

"OBTENÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE MALTO-DEXTRINA DE MANDIOCA PELO PROCESSO DE SACARIFICAÇÃO SIMULTÂNEA À FERMENTAÇÃO (SSF)"

EDNA REGINA NETTO DE OLIVEIRA^a
RUI SÉRGIO DOS SANTOS F. DA SILVA^b

RESUMO

A obtenção de etanol, a partir de malto-dextrina de mandioca, foi realizada através do método de sacarificação simultânea à fermentação (SSF). Utilizou-se um delineamento fatorial (3^3) incompleto de três fatores em três níveis equidistantes: concentração de substrato (100, 150 e 200g/l), nível inóculo de *Saccharomyces cerevisiae* (10, 15 e 20g/l) e concentração da enzima Amiloglucosidase (500, 1250 e 2000 AGI/l). Os ensaios foram realizados à temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$, pH inicial de $4,5 \pm 0,1$ e agitação de 135 ± 5 rpm. As respostas em produtividade (g/l.h) e rendimento (%), com 95% de desenvolvimento do processo fermentativo, foram analisadas pela metodologia de superfície de resposta. A análise dos dados demonstrou que a variável que mais contribuiu para as respostas foi a concentração de enzima. A partir dos dados experimentais, modelos matemáticos foram obtidos para produtividade e rendimento. A sobreposição de gráficos de superfície de resposta, onde a concentração de levedura foi fixada em 15g/l, conduziu às condições onde há uma solução de compromisso entre as duas respostas. Assim, as melhores respostas estimadas simultaneamente, dentro da região experimental, são: produtividade de 3,28 a 3,32g/l.h e rendimento de 88,26 a 89,27%. Tais variações correspondem aos seguintes valores de concentração de substrato e enzima: 127,5 a 132,5g/l e 1887,5 a 2000 AGI/l, respectivamente. A sobreposição dos gráficos também foi útil quando limitações econômicas foram impostas pela relação enzima/substrato.

PALAVRAS-CHAVE: Mandioca; Produção de etanol; Sacarificação e Fermentação simultâneas.

1 – INTRODUÇÃO

A partir da crise do petróleo, desencadeada nos anos 70 pelos países fornecedores deste combustível, fontes alternativas para produção de energia passaram a surgir em todo o mundo. No Brasil, a mais importante foi, e ainda é, sem dúvida, o álcool carburante obtido da cana-de-açúcar, fonte esta, que recebeu grandes incentivos através do PROÁLCOOL criado em 1975.

Mesmo terminada a crise do petróleo, o álcool ficou consolidado como uma importante fonte de energia em nosso país, sendo a cana-de-açúcar, pelo menos até os próximos anos, sua principal matéria-prima. No entanto, fontes alternativas, como materiais amiláceos (mandioca, milho, sorgo, babaçu), derivados celulósicos e resíduos industriais, também constituem importantes fontes alternativas para obtenção de etanol a médio e longo prazos.

Muitos trabalhos têm sido realizados em todo o mundo visando a otimização do processo de obtenção de etanol a partir de mandioca (FUJIO et alii, 1984; LEE et alii, 1985; ESSER & SCHMIT, 1982). No Brasil, como esta cultura é de grande importância histórica e economicamente, muitos pesquisadores têm se dedicado ao seu estudo como fonte de energia (COSTA, 1984; SCHMIDELL

et alii, 1985; PARK & PASTORE, 1986). Também, no Departamento de Tecnologia de Alimentos desta Universidade alguns trabalhos foram realizados visando este fim (OLIVEIRA & DA SILVA, 1983; VERDADE, 1984; CHIARELLO, 1986).

O processo clássico de obtenção de etanol a partir de materiais amiláceos compreende: moagem ou homogeneização, gelatinização do amido, hidrólise ácida ou enzimática do amido (etapas de liquefação e sacarificação) e fermentação das moléculas de glucose.

A fim de tornar a produção de etanol a partir de amiláceos competitiva com a da cana-de-açúcar, a etapa de gelatinização já tem sido suprimida e a etapa de hidrólise tem sido otimizada (WELLER et alii, 1983; FUJIO et alii, 1984).

Mais recentemente o método que associa as etapas de sacarificação e fermentação numa só fase (Sacarificação Simultânea à Fermentação – SSF), tem sido utilizado para substratos amiláceos (UEDA et alii, 1985; COSTA, 1984; SCHMIDELL, 1985). Este método tem como vantagem o aumento da velocidade de hidrólise e a redução do tempo de fermentação com isso, há, conseqüentemente, uma redução dos custos.

Dando continuidade aos estudos realizados nesta

^a Departamento de Química – CCE/Universidade Estadual de Londrina.

^b Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos – CCA/Universidade Estadual de Londrina.

Universidade, este trabalho, em linhas gerais, teve como meta otimizar, através do método de superfície de resposta, a produção de etanol a partir de amido de mandioca pré-dextrinizado (malto-dextrina), por meio de um processo onde as etapas de sacarificação e fermentação ocorreram simultaneamente.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – MATERIAIS

2.1.1 – **Matéria-prima:** Malto-dextrina de mandioca (LO-REMALT^R 2001) – Companhia Lorenz (Umuarama - PR).

2.1.2 – **Enzima:** Amiloglucosidase comercial (Diazyme L – 100) Laboratório Miles (São Paulo – SP).

2.1.3 – **Microrganismo:** Fermento prensado “Fleishmann” – *Saccharomyces cerevisiae*.

2.2 – MÉTODOS

2.2.1 – Análise da matéria-prima

- Teor de umidade (Instituto Adolfo Lutz, 1976).
- Poder reductor (método SOMOGYI-NELSON, descrito por MARTELLI & PANEK, 1968).
- Teor de D-glucose (método enzimático GOP descrito por CHIARELLO, 1986).
- Açúcares redutores totais (método de SACHSSE, descrito por OLIVEIRA, 1989).

2.2.2 – Características da Enzima

- Atividade enzimática (método da SOCIÉTÉ RAPIDASE, CHIARELLO, 1986).
- Determinação de proteínas (método de LOWRY, 1951).

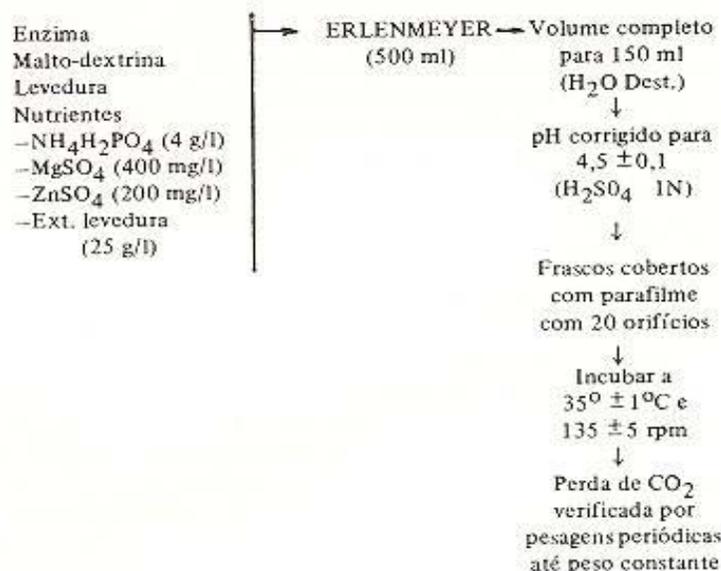
2.2.3 – Condições de temperatura e agitação

Através de testes preliminares (OLIVEIRA, 1989) observou-se que, empregando um delineamento fatorial 2², as condições de temperatura e agitação que conduziram a melhores resultados foram, respectivamente 35^o ± 1^oC e 135 ± 5 rpm.

2.2.4 – Suplementação de nutriente

Foi empregada a concentração de 25g/l de extrato de levedura como suplementação de nutriente, uma vez que estudos preliminares (OLIVEIRA, 1989) indicaram que esta quantidade conduziu a melhores resultados.

2.2.5 – Ensaio típico de SSF



As perdas por evaporação foram compensadas por um frasco controle contendo 150 ml de água destilada.

Através da massa de CO₂ perdida e o tempo do processo, foram construídos gráficos a partir dos quais, por interpolação, foi calculado o tempo necessário para ocorrer 95% de conclusão do processo fermentativo (CHEN & GUTMANIS, 1982; OLIVEIRA, 1989).

2.2.6 – Determinação do teor de etanol

Foi utilizado um método de oxidação pelo dicromato (JOSILYN, 1970), no qual o teor de etanol é determinado pela seguinte equação:

$$E \text{ (g/l)} = 11,5 \times V \times N (1 - V_a/V_b) \text{ onde:}$$

- V_a = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto para titular a amostra;
 V_b = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto para titular o branco;
 V = volume de K₂Cr₂O₇;
 N = normalidade do K₂Cr₂O₇ (0,7 N);
 11,5 = constante teórica;
 E = teor de etanol (g/l).

2.2.7 – Produtividade do etanol

$$P \text{ (g/l.h)} = E/t \quad \text{Sendo: } E = \text{teor de etanol em g/l;} \\ t = \text{tempo}$$

2.2.8 – Rendimento teórico do processo

$$\eta = \frac{E}{0,511 \times S_o} \times 100 \text{ onde:}$$

- E = teor de etanol em g/l
 0,511 = constante teórica de transformação estequiométrica de glucose em etanol

So = açúcares redutores totais

2.2.9 – Metodologia da superfície de resposta

a) Delineamento estatístico: foi empregado um delineamento fatorial 3^3 incompleto, com 3 variáveis em 3 níveis de variação equidistantes. O planejamento foi constituído de um grupo de ensaio com 12 experimentos e 3 repetições no ponto central, QUADRO 1.

Os fatores, ou variáveis independentes, foram: concentração de malto-dextrina (X_1) 100, 150 e 200 g/l; nível de inóculo (X_2) 10, 15 e 20 g/l; concentração de amiloglicosidase (X_3) 500, 1250 e 2000 AGI/l.

As respostas ou variáveis dependentes, foram: produtividade em etanol (Y_1) e rendimento teórico (Y_2), ambas relacionadas com 95% de desenvolvimento do processo fermentativo.

As concentrações dos fatores foram codificadas em -1, 0, 1, conforme equação abaixo:

$$x_i = \frac{X_i - \bar{X}}{q} \quad \text{onde:}$$

x_i = número codificado

X_i = valor real dos níveis

\bar{X} = média dos níveis

q = diferença entre níveis sucessivos das variáveis

b) Análise pela superfície de resposta: as respostas foram modeladas pela seguinte equação polinomial quadrática:

$$Y = \beta_0 + \sum_i \beta_i x_i + \sum_i \beta_{ii} x_i^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad \text{onde;}$$

$$i < j$$

Y = resposta ou variável dependente

β_0 = coeficiente do efeito de ordem zero

β_i = coeficiente dos efeitos de primeira ordem

β_{ii} = coeficiente dos efeitos de segunda ordem

β_{ij} = coeficiente dos efeitos de interação

ε = resíduo que mede o erro experimental

A análise dos dados e a confecção dos gráficos foram feitas com o programa "Statistical Analyses System" (SAS, 1985).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Análise da matéria-prima e características da enzima

Os resultados da análise da matéria-prima e enzima encontram-se nos QUADROS 2 e 3 respectivamente.

3.2 – Avaliação do comportamento da resposta produtividade (Y_1)

Os resultados obtidos para resposta produtividade

QUADRO 1 – Delineamento estatístico dos experimentos

Experimento	Variáveis originais			Variáveis codificadas		
	X_1 (g/l)	X_2 (g/l)	X_3 (AGI/l)	x_1	x_2	x_3
1	100	10	1250	-1	-1	0
2	200	10	1250	+1	-1	0
3	100	20	1250	-1	+1	0
4	200	20	1250	+1	+1	0
5	100	15	500	-1	0	-1
6	200	15	500	+1	0	-1
7	100	15	2000	-1	0	+1
8	200	15	2000	+1	0	+1
9	150	10	500	0	-1	-1
10	150	20	500	0	+1	-1
11	150	10	2000	0	-1	+1
12	150	20	2000	0	+1	+1
13	150	15	1250	0	0	0
14	150	15	1250	0	0	0
15	150	15	1250	0	0	0

estão no QUADRO 4. Verifica-se que a máxima produtividade (3,51 g/l.h) foi obtida no ensaio n. 8. O modelo matemático encontrado após ajustamento dos dados foi:

$$\hat{Y}_1 = 2,974 + 0,163 x_1 - 0,033 x_2 + 0,845 x_3 - 0,092 x_1^2 - 0,102 x_2^2 - 0,413 x_3^2 - 0,100 x_1 x_2 + 0,049 x_1 x_3 + 0,007 x_2 x_3$$

Através dos coeficientes verifica-se que a concentração de enzima (x_3) foi o fator mais importante no desenvolvimento do processo e o nível de inóculo (x_2) o menos importante. Além disso, os termos lineares são os que mais contribuem para o modelo (86,30%).

Através da análise de variância (QUADRO 5), verifica-se que o modelo obtido é estatisticamente significativo ao nível de 1% e o desvio da regressão não é significativo ao nível de 5%. Além disso, o coeficiente de determinação total (R^2) foi de 0,9663, isto é, 96,63% da variação é explicada pelo modelo, e, portanto, este ajusta-se muito bem aos dados experimentais.

A aplicabilidade do modelo foi demonstrada através da comparação dos valores observados experimentalmente (Y_1) com aqueles estimados (\hat{Y}_1). Neste caso, o erro relativo foi de apenas 3,45% (OLIVEIRA, 1989).

A partir do modelo obtido, uma resposta máxima de 3,6 g/l.h foi prevista para \hat{Y}_1 com as variáveis nos seguintes valores codificados: $x_1 = 1,7$ (235 g/l), $x_2 = -0,957$ (10,2 g/l) e $x_3 = 1,114$ (2085,5 AGI/l). Como o ponto estacionário está fora da região experimental e uma extrapolação pode não ser confiável, os valores mais próximos daqueles, dentro da região experimental, foram escolhidos: $x_1 = 200$ g/l, $x_2 = -1$ (10 g/l) e $x_3 = 1$ (2000 AGI/l), que resulta numa estimativa de produtividade de 3,55 g/l.h. Tais condições foram usadas num teste confirmatório cuja produtividade observada foi de 3,66 g/l.h, resultando, portanto, num erro relativo médio de 3%.

Como o modelo para a função \hat{Y}_1 se presta para fins preditivos, fez-se uma simulação dos dados dentro da região

experimental, fixando-se a variável x_2 (menos importante) no seu nível inferior (-1). A superfície de resposta obtida é demonstrada na FIGURA 1.

Pelo fato de ser reduzido o número de trabalhos publicados, empregando mandioca e derivados para obtenção de etanol pelo processo SSF, torna-se difícil a comparação dos resultados aqui obtidos com os da literatura. No entanto, quando os valores do experimento 8 foram recal-

QUADRO 2 – Características da malto-dextrina

	Média	CV ^f
Teor de Umidade (%)	8,09 ^a	8,05%
Teor da Matéria Seca (%)	91,87	
Poder Redutor (Somogyi-Nelson) (DE) ^d	15,50 ^b	1,50%
D-Glucose (PG) ^e	10,21 ^b	7,10%
Açúcares Redutores Totais (%)	106,80 ^c	

- a – Média de 8 determinações
 b – Média de 3 determinações
 c – Média de 2 determinações
 d – DE – Dextrose equivalente (g açúcar redutor / 100 g de substrato inicial)
 e – PG – Porcentagem de glucose (g de D-glucose / 100 g de substrato inicial)
 f – Coeficiente de variação

QUADRO 3 – Características da enzima AMG

	Média	CV
Teor de Proteína (% (p/v))	13,72 ^a	
Atividade		
Unidades Internacionais (AGI ^c /ml)	4.200 ^b	0,77
Específica (AGI/g de proteína)	30.600	

- a – Média de 2 determinações
 b – Média de 3 determinações
 c – AGI = quantidade de enzima que libera 1 μ mol de glucose por minuto a 60°C e em pH 4,3, a partir de uma solução de amido 1,6%

QUADRO 4 – Resultados obtidos para tempo de fermentação, teor alcoólico e produtividade*

Ordem dos Ensaios	Tempo (h)	Teor de Etanol (g/l)	Produtividade (g/l.h)
15	21,2	68,084	3,212
2	23,6	74,708	3,166
6	24,8	40,509	1,633
4	24,2	68,853	2,845
14	21,0	64,571	3,075
10	28,2	46,394	1,645
8	25,2	88,397	3,508
5	22,2	33,905	1,527
13	21,4	56,423	2,637
1	17,4	43,772	2,561
11	20,1	65,496	3,259
9	24,9	41,588	1,670
3	18,2	47,225	2,595
7	16,6	53,249	3,208
12	20,1	65,586	3,263

* Resultados referentes à média de 3 determinações obtidas com 95% de desenvolvimento do processo fermentativo

culados para 97,5% de conclusão do processo, de acordo com COSTA, 1984, obteve-se o valor de produtividade superior em cerca de 1 g/l (3,54 g/l.h) e uma redução no tempo de fermentação de 14 horas, em relação ao autor citado.

QUADRO 5 – Análise de variância para produtividade (\bar{Y}_1)

Causa de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F Calculado
Modelo	9	6,6490	0,7388	15,95**
Linear	3	5,9391	1,9797	42,72**
Quadrático	3	0,6603	0,2201	4,75 ^{ns}
Interação	3	0,0496	0,0165	0,36 ^{ns}
Resíduo	5	0,2317	0,0463	
Desvio	3	0,0518	0,0173	0,192 ^{ns}
Erro Experimental	2	0,1799	0,0899	

** – Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)
 ns – Não significativo ao nível de 5% de probabilidade

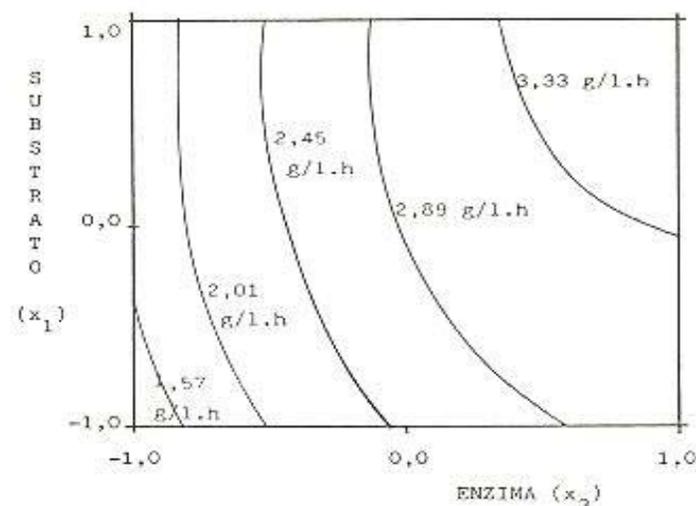


FIGURA 1 – Superfície de resposta para a função \bar{Y}_1 (produtividade), fixando-se a concentração de levedura em 10 g/l ($x_2 = -1$) e variando-se a concentração de malto-dextrina (x_1) e amiloglucosidase (x_3)

3.3 – Avaliação do comportamento da resposta rendimento (Y_2)

Os resultados obtidos para rendimento estão no QUADRO 6. Verifica-se que o ensaio número 7 apresentou a maior resposta, 97,57%.

O modelo obtido após o ajustamento dos dados foi:

$$\bar{Y}_2 = 76,990 - 9,601 x_1 + 0,866 x_2 + 16,498 x_3 + 0,064 x_1^2 - 2,486 x_2^2 - 7,604 x_3^2 - 2,923 x_1 x_2 + 2,110 x_1 x_3 - 1,440 x_2 x_3$$

A concentração de enzima (x_3), de acordo com a análise dos coeficientes das variáveis foi o fator mais importante no desenvolvimento do processo e, a variável menos importante foi, novamente, o nível de inóculo (x_2). Os

efeitos lineares foram os que mais contribuíram para o modelo (85,55%).

Pela análise de variância demonstrada no QUADRO 7, o modelo de regressão é significativo ao nível de 5% e o desvio não é significativo nesse nível. O coeficiente de determinação total (R^2) é de 0,9403 e, portanto, 94,03% da variação é explicada pelo modelo. Assim, o modelo estabelecido para \hat{Y}_2 ajusta-se muito bem aos dados experimentais. Quando a comparação dos valores de rendimento observados experimentalmente com aqueles estimados pelo modelo, foi realizada (OLIVEIRA, 1989) o erro relativo médio foi de 4,60%.

A partir do modelo um ponto estacionário foi obtido mas ele está fora da região experimental e é um ponto de sela. Portanto, esta análise não pode ser empregada para identificar as condições ótimas, porém, pode ser usada para fins preditivos dentro da região experimental. Fixando, mais uma vez, x_2 no seu nível inferior (-1), obtém-se a superfície de resposta apresentada na FIGURA 2.

A região de maiores rendimentos situa-se em $0 \geq x_1 \geq -1$ e $0,2 \leq x_3 \leq 1$, que corresponde em valores originais a $150 \text{ g/l} \geq X_1 \geq 100 \text{ g/l}$ e $1400 \text{ AGI/l} \leq X_3 \leq 2000 \text{ AGI/l}$.

Quando o melhor resultado de rendimento obtido (ensaio n. 7) foi recalculado para 97,5% de conclusão do processo (COSTA, 1984), obteve-se um rendimento teórico de quase 100% para um tempo de 16 horas para o processo fermentativo.

QUADRO 6 – Resultados obtidos para tempo de fermentação, teor alcoólico e rendimento*

Ordem dos Ensaio	Tempo (h)	Teor de Etanol NOL (g/l)	Rendimento (%)
15	21,2	68,084	83,169
2	23,6	74,708	68,446
6	24,8	40,509	37,113
4	24,2	68,853	63,081
14	21,0	64,571	78,877
10	28,2	46,394	56,673
8	25,2	88,397	80,987
5	22,2	33,905	62,125
13	21,4	56,423	68,924
1	17,4	43,772	80,206
11	20,1	65,496	80,008
9	24,9	41,588	50,802
3	18,2	47,225	86,533
7	16,6	53,249	97,571
12	20,1	65,586	80,118

* Resultados referentes à média de 3 determinações obtidas com 95% de desenvolvimento do processo fermentativo.

3.4 – Localização das condições ótimas

Na fermentação alcoólica o aumento da produtividade acarreta uma diminuição no rendimento e vice-versa. Assim, as condições ótimas de um processo fermentativo deve representar uma solução de compromisso entre as duas respostas.

Uma forma simples de se identificar tais condições, seria através da sobreposição de gráficos de superfície de resposta que permitiria a identificação da região de inte-

QUADRO 7 – Análise de variância para rendimento (\hat{Y}_2)

Causa de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadros	Quadrado Médio	F Calculado
Modelo	9	3210,2852	356,6984	8,74*
Linear	3	2920,8152	973,6051	23,86**
Quadrático	3	229,2032	76,4011	1,87 ^{ns}
Interação	3	60,2668	20,0889	0,49 ^{ns}
Resíduo	5	204,0005	40,8001	
Desvio	3	97,1111	32,3704	0,606 ^{ns}
Erro experimental	2	106,8894	53,4447	

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

** – Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

^{ns} – Não significativo ao nível de 5% de probabilidade

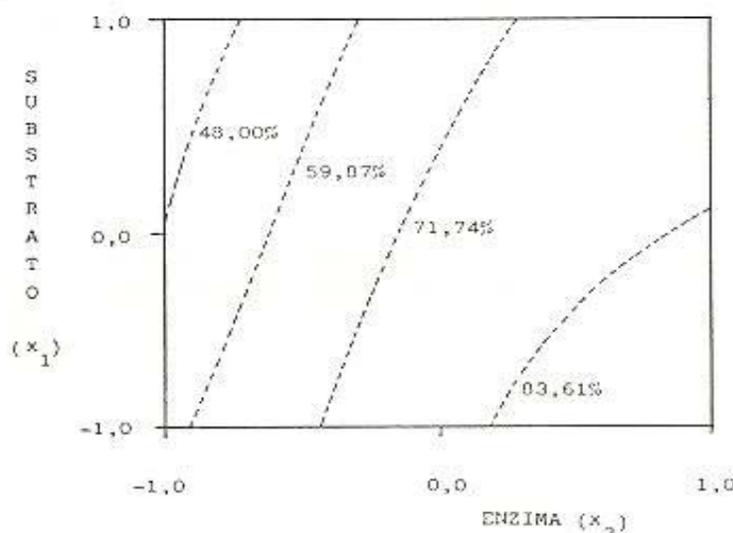


FIGURA 2 – Superfície de resposta para a função \hat{Y}_2 (rendimento), fixando-se a concentração de levedura em 10 g/l ($x_2 = -1$) e variando-se a concentração de substrato (x_1) e amiloglucosidase (x_3)

resse onde máximas respostas seriam obtidas simultaneamente.

Como, nos experimentos onde os maiores valores para rendimento e produtividade foram obtidos (ensaio n. 7 e 8 respectivamente), o nível de inóculo situava-se no seu valor intermediário ($x_2 = 0$) fixando-o neste limite, obteve-se duas superfícies de resposta cuja sobreposição resultou na FIGURA 3. A região hachurada corresponde aos máximos valores de produtividade e rendimentos combinados e, equivale às seguintes coordenadas: $-0,35 \geq x_1 \geq -0,45$ ($132,5 \geq X_1 \geq 127,5$) e $1 \geq x_3 \geq 0,85$ ($2000 \text{ AGI/l} \geq X_3 \geq 1887,5 \text{ AGI/l}$). Os limites estimados para as respostas com estes níveis das variáveis foram: $3,32 \text{ g/l.h} \geq \hat{Y}_1 \geq 3,28 \text{ g/l.h}$ e $89,27\% \geq \hat{Y}_2 \geq 88,26\%$.

3.5 – Localização das condições ótimas considerando as limitações econômicas impostas pela enzima

De acordo com CHEN & GUTMANIS (1982), quan-

tidades superiores a 2,4 ml de AMG/Kg de substrato tornam-se anti-econômicas. Tal concentração corresponde à cerca de 10 AGI/g de malto-dextrina, quando se considera a atividade determinada, neste trabalho, para enzima em questão (QUADRO 2).

Com auxílio da FIGURA 3, considerando-se a restrição econômica, encontrou-se as coordenadas enzima/substrato cuja relação mantém-se em 10 AGI/g. Obteve-se assim, a reta apresentada na FIGURA 4. Dos pontos resultantes, aquele que, além de respeitar o limite econômico imposto também manteve o compromisso de rendimento e produtividade elevados, corresponde às seguintes coordenadas: $x_1 = 0,2$; $x_2 = 0$ e $x_3 = 0,466$ (160 g/l, 15 g/l e 1600 AGI/l), o que corresponde a um rendimento de 81,31% e produtividade de 3,31 g/l.h.

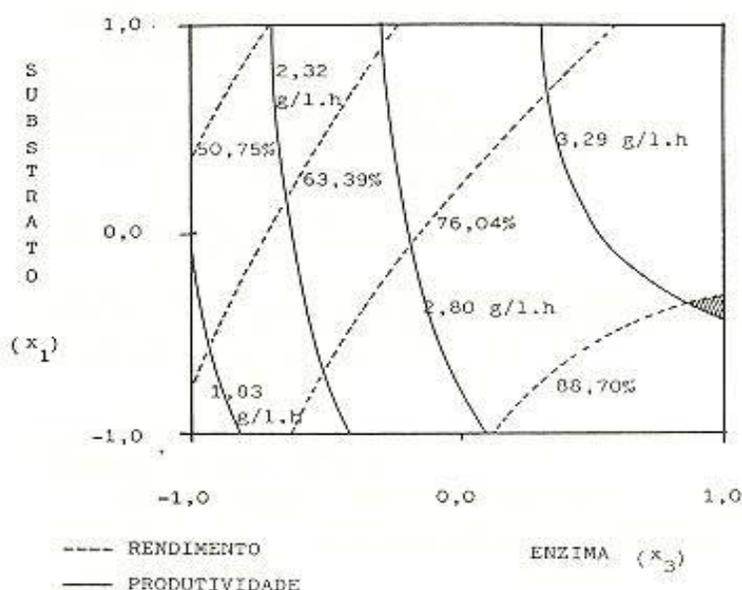


FIGURA 3 – Sobreposição das superfícies de resposta para o rendimento e produtividade, fixando a concentração de levedura em 15 g/l ($x_2 = 0,0$) e indicando na região hachurada aquela de máxima produtividade e rendimento combinados

4 – CONCLUSÕES

As conclusões obtidas foram:

a) A metodologia de superfície de resposta demonstrou ser um conjunto de técnicas eficientes que se adequam ao estudo multivariável do processo SSF;

b) No processo de açúcar-fermentação simultânea de malto-dextrina de mandioca a sacarificação demonstrou ser a etapa limitante;

c) Foram desenvolvidos modelos preditivos para o estudo da produtividade e rendimento teórico, nos quais o fator concentração de amiloglucosidase foi o mais importante na obtenção daquelas respostas;

d) Foi aplicado um processo gráfico simples que permitiu uma otimização das duas respostas simultaneamente considerando limitações operacionais e/ou econômicas.

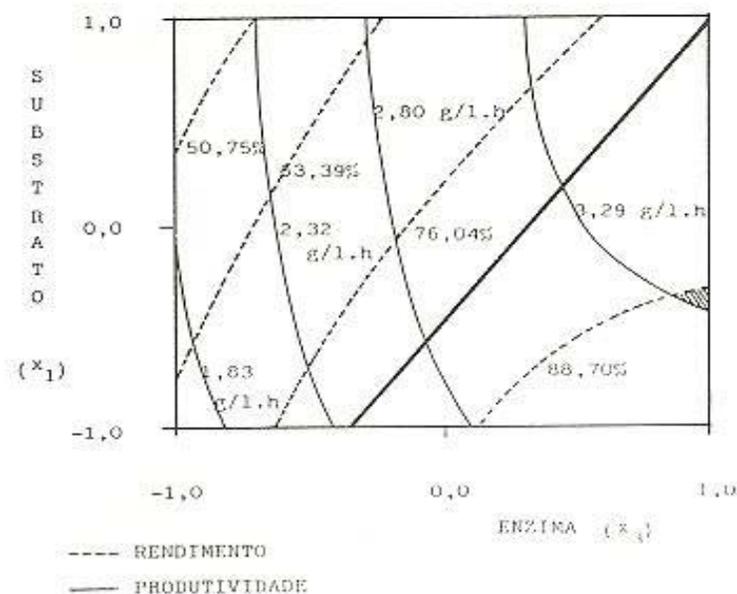


FIGURA 4 – Representação das coordenadas substrato/enzima, obtidas com auxílio da FIGURA 3, cujas relações mantêm-se no limite econômico imposto pela enzima

ABSTRACT

A study was conducted to obtain ethyl alcohol from the maltose-dextrins of cassava by using saccharification and fermentation simultaneously. An incomplete factorial (3^3) design with three equidistant levels was used; substrate concentration (10; 15 and 20g/l), concentration of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* (10; 15 and 20g/l) and the enzyme amyloglucosidase concentration (500; 1250 and 2000 AGI/l). The experiments were conducted at $35^\circ \pm 1^\circ\text{C}$, initial pH of 4.5 ± 0.1 and 135 ± 5 rpm agitation. The productivity (g/l.h) and yield (%) were analysed using response surface methodology with 95% fermentation process development. The results showed that the most contributing variable was the enzyme concentration. Mathematical models were obtained from the data for productivity and yield. A compromising solution between the two responses was developed from the response surface graphs where the yeast concentration was fixed at 15g/l. Likewise the best simultaneously estimated responses within the experimental region are as follows: productivity from 3.28 to 3.32 g/l.h and yield from 88.26 to 89.72%. Such variations correspond to the following concentration of substrate and enzyme respectively: 127.5 to 132.5 g/l and 1887.5 to 2000 AGI/l. The response surface graphs were of value when economic limitations were imposed by the relation between enzyme and substrate.

KEY WORDS: Cassava; Ethanol production; Simultaneous Saccharification and Fermentation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – CHEN, S.L. & GUTMANIS, F. Optimization of batch fermentation of whole ground corn mash. *Process Biochem.*, 2-5, nov/dec., 1982.
- 2 – CHIARELLO, M.D. *Sacarificação com amiloglucosidase de amido de mandioca pré-dextrinizada: uma análise pela metodologia da superfície de resposta*. Londrina, 1986. 55p. (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina).
- 3 – COSTA, L.M.G. *Produção de etanol a partir de materiais amiláceos: efeito da concentração inicial de amido contido em farinha de raspa de mandioca em parâmetros cinéticos de processos simultâneos de sacarificação e fermentação*. São Paulo, 1984. 132p. Tese (Mestrado) Escola Politécnica. Universidade de São Paulo.
- 4 – ESSER, K. & SCHMIDT, V. Alcohol production by biotechnology. *Process Bioch.*, 17(3): 46-8, may/jun., 1982.
- 5 – FUJIO, Y.; SUYANADONA, P.; ATTASAMPUNNA, P.; UEDA, S. Alcoholic fermentation of raw cassava starch by *Rhizopus koji* without cooking. *Biohecnol. Bioeng.*, 26: 315-9, 1984.
- 6 – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Cereais e amiláceos. In: ———, *Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz*. 2.ed. São Paulo, 1976 v.1. cap.6.
- 7 – JOSILYN, M.A. *Alcoholmetry*. In: ———, *Methods in food analysis*. 2.ed. New York, Academic Press, 197. cap.5, p. 457-8.
- 8 – LEE, S.Y.; SHIN, Y.C.; KIM, H.S.; BYUN, S.M. Ethanol fermentation of uncooked cassava starch. *J. Ferm. Technol.*, 63(1): 51-6, 1985.
- 9 – LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. RANDALL, R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-75, 1951.
- 10 – MARTELLI, H.L. & PANEK, A.D. *Bioquímica experimental*. Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico, 1968. 112p.
- 11 – OLIVEIRA, E.R.N. *Obtenção de etanol a partir de malto-dextrina de mandioca pelo processo de sacarificação simultânea à fermentação SSF*. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 1989. Tese (Mestr. Ciênc. Alim.) Uni. Est. Londrina.
- 12 – OLIVEIRA, A.S. & DA SILVA, R.S.F. Otimização das condições de temperatura e pH na ação da celulase sobre o substrato de mandioca; uma análise pela metodologia de superfície de resposta. *Arq. Biol. Technol.*, 26(4): 557-66, 1983.
- 13 – PARK, Y.K. & RIVERA, B.C. Alcohol production from various enzyme-converted starches with or without cooking. *Biotechnol. Bioeng.*, 24: 495-500, 1982.
- 14 – SCHMIDELL, W.; ABOUTBOUL, H.; FACCIOTTI, M.C.R.; MAEDA, M. Estudo de algumas variáveis na hidrólise e fermentação alcoólica de farinha de mandioca. *R. brasil. Eng.*, 3(1): 57-69, 1985.
- 15 – STATISTICAL ANALYSES SYSTEM. *SAS user's guide; statistic*. 5.ed. Cary, s.ed., 1985. 956p.
- 16 – UEDA, S.; ZENIN, C.T.; MONTEIRO, D.A.; PARK, Y.K. Production of ethanol from raw cassava starch by a nonconventional fermentation method. *Biotechnol. Bioeng.*, 23: 291-9, 1981.
- 17 – VERDADE, R. *Otimização da ação da alfa-amilase sobre pasta de mandioca*. Londrina, 1984. (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina).
- 18 – WELLER, C.L.; STEIMBERG, M.P.; RODDA, E.D. Fuel ethanol from raw corn by *Aspergilli* hidrolizis with concurrent yeast fermentation. *Biotechnol., Bioeng. Symp.*, 13: 437-47, 1983.

Recebido para publicação em 28/2/89