 70 °C, sem a Pectinex Ultra AFP	9,5 <sup>c</sup>	10,4 <sup>a,b</sup>
3	Micro-ondas, shaker a 60 °C, sem a Pectinex Ultra AFP	9,63 <sup>b,c</sup>	10,4 <sup>a,b</sup>

\*As médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes, segundo o teste de Tukey com 95% de confiança. Utilizou-se a concentração de batata 1,5:1.

Com base nos resultados da caracterização da batata, o valor teórico máximo de etanol foi calculado como 11,13%. Considerando o menor e o maior valor experimental apresentados na Tabela 2, a eficiência de conversão variou de 85 a 97%, o que indica que os resultados foram satisfatórios.

Não foi possível notar efeito isolado do micro-ondas sobre a viscosidade. Desta forma, conclui-se que este método não substitui o efeito da Pectinex Ultra AFP, como pode ser observado na imagem comparativa da Figura 3.

Em 24h de fermentação a produção de etanol no experimento 1 foi um pouco mais elevada em relação às demais, talvez pela a presença da Pectinex Ultra AFP, que pode ter implicado em uma breve aceleração do processo pela redução da viscosidade. Mas, após 48 h de fermentação, os resultados se equiparam, não havendo diferença significativa entre eles segundo a comparação das médias pelo método de Tukey.

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que o uso do micro-ondas permite a redução da temperatura na liquefação. Inclusive, é possível que a temperatura possa ser reduzida abaixo dos 60 °C, havendo a necessidade de mais experimentos para confirmar tal hipótese.



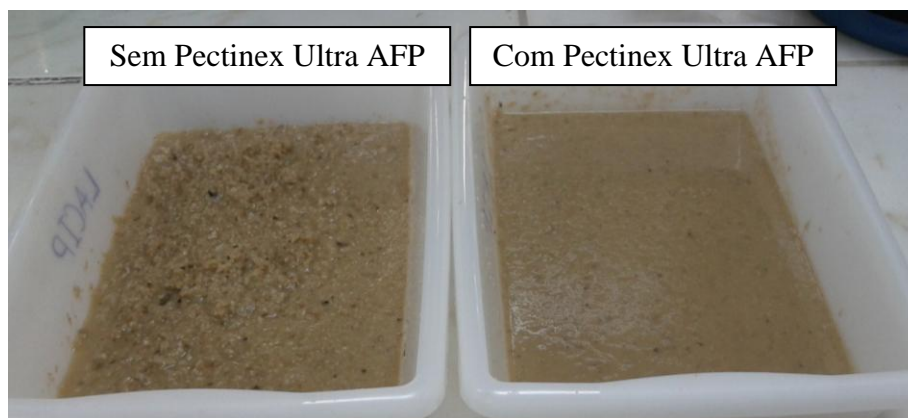


Figura 3 – Imagem comparativa de experimentos com e sem a Pectinex Ultra AFP.

Diante do exposto, o acréscimo do micro-ondas ao método é uma opção a ser considerada, quando se deseja reduzir o custo energético, pois o tempo de aquecimento necessário neste caso foi de 2,5 min por erlenmeyer, além da temperatura de liquefação poder ser reduzida, de 85°C para 60°C.

Na literatura foram encontrados poucos trabalhos semelhantes (inferior a 20), sendo ainda a maioria referente à utilização de micro-ondas na hidrólise ácida do amido. Entre eles, chama-se a atenção para os de Saifuddin e Hussain (2011), Zhang et al. (2012) e Zhang et al. (2011), onde foi avaliado o efeito das micro-ondas sobre as enzimas amilolíticas, em todos os trabalhos há o relato de que o desempenho da atividade enzimática foi potencializado. Os resultados de Saifuddin e Hussain (2011) demonstraram que a hidrólise enzimática do amido de sagu combinada com as micro-ondas aumentou a taxa de reação inicial duas vezes. Segundo os autores, os resultados indicam que há uma ativação específica não térmica sobre as enzimas causada pelas micro-ondas. Estas informações coletadas na literatura são de grande contribuição, demonstram que também é interessante a realização de experimentos de aquecimento com o micro-ondas simultâneo com o processo de liquefação.

#### 4. CONCLUSÃO

Para uma hidrólise adequada é necessário que a estrutura granular do amido seja degradada, tornando-o mais vulnerável ao ataque enzimático. Para tanto, uma dada quantidade de energia deve ser empregada. Nos ensaios aplicando o método convencional de aquecimento, a temperatura de 85°C foi identificada como um ponto que caracteriza tal energia. O método com micro-ondas mostrou-se bastante promissor, possibilitando a redução da temperatura de liquefação para 60°C. Esta simplificação pode estar associada à maior desintegração do amido pelo efeito da energia eletromagnética. É possível que este processo permita ainda mais a redução da temperatura de liquefação, o que deve ser constatado mediante a realização de mais experimentos, inclusive com a enzima de liquefação presente durante o aquecimento.

Acredita-se que o emprego do micro-ondas seja uma possibilidade factível na produção industrial de etanol. Certamente, ainda seria necessária uma adaptação da tecnologia para a maior

escala. Porém, trabalhos como o apresentado servem como fomento para a consolidação do microondas no campo industrial.

## 5. REFERÊNCIAS

- FIGUEIREDO, E. *Métodos físico-químicos para a análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- MASIERO, S. S. *Microusinas de etanol de batata-doce: viabilidade econômica e técnica*. Porto Alegre: Dissertação de mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2012.
- RISSO, R. S. *Etanol de Batata-doce: Otimização do Pré-processamento da Matéria-prima e da Hidrólise Enzimática*. Porto Alegre: Dissertação de mestrado em engenharia química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2014.
- SAIFUDDIN, N; HUSSAIN, R.. Microwave Assisted Bioethanol Production from Sago Starch by Co-Culturing of Ragi Tapai and *Saccharomyces Cerevisiae*. *Journal of Mathematics and Statistics*, p. 198-206, 2011.
- SRICHUWONG, S; ORIKASA, T.; MATSUKI, J; SHIINA, T.; KOBAYASHI, T.; TOKUYASU, K. Sweet potato having a low temperature-gelatinizing starch as a promising feedstock for bioethanol production. *Biomass and Bioenergy*, v. 39, p. 120 - 127, 2012.
- ÚNICA. UNICADATA. Disponível em: < <http://www.unicadata.com.br/> >. Acesso em: 04 jan 2014.
- ZHANG, X.; CAO, T.; TIAN, X; GAI, D. Effect of microwave irradiation on the structure of glucoamylase. *Process Biochemistry*, v. 47, p. 2323-2328, 2012.
- ZHANG, X.-y.; QIN, W.-q.; TIAN, X.-d.; HUANG, M.. Effect of microwave irradiation on secondary structure of  $\alpha$ -amylase by circular dichroism. *J. Cent. South Univ. Technol.*, v. 18, p. 1029–1033, 2011.