



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA DE PROCESSOS**



**TESE**

**PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DA AMÊNDOA DA SEMENTE DA  
MANGA (*Mangifera indica* L.)**

**WOLIA COSTA GOMES**

**Campina Grande – Paraíba**

**Julho– 2014**

**WOLIA COSTA GOMES**

**PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DA AMÊNDOA DA  
SEMENTE DA MANGA (*Mangifera indica* L.)**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia de Processos  
da Universidade Federal de Campina  
Grande, como parte dos requisitos  
necessários para obtenção do título de  
Doutor em Engenharia de Processos.**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Desenvolvimento de Processos**

**ORIENTADORA: Prof. D. Sc. Maria Elita Martins Duarte**

**Campina Grande – Paraíba**

**Julho – 2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

G633p Gomes, Wolia Costa.  
Produção de bioetanol a partir da amêndoa da semente da manga  
(*Mangifera indica L.*) / Wolia Costa Gomes. – Campina Grande, 2014.  
109 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal  
de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

"Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Elita Martins Duarte, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana  
Paula Trindade Rocha".

Referências.

1. Amido. 2. Hidrólise Ácida. 3. *Saccharomyces Cerevisiae*.  
4. Fermentação. I. Duarte, Maria Elira Martins. II. Rocha, Ana Paula  
Trindade. III. Título.

CDU 620.1:664.26(043)

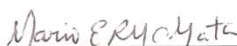
MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO DE **WOLIA COSTA GOMES** APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DO CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE.

Tese de Doutorado **Aprovada** em 14 de Julho de 2014.



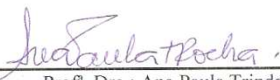
---

Prof. Dr.: Maria Elita Martins Duarte  
Orientador – UAEAI/CTRN/UFCG



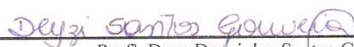
---

Prof. Dr.: Mário Eduardo R. M. Cavalcanti Mata  
Examinador Interno – UAEAI/CTRN/UFCG



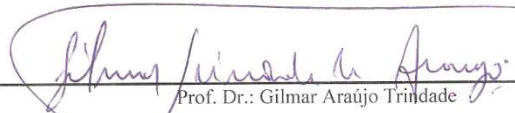
---

Prof. Dra.: Ana Paula Trindade Rocha  
Examinador Externo – UAEAI/CTRN/UFCG



---

Prof. Dra.: Deyzi dos Santos Gouveia  
Examinador Externo – UAEAI/CTRN/UFCG



---

Prof. Dr.: Gilmar Araújo Trindade  
Examinador Externo – UAEQ/CTRN/UFCG

Campina Grande, Julho de 2014

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu força, graça e sabedoria para que pudesse concluir este trabalho. Que teu nome seja louvado!

A meu esposo, Joacy Montelo dos Santos Júnior, que sempre acreditou na minha capacidade, pelo apoio durante todo o decorrer do curso.

A meus pais, Maria de Fátima da Costa Gomes e Marco Antonio Gomes, pelo dom da vida e pelo constante incentivo, paciência, dedicação e demonstração de amor comigo e meu filho, carinho e coragem nesta caminhada.

A minhas cunhadas Cealia Cristina e Eveline Dina, sogra Maria Antonia, pela força e confiança depositada em mim.

Aos Orientadores D.Sc. Maria Elita Martins Duarte, D.Sc. Ana Paula Trindade Rocha e D.Sc. Gilmar Araújo Trindade pela admiração, respeito e sua contribuição em prol da realização deste trabalho.

Ao Professor D.Sc. Gilmar Araújo Trindade, pela competente orientação durante este trabalho. Obrigada pela compreensão, incentivo, dedicação e paciência.

À Professora D.Sc. Líbia de Sousa Conrado Oliveira, pela disponibilidade, pela amizade, cumplicidade e paciência.

À UFCG, pelo apoio e oportunidade para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, pela oportunidade em desenvolver o projeto.

Ao Professor D.Sc. Antônio Gilson, coordenador deste programa.

Aos amigos João Carlos, Regilane Feitosa, Flávia Cristina, Patrícia, Débora, Lívia, Tarsiano, Flávio, Denise, Kaline, Vidina, Aline, Rebeca, Edna, Clenilson, Valério, Josediti, Vitória e Ivonete pelo companheirismo, confiança, pelas suas constantes

palavras de incentivo e pela valiosa amizade que firmamos nos anos em que convivemos juntos, o meu muito obrigado.

A o amigo que ganhei Douglas Leão, que me deu suporte através da amizade ou de ajuda laboratorial para a concretização desta pesquisa, sua firmeza, alegria demonstrada nos momentos de necessidade e angustias vivido. Meus sinceros agradecimentos por sua atenção, compreensão e boa vontade sem medidas.

Aos funcionários da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola e Engenharia Química, Renato, Silas, Dona Salomé, Rildo, Jasiel, Jardes Caiçara, José Lopes, Cajá e Zezinho, pelo apoio e incentivo.

A Shamia Cabral, pela parceira e por todos os momentos de angústia, descontração, incentivo e experiências vividas; tenho certeza de que Deus me angariou com uma grande amiga.

Aos avaliadores da banca, por sua apreciação, disponibilidade de tempo, além de importantes sugestões.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

À Indústria CBB – Biomassa e Bioprocessos, pela doação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904 utilizada nos experimentos

À POLPA IDEAL, indústria instalada em João Pessoa/PB, que colaborou com esta pesquisa uma vez que o resíduo objeto da pesquisa foi adquirido em sua unidade fabril.

Enfim, a todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste projeto, citados e não citados por nome, mas de igual importância.

A todos, minha sincera gratidão.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvii</b>
<b>1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
2.1- A importância da fruticultura tropical.....	4
2.2 - Biomassa e os resíduos do processamento agroindustrial da manga.....	4
2.3 - Manga ( <i>Mangifera indica</i> L.).....	7
2.4 - Amido.....	9
2.4.1 - Características e estruturas dos grânulos de amido.....	10
2.4.2 - Cristalinidade e microscopia eletrônica dos grânulos de amido	15
2.5 - Hidrólise.....	19
2.5.1 - Tipos de hidrólise.....	20
2.5.1.1 - Hidrólise ácida diluída.....	20
2.5.1.2 - Hidrólise ácida concentrada.....	20
2.5.1.3 - Hidrólise enzimática.....	22
2.6 - Fermentação alcoólica.....	23
2.6.1 - Estudos cinéticos de processos fermentativos.....	26
2.6.2 - Leveduras na fermentação alcoólica.....	27
2.6.3 - Bioetanol.....	28
2.7 - Planejamento experimental fatorial.....	30
2.8 - Produção de bioetanol a partir da extração do amido e diversos produtos.....	32
<b>3 - PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....</b>	<b>34</b>
3.1 - Matéria- prima.....	34
3.2 - Processamento da amêndoa da manga.....	35
3.2.1 - Preparo da matéria-prima .....	35
3.2.2 - Extração e purificação do amido.....	35
3.3 - Rendimento da extração da amêndoa da semente da manga.....	38
3.4 - Análises físico-químicas.....	38

3.4.1 - Teor de água.....	39
3.4.2 - Potencial hidrogeniônico (pH).....	39
3.4.3 - Acidez total titulável.....	39
3.4.4 - Resíduo mineral fixo (cinzas).....	40
3.4.5 - Fibras.....	40
3.4.6 - Proteína.....	40
3.4.7 - Amido.....	41
3.4.8 - Lipídeos.....	41
3.4.9 - Açúcares redutores (AR).....	42
3.4.10 - Açúcares redutores totais (ART).....	42
3.5 - Análises morfológicas do amido da manga.....	42
3.5.1 - Análise da morfologia do amido natural e hidrolisado com os catalisadores $H_2SO_4$ e $H_3PO_4$ por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	43
3.5.2 - Determinação do padrão de cristalinidade do amido por difração de raios X (DRX).....	43
3.6 - Planejamento fatorial para o processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga.....	44
3.7 - Hidrólise ácida do amido extraído da amêndoa da semente da manga.....	46
3.7.1 – Rendimento do processo de hidrólise ácida.....	47
3.8 - Caracterização do licor hidrolisado do amido da manga.....	47
3.8.1 - Determinação das concentrações de glicose e do inibidor hidroximetilfurfural (HMF).....	48
3.9 - Estudo do processo fermentativo do licor hidrolisado do amido da manga.....	48
3.9.1 - Obtenção do microrganismo.....	48
3.9.2 - Fermentação do licor hidrolisado.....	48
3.10 - Determinação dos parâmetros fermentativos.....	49
3.10.1 - Fator de conversão de glicose em etanol ( $Y_{P/S}$ ).....	49
3.10.2 - Produtividade volumétrica em etanol ( $Q_P$ ).....	50
3.10.3 - Eficiência de conversão $\eta$ (%).....	50
3.10.4 - Porcentagem de consumo de glicose ( $Y\%$ ).....	51
3.11 - Metodologia de hidrólise ácida para produção de	



etanol.....	51
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
4.1- Caracterização físico-química da amêndoa da semente da manga.....	53
4.2 - Caracterização físico-química do amido extraído da amêndoa da semente da manga.....	54
4.3 - Rendimento do processo de extração do amido da amêndoa da semente da manga.....	56
4.4 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do amido natural e hidrolisado.....	58
4.5 - Análise da cristalinidade do amido da manga por difração de raios X (DRX).....	62
4.6 - Estudo da otimização da hidrólise ácida com os dois catalisadores H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	64
4.7 - Considerações gerais do planejamento experimental comparando os ácidos H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	84
4.8 - Rendimento da hidrólise ácida do amido da manga.....	85
4.9 - Estudo cinético da fermentação alcoólica dos licores hidrolisados com o ácido sulfúrico e fosfórico para a produção de etanol.....	86
<b>5 - CONCLUSÃO.....</b>	<b>91</b>
<b>6 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>93</b>
<b>7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>94</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b> - Árvore da Mangueira.....	8
<b>Figura 2.2</b> - Semente e amêndoa da manga.....	9
<b>Figura 2.3</b> - Representação do grânulo de amido.....	11
<b>Figura 2.4</b> - (A) Classificação das cadeias da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo.....	12
<b>Figura 2.5</b> - Estrutura linear da amilose.....	14
<b>Figura 2.6</b> - Estrutura ramificada da amilopectina.....	14
<b>Figura 2.7</b> - Diagrama de difração de raios X dos amidos de cristalinidade tipo A, B e C.....	16
<b>Figura 2.8</b> - Micrografias dos grânulos de alguns tipos de amido. (A) Manga; (B) Mandioca e (C) Milho.....	18
<b>Figura 2.9</b> - Reações de hidrólise.....	19
<b>Figura 2.10</b> - Curvas de ajuste dos resultados de um experimento inventado de fermentação.....	26
<b>Figura 2.11</b> - Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
<b>Figura 2.12</b> - Produção de etanol no Brasil safra 2012/13.....	30
<b>Figura 3.1</b> - Amêndoa da semente da manga.....	34
<b>Figura 3.2</b> - Fluxograma do processo de extração do amido da amêndoa da semente da manga.....	36
<b>Figura 3.3</b> - Amido da amêndoa da semente da manga.....	37
<b>Figura 3.4</b> - (A) Banho de óleo com aquecimento controlado sob agitação; (B) Reator.....	46
<b>Figura 3.5</b> - Licores hidrolisados pelos catalisadores: (a) $H_2SO_4$ e (b) $H_3PO_4$ .....	49
<b>Figura 3.6</b> - Fluxograma apresentado cada uma das etapas do processamento de hidrólise ácida para a produção de etanol.....	52
<b>Figura 4.1</b> - Imagens das partículas resultantes do amido natural.....	59
<b>Figura 4.2</b> - Imagens das partículas resultantes do amido hidrolisado com $H_2SO_4$ .....	60
<b>Figura 4.3</b> - Imagens das partículas resultantes do amido hidrolisado com $H_3PO_4$ .....	61
<b>Figura 4.4</b> - Difratoograma de raios X do amido natural da amêndoa da semente da manga.....	64
<b>Figura 4.5</b> - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes	

sobre a concentração de glicose no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	67
<b>Figura 4.6</b> - Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de glicose no licor hidrolisado com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	68
<b>Figura 4.7</b> - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de glicose com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	69
<b>Figura 4.8</b> - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de HMF no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	72
<b>Figura 4.9</b> - Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de HMF no licor hidrolisado com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .	73
<b>Figura 4.10</b> - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de HMF com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	
<b>Figura 4.11</b> - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	78
<b>Figura 4.12</b> - Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de glicose no licor hidrolisado do amido da manga com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	79
<b>Figura 4.13</b> - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de glicose com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	80
<b>Figura 4.14</b> - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de HMF no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	82
<b>Figura 4.15</b> - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de HMF com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	83
<b>Figura 4.16</b> - Perfil cinético obtido para fermentação alcoólica do hidrolisado utilizando-se a levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> industrial cepa Y-904 com o catalisador H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	86
<b>Figura 4.17</b> - Perfil cinético obtido para fermentação alcoólica do hidrolisado utilizando-se a levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> industrial cepa Y-904 com o catalisador H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	87

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1</b> - Níveis em valores reais para os fatores investigados no Planejamento $2^3$ com três repetições no ponto central.....	45
<b>Tabela 3.2</b> - Matriz de planejamento fatorial do tipo $2^3$ com três repetições no ponto central utilizada na hidrólise.....	45
<b>Tabela 4.1</b> - Composição físico-química da amêndoa da semente da manga.....	53
<b>Tabela 4.2</b> - Composição físico-química do amido extraído da manga.....	55
<b>Tabela 4.3</b> - Valores dos rendimentos práticos, rendimentos em termos de matéria seca e desvio padrão nos processos de verificados durante a secagem do amido da manga, a temperatura de 50 °C.....	57
<b>Tabela 4.4</b> - Grau de cristalinidade calculado para o amido natural da manga.....	63
<b>Tabela 4.5</b> - Matriz de planejamento experimental com as variáveis de estudo e das respostas obtidas no processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga para o $H_2SO_4$ .....	65
<b>Tabela 4.6</b> - Coeficiente de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado com $H_2SO_4$ .....	66
<b>Tabela 4.7</b> - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado com $H_2SO_4$ .....	68
<b>Tabela 4.8</b> - Coeficientes de regressão para a concentração de hidrometilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com $H_2SO_4$ .....	71
<b>Tabela 4.9</b> - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com $H_2SO_4$ .....	72
<b>Tabela 4.10</b> - Matriz de planejamento experimental com as variáveis de estudo e das respostas obtidas no processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga para o $H_3PO_4$ .....	76
<b>Tabela 4.11</b> - Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado com $H_3PO_4$ .....	77
<b>Tabela 4.12</b> - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado com $H_3PO_4$ .....	78
<b>Tabela 4.13</b> - Coeficientes de regressão para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com $H_3PO_4$ .....	81
<b>Tabela 4.14</b> - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com $H_3PO_4$ .....	83

<b>Tabela 4.15-</b> Dados cinéticos da fermentação alcóolica dos licores hidrolisados pela levedura <i>saccharomyces cerevisia</i> e industrial cepa Y-904.....	88
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celcius
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
$a_w$	Atividade de água
AR	Açúcares Redutores
ART	Açúcares Redutores Totais
AS	Sulfato de amônio (g/L)
b.s.	Base seca
b.u.	Base úmida
°Brix	Sólidos solúveis totais
$C_a$	Teor de matéria seca do amido obtido após a secagem
$C_i$	Teor de matéria seca da amêndoa da semente da manga triturada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DRX	Difração de Raios X
FC	Fator de concentração
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
GL	Graus de liberdade
$H_2SO_4$	Ácido sulfúrico
$H_3PO_4$	Ácido fosfórico
HCL	Ácido clorídrico
HMF	Hidroximetilfurfural
IBGE	Instituto Brasileiro de geografia estatística
IC	Índice de Cristalinidade
L	Litro
LAPPA	Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas
$m_a$	Massa de amido obtido após a secagem
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MCM-41	Material cristalino móbil – composição da matéria nº41
MQ	Média quadrática do desvio
Mg	Miligrama

MG	Média geral
min	Minuto
$m_{it}$	Massa da amêndoa da semente da manga triturada
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NaOH	Hidróxido de sódio
PB	Paraíba
$R^2$	Coefficientes de determinação
$R_{MS}$	Rendimento em termos de matéria seca
$R_p$	Rendimento prático
rpm	Rotações por minuto
S	Concentração do substrato limitante
SQ	Soma dos quadrados
t	tempo
T	Temperatura
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
Y	Porcentagem de consumo de glicose (%)
$Y_{(P/S)}$	Fator de conversão de glicose em etanol (%)
$\eta$	Eficiência de conversão (%)
$Q_P$	Produtividade volumétrica (g/L.h)

GOMES, Wolia Costa, *Produção de bioetanol a partir da amêndoa da semente da manga (Mangifera indica L.)*, Campina Grande: Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande, 2014. 109 p.

## RESUMO

É cada vez maior a necessidade de desenvolvimento de tecnologias que visem à produção de energias limpas, como os bicomcombustíveis (etanol) a partir de materiais amiláceos, os quais são ricos em açúcares fermentescíveis. Nos últimos anos vem-se observando no mundo um grande interesse pela utilização de resíduos agroindustriais na obtenção de combustíveis renováveis, tais como o bioetanol. Desta forma, desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de estudar e determinar as condições otimizadas para a produção de bioetanol utilizando-se o processo de hidrólise ácida do amido extraído de amêndoas retiradas das sementes da manga (*Mangifera indica L.*) seguida de fermentação submersa por *Saccharomyces cerevisiae*. O amido extraído da semente da manga foi removido por decantação, em temperatura abaixo de 10 °C, por 72h, seco a 50 °C, peneirado (65mesh) e só então foi caracterizado. O rendimento prático apresentado no processo de extração, foi de 14,86% e o rendimento em massa seca foi de 3,25%, com alta pureza. A observação em microscopia eletrônica de varredura mostrou grânulos de amido natural da manga com formato elipsoide e oval, com dimensões de 19,6 µm de comprimento e 10,9 µm de largura. O padrão de cristalinidade mostrado por difratometria de raios X, foi do tipo A, típico de cereais e um grau de cristalinidade de 19,4%; em seguida, o amido foi submetido a hidrólise ácida utilizando-se, como catalisador, os ácidos sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) em diferentes concentrações de ácidos (1, 3 e 5%), razão 1:8, diferentes temperaturas (80, 100 e 120 °C) por 30, 60 e 90 minutos de reação. O amido, com base na sua caracterização química e físico-química com o valor de 60,72%, tem fonte promissora de glicose para a hidrólise ácida visando à obtenção de bioetanol. No processo de hidrólise ácida para os dois tipos de catalisadores os resultados das melhores concentrações de glicose são obtidos a 120 °C, concentração de ácido de 5% e razão mássica de amido de 1:8, com o rendimento na hidrólise para o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de (89,4%) e para o (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) de (75,5%) processo este eficaz principalmente na remoção dos inibidores; já a fermentação desses hidrolisados foi igualmente satisfatória para as duas condições avaliadas, com o fator de conversão de glicose em etanol de 51% para H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 47% para H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Os ensaios fermentativos dos hidrolisados utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904, em becker com 500 mL do meio, agitados a 170 rpm, 32 °C de 0 acompanhados até 12h de fermentação. A produtividade e a eficiência do processo de obtenção de etanol a partir do amido extraído da amêndoa da semente da manga, o valor de 0,042 g/L.h de etanol e 100% para o licor hidrolisado com o ácido sulfúrico. Desta forma, foi demonstrado um excelente potencial do processo de produção de etanol a partir do amido extraído da amêndoa da semente da manga utilizando o catalisador H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Palavras-chave:** amido, hidrólise ácida, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentação.



GOMES, Wolia Costa, *Produção de bioetanol a partir da amêndoa da semente da manga (Mangifera indica L.)*, Campina Grande: Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande, 2014. 109 p.

#### ABSTRACT

It is a growing need to develop technologies aimed at producing clean energy such as biofuels (ethanol) from starchy materials, which are rich in fermentable sugars. In recent years it comes to observing the world a great interest in the use of agro-industrial waste in getting renewable fuels, such as bioethanol. Thus, this work was developed with the aim of studying and determine optimized conditions for the production of bioethanol using the process of acid hydrolysis of starch extracted from seed kernels removed from the sleeve (*Mangifera indica L.*) followed by fermentation submerged by *Saccharomyces cerevisiae*. The starch extracted from seed of the sleeve was removed by decantation, at temperatures below 10 °C for 72 h, dried at 50 °C, sieved (65mesh) and only then was characterized. The practical performance presented extraction processes, was 14.86% and the yield of dry matter was 3.25%, with high purity. The observation scanning electron microscopy showed starch granules natural mango with ellipsoid and oval shape, with dimensions of 19.6 mm in length and 10.9 mm in width. The pattern shown crystallinity by X ray diffractometry, was from the type A typical grains and a degree of crystallinity of 19.4%; Then, the starch was subjected to acid hydrolysis using, as a catalyst, sulfuric acid ( $H_2SO_4$ ), and phosphoric acid ( $H_3PO_4$ ) at different acid concentrations (1, 3 and 5), ratio 1: 8, different temperatures (80, 100, 120 °C) for 30, 60 and 90 minutes of reaction. The starch based on its chemical and physical-chemical with the value of 60.72% characterization has promising source of glucose to acid hydrolysis aimed at obtaining bioethanol. In the process of acid hydrolysis for both types catalysts the best results are obtained glucose concentrations at 120 ° C, acid concentration of 5% and the starch weight ratio of 1:8, with the yield for the hydrolysis  $H_2SO_4$  (89.4%) and the ( $H_3PO_4$ ) of (75.5%) process mainly this effective in removing inhibitors; longer fermentation these hydrolysates was also satisfactory for both conditions evaluated, with factor conversion of glucose to ethanol from 51% to 47%  $H_2SO_4$  and  $H_3PO_4$  for. The fermentation tests of the hydrolysates using industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y-904 strain in beaker with 500 mL of medium, shaken at 170 rpm, 32 °C 0 followed by 12h of fermentation. The productivity and efficiency of the process of obtaining ethanol from starch extracted from seed kernel of the sleeve, the value of 0.042 g / Lh of ethanol and 100% for the hydrolyzate liquor with sulfuric acid. Thus, it was demonstrated excellent potential of the ethanol production process from starch extracted from the seed kernel of mango using  $H_2SO_4$  catalyst.

**Keywords:** starch, acid hydrolysis, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation.

## 1. INTRODUÇÃO

A manga (*Mangifera indica* L.) se encontra entre as três frutas tropicais mais apreciadas no mundo devido ao seu fino sabor e aroma, sua atrativa coloração e seu valor nutritivo razão pela qual vem apresentando as maiores taxas de crescimento entre as frutas exportadas pelo Brasil (ARAÚJO, 2004). Do ponto de vista econômico, é uma das principais frutas que têm contribuído para a pauta das exportações brasileiras de frutas frescas, nos últimos anos. Em 2008 foram destinadas, ao mercado internacional, em torno de 95.387,2 toneladas dessa fruta, gerando ao país dividendos de aproximadamente US\$ 89,5 milhões (IBRAF, 2009).

No ano de 2009 a produção brasileira foi de 1.272.184 toneladas. O Nordeste foi responsável por cerca de 73% da produção nacional, com destaque para os estados de Pernambuco e Bahia, que respondem por 61,5% do total (IBGE, 2010). Além de ser uma das frutas tropicais mais importantes do mundo, em termos de produção e aceitação dos consumidores, a manga constitui excelente fonte de antioxidantes, ácido ascórbico e compostos fenólicos (RIBEIRO et al., 2009).

A fruticultura brasileira tem despertado crescentes investimentos, motivando negociações e impulsionando a produção, além do aumento no consumo de frutas frescas e processadas, como suco, néctar, doces, geleias, fruta minimamente processada (MAIA et al, 2007). Nesses processos de industrialização da manga são produzidos resíduos que devem ser aproveitados ou destinados a um tratamento ecologicamente correto.

A geração de resíduos está associada aos materiais que, gerados ao longo da cadeia agroindustrial, não possuem valor econômico momentâneo (ROSA et. al., 2011).

Os resíduos industriais e agroindustriais necessitam, depois de gerados, de destino adequado pois não podem ser acumulados indefinidamente no local em que foram produzidos, de vez que podem criar potenciais problemas ambientais e representar perdas de matéria-prima e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição (PELIZER et al., 2007).

Nos últimos anos especial atenção lhes vem sendo dada para minimizar ou reaproveitar os resíduos sólidos gerados nos diferentes processos industriais. Os resíduos provenientes da indústria de alimentos envolvem quantidades significativas de semente, casca e outros resíduos que, normalmente, são descartados sem tratamento algum ou qualquer outro cuidado, favorecendo danos ao meio-ambiente. Esses materiais

são fontes muito ricas de matéria orgânica e servem como fonte de proteínas, enzimas e óleos essenciais, passíveis de recuperação e aproveitamento.

O processamento da manga é uma atividade em expansão e produz grande volume de resíduos. Assim, estudos são imprescindíveis para se avaliar a potencialidade de uso desses resíduos constituídos por cascas e caroços cujo volume é de aproximadamente 40% do total de fruta processada (AZEVEDO, 2008).

As mudanças climáticas e a elevação do preço do barril de petróleo, somadas às necessidades de produção energética motivam a produção de combustíveis a partir de fontes renováveis. Entretanto, a produção de biocombustíveis utiliza substratos oriundos de culturas alimentares, a qual proporciona polêmica entre a destinação dessa biomassa vegetal para a alimentação ou para a produção de biocombustível, sendo alternativas as fontes alimentícias e o cultivo de vegetais em áreas inóspitas além de resíduos agroindustriais e urbanos, como matérias-primas na produção de etanol (GONÇALVES et al., 2011).

O etanol voltou a ocupar lugar de destaque no cenário energético do país e do mundo. No Brasil, o álcool renasceu com o surgimento dos carros bicombustíveis, além das várias manifestações de governos e empresas que mostraram o potencial de mercado e da tecnologia de produção de etanol; internamente um dos desafios é aumentar a oferta de álcool combustível e buscar novas fontes e/ou métodos para a produção de álcool (SANTANA et al., 2010).

A partir desta biomassa a produção de bioetanol se torna um processo bastante atraente pois, além de permitir a criação de mais uma fonte alternativa e renovável de energia, contribui com a redução de resíduos no meio ambiente, gerando a energia e podendo agregar valor à matriz produtiva do processamento e ao sistema industrial (SOUZA et al., 2012).

Sabe-se que as sementes da manga são resíduos da indústria de processamento e que essas sementes têm, como parte de seus componentes (amido) um quantitativo expressivo de açúcares que podem ser fermentados e transformados em bioetanol.

O presente estudo teve como objetivo geral estudar a produção de bioetanol a partir do amido extraído da amêndoa da semente da manga utilizando a hidrólise ácida e, como agente microbiano para a etapa fermentativa, o *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904. Os objetivos específicos foram:

- Caracterizar a amêndoa das sementes da manga e o extrato amiláceo pelas análises (teor de água, pH, AR, ART, acidez total titulável, resíduo mineral fixo (cinzas), fibras, proteínas, amido e lipídios);
- Extrair da amêndoa da semente da manga o amido natural e por hidrólise, utilizando-se como catalisador, os ácidos sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) e fosfórico ( $H_3PO_4$ ) e determinar as condições ótimas para a hidrólise ácida;
- Caracterizar fisico-quimicamente o amido natural obtido e o amido pós hidrólise residual por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raios X (DRX);
- Estudar a cinética da fermentação alcoólica do licor hidrolisado no ponto otimizado para a produção de etanol, pelo cálculo dos parâmetros cinéticos da fermentação ( $Y_{P/S}$ ,  $\eta$ ,  $Y$ ,  $Q_P$ );

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. A importância da fruticultura tropical**

O Brasil é o 3º maior produtor de frutas do mundo, depois da “China e Índia, sendo esta produção prioritariamente destinada a suprir o mercado interno. Do total produzido 47% são consumidos “*in natura*” e apenas 2% são direcionados para a exportação e os 51% do total produzido se destinam à agroindústria (FAO, 2010).

O Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF) planeja, para o mercado externo e segundo seu presidente, novas estratégias de marketing para crescer no conceito de “*market share*” sobre outras frutas. O processamento de frutas também precisa ser fomentado haja vista que evitaria, em parte, as perdas atuais, que podem chegar, em alguns, casos, a até 25 a 30% da produção (SIMARELLI, 2006).

Segundo Corrêa (2008) a região Sudeste continua sendo o maior produtor de frutas frescas do Brasil; no Nordeste, a manga é cultivada em todos os estados, em particular nas áreas irrigadas da região semiárida que apresentam excelentes condições para o desenvolvimento da cultura e obtenção de elevada produtividade e qualidade de frutos, sendo o Vale do São Francisco responsável por mais de 90% das exportações do país (MELO et al., 2009).

Para as diversas regiões do Brasil a importância econômica das fruteiras não pode ser mensurada apenas por dados estatísticos; esta atividade é uma das principais geradoras de renda, de empregos e desenvolvimento regional. No país existem as várias condições edafoclimáticas que possibilitam o cultivo de diferentes fruteiras com o objetivo de diversificar sua produção (RUFINO, 2008).

### **2.2. Biomassa e os resíduos do processamento agroindustrial da manga**

Em virtude dos compromissos mais sólidos assumidos com a questão ambiental desde a assinatura do Protocolo de Quioto e em função de ser o petróleo a principal fonte de energia utilizada atualmente, um combustível fóssil e não renovável uma das maiores preocupações do mundo tem sido o suprimento de energia nas próximas décadas razão por que fizeram renascer a atenção quanto às fontes alternativas de energia (SOUZA et al., 2010).

Diversas são as fontes alternativas de energia que, embora não possam substituir o petróleo em sua totalidade, podem contribuir para diminuir o consumo. A geração de energia a partir de biomassa tem sido objeto de vários estudos (QUADROS et al., 2010). Qualquer matéria-prima orgânica passível de ser transformada em energia pode ser classificada como biomassa e, de acordo com sua origem, pode ser florestal (madeira), agrícola (soja, arroz e cana-de-açúcar, entre outras) ou oriunda de rejeitos urbanos ou industriais, sólidos ou líquidos (ANEEL, 2008).

A utilização da biomassa vegetal como fonte de matéria-prima para a produção de novos produtos vem despertando grande interesse, sobretudo por sua abundância e seu caráter renovável (YU et al., 2008). Lima e Marcellini (2006) reportaram que os resíduos agrícolas constituem a maior parte da produção de resíduos de biomassa e são fontes de energia significativas, tanto para o consumo doméstico como para o industrial, além de utilizados como combustível mas grande quantidade é queimada no campo, promovendo problemas ambientais.

Segundo Genovese (2006), a biomassa possui, no Brasil, como fonte de energia, vantagens significativas, sobretudo por diversificar a matriz energética brasileira face à dependência externa do país com relação aos combustíveis fósseis (petróleo e gás natural) além de contribuir para seu desenvolvimento sustentável em particular com a utilização de mão-de-obra local, principalmente na zona rural, podendo colaborar na garantia do suprimento de energia a comunidades isoladas em especial nas regiões Norte e Centro-Oeste do país e apresenta vantagens ambientais quando comparada aos combustíveis fósseis, sobretudo em termos de emissão de gases do efeito estufa; por outro lado, existem aspectos fundamentais e conjunturais significativos que se relacionam com a biomassa como, por exemplo, a necessidade e a oportunidade de utilização eficiente da enorme quantidade de resíduos agrícolas disponíveis internamente correspondendo a um elevado potencial de geração de energia.

A palavra “resíduo” é definida como a sobra da matéria-prima não aproveitada para a elaboração do produto alimentício sendo esta mesma sobra, quando transformada industrialmente, chamada subproduto (EVANGELISTA, 2008).

O Brasil produz 140 milhões de toneladas de alimentos por ano; é um dos maiores exportadores de produtos agrícolas do mundo e, ao mesmo tempo, enfrenta um dos maiores problemas com o desperdício de alimentos (GONDIM et al., 2005). A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) estima que o

País jogue no lixo, anualmente, 26,3 milhões de toneladas de comida (ESTECHE, 2011).

O processamento industrial de frutas nos países tropicais é intenso gerando, além dos produtos principais (como sucos, óleos essenciais, aromas, sorvetes, geleias e polpas), elevadas quantidades de resíduos que podem chegar a 50% da matéria-prima. Esse descarte representa um problema crescente devido ao aumento de sua produção. A Região Nordeste brasileira é uma produtora relevante de espécies frutíferas tropicais figurando entre as principais abacaxi, abacate, banana, caju, coco, mamão, manga, maracujá, uva, acerola e goiaba (LOUSADA JÚNIOR et al., 2006).

Sempre que possível, o resíduo final deverá constituir-se em matéria-prima para um novo processo, formando uma segunda transformação (FERNANDES, 2006). A crescente preocupação com possíveis impactos ambientais e o elevado índice de perdas e desperdícios gerados pelas indústrias de alimentos têm levado pesquisadores a estudar alternativas práticas de aproveitamento e a utilização dos resíduos industriais que serve como base para a formulação de novos produtos visando ao consumo humano (LIMA e MARCELLINI, 2006). Dentre esses resíduos as cascas e as sementes têm sido destaque em alguns países na intenção de avaliarem seus constituintes para a utilização adequada (ODUNSI, 2005). No Brasil, a composição nutricional de partes tradicionalmente não comestíveis de matérias-primas, como cascas e sementes, é escassa (MARQUES et al., 2010).

A utilização da biomassa como fonte de energia renovável e o incentivo tecnológico e científico nesta área são imprescindíveis para o desenvolvimento de empresas locais e para o estabelecimento de uma fonte de rendimento alternativa para os agricultores, nas diversas regiões brasileiras. Uma dessas fontes de biomassa que vêm sendo objeto de pesquisas, é o amido (URGUIAGA et al., 2005).

O desenvolvimento biotecnológico direcionado ao aproveitamento de um resíduo da indústria, proporcionará condições de diversificação produtiva com beneficiamento e aplicação do amido extraído do endocarpo da manga nas indústrias alimentícias buscando-se simplificação tecnológica e disponibilizando novas fontes alimentícias para a população e absorção deste valioso insumo atualmente descartado (CAVALCANTI et al., 2011); no entanto, existem outras espécies atualmente pouco exploradas e subaproveitadas, sendo uma o fruto da mangueira.

### 2.3. Manga (*Mangifera indica* L.)

A manga é uma fruta tropical pertencente à família botânica Anacardiaceae, na qual se incluem os gêneros *Mangifera*, *Anacardium*, *Pistachio* e *Spondias*. No gênero *Mangifera* há relatos de 69 espécies sendo a *Mangifera indica* a de maior importância, apesar de outras espécies produzirem frutos comestíveis (ROZANE et al., 2004).

A fruta é originária do sudeste da Ásia e do Himalaia, na parte oriental da Índia, produzindo um dos frutos tropicais de maior expressão econômica nos mercados nacional e internacional, destacando-se por seu sabor e aroma agradáveis, aliados ao seu valor nutritivo, caracterizada como fruta polposa, de tamanho variável (SOUZA et al., 2010).

As variedades da mangueira se dividem em dois grupos distintos relacionados à sua origem: grupo indiano (frutos monoembriônicos, fortemente aromáticos, de coloração atraente e susceptível a antracnose) e o grupo indochinês (frutos poliembriônicos, com caroços longos e achatados, poucos aromáticos, em geral amarelados e medianamente resistentes à antracnose). As sementes também variam em forma e tamanho podendo ser monoembriônicas e poliembriônicas (SILVA et al., 2009). No Brasil há cerca de 500 variedades de manga; as mais conhecidas são a manga Haden, manga Rosa, manga Espada, manga Tommy Atkins e manga Ubá.

De acordo com Lorenzi et al. (2006), as mangueiras são grandes árvores que apresentam copa com grande densidade de folhas e pode variar de tamanho em função da variedade, da fertilidade do solo, da idade e do porta-enxerto, atingindo até 35 – 40m de altura (Figura 2.1) com o raio de sua copa próximo de 10 m (BRAGA, 2001). Suas folhas são perenes, com 15 – 35 cm de comprimento e 6 – 16 cm de largura, são grossas, coriáceas, inteiras, lanceoladas, verde-escuro na parte superior; a nervura principal e as secundárias são salientes e a coloração amarela-esverdeado.

A mangueira cresce bem em qualquer solo desde que não seja úmido ou encharcado, alcalino, rochoso extremamente raso ou demasiado pobre; prefere solos profundos, moderadamente férteis e bem drenados; prospera igualmente bem em solos leves e pesados se as outras condições forem favoráveis.



**Figura 2.1-** Árvore da Mangueira



(Fonte: [www.nybg.org](http://www.nybg.org))

O fruto da mangueira é constituído por casca (exocarpo), polpa comestível (mesocarpo) e semente (endocarpo), com fibras mais ou menos abundantes que se adentram no mesmo caroço e na polpa. A casca é lisa; pode ser de cor variável do verde ao amarelo, ao alaranjado e ao vermelho, sendo mais marcada a alteração para vermelho no lado exposto ao sol (MARANCA, 1978).

No interior do endocarpo encontra-se a amêndoa que é envolvida por dois envelopes delgados e papiráceos, fibrosos e apresentam diferentes formas e tamanhos, de acordo com a variedade (PHILIPPI, 2003). Um deles, conhecido como testa, possui coloração branco-prateado e se apresenta aderente e fixo na face interna do endocarpo; o outro, um tegme amarronzado, envolve a amêndoa.

**Figura 2.2-** Semente e amêndoa da manga



(Fonte: [www.bonsaimilenar.com](http://www.bonsaimilenar.com))

## 2.4. Amido

O amido é um polissacarídeo de reserva mais importante em plantas superiores e o mais abundante na natureza, presente nos tecidos sob a forma de grânulos intracelulares. As cinco principais espécies consideradas fontes de amido comercial são: o milho, trigo, arroz, batata e a mandioca (LEONEL et al., 2002).

O amido é formado nos plastídios das plantas superiores; é sintetizado nas folhas, nas quais serve como carboidrato temporário de reserva acumulando-se nos cloroplastos durante o dia e servindo como fonte principal para a síntese de sacarose citosólica durante a noite. Esta sacarose é então transportada para os órgãos de armazenamento das plantas, como sementes, frutas, tubérculos e raízes (VANDEPUTTE e DELCOUR, 2004; TESTER et al., 2004).

Encontradas em sementes, frutos, tubérculos, raízes e em plantas medicinais, a exemplo das espécies de *Fritillaria* utilizadas na indústria farmacêutica, as fontes potenciais mais importantes de amido são os grãos de cereais (40-90%), leguminosas (30-40%), tubérculos (65-85%) e frutas imaturas ou verdes (40-80%) (SHUJUN et al., 2005).

De acordo com as Normas Técnicas que normatizam produtos amiláceos no Brasil, os produtos são classificados em amidos ou féculas (BRASIL, 1978); amido é o produto amiláceo extraído das partes aéreas comestíveis dos vegetais como, por exemplo, sementes, fruto, etc; fécula é o produto amiláceo extraído das partes subterrâneas comestíveis dos vegetais (tubérculos, raízes e rizomas). O produto deverá

ser designado amido ou fécula, seguido do nome do vegetal de origem, tais como amido de milho, fécula de batata (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Amidos nativos têm sido usados desde os tempos antigos para preparar diferentes produtos. Eles são empregados em alimentos devido às propriedades espessantes e geleificantes. Também são bons reguladores e estabilizadores de textura (ADEBOWALE et al., 2005).

Silva et al., (2013) obtiveram, a partir da extração do amido da amêndoa da manga Tommy Atkins, um espessante em bebida láctea em que os resultados demonstraram rendimento da extração do amido de 59,82% em peso de amêndoas apresentando formato do grânulo de amido irregular, entre esféricos a elipsoidais, com tamanhos diferenciados. A bebida láctea elaborada mostrou-se viável à comercialização tendo em vista apresentar boas características sensoriais e físico-químicas utilizando 0,3% de amido como espessante; enfim, o amido apresentou características desejáveis podendo ser largamente utilizado.

Pesquisas atuais não só têm referendado e aprofundado esses conhecimentos como permitiram a descoberta de novas propriedades, tais como: condutibilidade térmica e elétrica, cristalinidade e polaridade, que possibilitam a melhor utilização do amido.

O amido nativo possui quatro níveis de estrutura: química, conformacional, cristalina e microscópica. Cada nível de estrutura está condicionado pelo precedente. O tamanho e a forma dos grânulos de amido são característicos da planta de origem (CEREDA, 2001).

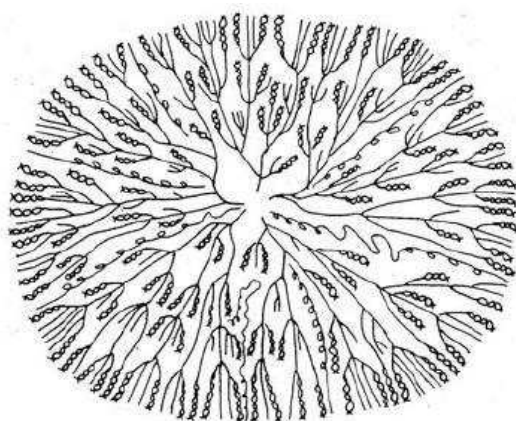
#### **2.4.1. Características e estrutura dos grânulos de amido**

Os grânulos de amido apresentam estrutura semicristalina composta por moléculas de amilose e amilopectina, além de largas aplicações na indústria de alimentos, têxtil, farmacêutica, de papel e, mais recentemente, na indústria de polímeros sintéticos (WALTER, SILVA e EMANUELLI, 2005); entretanto, características químicas, como a afinidade por água, limitam seu uso. Em geral, o amido possui teor de água que varia de aproximadamente 10-12% (cereais) e de 14-18% (algumas raízes e tubérculos).

Os diâmetros dos grânulos de amido geralmente variam entre menos de 1  $\mu\text{m}$  a mais do que 100  $\mu\text{m}$  e os formatos podem ser regulares (por exemplo: esférico, ovoide ou angular) ou bastante irregulares (YONEMOTO, 2006).

O amido pode variar qualitativa e quantitativamente, tal como suas propriedades físico-químicas e funcionais; o fato da forma e o tamanho dos grânulos de amido serem função da origem botânica, de algumas das suas propriedades, do estágio de maturação e da variedade, pode explicar a ocorrência de diferentes tamanhos e formas de amidos provenientes de mesma espécie (KAUR et al., 2004). Segundo Pérez e Bertoft (2010), o amido nas plantas superiores é organizado em uma estrutura macroscópica na qual camadas de amilose e amilopectinas são depositadas radialmente em torno de um ponto central denominado hilo que, por sua vez, é encontrado no centro da estrutura granular do amido, considerado o ponto original de crescimento do grânulo (Figura 2.3.).

**Figura 2.3** - Representação do grânulo de amido



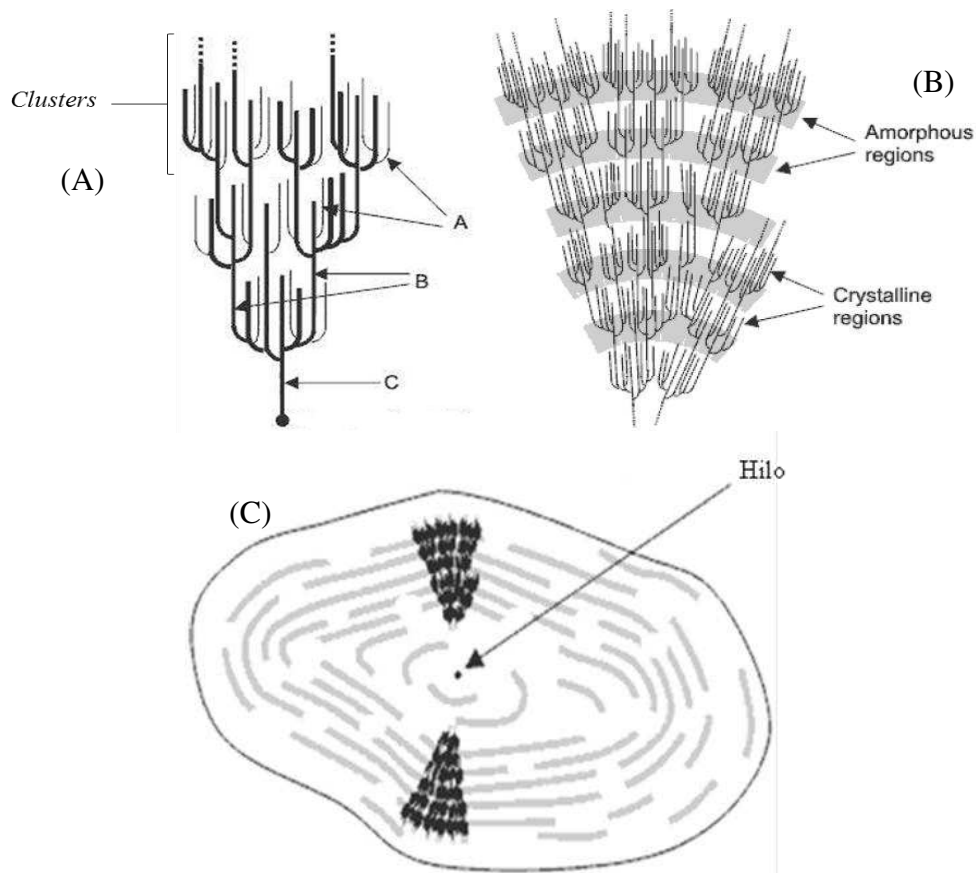
Fonte: BeMiller e Wistler (2009)

Quando vistos através de luz polarizada, todos os grânulos de amido sem modificações aparecem claros enquanto exibem uma “Cruz de Malta” escura (Figura 2.4. A). Este fenômeno é conhecido como “birrefringência” e é um indicador do grau de organização dos grânulos (THOMAS e ATWELL, 1999). A decomposição continuada do hilo faz crescer a estrutura e dá origem ao semicristalino. Esta propriedade de birrefringência é devida ao alto grau de orientação molecular interna, não tendo qualquer relação com a forma cristalina e particular (LAJOLO e MENEZES, 2006).

Os grânulos de amido apresentam regiões cristalinas e amorfas, o que está relacionado à presença de macromoléculas ramificadas e lineares. A amilopectina de

diferentes fontes apresenta variações, em termos de comprimento, às ramificações resultando em grandes variações das propriedades funcionais. As cadeias de amilopectina estão organizadas de maneiras diferentes sugerindo uma classificação de cadeias A, B e C (Figura 2.4. A e B).

**Figura 2.4** - (A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipos A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo



Fonte: Spier, 2010

A cadeia tipo A da amilopectina é composta por uma cadeia não redutora de glicoses unidas por ligações alfa (1-4) sem ramificações, sendo unida a uma cadeia tipo B, por meio de ligações alfa (1-6). As cadeias do tipo B são compostas por glicoses ligadas em alfa (1-4) e alfa (1-6), contendo várias cadeias tipo A, além de poderem conter cadeias tipo B, unidas por meio de um grupo hidroxila primário. A cadeia C é

única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações alfa (1-4) e alfa (1-6), com grupamento terminal redutor (LAJOLO e MENEZES, 2006).

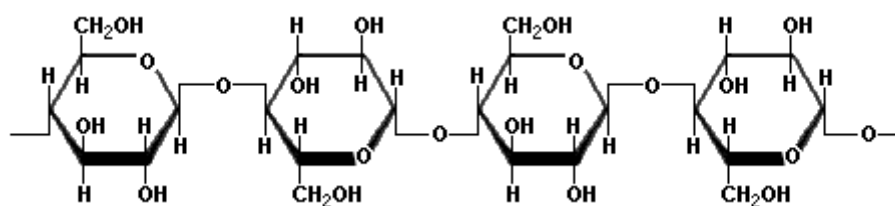
Quimicamente, o amido e a fécula são constituídos de glicose, unidos por ligações na forma  $\alpha$ -glicosídicas. As ligações do tipo  $\alpha$  são mais facilmente hidrolisadas do que as do tipo  $\beta$ , o que torna o uso do amido potencialmente mais interessante como substrato de processos biossintéticos. Alguns ácidos inorgânicos ( $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$ ,  $HNO_3$  e  $HCl$ ) são utilizados no processo de hidrólise de amido o qual se baseia no fato de que as ligações glicosídicas são estáveis em condições alcalinas podendo, no entanto, ser hidrolisadas em condições ácidas (SURMELY et al., 2003). Isto devido ao ataque dos íons  $H_3O^+$  provenientes dos ácidos aos átomos de oxigênio das ligações glicosídicas (JAYACODY e HOOVER, 2002).

Durante o tratamento ácido a amilose é preferencialmente degradada e de forma mais rápida que a amilopectina, fato este confirmado por Jayacody e Hoover (2002) que mencionaram que a hidrólise do amido ocorre em duas etapas em que na primeira a velocidade é inicialmente rápida devido à hidrólise das regiões amorfas do grânulo e em seguida o processo ocorre mais lentamente em virtude da hidrólise das regiões cristalinas.

Do ponto de vista estrutural o amido é formado por polímeros, dentre os quais predomina a amilose (Figura 2.5), formada por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, que lhe dão configuração retilínea e por amilopectina, um polímero de maior peso molar, cujas moléculas de glicose em ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 proporcionam configuração espacial altamente ramificada (Figura 2.6). A grande maioria dos amidos contém de 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina; esta razão se altera conforme as diversas fontes botânicas, cultivares e, ainda, condições de cultivo quando comparadas às mesmas cultivares (CORDENUNSI et al., 2006).

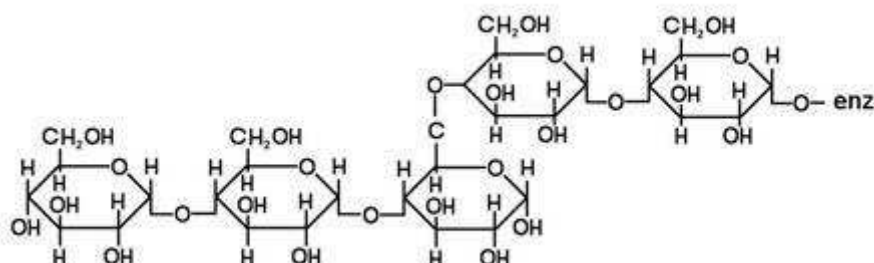
Na literatura são reportados diversos valores para teores de amilose em amidos de diferentes origens botânicas. Weber et al. (2009) caracterizaram amidos de três diferentes variedades de milho e constataram que os teores médios de amilose foram 27,8; 1,8 e 71,0% para as variedades Normal, Ceroso e com alto teor de amilose, respectivamente. Gonçalves et al. (2009) verificaram que os amidos de batata-doce natural e tratados por TTBU, que é um processo no qual o amido sob baixos teores de umidade (insuficiente para haver gelatinização) é submetido a temperaturas superiores àquelas de gelatinização contém, respectivamente, 19,19; 21,97; 24,38; 17,20 e 17,92% de amilose.

**Figura 2.5** - Estrutura linear da amilose



Fonte: Zamora, 2010

**Figura 2.6** - Estrutura ramificada da amilopectina



Fonte: Zamora, 2010

A cristalinidade dos grânulos de amido é atribuída principalmente à amilopectina, que dificulta sua associação regular com outras cadeias devido às suas ramificações. O amido pode ser classificado em três tipos de estruturas cristalinas: amidos de cereais tipo "A", amidos de tubérculos tipo "B" e amidos de vagens como tipo "C", sendo este uma mistura de "A" e "B" (CORRADINI et al., 2005).

De acordo com Tester et al., (2004) os grânulos de amido são sintetizados em uma ampla variedade de espécies de plantas. As características como tamanho, forma e agrupamento, entre outras, refletem a origem botânica do amido. O amido também contém quantidades relativamente pequenas (0,4%) de minerais, como o cálcio, magnésio, fósforo, potássio e sódio.

## 2.4.2. Cristalinidade e microscopia eletrônica dos grânulos de amido

Na planta, o amido é armazenado como corpos intracelulares parcialmente cristalinos (15 a 45% de cristalinidade) denominados grânulos. Por meio de difração de raios X pode-se distinguir três tipos de grânulos que, dependendo de sua forma e da estrutura cristalina, se denominam A, B e C (Figura 2.7) (CEREDA et al., 2001). Esses padrões de cristalinidade são dependentes, em parte, do comprimento das cadeias de amilopectina, da densidade de empacotamento dentro dos grânulos e da presença de água (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

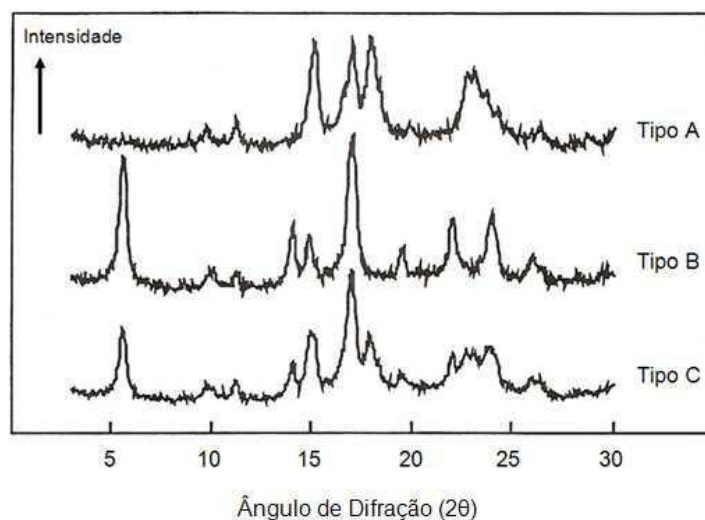
De acordo com Zobel (1964) os grânulos de amido apresentam as seguintes características de cristalinidade, quanto ao tipo:

- Tipo A – apresentam picos de intensidade nos ângulos de difração  $2\theta$  em  $15,3^\circ$ ,  $17,1^\circ$ ,  $18,2^\circ$ ,  $23,5^\circ$
- Tipo B – apresentam picos de intensidade nos ângulos de difração  $2\theta$  em  $5,6^\circ$ ,  $14,4^\circ$ ,  $17,2^\circ$ ,  $22,2^\circ$  e  $24^\circ$
- Tipo C – apresentam picos de intensidade nos ângulos de difração  $2\theta$  em  $5,6$ ,  $15,3^\circ$ ,  $17,3^\circ$  e  $23,5^\circ$

Fonte: Bertolini, 2000



**Figura 2.7** - Diagrama de difração de raios X dos amidos de cristalinidade tipos A, B e C



Fonte: Bertolini, 2000

As cadeias externas relativamente curtas das moléculas de amilopectina (entre 23 e 29 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos cristalinos tipo A, encontrados nos amidos de cereais; já as cadeias externas maiores das moléculas de amilopectina de tubérculos (entre 30 e 44 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos do tipo B, encontrados também em amido de banana, amidos retrogradados e amidos ricos em amilose. O polimorfo tipo C é composto por moléculas de amilopectina de cadeias com 26 a 29 moléculas de glicose, considerado um intermediário entre os tipos A e B, sendo característico de amido de leguminosas e sementes (ELIASSON e GUDMUNDSSON, 2006).

O amido apresenta duplas hélices, com certa semelhança ao modelo proposto para a estrutura do DNA. Os modelos cristalinos para os padrões tipo A e B variam tanto com a qualidade de água que hidrata os resíduos de glicose como também com a densidade do empacotamento do arranjo cristalino (THOMAS e ATWELL, 1999). Os amidos padrão tipo B se originam de plantas de ambiente com alta umidade e baixa temperatura; entretanto, em baixa umidade e alta temperatura podem ser revertidos para tipo A, provavelmente pela falta de água e reorganização das duplas hélices. A passagem do padrão tipo A para o tipo B só é possível se os grânulos de amido forem

inteiramente destruídos e recristalizados em novo sistema com nível distinto de organização (GALLANT et al., 1992).

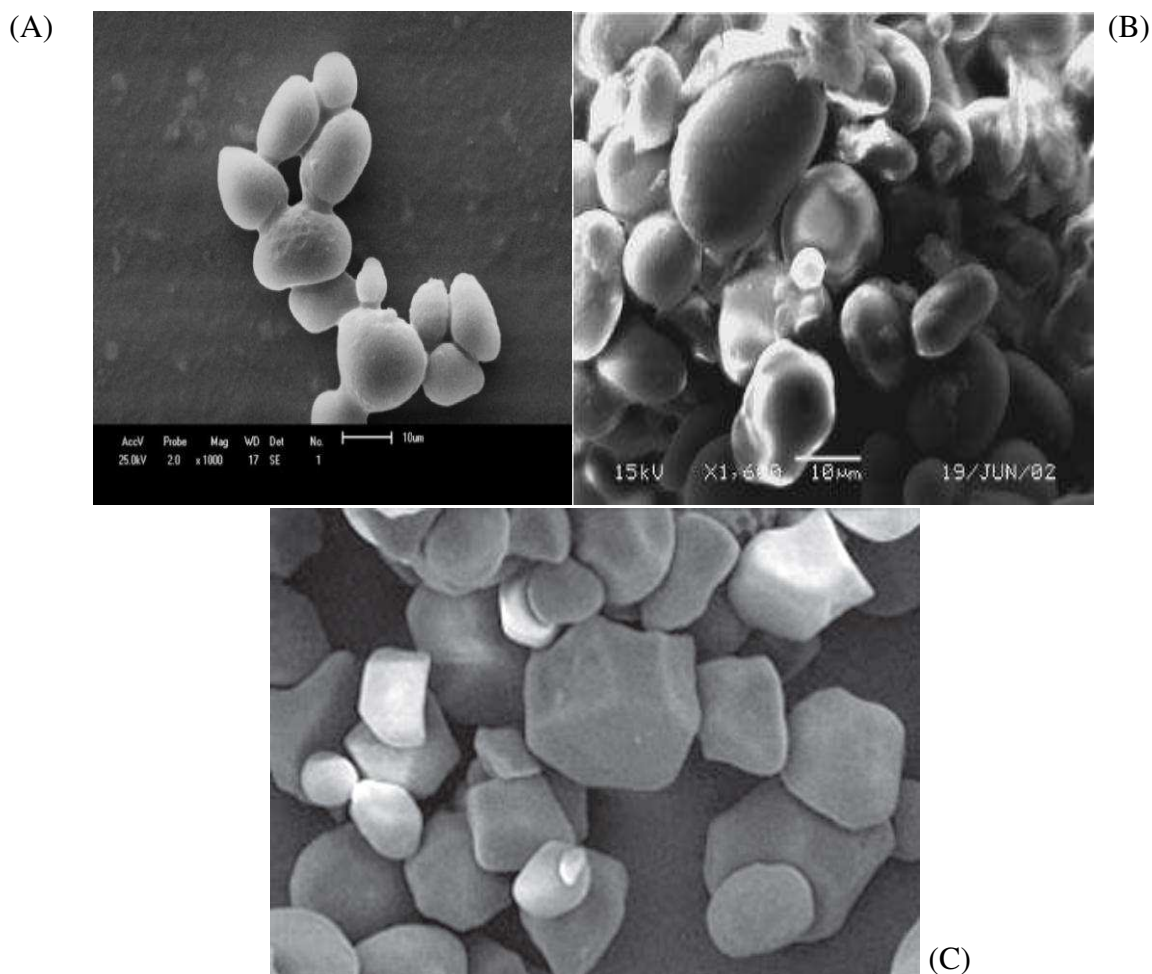
O grau de cristalinidade, que pode ser definido como a porcentagem das regiões cristalinas em relação ao material total, é um parâmetro valioso a considerar visto que tem influência nas propriedades físicas, mecânicas e tecnológicas dos materiais. De acordo com Jaycody (2001), citado por Oliveira (2007), a presença de moléculas de água é fundamental para a manutenção da cristalinidade do grânulo, que pode ser destruída por ação mecânica como moagem, alta pressão ou por temperatura elevada, resultando na perda de características de birrefringência e dos padrões de raios X.

O exame microscópico dos grânulos é importante em virtude de fornecer informações sobre a origem dos amidos contribuindo para sua caracterização. Grânulos de amidos nativos podem ser reconhecidos pela forma, tamanho e posição do hilo (FRANCO et al, 2001).

O amido é encontrado nos amiloplastos da célula na forma de grânulos e de tamanhos distintos, com características intrínsecas que dependem da fonte botânica, podendo ser regulares (esférico, semiesférico, oval, angular, elipsoide, poliédrica e lenticular) ou bastante irregulares (YONEMOTO, 2006). Microscopicamente, os grânulos de amido comumente medem de 1 a 35 $\mu$ m de diâmetro em cereais (trigo, cevada, milho e aveia) e acima de 100 $\mu$ m em batata (THOMAS e ATWELL, 1999).

O tamanho e a forma dos grânulos de amido variam com a espécie, conforme observado na Figura 2.8, e a distribuição de tamanho varia com o estágio de desenvolvimento da planta e forma de tuberização. Outro parâmetro interessante é a regularidade na forma, ou seja, diferença entre diâmetros, que indica regularidade do tamanho (LEONEL, 2007).

**Figura 2.8** - Micrografias dos grânulos de alguns tipos de amido (A) Manga, (B) Mandioca e (C) Milho



Fonte: Beemiller, Wistler (2009)

Gama et al. (2010) encontrou para amidos de pinhões cru, cozido e tostado, grânulos de formatos geométricos predominantes como ovais e elipsoides truncados ou hemisféricos. O tamanho característico (diâmetro médio) desses grânulos se encontra na faixa de 7 e 20  $\mu\text{m}$ . Neste estudo também se observou que a superfície dos grânulos é bastante lisa, sem apresentar irregularidades ou porosidade superficial, semelhante ao amido de milho. Segundo Vieira et al. (2010), os grânulos de amido presentes na fécula de mandioca apresentam forma oval ou esférica, sendo alguns côncavo-convexos característicos e diâmetros que variam de 4 a 15  $\mu\text{m}$ , com média 10  $\mu\text{m}$ .

A partir de biomassas extraídas de materiais amiláceos, a amêndoa da semente da manga e suas características relevantes, podem vir a ser uma fonte promissora para bioconversão em etanol de vez que se constitui em um resíduo abundante. Apesar disto,

a produção de etanol necessita, a partir de matérias-primas amiláceas, de uma hidrólise prévia de suas cadeias para a obtenção de glicose já que essas matérias-primas não são diretamente fermentáveis.

## 2.5. Hidrólise

A palavra hidrólise significa decomposição pela água, mas são raros os casos em que se pode, em condições ambientes, realizar uma hidrólise completa. Para isto é oportuno operar a temperaturas e pressões elevadas. Para que a reação seja rápida e completa é sempre indispensável à presença de catalisadores químicos, em geral ácidos ou bases, ou enzimas (ALVAREZ-MACARIE et al., 1999).

São reações orgânicas e inorgânicas em que a água efetua uma dupla troca com outros compostos. Na Figura 2.9 são mostradas algumas reações de hidrólise simplificadas (BARCZA, 2002).

**Figura 2.9** - Reações de hidrólise



Fonte: Barcza, 2002

Na química orgânica a hidrólise participa de reações como saponificação de ácidos graxos e outros ésteres, fase final da reação de Grignard, inversão de açúcares e quebra de proteína. A hidrólise tem sido considerada uma reação em que um álcali é utilizado no lugar da água obtendo-se um sal alcalino de um ácido, no final (BARCZA, 2010).

No processo de hidrólise do amido há, além da água, a presença de aceleradores químicos ou enzimáticos capazes de catalisar a quebra das ligações glicosídicas, em temperaturas e pressões elevadas. A hidrólise dos biopolímeros constituintes dos grânulos de amido quebra as ligações glicosídicas progressivamente, gerando cadeias mais curtas de dextrina, maltose e glicose (URBANO, 2012).

Serão descritos, a seguir, cinco tipos de hidrólise e em todos os casos são realizadas em fase líquida ou vapor; entretanto, a fase vapor é a que se vem destacando cada vez mais na indústria; os cinco tipos são (SOARES, 2011): hidrólise pura, hidrólise básica, hidrólise ácida, hidrólise enzimática e fusão alcalina a alta temperatura porém se dará atenção a dois tipos: à hidrólise ácida e à enzimática.

Para que ocorra a conversão do amido em álcool é necessário que este seja transformado em açúcares, mediante o processo de hidrólise; referidos produtos derivados da hidrólise do amido podem ter diversas aplicações biotecnológicas.

## **2.5.1. Tipos de hidrólise**

### **2.5.1.1. Hidrólise ácida diluída**

O processo de hidrólise ácida diluída é um dos mais antigos (SAEMAN, 1945), mais simples e mais eficientes métodos de produção de açúcares e demais produtos de degradação, a partir da biomassa (SAXENA et al., 2009). O processo ácido diluído é conduzido sob altas temperaturas e pressões tendo um tempo de reação numa escala de até minutos, facilitando o processo contínuo.

Os processos em que se empregam ácidos diluídos, utilizam, em geral, como catalisador, o ácido sulfúrico diluído a 0,1- 0,7% ou o ácido clorídrico (CARDOSO, 2008). A hidrólise ocorre em dois estágios para acomodar as diferenças entre a hemicelulose e a celulose e 51 para maximizar o rendimento em açúcares redutores provenientes da hemicelulose e da celulose (HARRIS et al., 2001). O uso de altas temperaturas serve para otimizar a hidrólise da fração de celulose mais resistente e tem sido considerado um pretratamento eficaz em fibras lignocelulósicas (NGUYEN, 1998).

### **2.5.1.2. Hidrólise ácida concentrada**

A hidrólise ácida usa qualquer ácido concentrado para romper as ligações de hidrogênio entre as cadeias de celulose convertendo-as para um estado totalmente amorfo e em seu processo usa condições relativamente mais suaves com tempos de reações mais longos (YU et al., 2008). Uma vez que a celulose é descristalizada, ela forma uma gelatina homogênea com o ácido; no entanto, a celulose é extremamente suscetível à hidrólise neste momento (MANI et al., 2002). Obtém-se, então, um



Os principais problemas provenientes da hidrólise ácida estão relacionados à formação de compostos intermediários indesejáveis. O 5-hidroximetil-2-furfural (HMF) é o furano produzido pela desidratação de hexoses principalmente glicose e frutose, em meio ácido. Além do HMF, a desidratação via catálise ácida pode gerar outros produtos, tais como o ácido levulínico e produtos secundários poliméricos, como os ácidos húmicos. Esses subprodutos, quando em concentrações inadequadas, são considerados compostos tóxicos e, portanto, inibidores do crescimento microbiano (LEWKOWSKI, 2001; CORMA et al., 2007; TAHERZADEH et al., 2007).

### **2.5.1.3. Hidrólise enzimática**

A partir da biomassa vegetal se emprega a hidrólise enzimática da celulose a açúcares fermentáveis utilizando microrganismos para a produção de etanol (ORABY et al., 2007). A degradação microbiana dos produtos resultantes dos resíduos lignocelulósicos é realizada por uma ação concentrada de várias enzimas com destaque para as celulasas. Para hidrolisar os microrganismos e metabolizar a celulose insolúvel, celulasas extracelulares devem ser produzidas (SAXENA et al., 2009).

As celulasas devem ser adsorvidas sobre a superfície das partículas do substrato antes de ocorrer a hidrólise da celulose insolúvel. A estrutura tridimensional dessas partículas em combinação com seu tamanho e forma, determina se as ligações  $\beta$ -glicosídicas serão ou não acessíveis ao ataque por enzimas.

Isto faz a hidrólise da celulose ser mais lenta em comparação com a degradação enzimática de outros biopolímeros. Por exemplo, a taxa de hidrólise do amido por amilases é 100 vezes mais rápida do que a taxa de hidrólise da celulose por celulasas em condições industriais de processamento (SÁNCHEZ e CARDONA, 2008).

Os processos enzimáticos empregam celulase como biocatalisador de hidrólise, que requer condições brandas, temperaturas próximas a 50 °C, pH na faixa 4,5 - 6,0 e processo a pressão atmosférica permitindo, ainda, conversões superiores às obtidas pela hidrólise química, menor destruição de açúcares e menor acúmulo de substâncias tóxicas (furfurais e derivados de lignina) que podem afetar as células microbianas que serão utilizadas para fermentação. Na rota enzimática são detectados pontos de economia no processo, tanto do ponto de vista energético como de materiais visto que os equipamentos podem ser elaborados com materiais menos nobres. As principais barreiras aos processos enzimáticos, são: o custo elevado da enzima celulase comercial

e o tempo mais longo para se obter altos rendimentos e um consumo energético elevado para manter os grandes volumes agitados e aquecidos por 48 a 96 horas, além do risco de contaminação (CASTRO; PEREIRA, 2010).

## **2.6. Fermentação alcoólica**

Utilizada pelo homem há mais de 6.000 anos com os sumérios e babilônios, que utilizavam grãos de cereais. Tempos depois, há 2000 a.C., os egípcios utilizavam fermento para fabricar pão e produzir bebidas alcoólicas a partir de frutas e cereais (VILLEN, 2010). Milhares de anos se passaram e apenas há poucos anos que se relacionou a fermentação com a levedura, que é um fungo amplamente difundido no meio ambiente com capacidade de viver em ambientes aeróbios e anaeróbios.

A levedura só veio a ser notada por Antonie van Leewenhoek 1623-1723 que observou uma amostra de cerveja em fermentação, com seu microscópio rudimentar. Em 1815 Gay-lussac formulou a estequiometria da fermentação e em 1863 Pasteur elucidou a natureza microbiológica da fermentação alcoólica como um processo anaeróbico, ou seja, sem oxigênio. Durante as primeiras décadas de 1900 as pesquisas culminaram com a elucidação das reações enzimáticas responsáveis pela transformação química do açúcar em etanol e gás carbônico, no interior da levedura (AQUARONE et al., 2001).

Este processo é realizado principalmente por leveduras (*Sacharomices cerevisae*) em nível citoplasmático, com o objetivo de produzir energia a qual será empregada na realização de suas atividades fisiológicas e ainda para seu crescimento e reprodução sendo o etanol tão somente um subproduto deste processo (LIMA et al., 2001).

O etanol é o principal metabólito formado na fermentação e, conseqüentemente, um dos principais componentes de uma bebida alcoólica fermentada. O significado da palavra fermentação tem sofrido muitas variações ao longo do tempo. O nome fermentação se deu, a princípio, por meio das reações de catabolismo de matérias orgânicas em anaerobiose resultando na geração de energia, com rápido e tumultuoso desprendimento de gás, e a origem do nome procedeu do verbo hebraico “*fervere*”, que significa ferver (LEPE e LEAL, 2004).

Durante o processo fermentativo outros compostos, além de etanol, gás carbônico e glicerol, são produzidos pela levedura em menores concentrações e são



imprescindíveis para o desenvolvimento do aroma e sabor do produto, como ésteres, aldeídos, alcoóis superiores e ácidos orgânicos. Alguns metabólitos secundários são responsáveis pela formação de odores desagradáveis, como mercaptanas, gás sulfídrico e ácido acético, o que reduz a qualidade da bebida (DIAS, 2010).

Os substratos utilizados na fermentação alcoólica são altamente variáveis e podem ser constituídos por produtos de açúcar, como caldo de cana-de-açúcar, raiz de beterraba, mel, melaço e frutas ou de matérias amiláceas, como grãos de amido, raízes, tubérculos e outros (ALENCAR et al., 2009).

Em geral, os processos fermentativos são classificados quanto à fermentação submersa ou em estado sólido. Decisivamente, um dos parâmetros mais exaltados na diferenciação desses dois tipos de processo é o teor de água presente no meio reacional (CASTRO e PEREIRA JUNIOR, 2010). Segundo tais autores, na fermentação estado sólido (FES) há ausência ou quase ausência de água livre. A água presente nesses sistemas se encontra complexada com a matriz sólida de substrato ou como uma fina camada absorvida pela superfície das partículas.

Na fermentação submersa (FS) se utiliza um meio fermentativo líquido em que as fontes de nutrientes utilizadas são solúveis e considerada uma técnica que possui relativa facilidade de cultivo em grande escala já que garante a homogeneidade do meio e a facilidade no controle dos parâmetros do processo, principalmente se monitorados por sensores adequados (PINHEIRO et al., 2008a).

Para que no cultivo submerso ocorra boa proliferação celular, o substrato líquido deve conter uma das fontes de carbono (fonte energética) como, exemplo: fontes sintéticas (glicose, xilose, maltose, lactose, sacarose, xilana de aveia, pectina de citrus e glicerol) ou fontes naturais (bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de laranja, farelo de aveia, farelo de trigo) entre outros (PINHEIRO et al., 2008b) e uma fonte de nitrogênio visto que em um meio de cultura devem haver algumas vitaminas necessárias para o metabolismo do microrganismo, como o extrato de levedura, a triptona e a protease peptona. No entanto, em alguns casos há necessidade de suplementação ou alguma vitamina para que ocorra bom crescimento celular (BECKER et al., 1997).

Nos meios hidrolisados de biomassa vegetal a fermentação pode ser conduzida em batelada-alimentada e contínuo. A escolha mais adequada dependerá das propriedades cinéticas do agente fermentativo sobre o substrato e da viabilidade econômica do produto que se deseja obter (HAHN-HÄGERDA et al., 2006).

O processo de batelada alimentada é útil para o estudo da cinética de processos fermentativos permitindo a manutenção de baixos níveis de substrato, por longo período de tempo, que é favorável à estimativa de parâmetros cinéticos; permite, também, manter concentração celular constante e controlar a velocidade de crescimento em condições transientes (OLIVA-NETO, 1995). No entanto, uma escolha adequada da vazão de alimentação leva a melhores resultados de produtividade e rendimento do processo (ANDRIETTA et al., 2013).

De acordo com Pavalak et al. (2011), o processo fermentativo do mosto hidrolisado de batata-doce, utiliza três linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, das quais duas são industriais. A fermentação é realizada em batelada alimentada com duas alimentações, iniciada com 2,0 L de hidrolisado sendo adicionados, a cada intervalo de 12 h, 1,5 L de hidrolisado, resultando em valores de rendimento variando entre 4,5 e 6,4% para a linhagem PE-2, a mais indicada para a fermentação de batata-doce.

O processo contínuo, além de possibilitar redução no tempo de fermentação, ocasiona menor consumo de substrato para o crescimento celular, sendo quase todo ele utilizado para a conversão em álcool de vez que já se dispõe de uma concentração elevada de células no início da fermentação. Neste processo o inoculo, já preparado no fundo dos fermentados, recebe o mosto em filete contínuo até o enchimento da dorna (CYSEWSKI e WILKIE, 1978). Segundo Barcelos (2012), para que o sistema atinja a condição de estado estacionário, ou seja, condição na qual as variáveis de estado (concentração de células de levedura, de substrato limitante e de produto) permanecem constantes ao longo do tempo de operação do sistema, tornando necessária a manutenção de um volume constante de líquido no biorreator.

De acordo com Cysewski e Wilkie (1978), o processo contínuo pode ser mais vantajoso que o de batelada alimentada pois inclui otimização das condições de processo para uma produtividade maior, período longo de produtividade contínua, maior produtividade volumétrica, redução dos custos laboratoriais uma vez alcançado o estado desejado e reduzido o tempo de limpeza e sanitização das dornas.

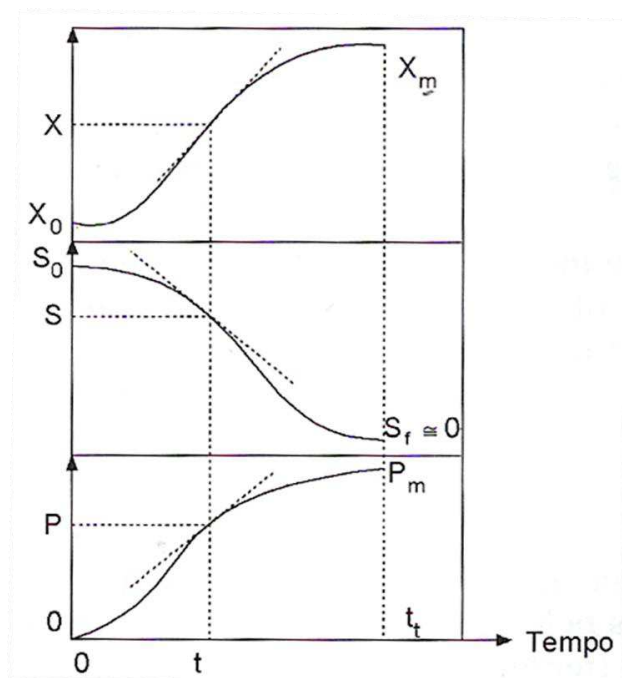
O estudo da cinética de processos microbianos é de suma importância para os centros de pesquisa, em razão de quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato, formação de produtos e demais parâmetros relacionados, além de avaliar a influência de fatores externos como pH, temperatura e inibidores, nessas taxas (VIEGAS, 2003).

### 2.6.1. Estudos cinéticos de processos fermentativos

Durante o processo fermentativo seu estudo cinético pode ser realizado consistindo de uma análise de evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação, sendo esses componentes da concentração dos microrganismos ( $X$ ), os produtos do metabolismo ou metabólicos ( $P$ ) e os subprodutos ( $S$ ) que compõem o meio de cultura (SCHMIDELL et al., 2001). Tais valores experimentais de concentração permitem, quando representados em função do tempo, o traçado das curvas de ajuste, conforme ilustra a Figura 2.10.

Os perfis cinéticos representam o ponto de partida para a descrição quantitativa de uma fermentação como, por exemplo, a identificação da duração do processo geralmente baseada no instante em que  $X$  e  $P$  apresentam valores máximos (SCHMIDELL et al., 2001).

**Figura 2.10** - Curvas de ajuste dos resultados de um experimento inventado de fermentação



Fonte: Nascimento, 2012

## 2.6.2. Leveduras na fermentação alcoólica

As leveduras formam uma das mais importantes subclasses dos fungos. As leveduras são classificadas em: Ascomicetos, Basidiomicetos ou Deuteromicetos. O principal agente da fermentação alcoólica, *Saccharomyces cerevisiae*, é um ascomiceto (LEPE e LEAL, 2004).

As leveduras são diferentes dos bolores por serem predominantemente unicelulares reproduzindo-se normalmente por gemação. Esta característica reprodutiva lhes confere maior velocidade de crescimento e consumo de substrato devido à sua maior relação área/volume.

Os critérios tecnológicos que fazem com que uma levedura seja utilizada comercialmente na fermentação alcoólica, são o alto rendimento e a elevada produtividade, ou seja, rápida conversão de açúcar em álcool, com baixa produção de componentes secundários (PATARO et al.,1998).

As leveduras são os microrganismos mais utilizados na fermentação alcoólica; atualmente, a levedura utilizada é a *Saccharomyces cerevisiae*, que é um aeróbio facultativo; entretanto, as bactérias também são capazes de produzir etanol mas não são utilizadas por questões econômicas; na fermentação alcoólica é adicionada, à mistura, uma levedura a qual metaboliza os carboidratos transformando-os em etanol e liberando dióxido de carbono. Esta etapa pode ocorrer em processo contínuo ou descontínuo (HAHN-HAGERDAL, 2006).

O gênero *Saccharomyces* é um dos grupos de microrganismos mais estudados pela comunidade científica cujo interesse é função da ampla aplicação desses microrganismos de biotecnologia. Esta levedura tem sido relatada como agente de transformação, desde 1800 (ANDRIETA e STECKELBERG, 2006).

As células de levedura são esféricas, elípticas ou cilíndricas, variando grandemente suas dimensões. A *Saccharomyces cerevisiae* apresenta forma esférica ou elíptica, como mostrado na imagem da Figura 2.11.

**Figura 2.11-** Levedura *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: Lallemand, 2010

As leveduras são microrganismos mesófilos, sendo que a temperatura ótima está entre 26-35 °C. O controle de temperatura é essencial pois se a temperatura aumentar a velocidade da fermentação também aumenta porém eleva o risco de contaminação e torna a levedura mais sensível à toxicidade do etanol gerado (BORZANI et al., 2001).

### **2.6.3. Bioetanol**

O bioetanol é a obtenção do etanol através da biomassa para que este possa ser usado diretamente como combustível ou através da transesterificação possa se juntar aos ésteres do óleo vegetal e formar outro tipo de combustível (PEREZ et al., 2010)

O etanol pode ser obtido por matérias-primas variadas, segundo BAZILIO et al. 2008 amiláceas (mandioca, batata doce, milho e outros grãos), celulósicas (madeiras e resíduos agrícolas, dentre os quais se destacam o bagaço de cana-de-açúcar) e as sacarinas (cana-de-açúcar, sorgo sacarino e beterraba). O bioetanol pode ser obtido a partir de qualquer biomassa que tenha quantidades significativas de carboidratos, particularmente amido ou açúcares.

No Brasil a produção de álcool é tradicionalmente fundamentada na cultura da cana-de-açúcar mas as necessidades energéticas no mundo viabilizam a produção de álcool a partir de fontes alternativas, dentre elas as tuberosas amiláceas, como a mandioca entre outras, permitem visualizar essas culturas como matéria-prima para a produção de álcool.

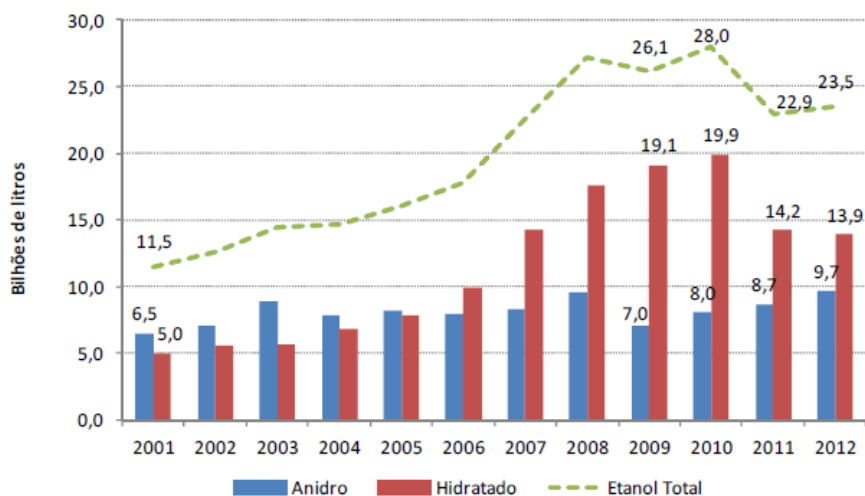
Além da sacarose da cana-de-açúcar outra fonte de carboidratos utilizada em alguns países, como Estados Unidos e França, na produção de etanol, é o amido (MONTESINO e NAVARRO, 2000). O amido é considerado uma das fontes mais abundantes de carboidratos na natureza.

O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial de etanol e lidera a produção de cana-de-açúcar, principal matéria-prima do etanol, sendo esta uma indústria que movimentava vários bilhões de dólares por ano e representa menor dependência do petróleo. Desta forma, está sendo desenvolvida uma tecnologia que permite a obtenção de etanol a partir da celulose presente no bagaço da cana-de-açúcar e na palha descartada na colheita. É o principal país do mundo em implantar, em larga escala, um combustível renovável alternativo ao petróleo (URBANO, 2012).

O etanol brasileiro tem baixa toxicidade e obedece a rigorosas especificações técnicas e padrões internacionais. É fonte limpa e acessível de combustível renovável, reduz significativamente emissões de gases do efeito estufa (GEE); quando comparado a outros combustíveis, tem alta produtividade por hectare de cana-de-açúcar plantado e alto rendimento como fonte energética.

A produção de etanol total no Brasil fechou em 23,64 bilhões de litros na safra 2012/13, conforme ilustra a Figura 2.12 e é estimada em 27,17 bilhões de litros para 2013/14, um incremento de 3,53 bilhões de litros, alta de 14,94%. Deste total 12,02 bilhões de litros deverão ser de etanol anidro e 15,16 bilhões de litros serão de etanol hidratado. Assim, o etanol anidro deverá ter um acréscimo de 21,96% na produção e o etanol hidratado terá aumento de 9,93%, quando comparados com a produção de etanol da safra anterior. Este estudo aponta, para a Região Nordeste, um acréscimo de 17,94% na produção de etanol hidratado e redução de 7,74% do etanol anidro. Esta região deve responder por 2,47% da produção de etanol do país (CONAB, 2013).

**Figura 2.12** - Produção de etanol no Brasil, safra 2012/13



Fonte: CONAB (2013)

No cenário energético do país e do mundo o etanol voltou a ocupar lugar de destaque. No caso brasileiro, o álcool renasceu com o surgimento dos carros bicompostíveis, além das várias manifestações de governos e empresas, que mostraram o potencial de mercado e da tecnologia de produção de etanol (OLIVEIRA et al., 2006).

## 2.7. Planejamento experimental fatorial

De acordo com Rodrigues e Iemma (2005) o planejamento de experimentos é utilizado na otimização de produtos e processos minimizando custos e tempos e maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros objetivos.

O planejamento experimental fatorial é um método que permite a verificação dos efeitos individuais e de interação de todas as variáveis mais importantes para o processo, a avaliação dos erros experimentais e de regressão e a modelagem empírica dos resultados em função das variáveis escolhidas, usando-se programas estatísticos de regressão (GOUVEIA et al., 2002).

O principal objetivo do planejamento fatorial é relacionar, empiricamente, as variáveis de resposta com as variáveis de entrada, além de ser possível determinar estatisticamente o efeito de cada variável na(s) resposta(s) desejada(s).

Sendo o planejamento experimental um método baseado e executado com técnicas estatísticas, é de fundamental importância a avaliação dos modelos empíricos obtidos por meio de regressão dos dados experimentais mediante uma análise estatística, utilizando-se o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e o valor estimado para o teste F. Para a regressão não ser apenas estatisticamente significativa mas útil para fins preditivos, o valor de  $F_{\text{calculado}}$  deve ser acima de quatro a cinco vezes o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  (BARROS NETO et al., 1995).

Segundo Pimentel-Gomes e Garcia (2002), o teste ou prova de F, foi descoberto por Ronald A. Fisher e ligeiramente modificado por George Snedecor; esse teste considera duas hipóteses relativas às médias de tratamentos: que todas as médias são iguais, do ponto de vista estatístico e que há diferenças entre as médias de tratamentos.

A partir das equações de regressão geradas utilizando-se o planejamento experimental, pode-se representar, geometricamente, essas equações, denominando-as curvas de resposta ou superfícies de resposta, nas quais geralmente figuram duas ou mais variáveis independentes (PIMENTEL-GOMES e GARCIA, 2002).

Segundo ELIBOL e OZER (2002), a metodologia de superfície resposta é uma técnica matemática e estatística usada para determinar os efeitos de diversas variáveis e que pode ser aplicada para otimizar diferentes processos biotecnológicos. Alterando tais variáveis ao mesmo tempo, a dependência entre elas pode ser mostrada graficamente num diagrama de contorno das respostas. As respostas, no caso, são representadas por linhas de contorno e o “cume” dessas linhas representa a região desenhada pelas variáveis em estudo na qual a resposta conseguida é máxima (COLEN, 2006). A superfície de resposta e a projeção de seus cortes sobre o plano dos fatores gerando as curvas de contorno, podem simplificar a interpretação dos resultados.

A aplicação da metodologia se inicia a partir das condições experimentais que, usualmente, têm sido usadas, levando-se em consideração o nível da resposta às condições empregadas para as variáveis indiferentes. Para saber se é possível melhorar o rendimento empregando-se outros valores para as variáveis em questão, é necessário investigar a superfície de resposta (COLEN, 2006). A faixa ótima das variáveis em questão, fornecida pela superfície de resposta, é muito mais interessante do que apenas um valor pontual, pois ela fornece informações sobre a robustez do processo (RODRIGUES e IEMMA, 2005).



## **2.8. Produção de bioetanol a partir da extração do amido e diversos produtos**

Diversos estudos utilizando resíduos agroindustriais do processamento de alimentos têm sido realizados visando à redução do impacto ambiental e ao desenvolvimento e tecnologias que agreguem valor aos produtos obtidos, tais como palhas, casca de frutas, caroço ou semente de frutas, bagaço de cana-de-açúcar e outros de natureza orgânica.

Zuninga et al. (2013) afirmam, estudando o processo de hidrólise ácida da farinha do mesocarpo do coco babaçu para avaliar a influência do ácido no processo hidrólise e produção de bioetanol, que o mesocarpo representa 20% do fruto inteiro e é composto de até 60% de amido de vez que sua produção é feita através da conversão de amido. Verificou-se que os ácidos testados (clorídrico, sulfúrico e fosfórico) e as concentrações (1, 3, 5, 7 e 9%) de ácidos concentrados apresentaram efeitos significativos e o teor de açúcares redutores foi aumentando de forma gradual à medida que a concentração dos ácidos aumentava. Verificou-se, também o ácido sulfúrico proporcionou melhor resultado sendo que, ao utilizar ácido sulfúrico na concentração de 9% de ácido concentrado, obteve-se o percentual de 67,2% para a produção de açúcar.

Aquino et al. (2010) realizaram um estudo com amêndoa de sementes de manga na produção de biodiesel e comprovaram que a gordura extraída da amêndoa da semente da manga tem potencial para a produção de biodiesel. Essas amêndoas foram retiradas dos caroços das mangas acondicionadas em estufa para secagem (100 °C) e em seguida trituradas para extração dos lipídeos. Os lipídeos foram extraídos através do Soxhlet (hexano) e a separação realizada por meio de uma destilação simples. Os lipídeos foram testados como provável fonte para a produção de biodiesel por meio da reação de transesterificação, pela rota metílica, na presença de catalisador básico (NaOH), sob agitação magnética e durante 1h. As técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN- $H^1$ ) e Cromatografia Gasosa-Espectroscopia de Massa (GC/MS) foram utilizadas para uma análise preliminar do biodiesel.

Gaewchingduang e Pengthemkeerati (2010) utilizaram uma suspensão de farelo de mandioca 2% diluída em ácidos (ácido sulfúrico e ácido fosfórico) de diferentes concentrações (0,05 - 0,5 M) que foi hidrolisada em autoclave a vários níveis de temperatura (115 – 130 °C) e tempo de reação (15 - 90 minutos) obtendo-se a maior taxa de açúcares redutores com 0,1 M  $H_2SO_4$  a 120 °C por 60 min ou em 130 °C por 30

min. Neste estudo o ácido sulfúrico teve uma capacidade maior de hidrolisar o farelo de mandioca que o ácido fosfórico.

A hidrólise do amido de tubérculos de batata doce por HCl e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em diferentes proporções de material vegetal em solução ácida, foi investigada por Tasic et al. (2009). O maior rendimento de dextrose equivalente 94% e 0,04 g/L de 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) foi conseguido com HCl 1 M, a 0,089 min<sup>-1</sup> e na proporção de 1:2 (p/v). A produção de etanol de 31 g/L foi obtida na fermentação de hidrolisado preparado sob as condições ótimas de hidrólise por leveduras de panificação comercial a 28 °C, durante cerca de 18 horas.

Ribeiro et al. (2009), otimizaram a produção de glicose a partir do amido da batata-doce visando à produção de etanol, através do processo de hidrólise ácida utilizando ácido clorídrico concentrado (HCL). Foram testadas duas metodologias baseadas na hidrólise do amido da mandioca, hidrólise em banho-maria a 97 °C e em autoclave a 120 °C. Os experimentos realizados em autoclave com amostras iguais às realizadas em banho-maria, apresentaram resultados mais expressivos.

Gonçalves et al. (2009) verificaram, estudando a produção de etanol a partir da hidrólise ácida do amido de mandioca, que a mandioca branca forneceu o maior teor de glicose durante o processo, 26,4%, com ácido sulfúrico na concentração de 1%.

Vieira et al. (2009) obtiveram em estudo bioetanol, a partir do mesocarpo do babaçu, que é rico em amido na sua composição.

Ostrowski et al. (2008) observaram, estudando a produção do álcool etílico a partir da conversão do amido de mandioca em glicose por via enzimática, que esse tipo de fermentação (processo) pode ser muito viável para o Brasil e de grande interesse do ponto de vista comercial, por se tratar de uma nova fonte de matéria-prima para a produção de etanol.

Realizando a hidrólise ácida do amido da torta de mamona, Melo et al. (2008) apresentaram teor de amido igual a 48 ± 0,53% (m/m). A hidrólise química resultou em 27,3 g/L<sup>-1</sup> de açúcares com 33,4% de eficiência de hidrólise. O hidrolisado obtido foi fermentado originando 11 g/L<sup>-1</sup> de etanol (Y<sub>P/S</sub> = 0,48 g<sup>-1</sup>). O processo de hidrólise ácida foi capaz de promover destoxificação da torta de mamona.

### 3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

#### 3.1. Matéria-prima

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Química de Biomassa (LQB), Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química e no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA), da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande-PB.

Amêndoas da semente da manga (*Mangifera indica* L.), chamada regionalmente “manga espada” (Figura 3.1), fisiologicamente desenvolvida, foram adquiridas na indústria de polpa de frutas, POLPA IDEAL, na cidade João Pessoa, PB.

**Figura 3.1** - Amêndoa da semente da manga



## **3.2. Processamento da amêndoa da manga**

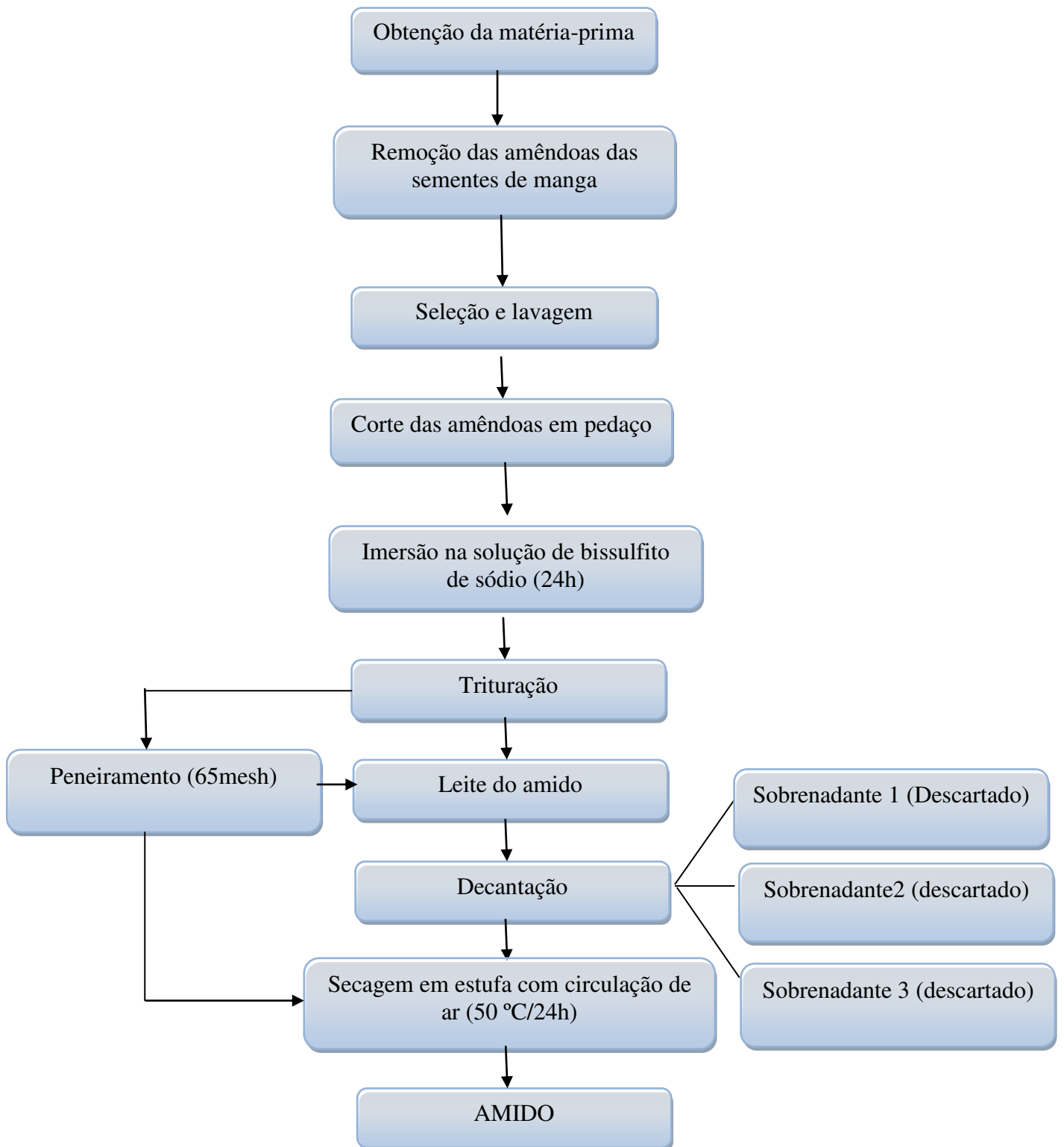
### **3.2.1. Preparo da matéria-prima**

As amêndoas das sementes da manga selecionadas conforme sua uniformidade em coloração, ausência de danos físicos, tamanho e firmeza, foram lavadas em água corrente para retirada de detritos, tais como terra e demais corpos estranhos; descascados de forma manual para remoção da película que cobre as amêndoas e submetidos a uma segunda lavagem com a finalidade de eliminar as sujidades remanescentes do descascamento; a seguir, prosseguiu-se à extração do amido.

### **3.2.2. Extração e purificação do amido**

A extração do amido da manga foi procedida conforme metodologia de Adebowale et al., (2006). As amêndoas cortadas em pequenos pedaços foram deixadas em imersão durante 24 horas na solução a 0,5% de bissulfito de sódio, com água refrigerada, a temperatura de 5 °C para evitar o escurecimento enzimático. Após esta etapa as amêndoas foram bem lavadas, pesadas e trituradas em liquidificador industrial, marca Fak, com capacidade para 8L e potência de 600 W, em velocidade máxima e depois misturadas com água destilada na proporção de 1:3 m/v (amêndoa: água,), por 5 minutos, peneiradas em peneira com abertura de 0,212 mm para eliminar as fibras das amêndoas. As etapas do processamento de extração do amido obtido a partir da amêndoa da semente da manga, estão expostas no fluxograma da Figura 3.2.

**Figura 3.2** - Fluxograma do processo de extração do amido da amêndoa da semente da manga



A suspensão do amido filtrado, leite do amido, foi decantado por de 72 h, em ambiente refrigerado a 5 °C, período após o qual o líquido era drenado e novamente se adicionava água destilada, para restaurar o volume. Esta operação foi repetida várias vezes até que o sobrenadante apresentasse cor límpida e clara, características de amido. O precipitado obtido foi transferido para bandejas de alumínio e seco em estufa com circulação de Ar, Modelo SL 102 - Solab, a 50 °C, por aproximadamente 24 h.

Qualitativamente, o amido extraído da amêndoa da semente da manga apresentou as seguintes características: pó fino, branco, rangendo quando apertado na mão e tendendo a formar aglomerados (Figura 3.3). O amido obtido foi seco em estufa a vácuo, a temperatura de 50°C até que o teor de água fosse inferior a 13% e, em seguida, peneirado em peneira de malha 0,212mm. O amido obtido foi armazenado em sacos de polietileno, em local seco, para evitar que absorva umidade e longe de qualquer outro produto do qual ele possa absorver aromas e sabores estranhos, acondicionados em recipientes hermeticamente fechados, em temperatura ambiente até sua posterior utilização.

**Figura 3.3** - Amido da amêndoa da semente da manga



Fonte: Arquivo pessoal, 2011

### 3.3. Rendimento da extração da amêndoa da semente da manga

O rendimento prático ( $R_p$ ) da extração foi calculado em porcentagem de massa de amido da manga obtido em relação à massa bruta de tubérculos triturada, com seu teor de água original por meio da Equação 3.1.

$$R_p = \frac{m_a}{m_{it}} \times 100 \quad (3.1)$$

onde:

$R_p$  = rendimento prático, %;

$m_a$  = massa de amido obtida após a secagem, g;

$m_{it}$  = massa das sementes trituradas, g.

Calculou-se o rendimento da extração, em termos de matéria seca ( $R_{MS}$ ), como porcentagem da quantidade de matéria seca da massa de amido de manga obtido em relação à quantidade de matéria seca da massa de tubérculos triturada, conforme a Equação 3.2.

$$R_{MS} = \frac{C_a \cdot m_a}{C_i \cdot m_{it}} \times 100 \quad (3.2)$$

onde:

$R_{MS}$  - rendimento em termos de matéria seca, %;

$M_a$  - massa de amido de manga obtida após a secagem, g;

$M_{it}$  - massa da semente triturada, g;

$C_a$  - teor de matéria seca do amido obtido após a secagem, %;

$C_i$  - teor de matéria seca da semente triturada, %.

### 3.4. Análises físico-químicas

Inicialmente, as amêndoas das sementes da manga espada e amido extraído foram caracterizadas, quanto aos parâmetros descritos a seguir. Todas essas análises descritas a seguir foram realizadas com três repetições e os resultados expressos como valores médios seguidos de desvios padrões.

### 3.4.1. Teor de água

Foi determinado para a amêndoa da semente de manga e o amido, de acordo com os métodos descritos por Brasil (2008). A Equação 3.3 foi utilizada para calcular o teor de água.

$$\text{Teor de água (\%)} = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final da amostra})}{\text{peso inicial da amostra}} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.4.2. Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado através do método potenciométrico, com medidor de pH da marca Tecnal modelo Tec - 200, calibrado com soluções tampão (pH 7,0 e 4,0) e determinado de acordo com a metodologia proposta por Brasil (2008). Os resultados foram expressos em unidades de pH.

### 3.4.3. Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada pelo método acidimétrico utilizando-se uma solução tampão padronizada de NaOH 0,1N. Os resultados foram expressos pela Equação 3.4 em percentagem de ácido cítrico, segundo Brasil (2008).

$$\text{Acidez} = \frac{V_x f x 100}{m x c} \quad (3.4)$$

onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L<sup>-1</sup> gasto na titulação, mL

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L<sup>-1</sup>

m = massa da amostra usada na titulação, g

c = correção para a solução de NaOH 1 mol/L<sup>-1</sup>, 10 para a solução NaOH 0,1 mol/L<sup>-1</sup>



#### 3.4.4. Resíduo mineral fixo (cinzas)

O teor de cinzas foi determinado segundo o método descrito por Brasil (2008) e pela diferença de massas com aproximação de 0,01%, conforme a Equação 3.5.

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{\text{massa final da amostra}}{\text{massa inicial da amostra}} \times 100 \quad (3.5)$$

#### 3.4.5. Fibras

O teor de fibra bruta foi determinado segundo as normas propostas por Brasil (2008). A amostra foi submetida a uma digestão ácida utilizando-se solução aquosa contendo ácido acético glacial, ácido nítrico e ácido tricloracético. Os resultados foram expressos em percentagem, conforme a Equação 3.6.

$$\text{Fibra bruta} = \frac{100 \times N}{P} \quad (3.6)$$

onde:

N = massa da fibra, g

P = massa da amostra, g

#### 3.4.6. Proteína

A quantificação da proteína residual foi determinada pelo método de Kjeldahl clássico, utilizando-se o fator de conversão 5,28 (para amêndoas) visando transformar a massa de nitrogênio encontrada em massa de proteínas. O procedimento realizado foi conduzido de acordo com a metodologia proposta por Brasil (2008). Os resultados foram expressos na Equação 3.7, em percentagem.

$$\text{Proteína} = \frac{V \times 0,14 \times f}{m} \quad (3.7)$$

onde:

V = diferença entre volume de ácido sulfúrico 0,05 mol/L<sup>-1</sup> volume de hidróxido de sódio 0,1 mol/L<sup>-1</sup> gastos na titulação, mL

m = massa da amostra, g

f = fator de conversão

### 3.4.7. Amido

O teor de amido foi determinado através da hidrólise ácida do amido à glicose em autoclave, utilizando-se solução concentrada de ácido clorídrico (HCl) e caracterização da glicose pelos reagentes de Fehling A e B, por titulação, conforme a metodologia descrita por Brasil (2008). Os resultados foram expressos na Equação 3.8, em percentagem.

$$\text{Amido(\%)} = \frac{100 \times A \times a \times 0,9}{m \times V} \quad (3.8)$$

onde:

A = volume da solução P da amostra, mL

a = massa de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling, g

m = massa da amostra, g

V = volume gasto da solução, mL

### 3.4.8. Lipídeos

Os lipídios (matéria graxa) foram extraídos em um extrator Soxhlet, segundo a metodologia descrita por Brasil (2008). Os resultados foram calculados através da Equação 3.9.

$$\text{Lipídeos (g)} = 100 \times N \quad (3.9)$$

onde:

N = massa de lipídios, g

P = massa da amostra, g

### 3.4.9. Açúcares redutores (AR)

O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método titulométrico de Lane e Eynon, utilizando-se soluções de Fehling, seguindo o procedimento descrito por Brasil (2008). Os resultados foram expressos na Equação 3.10, em percentagem.

$$\text{Glicídeos redutores, em glicose} = \frac{100 \times A \times a}{m \times V} \quad (3.10)$$

onde:

A = volume da solução de P g da amostra, mL

a = massa de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling, g

m = massa da amostra em g

V = volume da solução da amostra gasto na titulação, mL

### 3.4.10. Açúcares redutores totais (ART)

O teor de açúcares redutores totais foi determinado pelo método titulométrico de Lane e Eynon, utilizando-se soluções de Fehling, seguindo o procedimento descrito por Brasil (2008). Os resultados foram expressos na Equação 3.11, em percentagem.

$$\text{Glicídeos redutores, em glicose} = \frac{100 \times A \times a}{m \times V} \quad (3.11)$$

onde:

A = volume do balão volumétrico, mL

a = fator da solução de Fehling

m = massa da amostra (de acordo com a alíquota tomada), g

V = volume gasto na titulação, mL

## 3.5. Análises morfológicas do amido da manga

Visando verificar a morfologia do amido extraído da amêndoa da manga, foram realizadas as análises de difração de raios X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

### **3.5.1. Análise da morfologia do amido natural e hidrolisado com os catalisadores H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> por microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Com o objetivo de observar e verificar o efeito dos tratamentos com os catalisadores ácidos realizados nas condições otimizadas sobre a superfície dos grânulos do amido extraído da amêndoa da semente da manga, as amostras do amido foram fixadas com fita adesiva dupla face condutora em suporte de alumínio (stubs); depois, foram metalizadas com uma liga de ouro/paládio de 10 nm em metalizador Quick Coater SC-701(Sanyu Electron, Tóquio, Japão); posteriormente, as amostras foram mantidas em dessecador até o momento da análise.

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura foi empregada utilizando-se um Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada, modelo TM-1000, marca HITACHI, com aumentos de até 10.000 X, profundidade de foco de 1 mm, resolução de 30 nm, 15 KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa). A referida análise foi realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais – CERTBIO, da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

### **3.5.2. Determinação do padrão de cristalinidade do amido por difração de raios X (DRX)**

Foram feitos difratogramas de raios X do amido natural, na forma de pó, contendo cerca de 11% de umidade. A amostra foi caracterizada quanto à estrutura por difração de raios X. A partir dos dados de difração foi realizada a identificação das fases e calculado o grau de cristalinidade. O equipamento utilizado foi LAB X – RAY Diffractometer 6000 da Shimadzu, com radiação monocromática de cobre. A varredura foi realizada na região de 10 a 40° - 2θ usando uma velocidade de 2° . min<sup>-1</sup> e radiação CuKα (λ = 1,5418 Å), gerada aplicando-se voltagem e corrente de 35 KV e 15 mA, respectivamente; para a identificação das fases foi utilizado o programa (Pmgr) da Shimadzu.

A cristalinidade foi obtida no programa PDF-2 utilizando-se o coeficiente de correção de Lorentz, quando foi possível calcular o índice de cristalinidade relativa (IC) desenvolvido por Lendi et al. (2000) calculado a partir dos difratogramas, segundo a Equação 3.12.

$$\%_{ICR} = \frac{IC - IA}{IC} \quad (3.12)$$

### **3.6. Planejamento fatorial para o processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga**

Com vista à realização da hidrólise ácida, foram estudadas, inicialmente, as variáveis independentes que mais influenciaram no processo de hidrólise, como temperatura, concentração dos ácidos sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) e fosfórico ( $H_3PO_4$ ) e tempo de reação e as variáveis dependentes o rendimento, as concentrações de glicose e hidroximetilfurfural (HMF) ( $mg.L^{-1}$ ) a partir do planejamento fatorial do tipo  $2^3$ , com três repetições no ponto central. Todos os experimentos foram realizados em duplicata objetivando-se a identificação das variáveis que influenciam significativamente o processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da manga. Para a análise de regressão dos dados experimentais do planejamento fatorial foi empregado o programa Statistica, versão 7.0.

Os valores reais dos níveis para os fatores codificados utilizados no planejamento são apresentados na Tabela 3.1 e na Tabela 3.2 se encontra a matriz de planejamento fatorial do tipo  $2^3$ , com triplicata no ponto central que foi executada para o processo de hidrólise ácida com os ácidos sulfúrico e fosfórico. Para melhor comparação o processo de hidrólise do amido extraído da semente da manga foi uma adaptação da metodologia empregada na hidrólise ácida do farelo de mandioca (FREITAS et al., 2009).

Os níveis reais apresentados foram definidos tomando-se como referência, os estudos de otimização de utilização da fécula de mandioca na produção de bioetanol (OLIVEIRA, 2011; SILVA et al. 2008) e a partir daí foram realizados testes preliminares para a escolha das concentrações do ácido sulfúrico e fosfórico, temperaturas e o tempo de reação, adaptando-se ao presente trabalho.

**Tabela 3.1** Níveis em valores reais para os fatores investigados no planejamento fatorial  $2^3$  com três repetições no ponto central

Variáveis	Nível (-1)	Ponto Central (0)	Nível (+1)
Concentração $H_2SO_4$ e $H_3PO_4$ (%)	1,0	3,0	5,0
Temperatura (°C)	80	90	120
Tempo de reação (min)	30	60	90

**Tabela 3.2** Matriz de planejamento fatorial do tipo  $2^3$  com três repetições no ponto central utilizada na hidrólise

Experimento (n°)	Temperatura da hidrólise (°C)	Tempo de reação (min)	Concentração do ácido (%)
1	-1 (80)	-1 (30)	-1 (1,0)
2	+1 (120)	-1 (30)	-1 (1,0)
3	-1 (80)	+1 (90)	-1 (1,0)
4	+1 (120)	+1 (90)	-1 (1,0)
5	-1 (80)	-1 (30)	+1 (5,0)
6	+1(120)	-1(30)	+1(5,0)
7	-1(80)	+1(90)	+1(5,0)
8	+1(120)	+1(90)	+1(5,0)
9	0(100)	0(60)	0(3,0)
10	0(100)	0(60)	0(3,0)
11	0(100)	0(60)	0(3,0)

Após execução da matriz de planejamento para cada processo de hidrólise, cada variável dependente foi analisada separadamente tendo o seu modelo gerado. A análise de variância (ANOVA) foi realizada para verificar a significância estatística dos modelos obtidos. A qualidade do ajuste do modelo foi expressa pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e sua significância estatística condicionada pelo teste F. Os efeitos das variáveis independentes e de suas interações foram mensurados pela análise do diagrama de Pareto e pelas curvas de superfície de resposta e curva de nível.

### 3.7. Hidrólise ácida do amido extraído da amêndoa da semente da manga

A hidrólise do amido da amêndoa da semente da manga foi realizada em reator de vidro, com refluxo, com as variáveis do processo determinadas pelo planejamento realizado anteriormente (Tabela 3.2).

Os ensaios foram realizados em um sistema formado por 06 reatores tubulares de aço inoxidável, com volume útil de 160 mL (Figura 3.4. B), com tampas de aço roscável em uma das extremidades, imerso por um banho de óleo com aquecimento controlado (Figura 3.4 A).

**Figura 3.4.** (A) Banho de óleo com aquecimento controlado sob agitação; (B) Reator tubular (Arquivo pessoal, 2014)



Para a produção do licor hidrolisado cada reator foi alimentado com 5 gramas do amido da semente da manga e 100 mL de catalisador ácido, nas diferentes concentrações e na proporção de solução ácida/amido de 1:20 (m/v) necessário para ocupar um volume do reator suficiente para não permitir grande variação na concentração da mistura hidrolisada.

Após a alimentação os reatores foram imersos no banho de óleo pré-aquecido com temperatura de 10 °C, acima da temperatura de trabalho, para facilitar o equilíbrio térmico na temperatura de trabalho, num tempo máximo médio de 5 minutos. A

hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga foi realizada em vários tempos 30, 60 e 90 minutos, temperaturas de 80, 90 e 120 °C e concentração das soluções de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> de 1,0, 3,0 e 5,0%, escolhidas através de planejamento fatorial do tipo 2<sup>3</sup>, com três repetições no ponto central; após atingir os tempos estabelecidos os reatores eram retirados do banho de óleo e resfriados rapidamente em água corrente, objetivando interromper a reação de hidrólise.

Ao término da hidrólise ácida a suspensão foi filtrada a vácuo, para a remoção dos compostos hidrolisados e o resíduo seco em estufa a 105°C ± 5 °C. Ajustou-se o pH do licor hidrolisado para o pH = 4,5 usando a solução de NaOH para, em seguida, submetê-lo à análise cromatográfica para a determinação das concentrações de glicose e hidroximetilfurfural (HMF), de acordo com o planejamento fatorial proposto.

### **3.7.1. Rendimento do processo de hidrólise ácida**

Para a determinação do rendimento do processo de hidrólise ácida, definido como a porcentagem do amido da manga que foi convertido em glicose, foi considerada a utilização de um fator de conversão de 100% assumindo que 100,0 gramas de amido produzem 110,0 g de glicose, segundo a equação 3.13.

$$\text{Rendimento da hidrólise \%} = \frac{\text{concentração de glicose hidrolisada} \times 100}{\text{concentração de glicose teórica}} \quad (3.13)$$

A concentração de glicose da hidrólise (mg.L<sup>-1</sup>) foi determinada a partir da análise cromatográfica realizada no licor hidrolisado, de acordo com a metodologia descrita no item 3.6.

### **3.8. Caracterização do licor hidrolisado do amido da manga**

As amostras dos licores hidrolisados obtidas após cumprimento da matriz do planejamento fatorial do tipo 2<sup>3</sup>, com triplicata no ponto central, foram submetidas a análise do teor de glicose e do inibidor hidroximetilfurfural (HMF) visando avaliar o ponto otimizado da concentração de açúcares fermentescíveis.



### **3.8.1. Determinação das concentrações de glicose e do inibidor hidroximetilfurfural (HMF)**

As concentrações de glicose e do inibidor hidroximetilfurfural (HMF) presentes nos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, foram determinadas por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), seguindo a metodologia descrita por NREL (2008). Para a análise utilizou-se um cromatógrafo equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); injetor manual com loop de 20 $\mu$ L; detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian) UV/ visível, comprimento de onda 284 nm; coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300mm x 7,7 mm; Varian); temperatura da coluna de 40 °C; fase móvel: solução de ácido sulfúrico 0,005 Mol/L com vazão de 0,6 mL/min e tempo de análise: 60 min. Antes de serem injetadas as amostras foram previamente diluídas e filtradas em filtro “Sep-Pack” C18 (Millipore).

## **3.9. Estudo do processo fermentativo do licor hidrolisado do amido da manga**

### **3.9.1. Obtenção do microrganismo**

A levedura utilizada na fermentação alcoólica para a produção de bioetanol foi a *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y- 904 e também o composto nutricional industrial Nitrofós, produzida e doada pela CBB – Biomassa e Bioprocessos contendo os elementos: fósforo, nitrogênio, magnésio, manganês e zinco na forma seca, mantido a -18 °C até o uso.

### **3.9.2. Fermentação do licor hidrolisado**

As fermentações alcoólicas dos licores hidrolisados foram realizadas em Becker com volume final de 1L, contendo 500 mL do licor hidrolisado (Figura 3.5), 0,3 g de nutrientes Nitrofós (0,6 g.L<sup>-1</sup>) e 6 g de levedura. A agitação do meio fermentativo foi mantida em uma câmara incubadora com movimento rotatório (SHAKE – Tecnal TE-420) a 170 rpm, em temperatura controlada de 32 °C, para avaliar a produção de etanol.

**Figura 3.5.** Licores hidrolisados pelos catalisadores: (a) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e (b) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>



As fermentações dos licores hidrolisados foram acompanhadas, ao longo do tempo, pelas medidas de concentrações de glicose e etanol, ao final de 12 h. Alíquotas de 1 mL, do meio em fermentação, foram coletadas em intervalos regulares de 1 h e centrifugadas em centrífuga marca Cu-5000 – Damon/IEC Division, a 5000 rpm, por 15 min, para a separação das células de levedura do sobrenadante. O sobrenadante foi diluído e filtrado em membrana de PTFE (politetrafluoroetileno) com porosidade de 0,20 µm (Chromafil Xtra) para a determinação das concentrações de glicose e etanol por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

As cinéticas de fermentação alcoólica foram interrompidas quando, praticamente, todo o substrato limitante (glicose) havia sido consumido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y- 904.

### 3.10. Determinação dos parâmetros fermentativos

#### 3.10.1. Fator de conversão de glicose em etanol ( $Y_{P/S}$ )

O fator de conversão de glicose em etanol expressa a quantidade de etanol formado por unidade de substrato limitante consumido, calculado de acordo com a Equação 3.14.

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{P_f - P_i}{S_f - S_i} \quad (3.14)$$

onde:

$Y_{P/S}$  - Fator de conversão de glicose em etanol, g etanol formado/g glicose consumida, g/g

$P_f$  e  $P_i$  - Concentração final e inicial de produto etanol, g/L<sup>-1</sup>

$S_f$  e  $S_i$  - Concentração final e inicial de produto glicose, g/L<sup>-1</sup>

### 3.10.2. Produtividade volumétrica em etanol ( $Q_P$ )

A produtividade volumétrica em etanol expressa a concentração de etanol produzido por tempo de fermentação, determinada através da Equação 3.15.

$$Q_P = \frac{\Delta P}{\Delta t} = \frac{P_f - P_i}{t_f - t_i} \quad (3.15)$$

onde:

$Q_P$  - Produtividade volumétrica em produto etanol, g etanol/formado/L.h

$\Delta t$  - Intervalo de tempo do processo fermentativo, h

$P_f$  e  $P_i$  - Concentrações final e inicial de etanol, g/L<sup>-1</sup>

$t_i$  e  $t_f$  - Tempos inicial e final de fermentação, h

### 3.10.3. Eficiência de conversão $\eta$ (%)

A eficiência do processo de fermentação foi calculada com base no rendimento teórico proveniente da equação de Gay-Lussac (0,511 g etanol/g glicose), conforme a Equação 3.16.

$$\eta = \frac{Y_{P/S \text{ obtido}}}{Y_{P/S \text{ teórico}}} \times 100 \quad (3.16)$$

onde:

$\eta$  - Eficiência de conversão, %

$Y_{P/S \text{ obtido}}$  - Fator de conversão dos açúcares

$Y_{ps\text{teórico}}$  - Fator 0,511 g etanol/g ART, para o etanol, segundo Schell et al. (2007).

#### **3.10.4. Porcentagem de consumo de glicose (Y%)**

A quantidade de glicose consumida durante os ensaios fermentativos expressa em porcentagem foi calculada através da Equação 3.17.

$$Y(\%) = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100 \quad (3.17)$$

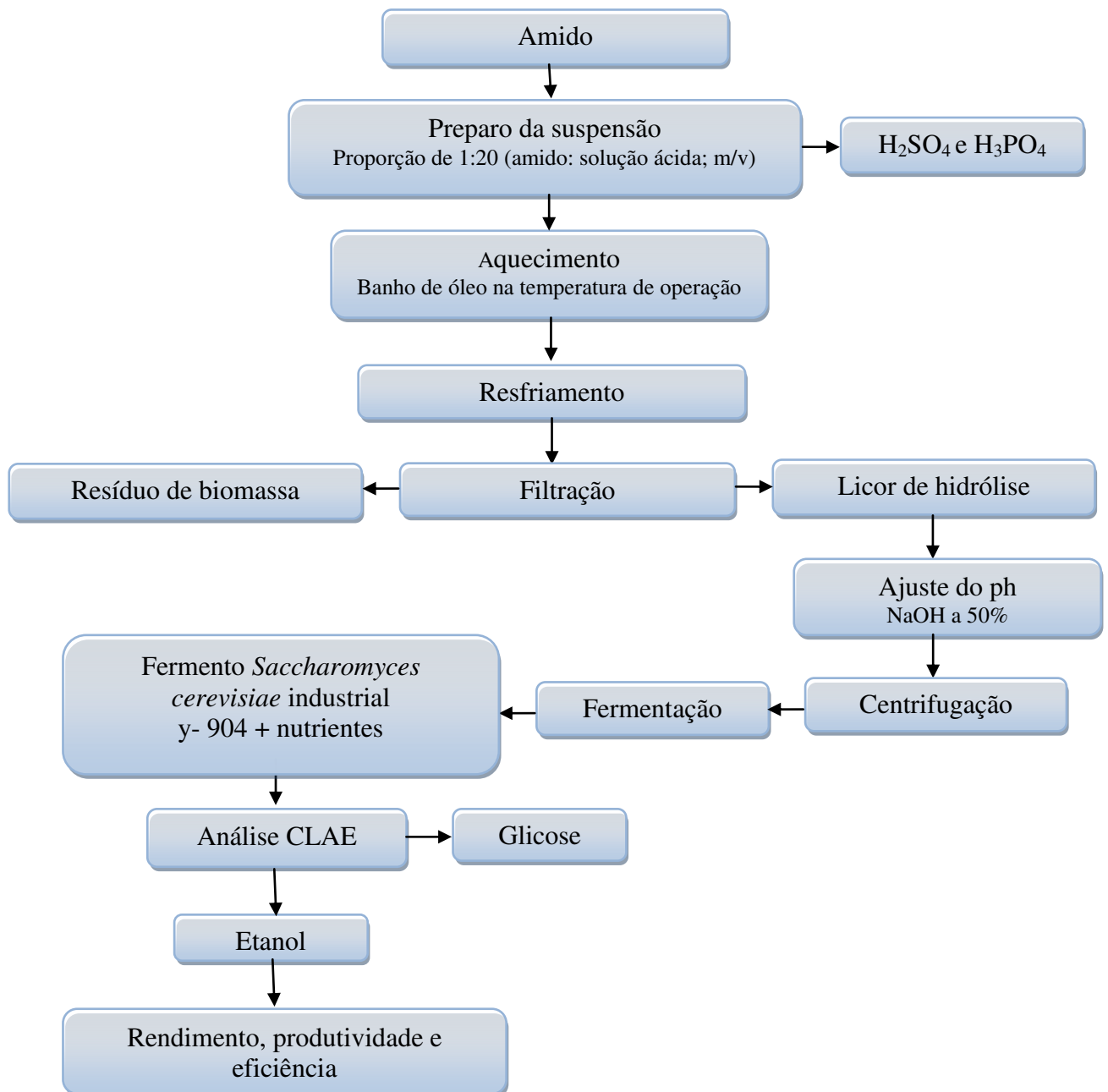
onde:

$S_f$  é a concentração final de açúcar e  $S_i$  a concentração inicial de açúcar,  $g/L^{-1}$

#### **3.11. Metodologia de hidrólise ácida para a produção de etanol**

O procedimento das etapas para a realização do processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga para a produção de etanol, nas condições otimizadas, a partir do planejamento experimental para a determinação da concentração de glicose e de hidroximetilfurfural, utilizando os dois catalisadores em estudo, é apresentado no fluxograma da Figura 3.6.

**Figura 3.6** - Fluxograma apresentando cada uma das etapas do processamento de hidrólise ácida para a produção de etanol



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização físico-química da amêndoa da semente da manga

Na Tabela 4.1 são apresentados os valores médios e os desvios padrões da caracterização físico-química da amêndoa da semente da manga.

**Tabela 4.1** – Composição físico-química da amêndoa da semente da manga

Constituintes (%)	Valores médios*
Amido	23,61± 0,68
Teor de água (%)	65,2 ±0,47
Cinzas (%)	0,99 ±0,02
Proteínas (%)	2,95 ±0,02
Lipídeos (%)	6,03 ±0,07
Acidez total (%)	1,35 ±0,02
Açúcares redutores (%)	2,47 ±0,04
Açúcares totais (%)	2,88 ±0,02
pH	5,78 ± 0,02
Fibras bruta (%)	0,93 ±0,03

\*Médias seguidas de desvios padrões

A amêndoa da semente da manga apresentou teor de amido 23,61%. O valor foi menor que o encontrado por Araujo et al. (2010) no estudo das amêndoas contidas nas sementes das mangas “Tipo tommy”, “Tipo rosa” e “Tipo espada”, que foi de 41,54%.

Observa-se que o valor de teor de água apresentado na Tabela 4.1 para a amêndoa da semente da manga, foi próximo do encontrado por Oliveira et al. (2010), de 68,52%.

Cavalcanti et al. (2011b), reportaram, estudando a amêndoa do caroço da manga Tommy Atkins, uma média para lipídeos de 6,52%, valor bem próximo ao encontrado neste trabalho, de 6,03%.

O índice de acidez está intimamente relacionado com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação da gordura (MORETTO e FETT, 2002). Logo, o resultado encontrado, 1,35%, foi satisfatório, uma vez que não foi obtido

alto teor de acidez. Souza et al. (1986), citam que o máximo calculado para acidez em amêndoa é 2,0%. Quanto ao valor de acidez titulável encontrado neste trabalho, foi de 1,35% para a amêndoa da semente da manga, um pouco acima do valor encontrado por Costa et al. (2009), em sua pesquisa sobre a avaliação físico-química e microbiológica da amêndoa da castanha de caju, que foi de 0,56%.

Os valores médios de açúcares redutores e açúcares totais para a amêndoa da semente da manga, foram próximos, acima dos encontrados por Ferrari et al. (2005), estudando características dos rizomas e do amido de araruta (*Maranta arundinacea*) em diferentes estádios de desenvolvimento da planta.

Quando analisado o teor de fibra bruta na amostra da amêndoa da manga, ela apresentou 0,93 % ( $\pm 0,10$ ), mostrando que o material não é tão rico em fibras. Comparando o valor encontrado por Ramos et al. (2011), de 2,85%, para a amêndoa de pequi, observa-se um valor 3 vezes inferior mostrando baixo valor de fibras para a espécie em estudo.

As médias dos valores para cinzas e proteínas das amêndoas das sementes da manga encontrados, de 0,99%, 2,95%, respectivamente, foram inferiores às dos valores encontrados por Cavalcanti et al. (2011a), que obtiveram valores médios de cinzas e proteínas iguais a 2,18% e 6,95%. De acordo com Brasil (2002), só são considerados alimentos sólidos ricos em proteínas quando o teor de proteína se encontra acima de 5%; portanto, as sementes de manga não se enquadram nesta categoria por sua baixa quantidade de proteína.

O valor do pH encontrado para a amêndoa da semente da manga foi de 5,78, próximo ao encontrado por Araujo et al. (2010), que reportaram pH igual a 5,63, também para semente de manga espada.

#### **4.2. Caracterização físico-química do amido extraído da amêndoa da semente da manga**

O resultado da composição físico-química do amido extraído da amêndoa da semente da manga (*Mangifera indica* L.) correspondente aos teores de amido, teor de água, cinzas, proteínas, lipídeos, acidez total, açúcares totais, pH e fibras bruta, está exposto na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2** – Composição físico-química do amido extraído da manga

Constituintes (%)	Valores médios*
Amido	60,72± 0,61
Teor de água (%)	8,02 ± 0,26
Cinzas (%)	0,19 ± 0,01
Proteínas (%)	2,84 ± 0,14
Lipídeos (%)	0,57 ± 0,07
Acidez total (%)	0,76 ± 0,04
Açúcares totais (%)	Não encontrado
pH	4,34±0,02
Fibra bruta (%)	Não encontrado

\*Médias seguidas de desvios padrões.

Os resultados apresentados estão de acordo com os requisitos mínimos exigidos pela legislação brasileira para amidos comerciais que permite pelo menos 14% de umidade, 0,5% de cinzas no máximo e 80% de amido (BRASIL, 1978).

O resultado obtido para o teor de amido, de 60,72% (Tabela 4.2) é inferior ao encontrado por Cordeiro et al. (2010) estudando o amido do polvilho da fruta de lobo 86,12%, porém se mostra bastante promissor para utilização da semente de manga como fonte amilácea.

O valor encontrado para o teor de água 8,02% pode ser comparado ao encontrado por Barboza et al. (2010) que, analisando o amido extraído da semente da fruta *swartzia langsdorffii*, obtiveram, como resultado, 7,58%.

O teor de cinzas determinado para o amido extraído da manga foi de 0,19%, valor próximo ao encontrado por Cristina et al. (2010) estudando a extração e a caracterização de amido de jacatupé, que foi 0,21%.

O percentual do teor de proteínas encontrado de 2,84% foi superior ao encontrado por Cordeiro et al. (2011) que, avaliando o teor de proteína contido no amido extraído do caroço da manga da variedade *tommy atkins*, observaram que a mesma continha 1,14%. De acordo com Liu e Thompson (1998), aproximadamente 10% das proteínas estão na superfície do grânulo e em geral elas não influenciam nas propriedades tecnológicas do amido. Segundo Franco et al. (2002), o teor de proteínas e cinzas no amido depende da composição da planta e do método de extração e purificação.



O teor percentual de lipídeos encontrado na amêndoa da semente da manga de 0,57%, foi similar ao apresentado por Tango et al. (2004) que encontraram 0,5%, trabalhando com a composição química do caroço de fruto de abacate da variedade Vitória. Moura (2008) cita que é preferível amido com teor de lipídeos abaixo de 1% pois isto torna o amido mais neutro e menos sujeito a complexações.

De acordo Wang e White (1994), dos constituintes presentes em menores concentrações os que mais influenciam as propriedades funcionais dos amidos são os lipídios. Para os mesmos autores quanto maior a quantidade de lipídios menor será a temperatura de gelatinização do amido, o que sugere menor organização da estrutura cristalina do amido.

O amido da amêndoa da manga apresentou pH em torno de  $4,34 \pm 0,04$ , semelhante ao encontrado por Costa et al. (2012) que observaram um pH igual a 4,98, quando trabalharam com a farinha da amêndoa da manga.

Quanto ao valor de acidez titulável, apresentado na Tabela 4.2, observou-se teor médio de 0,76% para a amêndoa da semente da manga, resultado que está um pouco acima do encontrado por Leonel et al. (2003), em sua pesquisa sobre a caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas, que foi de 0,64%.

### **4.3. Rendimento do processo de extração do amido da amêndoa da semente da manga**

Na Tabela 4.3 se encontram os valores relativos aos rendimentos de extração: rendimentos práticos e rendimentos em termos de matéria seca, verificados para o amido da amêndoa da semente da manga quando utilizada a secagem na temperatura de 50 °C.

**Tabela 4.3** – Valores dos rendimentos práticos, rendimento em termos de matéria seca e desvio padrão nos processos de extração verificados durante a secagem do amido da manga, a temperatura de 50 °C

<b>Extrato amiláceo</b>	<b>Rendimento (%)</b>	
	<b>Prático</b>	<b>Em termos de matéria seca</b>
<b>Amido da manga</b>	14,87 ± 0,57	3,35 ± 0,03

O rendimento da extração do amido da amêndoa da semente da manga encontrado para este trabalho foi de 3,25%, tomando-se como referência a massa seca da amêndoa cujo valor é 14,87% para o rendimento prático. Este valor de rendimento prático foi bem próximo ao rendimento prático obtido por Cristina et al. (2010), no processo de extração do amido de jacatupé que foi de 14,54%, e superior ao encontrado por Silva et. al. (2008), que obtiveram um rendimento prático de 8,91%, ao fazer o balanço de massa do processo de extração em relação ao peso das sementes da jaca. Tal diferença entre o valor de rendimento citado pela literatura pode estar relacionada a diferenças nos locais de cultivo, épocas de colheita ou mesmo pelo método de extração empregado na obtenção do amido extraído da amêndoa da semente da manga.

Comparando ao rendimento de outras fontes amiláceas comumente utilizadas para a obtenção do amido, como o amido de batata-doce 9,1% (ZAVAREZE et al. 2009), batata inglesa 18% (LIU et al. 2007), inhame (18 a 23%) (NUNES et al. 2009) e de mandioquinha-salsa 10,3% (MATSUGUMA, 2006), percebe-se o potencial industrial da amêndoa da semente da manga como fonte de amido porém a utilização das sementes de jaca como fonte de amido, torna-se viável tendo em vista que a mesma é um resíduo agroindustrial. Além disto, a farinha obtida após a extração do amido ainda pode ser utilizada como ingrediente para a fabricação de pães, biscoitos e bolos (SANTOS, 2009).

A extração do amido constitui-se em uma das etapas mais difíceis da pesquisa visto que as condições em que esta extração se faz, assim como as técnicas de secagem podem alterar a cristalinidade do grânulo e, conseqüentemente suas propriedades funcionais (CEREDA 2001).

#### **4.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do amido natural e hidrolisado**

A utilização da Microscopia Eletrônica foi feita para analisar se as amostras do amido da manga sofreram modificações com a ação dos dois tipos de catalisadores: para isto, foram utilizados os melhores resultados do processo da hidrólise ácida (ponto otimizado).

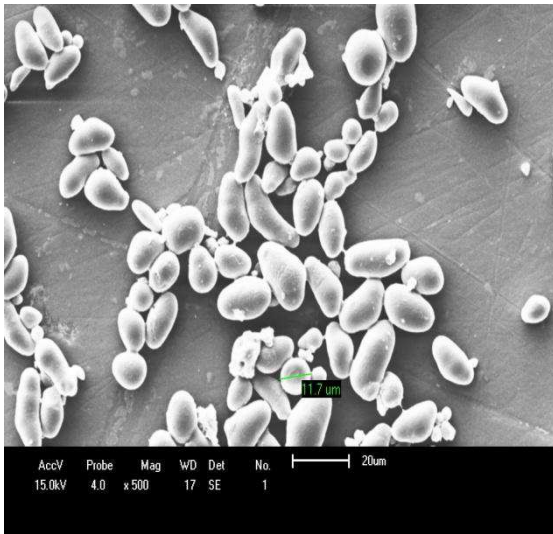
A forma e o tamanho dos grânulos do amido natural e hidrolisados são distintos entre as espécies vegetais. Os grânulos são organizados em zonas cristalinas alternadas por outras semicristalinas, em razão da alternância dos períodos de síntese ocorridos nos amiloplastos. Nas Figuras 4.1, 4.2 e 4.3 são apresentadas as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para o amido extraído das amêndoas da semente da manga com aumento de “500 a 3000x”, respectivamente.

As imagens dos grânulos do amido natural da amêndoa da semente da manga apresentam, quando observados em Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 4.1.) apresentam grânulos com formato elipsoide e oval, alguns alongados com tamanhos variáveis. Observaram-se, também, alguns grânulos íntegros com uma estrutura lisa e não danificada, com algumas ranhuras causadas provavelmente pelo método de extração. Quanto ao tamanho dos grânulos o amido da manga apresentou dimensões médias de 19,6  $\mu\text{m}$  de comprimento e 10,9  $\mu\text{m}$  de largura, coerentes com os valores observados por Oliveira et al. (2009) para amido de grão de bico.

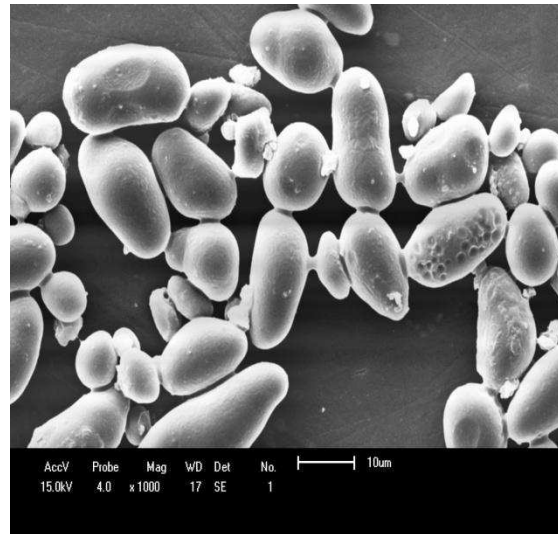
Rocha et al. (2008) obtiveram um diâmetro médio de 14,7  $\mu\text{m}$  para o amido de mandioquinha-salsa, da variedade ASA. Silva et al. (2013) constataram que os grânulos do amido das amêndoas da manga variedade Tommy Atkins apresentaram formato irregular com predominância de formatos esféricos a elipsoidais e tamanhos diferenciados. Comportamento semelhante foi verificado por Kaur et al. (2004) ao observarem, pela mesma metodologia para o amido obtido de amêndoas de manga de 5 cultivares indianos, tamanho de pequeno a grande e formato de oval a elíptico.

As espécies de plantas e maturação dos frutos podem variar a forma e o tamanho dos grânulos de amido. Leonel e Cereda (2002) observaram que os grânulos do amido da araruta possuem forma circular e ovalada, de tamanhos variando de 9 a 42  $\mu\text{m}$ , com predomínio na faixa de 20  $\mu\text{m}$ .

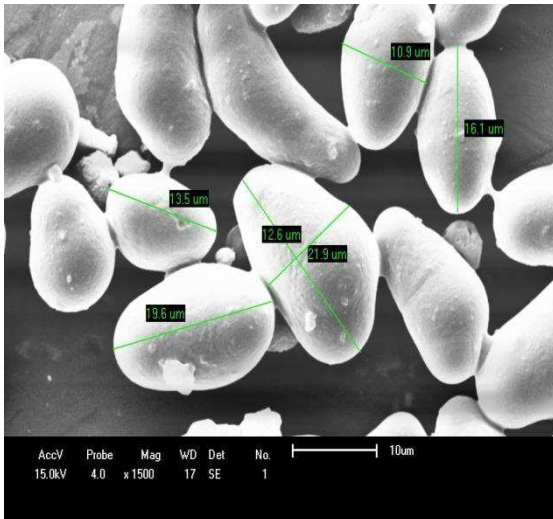
**Figura 4.1** - Imagens das partículas resultantes do amido natural



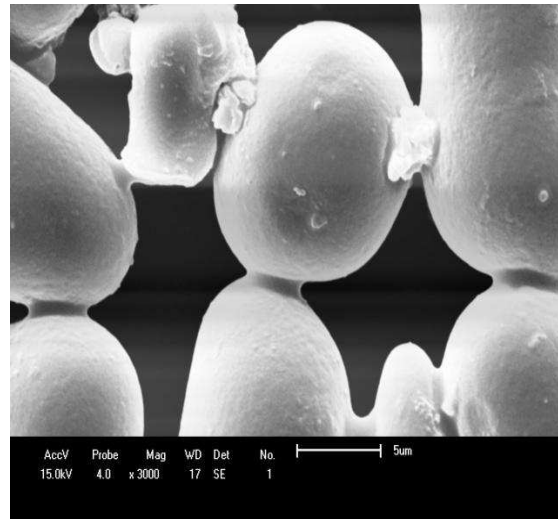
Amido natural, aumento de 500vezes



Amido natural, aumento de 1000 vezes



Amido natural, aumento de 1.500 vezes



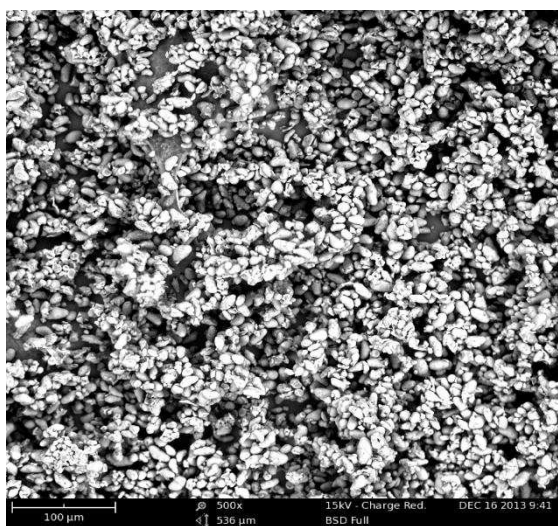
Amido natural, aumento de 3.000 vezes

Observam-se, Figura 4.2, diferenças no aspecto geral (tamanho e forma) dos grânulos do amido hidrolisado devido ao tratamento aplicado. O amido hidrolisado com  $H_2SO_4$ , na condição otimizada de operação, apresentou grânulos relativamente menores. Verificam-se, na sua estrutura, partículas com aglomerados e “pontos brancos” que podem ser evidências do ataque promovido pelo ácido à estrutura do grão do amido. Os grânulos do amido hidrolisado com  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$  apresentaram diferenças em comparação ao amido natural. Constata-se que, com  $H_2SO_4$ , sua morfologia original foi drasticamente modificada apresentando aglomerados de grânulos disformes, ovais e poucos grânulos intactos, em virtude do processo de hidrólise ácida podendo ser justificado pelo elevado poder ionizante do ácido sulfúrico frente ao ácido fosfórico.

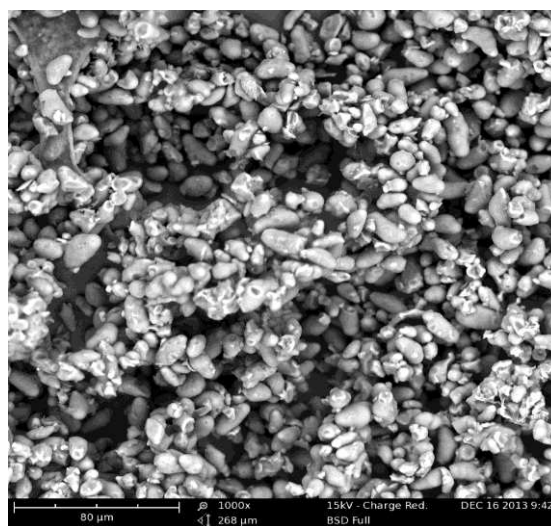
Nas imagens, Figura 4.2, observa-se que o tratamento ácido modificou a estrutura dos grânulos aumentando a porosidade e a forma da superfície que, na espécie nativa, se encontra sem protuberâncias. Também se observa que a hidrólise não foi uniforme pois alguns grânulos parecem mais afetados que outros.

Silva (2010), afirma surgirem diferenças na morfologia dos grânulos de amido de inhame não modificado e oxidado, observando alterações provocadas na sua estrutura quanto à forma, tamanho e integridade física, apresentando comportamento similar ao do presente trabalho; comportamento semelhante foi observado por Cordeiro et al. (2010), estudando o amido de caroço manga.

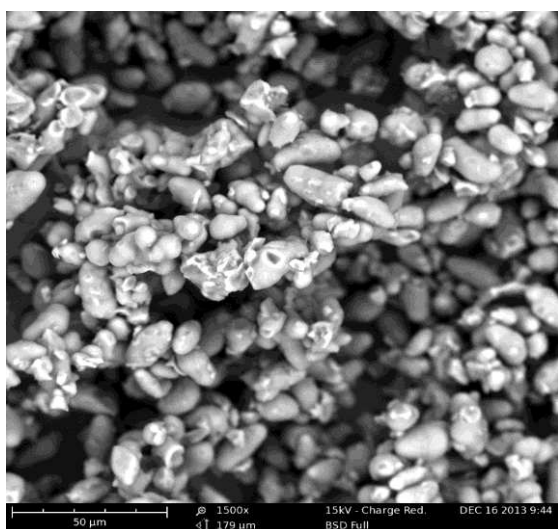
**Figura 4.2** - Imagens das partículas resultantes do amido hidrolisado com  $H_2SO_4$



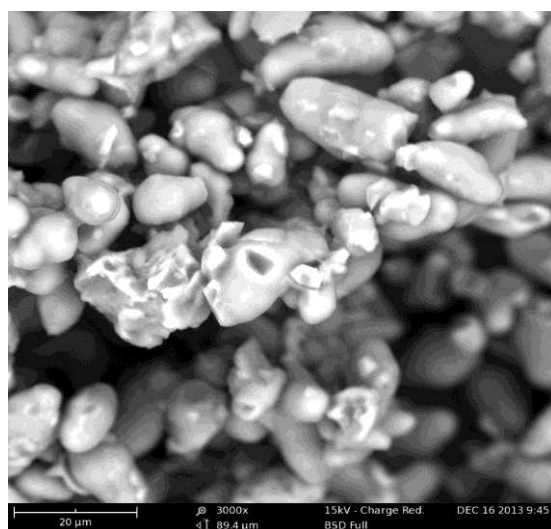
Amido hidrolisado, aumento de 500vezes



Amido hidrolisado, aumento de 1000 vezes



Amido hidrolisado, aumento de 1.500 vezes



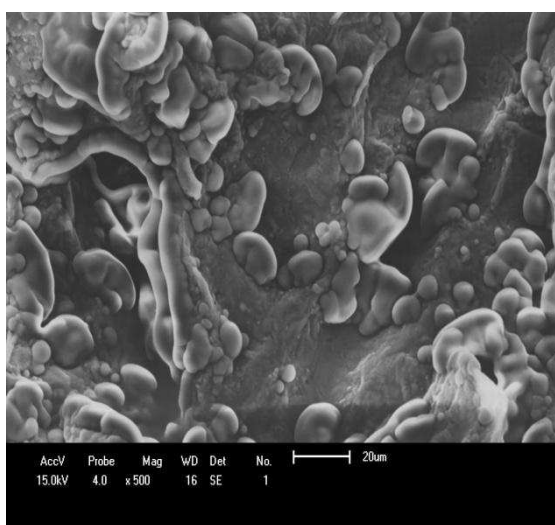
Amido hidrolisado, aumento de 3.000 vezes

Na Figura 4.3 é possível visualizar as mudanças físicas e as estruturais nos grânulos do amido hidrolisado no ponto otimizado, com  $H_3PO_4$ , suas formas e seus tamanhos variados. A maior parte dos grânulos apresentou formas compactadas, achatadas e irregulares. Comportamento semelhante foi observado por Muccilo (2009), trabalhando com amido de pinhão tratado com  $(NaOH\ 0,1\ mol.l^{-1})$ . O autor visualizou um filme contínuo devido à total perda da estrutura granular e isto pode ser observado pelo aspecto de gel apresentado pela amostra analisada. Um efeito similar foi observado por Cardoso et al. (2006), quando grânulos de amido de arroz foram tratados com  $NaOH\ (0,30\% m/v)$ . Em ambos os casos o efeito está relacionado ao tratamento alcalino o qual gera a gelatinização do amido em concentrações maiores que  $0,24\% (m/v)$  (Cardoso et al. 2007).

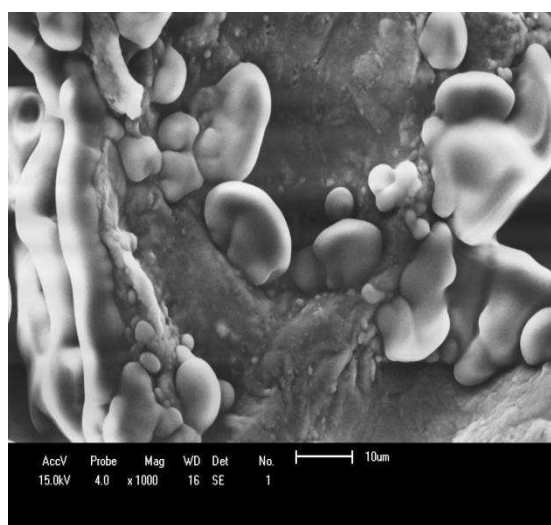
Almeida et al. (2013) encontraram, no amido oxidado, de taro, grânulos um pouco mais inchados e também bastante aglomerados. De acordo com os autores esses resultados estão correlacionados com o maior poder de intumescimento dos amidos com esse tipo de modificação, devido à introdução dos grupos carboxila no seu interior favorecendo a absorção de água na região amorfa e aumentando o volume dos grânulos.

Dessalta-se que todas as características morfológicas observadas no amido da manga natural e hidrolisado com os dois catalisadores  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$  são extremamente importantes na determinação das propriedades funcionais desses amidos.

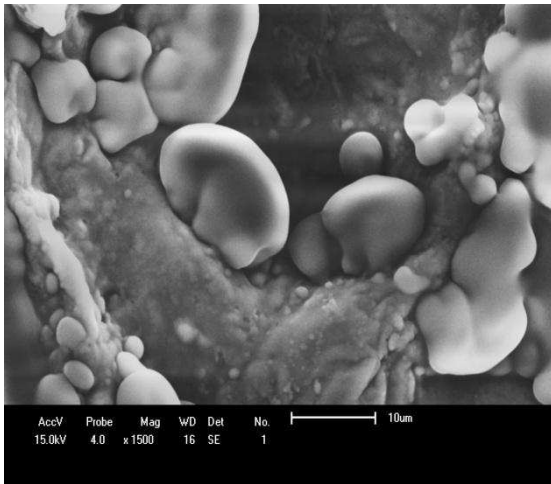
**Figura 4.3** - Imagens das partículas resultantes do amido hidrolisado com  $H_3PO_4$



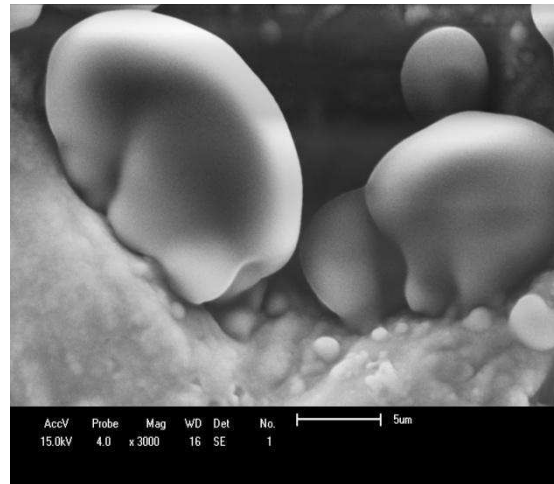
Amido hidrolisado, aumento de 500vezes



Amido hidrolisado, aumento de 1000 vezes



Amido hidrolisado, aumento de 1.500 vezes



Amido hidrolisado, aumento de 3.000 vezes

#### 4.5. Análise da cristalinidade do amido da manga por difração de raios X (DRX)

O amido possui estruturas polimórficas cristalinas específicas são estudadas por raios X (DAMAGER et al. 2010).

A análise por técnica de difração de raios X permite distinguir os três tipos de cristalinidade para os grânulos que, dependendo de sua forma e da estrutura cristalina, denominados A, B e C (CEREDA, 2001). Esses padrões de cristalinidade dependem, em parte, do comprimento das cadeias de amilopectina, da densidade de empacotamento dentro dos grânulos e da presença de água (SAJILATA et al., 2006). Amidos com cristalinidade do tipo A apresentam picos de intensidade nos ângulos de difração  $2\theta$  em aproximadamente  $15,3^\circ$ ;  $17,1^\circ$ ;  $18,2^\circ$  e  $23,5^\circ$ ; tipo B em aproximadamente  $5,6^\circ$ ,  $14,4^\circ$ ;  $17,2^\circ$ ;  $22,2^\circ$ , e  $24^\circ$ ; tipo C, em aproximadamente  $5,6^\circ$ ,  $15,3^\circ$ ;  $17,3^\circ$  e  $23,5^\circ$  (SAJILATA et al., 2006). Há, ainda, um quarto tipo de cristalinidade, o tipo V, formado pela cristalização da amilose com lipídios que apresenta picos de intensidade nos ângulos de difração  $2\theta$  em aproximadamente  $12,6^\circ$ ,  $13,2^\circ$ ,  $19,4^\circ$  e  $20,6^\circ$  (CORRADINI et al., 2005).

Os grânulos do amido proporcionam, por serem parcialmente cristalinos, padrões específicos de difração de raios X, que variam de acordo com a fonte vegetal. O padrão do tipo A é característico de cereais, o padrão do tipo B de tubérculos, de frutas, de milho com alto teor de amilose e dos amidos retrogradados e o padrão do tipo C é considerado uma mistura dos padrões dos tipos A e B e é característico de amidos de leguminosas (BELLO – PEREZ et al. 2006). Embora não haja um padrão de cristalinidade atribuído aos amidos oriundos de frutos, o resultado obtido para o amido

extraído da amêndoa da semente da manga foi identificado com cristalinidade do tipo A o que é confirmado por estudos anteriores (LOBO e SILVA, 2003).

O grau de cristalinidade calculado para o amido natural da manga pela Eq. (3.11) no item (3.5.2.) está ilustrado na Tabela 4.4. O grau de cristalinidade do amido é proporcional à sua composição, os amidos regulares são compostos de 70 a 80% por amilopectina e de 20 a 30% por amilose (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005). O grau de cristalinidade encontrado está de acordo com a literatura que diz que o índice de cristalinidade relativa ( $I_{CR}$ ) para os amidos regulares deve estar compreendido entre 20 e 45% (VAN SOEST e VLIEGENTHART, 1997).

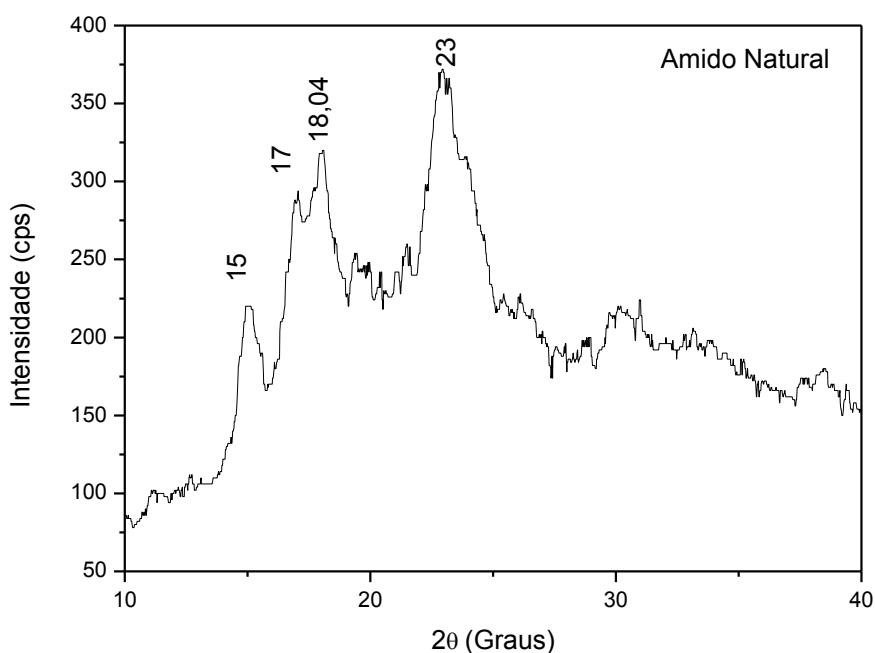
**Tabela 4.4.** Grau de cristalinidade calculado para o amido natural da manga

<b>Extrato amiláceo</b>	<b>Grau de cristalinidade (%) <math>I_{CR}</math></b>
Amido de manga	19,64

O padrão de cristalinidade apresentado pelo amido da manga (Figura 4.4) evidenciou picos de maior intensidade nos ângulos  $2\theta = 15,0^\circ$ ,  $17,0^\circ$ ,  $18,04^\circ$ , e  $23,0^\circ$ , conferindo padrões de cristalinidade próximos ao tipo A<sup>(23)</sup>. Os resultados encontrados estão de acordo com os dados relatados por Lima et al. (2012), em que os autores afirmam que os amidos de milho e trigo são cereais e apresentam cristalinidade do tipo A. Segundo Teixeira et al. (1998), o padrão tipo A, termodinamicamente mais estável e mais denso do que o padrão B indica maior coesividade entre as moléculas.



**Figura 4.4** - Difratoograma de raios X do amido natural da amêndoa da semente da manga



Fonte: Arquivo pessoal (2014)

Dutta et al. (2011) observaram, estudando efeito da concentração do ácido e tempos de tratamento nas propriedades do amido de semente de jaca, um padrão de cristalinidade para amido nativo como sendo do tipo A; resultado semelhante foi encontrado nesta pesquisa. Cordeiro et al. (2010) verificaram picos de difração de raios X de maior intensidade nos ângulos  $2\theta = 17,6^\circ$ ;  $20,24^\circ$ ;  $21,16^\circ$  e  $27,3^\circ$ , conferindo padrões de cristalinidade próximos ao tipo A para o amido natural.

#### **4.6. Estudo da otimização da hidrólise ácida com os dois catalisadores $H_2SO_4$ e $H_3PO_4$**

Na Tabela 4.5 se apresentam os valores reais das variáveis independentes: a temperatura, o tempo de reação e as concentrações dos ácidos e os resultados obtidos para as variáveis dependentes: a concentração de glicose, a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) e o rendimento da hidrólise ácida, de acordo com o planejamento experimental.

Observa-se, na Tabela 4.5, que a concentração de glicose presente no licor hidrolisado com o catalisador ( $H_2SO_4$ ) variou de 40,34  $mg/L^{-1}$ (experimento 3) a 30.123,71  $mg/L^{-1}$ (experimento 6) e a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) nos 11 experimentos apresentou resultados sendo que o valor máximo encontrado foi de 217,92  $mg/L^{-1}$ (experimento 8). O maior rendimento de hidrólise 89,4% foi observado no experimento 6, cujo valor foi obtido pela razão entre o maior valor encontrado para a concentração de glicose 30.123,71 $mg.L^{-1}$ . Verifica-se, ainda, que os experimentos no ponto central apresentaram pequena variação para todas as variáveis dependentes indicando boa repetibilidade do processo (experimentos 9,10 e 11).

**Tabela 4.5** – Matriz de planejamento experimental com as variáveis de estudo e das respostas obtidas no processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga para o  $H_2SO_4$

Experimento (n°)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	$H_2SO_4$ (%)	Glicose ( $mg/L^{-1}$ )	HMF ( $mg/L^{-1}$ )	Rendimento (%)
1	80	30	1	369,1	1,8	1,1
2	120	30	1	21.877,26	18,79	65,0
3	80	90	1	40,34	0,5	0,12
4	120	90	1	28.397,67	118,49	84,3
5	80	30	5	0	0,57	0
<b>6</b>	<b>120</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	<b>30.123,71</b>	<b>130,04</b>	<b>89,4</b>
7	80	90	5	2.886,29	0,31	8,5
8	120	90	5	26.449,24	217,92	78,5
9	100	60	3	20.055,99	3,18	59,5
10	100	60	3	20.055,16	7,13	59,5
11	100	60	3	17.761,75	6,33	52,7

Analisando os dados apresentados na Tabela 4.5 nota-se que dentre os tratamentos o experimento 6 foi o que apresentou maior concentração de glicose na hidrólise ácida, com valor de 30.123,71  $mg/L^{-1}$ , porém ocorreu alta formação de HMF, cerca de 130,04  $mg/L^{-1}$ , possível inibidor no processo fermentativo que também apresentou valor superior ao dos demais tratamentos avaliados.

Com os valores apresentados na Tabela 4.5 foram construídos diagramas de Pareto, superfícies de resposta e equações. Nesta etapa se investigou, através da metodologia do planejamento estatístico de experimentos e análise de superfícies de

resposta, a ação dos efeitos principais temperatura, tempo de reação e concentração do ácido, além das interações entre os três fatores, que influenciaram significativamente as concentrações de glicose e HMF no processo de hidrólise ácida.

Para consolidar a escolha do ponto otimizado da hidrólise ácida para o processo fermentativo a partir dos resultados obtidos para a concentração de glicose (Tabela 4.5), os dados foram tratados estatisticamente considerando-se um intervalo de confiança de 95% ( $p \leq 0,05$ ), sendo possível determinar os coeficientes de regressão para os parâmetros em estudo, os quais se encontram apresentados na Tabela 4.6.

A Equação 4.1 corresponde ao modelo obtido para a concentração de glicose em que os termos em negrito representam as variáveis e suas interações que foram estatisticamente significativas:

$$\text{Concentração de glicose} = - \mathbf{51729,6} + \mathbf{596,7 T} + 1120,1 C + 0,6 t + 0,9 T \times C + 0,8 T \times t - 14,5 C \times t \quad (4.1)$$

**Tabela 4.6.** Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	-51729,6	6580,187	-7,8614	0,015798	-80041,9	-23417,3
Curvatura	5523,0	896,583	6,16007	0,025355	1665,3	9380,7
(T) Temperatura	596,7	63,037	9,46642	0,010976	325,5	868,0
(C) Concentração	1120,1	1282,287	0,87349	0,474504	-4397,2	6637,3
(t) tempo	0,6	82,955	0,00697	0,995072	-356,3	357,5
T x C	0,9	11,706	0,07700	0,945636	-49,5	51,3
T x t	0,8	0,780	1,02012	0,414983	-2,6	4,2
C x t	-14,5	7,804	-1,8633	0,203436	-48,1	19,0

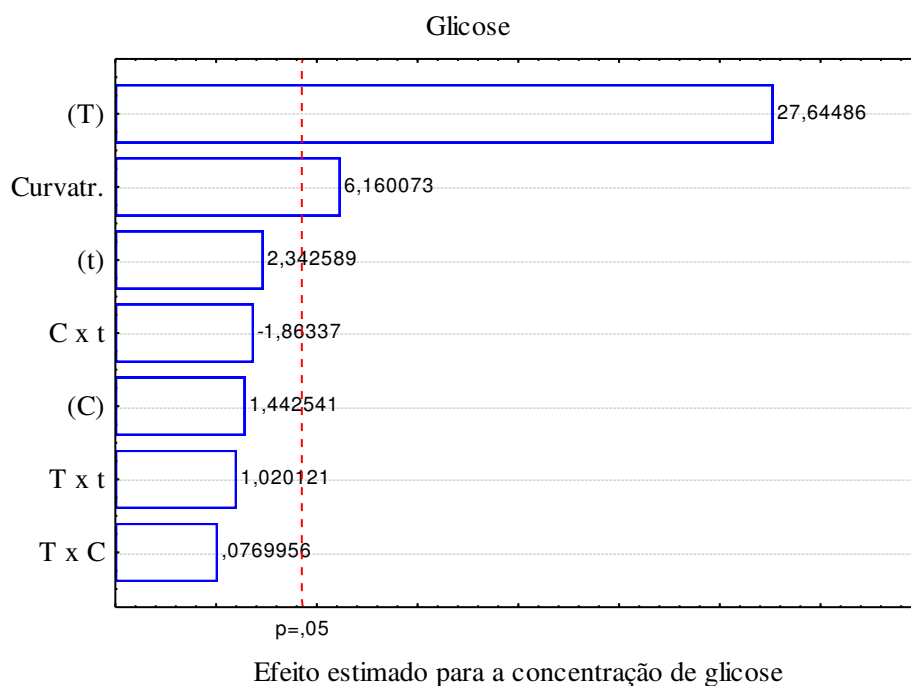
A eficiência da hidrólise ácida apresentou efeitos positivos sobre esta resposta para temperatura, concentração e tempo. O único efeito negativo é dado pela interação entre concentração/tempo; apesar disto, este efeito não é estatisticamente significativo.

A significância estatística dos efeitos individuais e combinados das variáveis independentes, é confirmada no diagrama de Pareto, na Figura 4.5. Através deste

diagrama é possível visualizar as variáveis independentes e suas interações sobre a concentração de glicose a nível de confiança. Os valores que ultrapassam o valor de p são considerados estatisticamente significativos.

Na Figura 4.5 observa-se o efeito das variáveis sobre a concentração de glicose a nível de 95% de confiança. Observa-se que a temperatura apresentou efeito estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) positivo sobre a concentração de glicose indicando, portanto, que a elevação da temperatura provoca aumento da concentração de glicose no licor hidrolisado com  $H_2SO_4$ . As variáveis tempo (t) e concentração do ácido  $H_2SO_4$  não apresentaram efeito estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ) sobre o processo porém sua presença teve contribuição positiva para a concentração de glicose. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi; neste caso, de 0,982.

**Figura 4.5** - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com  $H_2SO_4$ .



A Tabela 4.7 apresenta a análise de variância (ANOVA) utilizada para comprovar a significância estatística do modelo obtido (Equação 4.1), para a concentração de glicose no licor hidrolisado com o  $H_2SO_4$ . O resultado do coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo ( $R^2$ ) foi de 0,98213 indicando que, na resposta, a variabilidade pode ser explicada pelo modelo, valor este considerado satisfatório, sinalizando um modelo válido. Com relação ao teste

F, observa-se que o valor de  $F_{\text{calculado}}$  é 23,55 vezes maior que o  $F_{\text{tabelado}}$  mostrando que o modelo ajustado é estatisticamente significativo e preditivo.

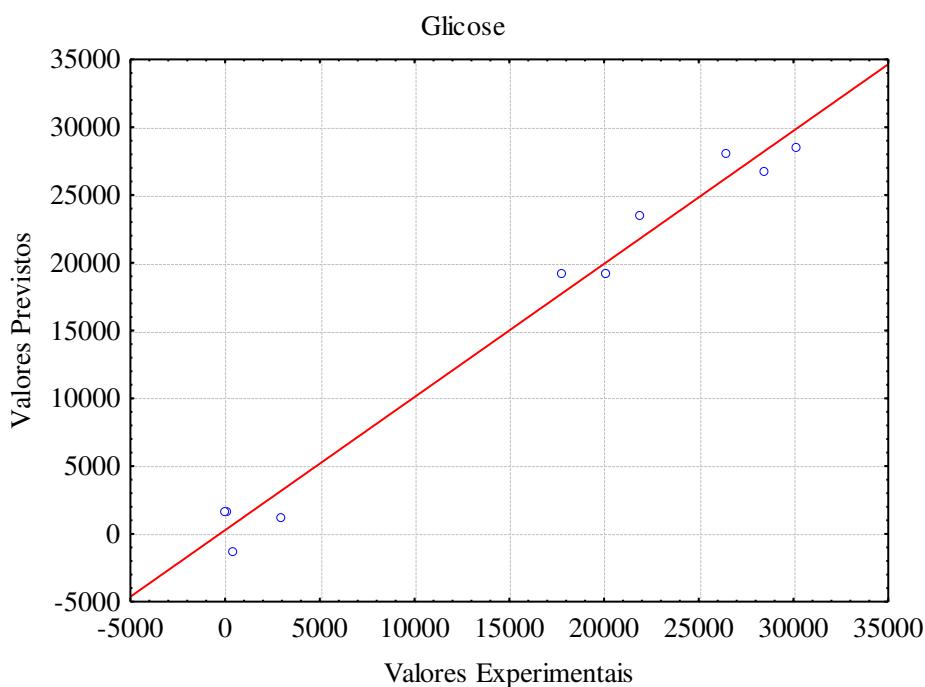
**Tabela 4.7** - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de **glicose** no licor hidrolisado com  $H_2SO_4$ .

Fonte de variação	SG	GL	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	1,43E+09	6	2,04E+08	3,39
<b>Resíduo</b>	2,60E+07	3	8,66E+06	
<b>Falta de ajuste</b>	2,25E+07	1	2,25E+07	
<b>Erro puro</b>	3,51E+06	2	1,75E+06	
<b>Total</b>	1,45E+09	9		
<b>% R<sup>2</sup></b>	0,98213			
<b>F<sub>tabelado</sub></b>	6,94		<b>F<sub>calculado</sub></b>	23,55

GL – grau de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios  
 Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{tabelado}}$ )

A Figura 4.6 pode-se confirmar que o modelo apresentou qualidade razoável de ajuste aos dados experimentais uma vez que os pontos experimentais se encontram distribuídos próximos à reta de ajuste.

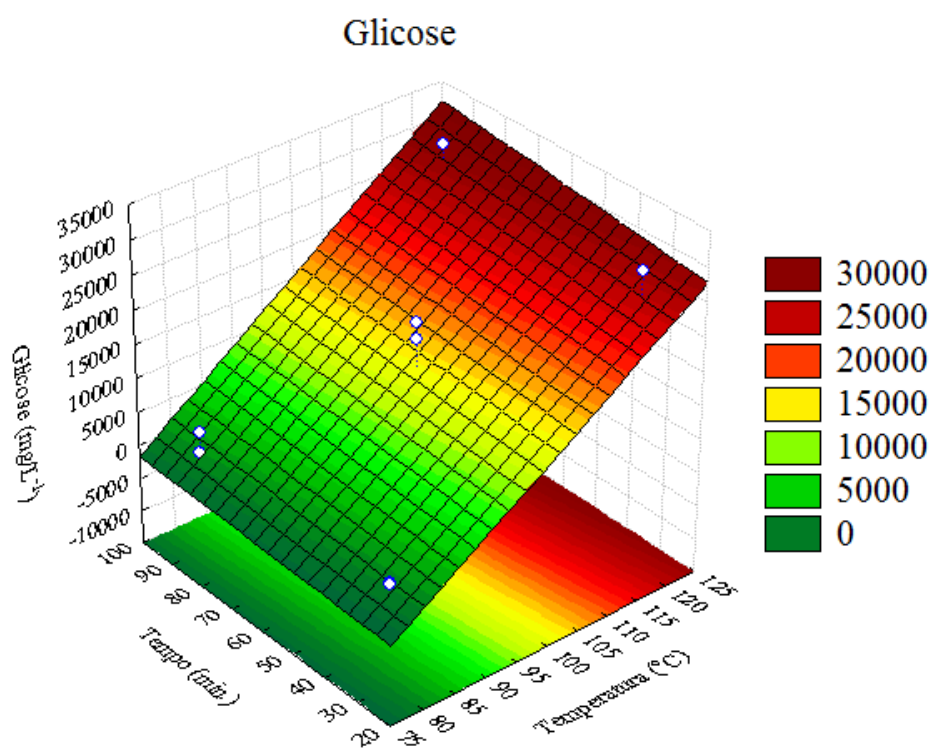
**Figura 4.6.** Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de glicose no licor hidrolisado com  $H_2SO_4$ .

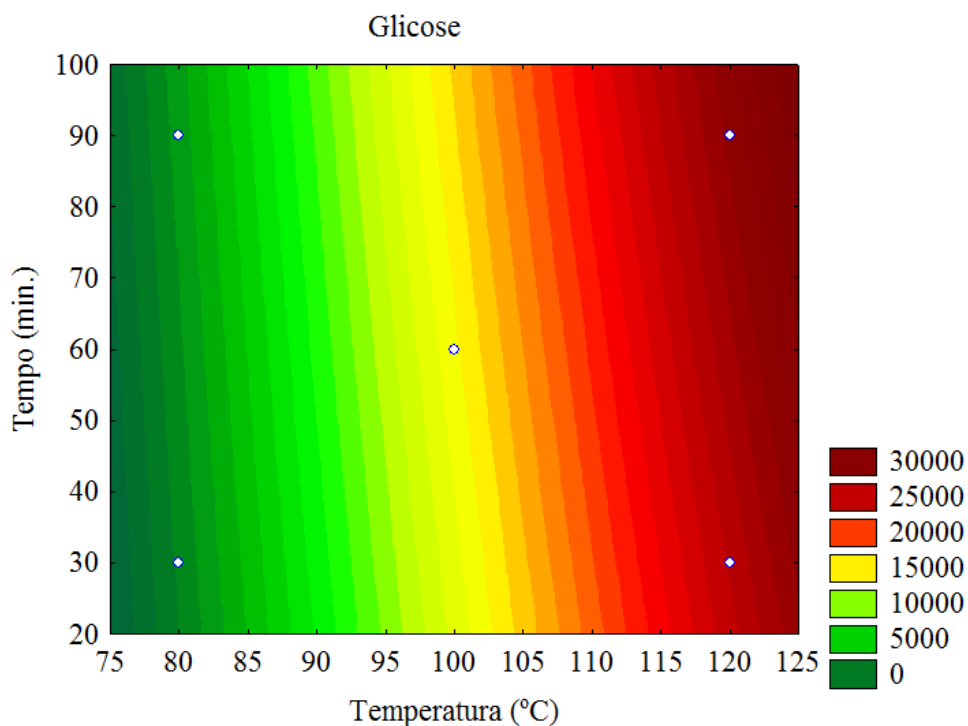


Como o modelo obtido para a concentração de glicose é estatisticamente significativo a nível de 95% de confiança, pode-se construir a superfície de resposta e a curva de nível para a análise das influências das variáveis em estudo sobre a resposta.

A superfície de resposta para a concentração de glicose foi gerada em relação aos efeitos das variáveis de entrada temperatura e tempo de contato. Observando, na Figura 4.7, que a temperatura foi a variável que teve mais influência, e no tempo estudado, verifica-se que o valor para a concentração de glicose é  $15000\text{mg/L}^{-1}$ , no ponto central, e à medida a temperatura e o tempo aumentam, vai-se observando maximização na concentração de glicose, motivo pelo qual não é viável utilizar valores de temperaturas abaixo de  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  nem tempos menores. Os melhores valores, segundo o modelo resposta estudado para a concentração de glicose, no licor hidrolisado, é operar em temperaturas superiores a ( $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e tempos inferiores a ( $90\text{min}$ ). Este fato tornaria, possivelmente, o processo mais econômico devido à diminuição do tempo para a realização do tratamento hidrolítico e consequente redução na quantidade de energia necessária para o processo.

**Figura 4.7** - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de glicose com  $\text{H}_2\text{SO}_4$





Com a análise desses resultados e a partir dos coeficientes de regressão para os parâmetros em estudo obtidos após tratamento estatístico (Tabela 4.8) realizado para os resultados referentes à concentração de hidroximetilfurfural (HMF) (Tabela 4.5), foi possível a construção do modelo para a concentração de HMF no licor proveniente da hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga, o qual se encontra representado na Equação 4.2, em que os termos em **negrito** representam as variáveis e suas interações que foram estatisticamente significativas a nível de 95% de confiança.

$$\text{Concentração de HMF} = 110,9725 - 1,4116T - 46,1325C - 3,4795t + 0,5911T \times C + 0,0442T \times t - 0,0225C \times t \quad (4.2)$$

**Tabela 4.8.** Coeficientes de regressão para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	110,9725	10,37584	10,6953	0,008629	66,3289	155,6161
Curvatura	-55,5058	1,41376	-39,261	0,000648	-61,5887	-49,4229
(T) Temperatura	-1,4116	0,09940	-14,201	0,004922	-1,8392	-0,9839
(C) Concentração	-46,1325	2,02195	-22,815	0,001915	-54,8322	-37,4328
(t) tempo	-3,4795	0,13081	-26,600	0,001410	-4,0423	-2,9166
T x C	0,5911	0,01846	32,0224	0,000974	0,5116	0,6705
T x t	0,0442	0,00123	35,9096	0,000775	0,0389	0,0495
C x t	-0,0225	0,01231	-1,8251	0,209533	-0,0754	0,0305

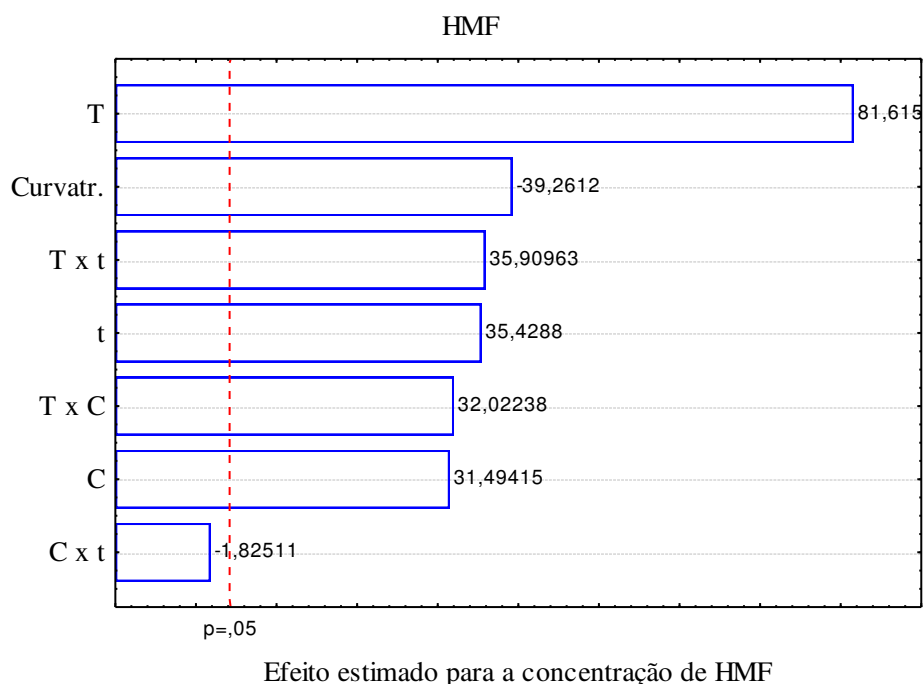
Os resultados exibidos na Tabela 4.8 e na Figura 4.8 indicaram que todas as variáveis independentes e suas interações apresentaram efeitos estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) sobre a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

O coeficiente de determinação (R) obtido foi de 0,9995, ou seja, 99,95 % da variação da resposta são explicados, pelo modelo, em que apenas 0,05 % se atribuiu aos resíduos; portanto, o modelo apresentou excelente ajuste aos dados experimentais.

Analisando a Figura 4.8 observa-se que todas as variáveis apresentaram efeito positivo significativo ( $p \leq 0,05$ ) inclusive a temperatura, como previsto e comentado anteriormente, foi a variável que apresentou maior efeito significativo, exceto a interação concentração do ácido com o tempo que apresentou efeito negativo e é a variável de menor influência no processo de hidrólise ácida do amido da manga para a concentração de HMF. A influência de cada parâmetro pode ser observada de maneira mais clara, através do gráfico diagrama de Pareto disposto na Figura 4.8.



**Figura 4.8** - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de HMF no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



A Tabela 4.9 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a resposta da concentração de HMF considerando somente os parâmetros que foram significativos. Este modelo tem 99,95% da variação obtida explicada pelo modelo e a razão  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  igual a 91,33, indicando que o mesmo é estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2009).

**Tabela 4.9** - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

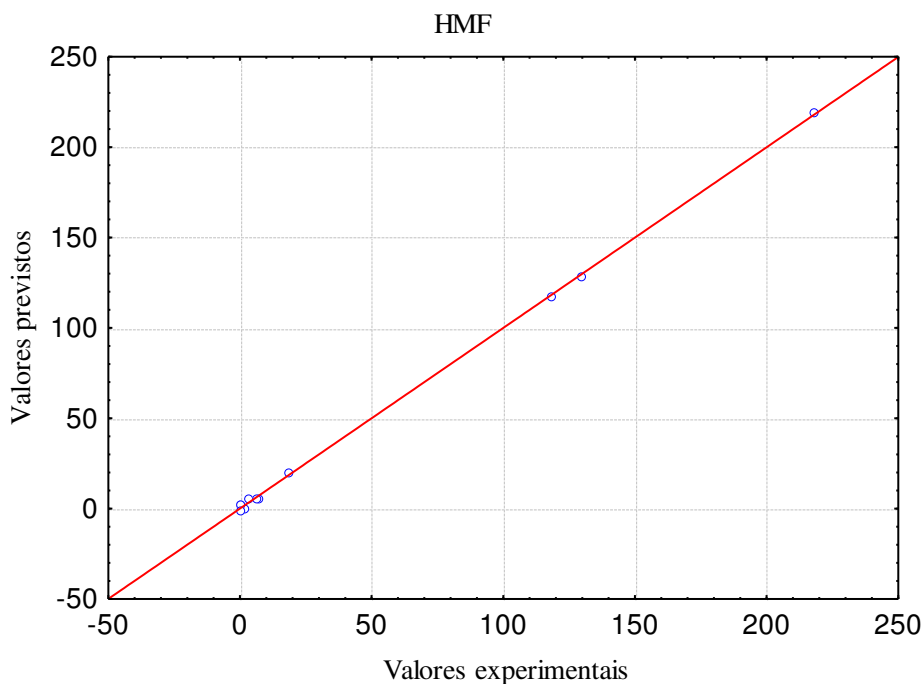
Fonte de variação	SG	GL	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	55678,41	6	7954,06	117,0
<b>Resíduo</b>	29,39	3	9,80	
<b>Falta de ajuste</b>	20,67	1	20,67	
<b>Erro puro</b>	8,72	2	4,36	
<b>Total</b>	55707,8	9		
<b>% R<sup>2</sup></b>	0,9995			
<b>F<sub>tabelado</sub></b>	6,94		<b>F<sub>calculado</sub></b>	811,9

GL – grau de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios

Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{tabelado}}$ )

O ajustamento do modelo construído pode ser observado na Figura 4.9 na qual é expressa a correlação entre os valores previstos e os valores experimentais. A elevada proximidade entre esses valores demonstra a precisão do modelo utilizado e sua eficaz aplicabilidade nos processos de otimização.

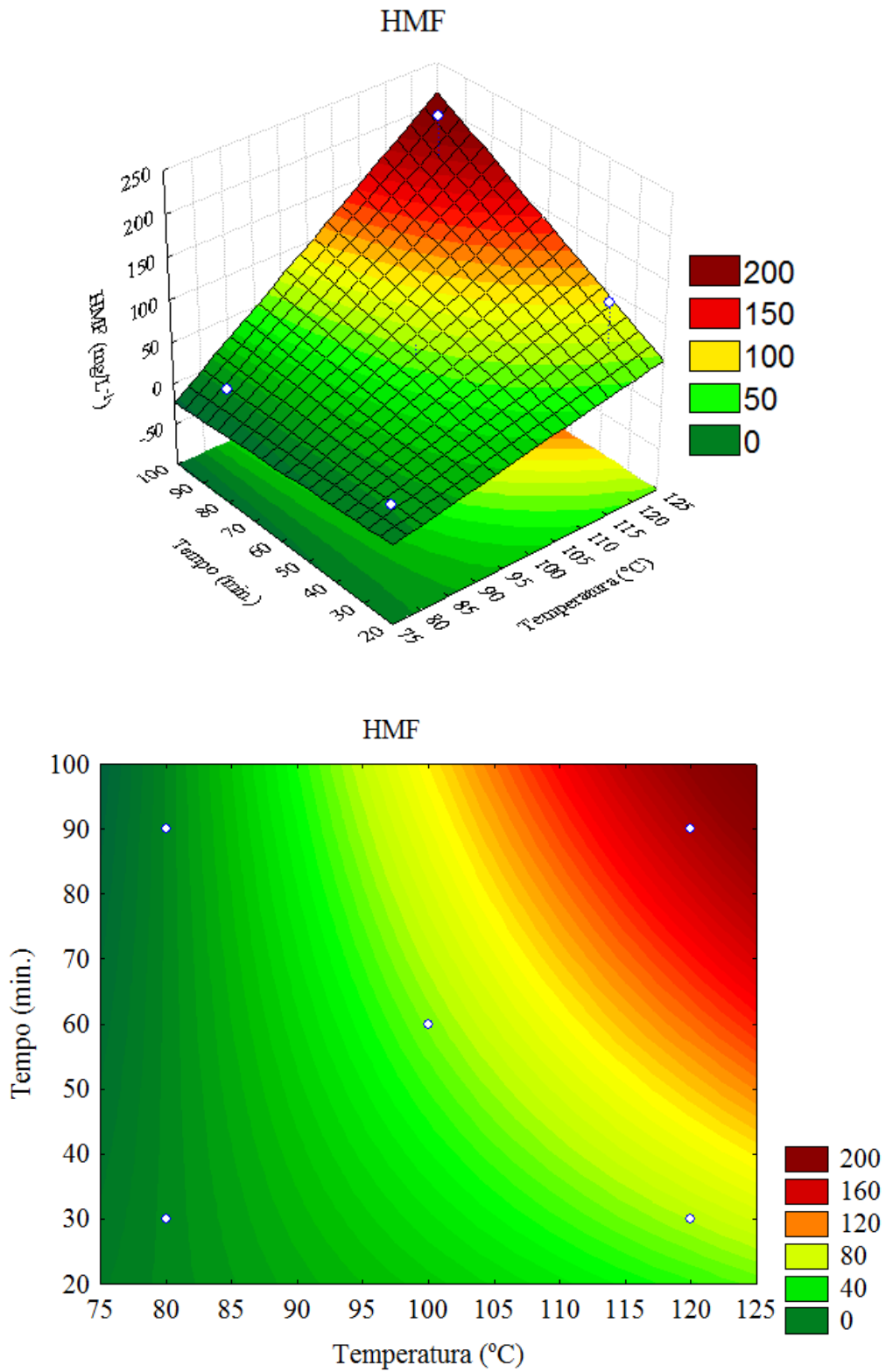
**Figura 4.9.** Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de HMF no licor hidrolisado com  $H_2SO_4$



De acordo com a superfície gerada em função da relação das variáveis de entrada, temperatura e tempo de reação, pode-se verificar que os níveis que maximizam o inibidor da fermentação do licor hidrolisado nas mesmas condições anteriores, são, por este motivo, viáveis de utilizar este parâmetro e valor na fermentação (Figura 4.10).

A partir dessas observações foi estabelecido um ponto ótimo para o processo de hidrólise ácida utilizando-se a concentração de 5% do catalisador ácido sulfúrico, a 120 °C, por 90 minutos de reação. Obtiveram-se 89,4% de rendimento da hidrólise ácida indicando que as condições estudadas permitiram alcançar um ponto otimizado da resposta.

**Figura 4.10** - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de HMF com  $H_2SO_4$



O experimento 6, na Tabela 4.9, com temperatura (120 °C), concentração de 5% no tempo de reação de 30 minutos apresenta-se como o mais viável para uso de

adsorção no licor hidrolisado para posterior fermentação (produção de bioetanol), de vez que ocorreu redução de aproximadamente 91% para os inibidores da fermentação alcoólica e cerca de 22% para o açúcar fermentescível (glicose).

Na Tabela 4.10 observam-se os valores reais das variáveis independentes (temperatura, tempo de reação e concentração do ácido) e os resultados obtidos para as variáveis dependentes (concentração de glicose, concentração de HMF e rendimento da hidrólise ácida) após os diferentes tratamentos de hidrólise ácida do amido da manga utilizando-se o catalisador  $H_3PO_4$ , os quais foram conduzidos de acordo com a matriz de planejamento fatorial completo  $2^3$  com três pontos centrais avaliando as principais características de importância para a fermentação alcoólica glicose e HMF.

Os resultados revelaram que a concentração de glicose presente no licor hidrolisado, com o catalisador  $H_2SO_4$ , variou de 1.208,00  $mg/L^{-1}$  (experimento 11) a 26.113,83  $mg/L^{-1}$  (experimento 8) e a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) em todos os 11 experimentos apresentou resultados muito próximos sendo que o valor máximo encontrado foi de 63,04  $mg/L^{-1}$  (experimento 8). O maior rendimento de hidrólise de 77,5% foi observado no experimento 8, cujo valor foi obtido pela razão entre o maior valor encontrado para a concentração de glicose 26.113,83  $mg/L^{-1}$ . Verifica-se, ainda, que os experimentos no ponto central apresentaram pequena variação para todas as variáveis dependentes indicando boa repetibilidade do processo (experimento 9,10 e 11).

Tabela 4.10 – Matriz de planejamento experimental com as variáveis de estudo e das respostas obtidas no processo de hidrólise ácida do amido da amêndoa da semente da manga com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

<b>Experimento</b> <b>(nº)</b>	<b>Temperatura</b> <b>(°C)</b>	<b>Tempo</b> <b>(min)</b>	<b>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b> <b>(%)</b>	<b>Glicose</b> <b>(mg/L<sup>-1</sup>)</b>	<b>HMF</b> <b>(mg/L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Rendimento</b> <b>(%)</b>
1	80	30	1	0	0	0
2	120	30	1	1.920,00	2,46	5,7
3	80	90	1	0	0	0
4	120	90	1	7.990,78	3,65	23,7
5	80	30	5	0	0	0
6	120	30	5	4.644,46	0	13,7
7	80	90	5	0	0	0
<b>8</b>	<b>120</b>	<b>90</b>	<b>5</b>	<b>26.113,83</b>	<b>63,04</b>	<b>77,5</b>
9	100	60	3	1.254,27	1,82	3,7
10	100	60	3	1.162,26	1,29	3,4
11	100	60	3	1.208,00	2,65	3,5

Estão apresentados, na Tabela 4.11, os coeficientes de regressão para os parâmetros estudados os quais foram determinados após tratamento estatístico realizado para os resultados obtidos para a concentração de glicose (Tabela 4.10). O modelo obtido para a concentração de glicose se encontra representado pela Equação 4.3, considerando apenas os parâmetros estatisticamente significativos a nível de 95% de confiança estão os termos em negrito.

$$\text{Concentração de glicose} = \mathbf{5081,42M} + \mathbf{10162,85T} + \mathbf{5216,30C} + \mathbf{6889,46t} + \mathbf{5216,30T} \\ \times \mathbf{C} + \mathbf{6889,46 T} \times \mathbf{t} + \mathbf{3845,23 C} \times \mathbf{t} \quad (4.3)$$

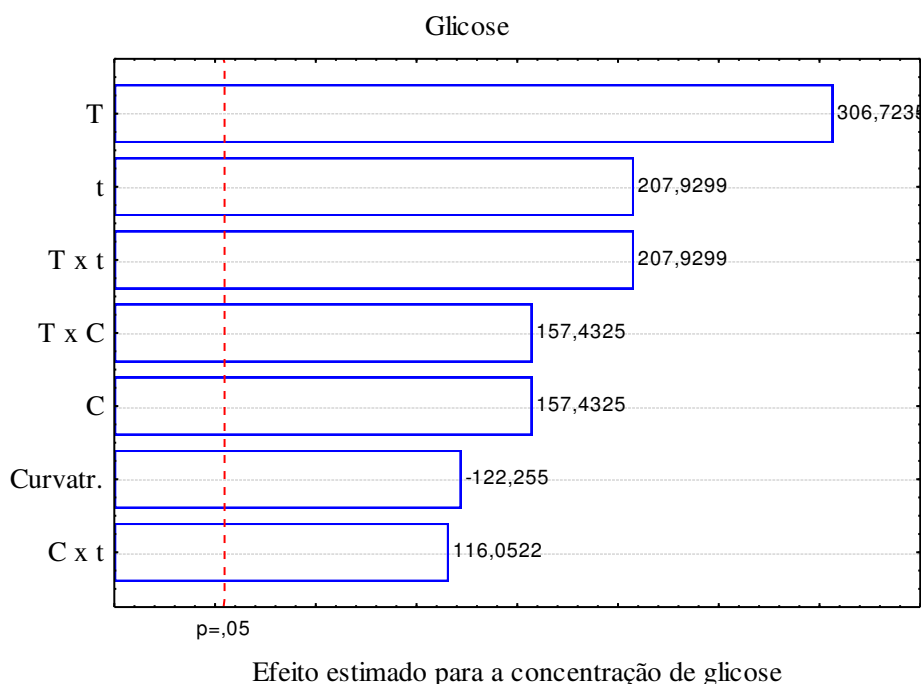
**Tabela 4.11.** Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	5081,42	16,56679	306,723	0,000011	5010,14	5152,70
Curvatura	-7756,59	63,44596	-122,25	0,000067	-8029,58	-7483,61
(T) Temperatura	10162,85	33,13357	306,723	0,000011	10020,28	10305,41
(C) Concentração	5216,30	33,13357	157,432	0,000040	5073,74	5358,86
(t) tempo	6889,46	33,13357	207,930	0,000023	6746,90	7032,02
T x C	5216,30	33,13357	157,432	0,000040	5073,74	5358,86
T x t	6889,46	33,13357	207,930	0,000023	6746,90	7032,02
C x t	3845,23	33,13357	116,052	0,000074	3702,66	3987,79

Analisando os dados na Tabela 4.11 nota-se que as variáveis independentes temperatura, tempo de reação e concentração do ácido, além de todas as interações entre elas, apresentaram efeitos estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ), sobre a variável dependente concentração de glicose e atuaram de forma positiva sobre o processo, ou seja, maiores valores para as variáveis independentes e suas interações favoreceram a elevação da concentração de glicose no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

Através do gráfico diagrama de Pareto, mostrado na Figura 4.11, observa-se que todas as variáveis foram significativas sobre a eficiência da concentração de glicose a nível de 95% para estimativa dos efeitos principais e das interações. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi, neste caso, de 0,95. Pode-se verificar, também e apesar de todos os efeitos serem estatisticamente significativos, a curvatura apresenta coeficiente negativo. Observa-se que a influência maior das variáveis independentes na eficiência do processo para obtenção da concentração de glicose foi a temperatura; logo, tempo de reação e concentração do ácido têm sua significância.

**Figura 4.11** - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com  $H_3PO_4$



A Tabela 4.12 corresponde à análise de variância (ANOVA) utilizada para comprovar a significância estatística do modelo matemático obtido para a concentração de glicose no licor hidrolisado com  $H_3PO_4$  (Equação 4.3), ainda exibe o resultado do Teste F, o qual representa a razão entre o  $F_{\text{calculado}}$  e o  $F_{\text{tabelado}}$ . Sempre que esta relação for maior que 1, a regressão será estatisticamente significativa havendo relação entre as variáveis independentes e as dependentes. De acordo com Barros Neto e Scarmínio (1996), para que uma regressão seja não apenas significativa mas também útil para fins preditivos, o valor da razão entre o  $F_{\text{calculado}}$  e  $F_{\text{tabelado}}$ , deve ser no mínimo maior que 4.

Como o valor do teste F ( $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$ ) exibido na Tabela 4.12 é superior a 1,0, conclui-se que o modelo é estatisticamente significativo a nível de 95% de confiança.

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para o modelo ajustado foi de 0,9908 indicando que o modelo apresentou excelente ajuste, quantificando a qualidade do ajuste, segundo Carlos et al. (2012), pois fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão quanto a variação total das respostas.

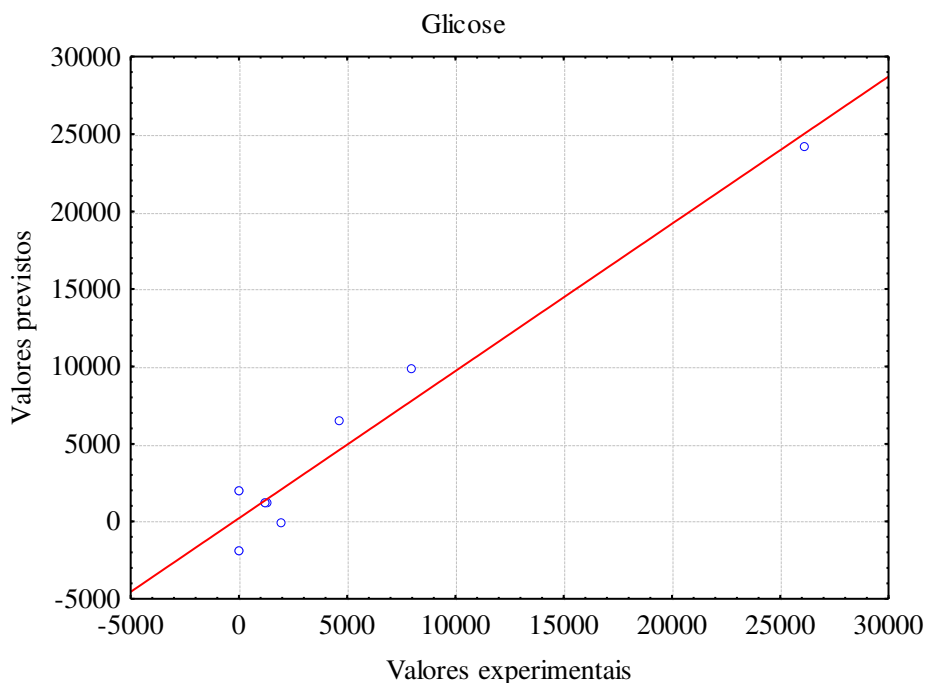
**Tabela 4.12** - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Fonte de variação	SG	GL	MQ	Teste F
Regressão	543836,126	6	90639,354	1,32
Resíduo	29575,902	3	9858,634	
Falta de ajuste	29571,511	1	29571,511	
Erro puro	4391	2	2195,5	
<b>Total</b>	<b>573412,028</b>			
<b>% R<sup>2</sup></b>	<b>0,9908</b>			
<b>F<sub>tabelado</sub></b>	<b>6,94</b>		<b>F<sub>calculado</sub></b>	<b>9,19</b>

GL – grau de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios  
 Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>)

Através da Figura 4.12 verificou-se que esses resultados indicam boa concordância entres os valores experimentais e previstos pelo modelo e que estão distribuídos próximos à reta de ajuste com um R<sup>2</sup> = 99,08%.

**Figura 4.12.** Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes à concentração de glicose no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

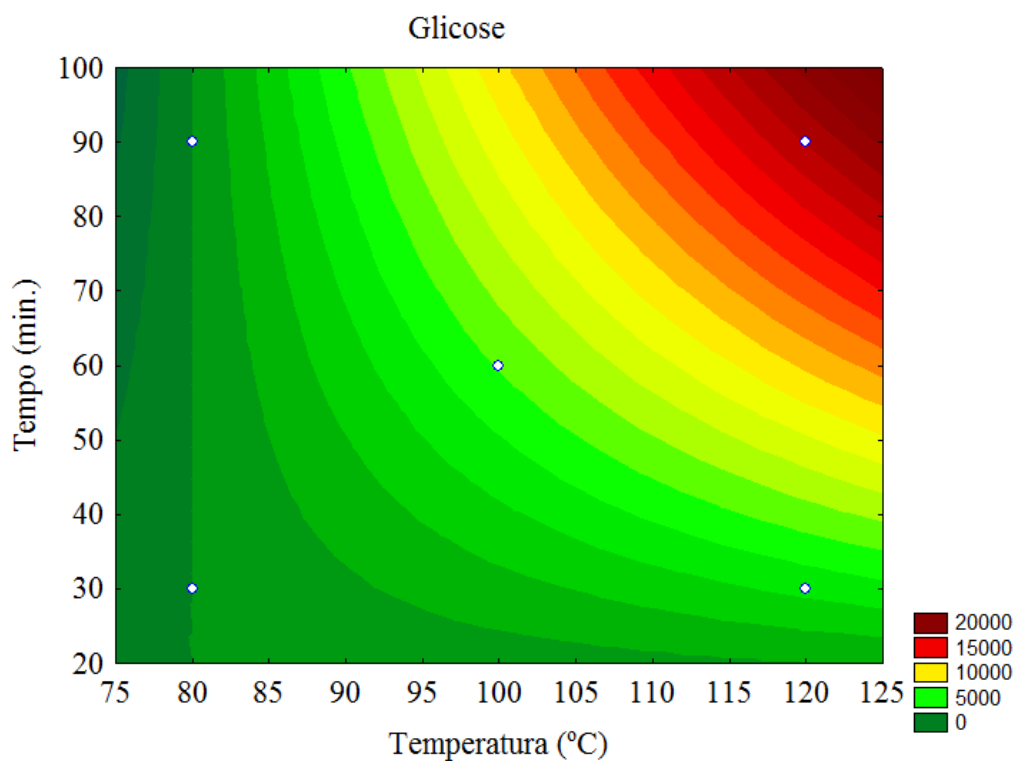


A Figura 4.13 apresenta a superfície de resposta e a curva de nível para a concentração de glicose do amido hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em função do tempo de reação e da temperatura gerada por meio do modelo proposto. Verificou-se que, ao fixar



o tempo de reação de 90 minutos operando o processo de hidrólise ácida com a temperatura fixada em 120 °C, obteve-se o maior valor de glicose, em torno de 20.000,00 mg/L<sup>-1</sup>.

**Figura 4.13** - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de glicose com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>



Na Tabela 4.13 estão apresentados os coeficientes de regressão para os parâmetros estudados os quais foram determinados após tratamento estatístico realizado para os resultados referentes à concentração de hidroximetilfurfural (HMF) (Tabela 4.10). O modelo obtido para a concentração de HMF encontra-se representado pela Equação 4.4, em que os termos em **negrito** representam as variáveis e suas interações que foram estatisticamente significativas a nível de 95% de confiança.

$$\text{Concentração de HMF} = +8,9750M + 17,9500T + 14,8950C + 15,3950t + 14,8950T \times C + 15,3950T \times t + 14,8000C \times t \quad (4.4)$$

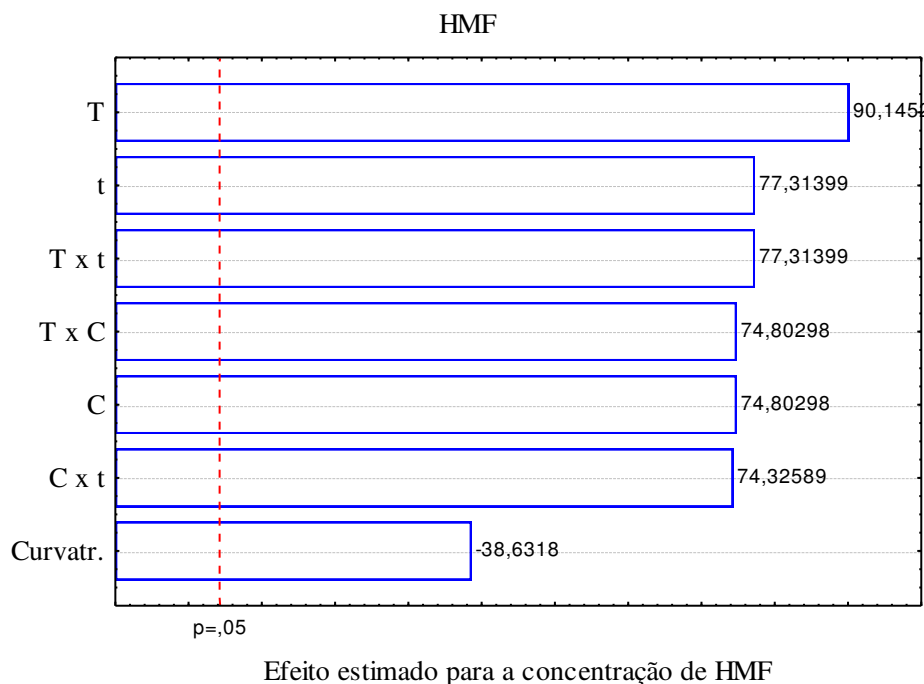
**Tabela 4.13.** Coeficientes de regressão para a concentração de hidroximetilfurfural (HMF) no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	8,9750	0,099562	90,1453	0,000123	8,5466	9,4034
Curvatura	-14,7300	0,381292	-38,631	0,000669	-16,3706	-13,0894
(T) Temperatura	17,9500	0,199123	90,1453	0,000123	17,0932	18,8068
(C) Concentração	14,8950	0,199123	74,8030	0,000179	14,0382	15,7518
(t) tempo	15,3950	0,199123	77,3140	0,000167	14,5382	16,2518
T x C	14,8950	0,199123	74,8030	0,000179	14,0382	15,7518
T x t	15,3950	0,199123	77,3140	0,000167	14,5382	16,2518
C x t	14,8000	0,199123	74,3259	0,000181	13,9432	15,6568

Em análise à Tabela 4.13, verifica-se que as variáveis independentes, temperatura, tempo de reação e concentração do ácido, além de todas as interações entre elas, apresentaram efeitos estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) sobre a variável dependente concentração de HMF e atuaram de forma positiva sobre o processo, ou seja, maiores valores para as variáveis independentes e suas interações favoreceram a elevação da concentração de HMF no licor hidrolisado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

Na Figura 4.14 observa-se o diagrama de Pareto para a concentração de HMF durante a hidrólise ácida com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, e se confirma o resultado do efeito significativo a 95% de confiança ( $p < 0,05$ ) do tempo de reação (minutos), temperatura (°C) e concentração do ácido (%), salientando que ambos influenciaram de forma não linear. Observa-se que a (T) foi a variável independente que apresentou maior influência sobre a resposta analisada; em seguida, o segundo efeito mais importante foi o tempo de reação e a interação temperatura e tempo de reação. Esses resultados condizem com os resultados obtidos na Tabela 4.10, com respeito aos valores encontrados neste trabalho que favorecem a formação de inibidores.

**Figura 4.14** - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de HMF no estudo do licor hidrolisado do amido da manga com  $H_3PO_4$



A Tabela 4.14 corresponde à análise de variância (ANOVA) utilizada para comprovar a significância estatística do modelo matemático obtido para a concentração de HMF.

Os valores para o  $R^2$ ,  $F_{\text{calculado}}$  e  $F_{\text{tabelado}}$  foram, respectivamente, 0,873; 9,19 e 6,94. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para o modelo ajustado foi de 87,3%, indicando que o modelo apresentou ajuste razoável; constata-se que o valor de  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ , e a razão entre  $F_{\text{calculado}}$  e  $F_{\text{tabelado}}$  foram iguais a 1,32 a um nível de confiança de 95%; a partir destes resultados verifica-se que o modelo de 2ª ordem para a concentração de HMF foi estatisticamente significativo.

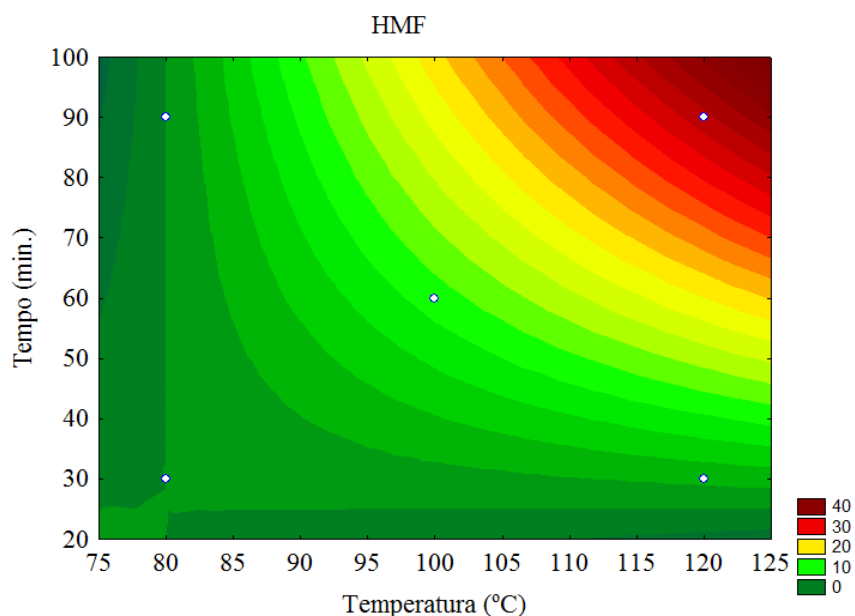
**Tabela 4.14** - Análise de variância (ANOVA) para a concentração de **HMF** no licor hidrolisado com  $H_3PO_4$

Fonte de variação	SG	GL	MQ	Teste F
Regressão	2917,953	6	486325,5	$4,79 \times 10^{-05}$
Resíduo	438080,159	3	146026,7197	
Falta de ajuste	438080	1	438080	
Erro puro	0,159	2	0,0795	
Total	440998,112			
% $R^2$	0,8738			
$F_{\text{tabelado}}$	6,94		$F_{\text{calculado}}$	$3,33 \times 10^{-03}$

GL – grau de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios  
 Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{tabelado}}$ )

A superfície de resposta exibida na Figura 4.15, foi construída de forma a representar a influência das variáveis independentes tempo de reação, temperatura e concentração do ácido no percentual de HMF. Analisando a superfície de resposta observa-se que a condição de maior valor de HMF foi no experimento 8, de 63,04mg/L, cujas condições representam o melhor gráfico.

**Figura 4.15** - Superfície de resposta e curva de nível para a concentração de HMF com  $H_3PO_4$



#### 4.7. Considerações gerais do planejamento experimental comparando os ácidos $H_2SO_4$ com $H_3PO_4$

Os planejamentos experimentais realizados no presente estudo foram executados visando à otimização dos processos hidrolíticos utilizando os dois catalisadores ácidos  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$ , ou seja, objetivando determinar em que experimento, dentre os onze realizados para cada processo de hidrólise ácida quando avaliadas as variáveis de entrada: temperatura, tempo de reação e concentração do ácido que possibilitariam um licor hidrolisado contendo uma concentração de hidroximetilfurfural (HMF) que não inibisse o processo fermentativo. Os ensaios visavam, ainda, à obtenção de um valor elevado de concentração de glicose que favorecesse, portanto, o processo de fermentação alcoólica e subsequente obtenção de etanol a partir do amido extraído da amêndoa da semente da manga.

Esses resultados indicam que os modelos apresentados no presente planejamento foram estatisticamente significativos para a concentração de glicose e HMF e explicados pelas equações empíricas propostas com 98,21% para a concentração de glicose e 99,95% para a concentração de HMF, para o catalisador  $H_2SO_4$  e 99,08% para a concentração de glicose e 87,38 % para a concentração de HMF, para o catalisador  $H_3PO_4$ , da variabilidade dos dados. Indicando uma razoável concordância entre os valores experimentais e os previstos pelo modelo.

Para obter no licor hidrolisado maior percentual de obtenção de concentração de glicose e maior remoção da concentração de HMF, deve-se se operar em temperaturas e concentrações dos ácidos maiores e tempo de reação menor nas seguintes condições: temperatura de 120°C, concentração ácida de 5% e tempo de 30 minutos; verificou-se, também, que os dois tipos de catalisadores ácidos, o  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$  usados nos processos hidrolíticos, apresentaram efeitos significativos e que o ácido sulfúrico foi o que obteve o valor mais elevado da concentração de glicose, nas já citadas condições.

#### **4.8. Rendimento da hidrólise ácida do amido da manga**

O rendimento do processo de hidrólise ácida do amido da manga utilizando o catalisador  $H_2SO_4$ , foi de 89,4%, apresentando um rendimento maior da hidrólise em virtude da maior concentração de glicose no licor hidrolisado, quando comparada com o rendimento alcançado pelo processo utilizando o catalisador  $H_3PO_4$  que foi de 75,5%. Esses valores estão de acordo com os encontrados na literatura. Estudos sobre o efeito de hidrólise em amidos originários de mandioca, no perfil de açúcares e na fermentação alcoólica, feita por Abraham et al. (1987), demonstraram que no método enzima-enzima a eficiência de hidrólise foi de 96%, valor superior ao obtido pelo método ácido-enzima, de 86%; portanto, está coerente com o valor obtido neste estudo, em que foram observados pequenos teores de maltose e maltotriose, tanto no método enzima-enzima quanto no ácido-enzima. Segundo Lloyd e Nelson (1984), um hidrolisado com alto teor de glicose apresenta concentração de glicose de 94%, em peso, e dextrose equivalente de 96,28, podendo-se calcular, então, a concentração máxima de conversão a partir do amido.

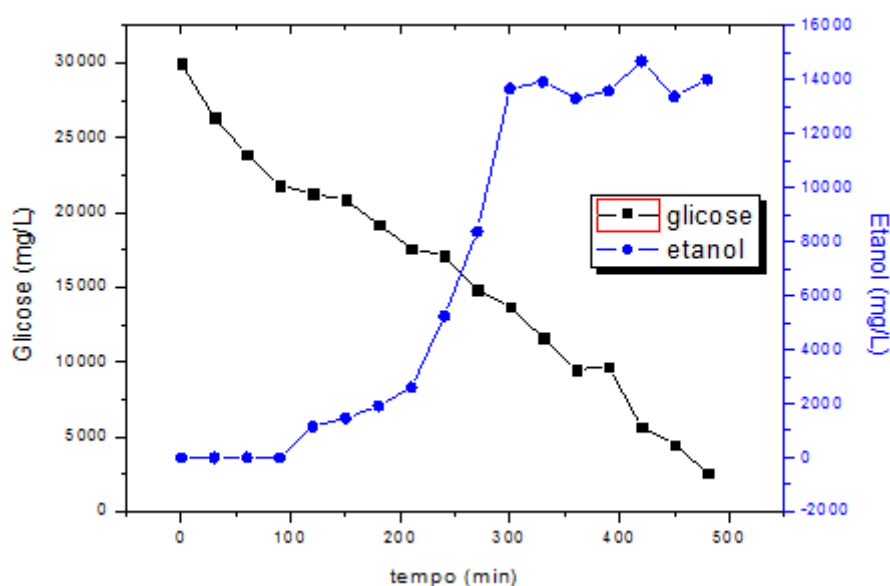
Santana et al. (2010) alcançaram valor próximo dos 80% para a hidrólise do amido solúvel e seus derivados, a 45 °C e 22,07 g.L<sup>-1</sup> de amido solúvel; Augustini et al. (2007) observaram que o rendimento do processo de hidrólise enzimática natural do amido de mandioca, para a produção de álcool, foi 26%, valor menor em relação ao presente trabalho utilizando o processo de hidrólise ácida para o amido do caroço de manga. Leonel e Cereda (2000) apresentaram rendimento semelhante ao de Ferreira et al. (2006), também para a hidrólise do amido de mandioca.

#### 4.9. Estudo cinético da fermentação alcoólica dos licores hidrolisados com o ácido sulfúrico e fosfórico para a produção de etanol

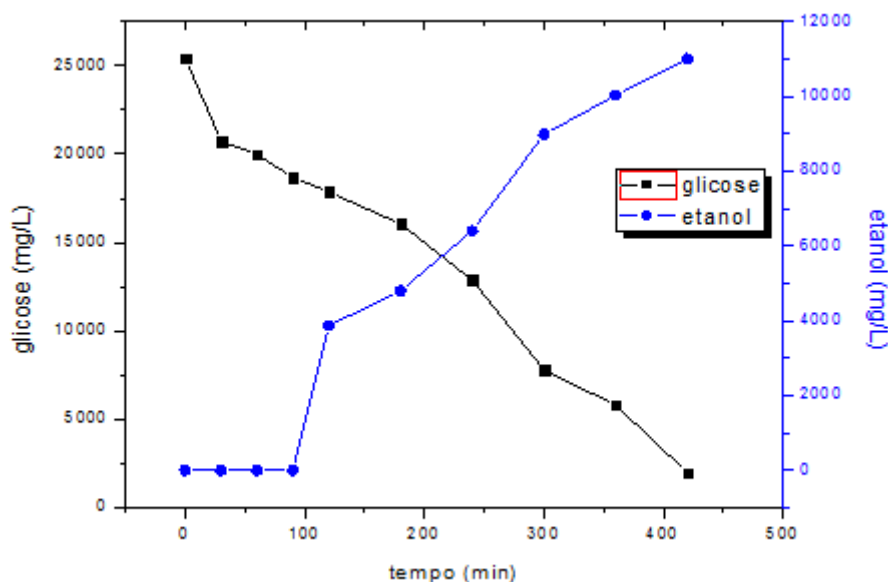
Os experimentos da fermentação alcoólica para a produção de etanol utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial, cepa Y-904, foram realizadas nas condições otimizadas do planejamento fatorial  $2^3$ , com três repetições no ponto central em função dos tempos referentes aos ensaios fermentativos utilizando os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.

O comportamento do consumo substrato limitante (glicose) e a crescente produção do etanol formado, ilustram perfeitamente o perfil da fermentação, como pode ser visto nas Figuras 4.16 e 4.17, para os dois catalisadores  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$ , os quais apresentaram concentrações iniciais de glicose de 30.000,00 e 25.435,54  $mg.L^{-1}$ , respectivamente. Com os resultados obtidos, observou-se, nas figuras já mencionadas, um decaimento do substrato limitante durante o processo fermentativo favorecendo a produção de bioetanol no período entre 2 e 12 h: após este intervalo de tempo é provável que tenha ocorrido inibição da levedura devido à presença de inibidores no hidrolisado indicando que o consumo do substrato não foi total. Observou-se, também, que até as 12 h a fermentação ocorreu de forma satisfatória, conforme indicado pelo consumo dos açúcares e consequente formação do produto.

**Figura 4.16** - Perfil cinético obtido para fermentação alcoólica do hidrolisado utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904 com o catalisador  $H_2SO_4$



**Figura 4.17** - Perfil cinético obtido para fermentação alcoólica do hidrolisado utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904 com o catalisador  $H_3PO_4$



Com base nos dois resultados obtidos para o consumo de substrato (glicose) e formação de produto (etanol), em função dos tempos referentes aos ensaios fermentativos utilizando-se os licores hidrolisados com os catalisadores ácidos sulfúrico e fosfórico, pode-se observar, para os dois ensaios fermentativos que, inicialmente, ambos apresentaram comportamentos semelhantes havendo produção de etanol em 120 minutos de fermentação alcoólica. Observa-se também que a completa conversão de glicose foi alcançada em 330 minutos, para o ensaio com o licor hidrolisado como catalisador  $H_2SO_4$ ; já para o ensaio no qual foi utilizando o licor hidrolisado com o catalisador  $H_3PO_4$ , a glicose foi integralmente consumida em 400 minutos; tudo leva a crer que este comportamento ocorreu devido a uma concentração maior de HMF no licor hidrolisado com o  $H_2SO_4$ , de  $130,04 \text{ mg/L}^{-1}$ , quando comparada com a concentração encontrada no licor hidrolisado com  $H_3PO_4$ , de  $63,04 \text{ mg/L}^{-1}$ . A concentração de HMF no licor hidrolisado com  $H_2SO_4$ , mesmo sendo inferior à estabelecida como tóxica ao microrganismo, pode ter levado a uma diminuição na velocidade do processo fermentativo, porém Taherzadeh (2000) afirma que o hidroximetilfurfural inibe a levedura quando em concentrações próximas de  $4.000,00 \text{ mg/L}^{-1}$ ; já Larsson et al. (1999), sugerem que, mesmo em baixas concentrações de compostos inibidores, é recomendada a detoxificação do licor antes



do processo fermentativo, visto haver efeitos sinérgicos dos inibidores podendo, portanto, dificultar a fermentação alcoólica.

Desta forma pode-se dizer que em todos os casos avaliados a formação do produto está associada à decomposição do substrato. Segundo Schmidell et al. (2001) esta configuração apresenta o caso em que o produto formado (metabólico primário) está diretamente ligado às reações do catabolismo ou decomposição do substrato. Oliveira (2010) observou, estudando a produção de etanol em hidrolisados de féculas de mandioca por *Saccharomyces cerevisiae* M-26 um consumo total de glicose após 12 h de fermentação, para os dois tipos de catalisadores, ácido sulfúrico e fosfórico, utilizados na hidrólise ácida.

Na fermentação alcoólica utilizando como biomassa o amido residuário existente no farelo de mandioca, Saito et al. (2006), obtiveram um rendimento no ensaio de 90%, com 12 h de fermentação e apresentaram produção de 2,89% (p/p) de etanol e fator de conversão de glicose em etanol 46%, concluindo que o mesmo não apresentou efeito inibidor à fermentação.

A partir da concentração inicial de glicose nas amostras dos licores hidrolisados com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , de 30.000,00  $\text{mg/L}^{-1}$  e com  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , de 25.435,54  $\text{mg/L}^{-1}$ , no momento da inoculação da levedura, foram calculados os parâmetros cinéticos nos fermentados obtidos: produtividade volumétrica ( $Q_p$ ), fator de conversão de glicose em etanol ( $Y_{p/s}$ ), eficiência de conversão ( $\eta$ ) e o consumo de glicose ( $Y$ ). Observaram-se a cinética de consumo de substrato (glicose) e a formação de produto (etanol), até que todos os açúcares fermentescíveis fossem consumidos pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados da cinética de fermentação estão na Tabela 4.15.

**Tabela 4.15** - Dados cinéticos da fermentação alcoólica dos licores hidrolisados pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y-904

Licores hidrolisados	$Q_p$ (g/L.h)	Y (%)	$Y_{p/s}$ (%)	$\eta$ (%)
$\text{H}_2\text{SO}_4$	0,042	91,3	51	100
$\text{H}_3\text{PO}_4$	0,027	92,2	47	92

Observa-se (Tabela 4.15) que o maior rendimento alcançado para o etanol foi de 51%, para o hidrolisado catalisado pelo  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e a maior produtividade foi de 0,042  $\text{g/L}^{-1}$

$^{-1}.h^{-1}$  para um tempo de até 12h de fermentação cujo resultado condiz com o das considerações de Reguly (1996), que propôs que o máximo teórico dificilmente é alcançado 51,11%. Os resultados obtidos neste trabalho são superiores aos encontrados por Curvelo-Santana et al. (2010) que, trabalhando com otimização da produção de álcool de mandioca, obtiveram 45% com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Os valores apresentados na Tabela 4.15 confirmam uma expectativa no que diz respeito à população de leveduras presentes nas dornas de fermentação de unidades industriais tendo-se, como exemplo, a *Saccharomyces cerevisiae*. A levedura estudada apresenta características fermentativas adequadas ao processo industrial. Uma análise em conjunto com esses parâmetros é necessária para agrupar a levedura que já em uma primeira análise apresenta características fermentativas adequadas para uso industrial. O principal parâmetro a ser observado para que uma linhagem seja considerada adequada à aplicação industrial, é o rendimento em etanol ( $Y_{P/S}$ ).

Pelos resultados pode-se observar que a linhagem estudada apresentou valores para este parâmetro ( $Y_{P/S}$ ) de 0,511 e 0,470  $mg/L^{-1}$  para os dois tipos de catalisadores enquanto que os valores desejados são aqueles superiores a 0,46  $mg/L^{-1}$ ; assim, Claudia et al. (2006) obtiveram, trabalhando com diferentes linhagens de leveduras isoladas de diferentes processos de fermentação alcoólica para a produção de biocombustível, resultado para o fator de conversão de glicose em etanol no valor de 45% de etanol produzido utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* industrial cepa Y- 904.

Souza et al. (2012) avaliaram a produção de etanol a partir da polpa e da casca da banana (*Musa cavendishii*). A biomassa utilizada foi submetida a tratamento hidrolítico utilizando, como catalisador, o ácido sulfúrico. Por ter revelado maior concentração de glicose o hidrolisado por ácido sulfúrico foi submetido à fermentação durante 8 horas utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* isolada de fermento comercial seco. Comparando aos resultados observados na presente pesquisa, o autor encontrou valor similar para a quantidade de etanol formado por unidade de substrato consumido, de 47%, eficiência de conversão de 92,94% e resultado superior para a produtividade volumétrica em etanol de 1,15 e 2,62  $g.L^{-1}.h^{-1}$ .

Melo et al. (2008) apresentaram, estudando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação de glicose a partir da biomassa de torta de mamona para a produção de bioetanol, uma produção máxima de etanol de 1.380  $mg/L^{-1}$  com rendimento ( $Y_{P/S}$ ) 44%, valores próximos do encontrado neste estudo.

Mojovic et al. (2006) obtiveram, avaliando o potencial da produção de bioálcool a partir dos hidrolisados da farinha de milho, com as fermentações realizadas empregando *Saccharomyces cerevisiae* seco, com ensaios que duraram menos de 48h, um rendimento de 45,59% de etanol que correspondeu a 89,2% do teórico e produtividade volumétrica de 1,21 g/L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.

Para estudos de hidrólise ácida, Sassner et al. (2006) obtiveram, estudando a formação de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*, durante a fermentação do hidrolisado feito com resíduos de madeira como substrato, rendimento de 40,38% em etanol convertido a partir dos açúcares fermentáveis disponíveis após 24 h de fermentação valor este próximo do obtido neste trabalho. A concentração de etanol obtida no produto fermentado foi de 16 g.L<sup>-1</sup> e a produtividade volumétrica de 0,67 g/L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.

Tasic et al. (2009) encontraram, estudando a hidrólise ácida do amido de tubérculos de batata doce utilizando ácido clorídrico em diferentes proporções de material vegetal o valor de 31 g/L para a produção de etanol num processo de fermentação, por cerca de 18h.

Hashem e Darwish (2010) utilizaram, no seu estudo, o fluxo de resíduos de amido de batata produzidos durante a fabricação de chips, como fonte econômica de biomassa para a produção de bioetanol e constataram, no final do processo, uma produção de 5,52 g.L<sup>-1</sup> de etanol.

Segundo Bringhenti et al. (2007), admite-se, em um processo de fermentação, que rendimentos entre 43 e 49% sejam considerados adequados e indicativos de bom processo de fermentação; portanto, na produção de bioetanol a partir de amêndoa da semente da manga com hidrólise ácida utilizando os dois tipos de catalisadores, o ácido sulfúrico e o fosfórico se mostraram eficientes.

## **5. CONCLUSÕES**

As principais conclusões obtidas neste trabalho são apresentadas a seguir, separadas por assunto desenvolvido:

### **Caracterização físico-química do amido extraído da amêndoa da semente da manga**

O resultado obtido na caracterização físico-química do teor de amido da manga apresentou o percentual significativo de 60,72% evidenciado como hábil componente na obtenção do extrato amiláceo, a partir do baixo teor de constituintes como cinzas, proteínas e lipídeos, que resultaram em elevado grau de pureza e rendimento de extração.

### **Caracterização da microscopia eletrônica de varredura (MEV) no amido natural e no hidrolisado com os tipos de catalisadores**

Os grânulos de amido natural apresentaram comportamento típico de semelhança quando comparados aos primários aspectos morfológicos, de tamanhos e formatos, constatando ainda modificações estruturais após o tratamento com ácidos sulfúrico e fosfórico deixando evidente a ação dos catalisadores.

### **Difração de raios X (DRX) no amido natural**

O amido extraído da manga apresentou valor obtido para o grau de cristalinidade compatível com a literatura permitindo observar seus diferentes tipos e grau para o amido da amostra estudada cuja estrutura cristalina se caracterizou como sendo do tipo A, típico de cereais.

## **Para a hidrólise ácida**

Os dois tipos de catalisadores utilizados mostraram-se eficientes quanto ao processo de hidrólise ácida do amido da manga trabalhando nas condições otimizadas de temperatura a 120 °C na concentração de 5%, durante 30 minutos para o ácido  $H_2SO_4$  e nas mesmas condições no tempo de 90 minutos para o  $H_3PO_4$ .

O processo de hidrólise ácida utilizando o ácido sulfúrico apresentou maior rendimento de hidrólise 89,4%, quando comparado o rendimento obtido pelo processo usando o ácido fosfórico como catalisador 75,5%; entretanto, o tratamento com o ácido fosfórico oferece vantagem em relação ao processo com o ácido sulfúrico, no que diz respeito aos sais formados após hidrólise uma vez que esses sais podem servir como parte dos nutrientes necessários ao desenvolvimento da levedura.

## **Fermentação alcoólica dos licores hidrolisados para a produção de bioetanol**

No estudo da cinética de fermentação alcoólica para se obter maior eficiência tendo, como objetivo, o máximo de conversão do açúcar em etanol, o processo fermentativo nos níveis de concentração de levedura, de 12  $g/L^{-1}$  e do composto nutricional Nitrofós, de 0,6  $g/L^{-1}$ , foi considerado satisfatório na fermentação dos licores hidrolisados com os ácidos sulfúrico e fosfórico operando a uma eficiência ( $\eta$ ) superior a 92%, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa Y-904 comprovando, assim, seu alto potencial na produção de bioetanol a partir do resíduo agroindustrial da amêndoa da semente da manga.

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O aproveitamento do endocarpo após a remoção da amêndoa da semente da manga para a produção de etanol lignocelulósico;

Ampliar a matriz de planejamento levando em consideração o aumento da temperatura e o tempo de reação do processo de hidrólise ácida;

Estudar a aplicação do pretratamento com a finalidade de otimizar os processos das hidrólises ácida e enzimática.

Realizar a hidrólise enzimática utilizando enzimas amilolíticas comerciais;

Testar a produção de enzimas amilolíticas a partir do amido da manga utilizando a levedura *Aspergillus Níger* que tem a propriedade de quebrar as moléculas do amido em glicose.

Avaliar a qualidade do etanol produzido de acordo com os padrões exigidos pela legislação brasileira vigente.

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHM, T. E.; KRISHNASWAMY, C.; RAMAKRISHNA, S. V. Effect of hydrolysis conditions of cassava on the oligosaccharide profile and alcohol fermentation. **Starch/Starke**, Weinheim, v. 39, p. 237-240, 1987.

ADEBOWALE, K. O.; AFOLABI, T. A.; OLUOWOLABI, B. I. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. **Carbohydrate Polymers**, v.65, p.93-101, 2006.

ADEBOWALE, K. O., OLU-OWOLABI, B. I., OLAWUMI, E. K., E LAWAL, O. S. Functional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (*Artocarpus artilis*) starch. **Industrial Crops and Products**. v.21, p.343-351, 2005.

ALENCAR, E. M. B.; SOUZA-MOTTA, C.M.; WALTER, B. S.; SANTOS, R. M. P.; MARQUES, O. M.; QUEIROZ, L. A. **Fermentation capacity of *saccharomyces cerevisiae* cultures**. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v.52, n.4, p.819-824, 2009.

ALMEIDA, E. C.; BORA, P. S.; ZÁRATE, N. A. H. **Amido nativo e modificado de taro (*colocasia esculenta l. schott*): caracterização química, morfológica e propriedades de pasta**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos CEPPA, v.31, n.1, p.67-82, 2013.

ALVAREZ-MACARIE, E.; AUGIER-MAGRO, V. BARATTI, J., Characterization of a thermostable esterase activity from the moderate thermophile *Bacillus licheniformis*. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 63, p. 63-70, 1999.

ANDRIETA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETA, M. G. S. Bioetanol-Brasil, 30 anos de vanguarda. **MultiCiência**, Universidade de Campinas, 2006.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Gazeta: Santa Cruz do Sul/RS, Disponível em:<<http://www.anuarios.com.br>> Acesso em: 27 de Nov. 2008.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. A.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial**. São Paulo. Editor Edgard Blücher Ltda v.3 p.11-39. 2001.

AQUINO, K. A. S.; Souza, J. L. O. ; Silva, J. G. V.; Lima, T. A. Produção de biodiesel a partir da gordura da amêndoa de sementes de manga. **In: II Seminário Biodiesel**, Recife, 2010.

ARAÚJO, I. N.; CAVALCANTI, M. T.; OLIVEIRA, M. J.; FLORÊNCIO, I. M.; SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química das amêndoas contidas nas sementes das mangas (*Mangifera indica L.*) “Tipo tommy”, “Tipo rosa” e “Tipo espada.” **In: I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais**. Aracaju – SE, 2010.

ARAÚJO, J. L. P. **Cultivo da mangueira: colheita e pós-colheita**. Embrapa Semi-Árido, Sistemas de Produção 2, Versão eletrônica: Julho, 2004.

AZEVÊDO, L. C. de; AZOUBEL, P.M.; SILVA, I. R. A ; ARAÚJO, A. J. de B.; OLIVEIRA, S. B. de. Caracterização físico-química da farinha da casca de manga cv. Tommy Atkins. **XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Viçosa: UFV, 2008. p. 1-3.

AUGUSTINI, D.; JUNIOR, H. E. Produção de álcool de mandioca para a partir de hidrólise enzimática natural. **Synergismus scyentifica** UTFPR, Pato Branco, v.2, p. 1-4, 2007.

BARBOSA, L. S.; REIS, R. C.; COLARES, C. J. G.; BARBOSA, L. S.; ASCHERI, D. P. R. Caracterização Físico-Química do Amido Extraído da Semente da Fruta *Swartzia Langsdorffii*. **VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação**. Anápolis-GO, p. 1-6, 2010.

BARCZA, M. V. **Hidrólise**. 2002. 8 f., Escola de Engenharia de Lorena EEL-USP, Lorena, SP, 2002.

BARCZA, M. V. **Processos unitários orgânicos: hidrólise**. Disposto em: <<http://www.dequi.eel.usp.br/~barcza/Hidrolise.pdf>> Acesso em 10 janeiro, 2010.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J. S.; BRUS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora Unicamp, 299p, 1996.

BAZILIO, A. C.; ALVES, N. C. G. F.; WANDER, A. E. Vantagem comparativa do álcool combustível brasileiro em relação aos Estados Unidos da América. **Revista de Desenvolvimento Econômico (RDE)**. Ano X, n.17, 2008.

BECKER, P.; ABU-REESH, I.; MARKOSSIAN, S.; ANTRANIKIAN, G. E.; MARKE, H. Determination of the kinetic parameters during continuous cultivation of the lipase producing thermophile *Bacillus* sp. IHI-91 on olive oil. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.48, n.2, p.184-190, 1997.

BELLO-PEREZ, L. A.; GARCIA-SUAREZ, F. J.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; NASCOMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M.; CORNENUNSI, B. R. Isolation and characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel Starch for application in food industry. **Starch/StarKe**, v. 58, p. 283-291, 2006.

BEEMILLER, J.; WISTLER, R. **Starch: Chemistry and Tecnology**. 3 ed. Academic Press: USA, 2009.

BERTOLINI, A. C. **Bases moléculaires et thermomécaniques de la propriété d'expansion du polvilho azedo**. These (Doctorat de Chimie Biologie) – Faculté des Sciences et Techniques, Université de Nantes, 114p, 2000.

BORZANI, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial**. São Paulo: E. Blücher, v.3, 2001.

BOTREL, N. Manga: Variedades, Qualidade e Tecnologia Pós-Colheita. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.179, p.55-60, 1994.



BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceara**. 5 ed. Fortaleza: Coleção Mossoroense, v.1204, 496p. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Alimentos regionais brasileiros**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 140p.

BRASIL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ª ed., v.1, São Paulo, 2008.

BRASIL. Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, 24 de julho de 1978.

BRAZ, V. B.; NUNES, E. S.; VIEIRA, G.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; BERTINI, L. A.; COUTO, F. A. A. **Indução do amadurecimento de mangas cv. Tommy Atkins<sup>®</sup> e cv. Ubá pela aplicação de ethephon pós-colheita**. *Bragantia*, Campinas, v.67, n.1, p.225-232, 2008.

BRINGHENTI, L.; CABELLO, C.; URBANO, L. H. Alcoholic fermentation of starchy hidrolisated substrate with sugar cane residue. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.2, p. 429-432, 2007.

CARLOS, A. B. S.; SILVA, F. L. H.; CONRADO, L. S. Lixiviação de poligalacturonases obtidas pela fermentação semissólida da casca e albedo do maracujá-amarelo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.16, n.7, p.790-794, 2012.

CARDOSO, A. A.; MACHADO, C. M. D.; PEREIRA, E. Alfabetização Científica no Ensino de Química: Uma Análise dos Temas da Seção Química e Sociedade da Revista Química Nova na Escola. *Química Nova na Escola*, n.28, p.9, 2008.

CARDOSO, M. B.; PUTAUX, J. L.; SAMIOS, D.; SILVEIRA, M. P. Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch. *Carbohydrate Polymers*, v.6, p.455-465, 2007.

CARDOSO, M. B., SAMIOS, D.; SILVEIRA, N. P. Study of protein detection and ultrastructure of Brazilian rice starch during alkaline extraction. *Starch/Starke*, v.58, p. 345-352, 2006.

CASTRO, A. M., PEREIRA, N. J. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. *Química Nova*, v.33, p.181-188, 2010.

CAVALCANTI, M. T; SILVA, V. C; COSTA, T. S; FLORÊNCIO, I. M; FLORENTINO, E. R. Obtenção do amido do endocarpo da manga para diversificação produtiva na indústria de alimentos. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)*, Mossoró, v.6, n.5, p.80-83, 2011.

- CEREDA, M.P (Ed.). **Propriedades gerais do amido**. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas). Fundação Cargill, São Paulo, v.1, 224p, 2001.
- CEREDA, M., VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. Fundação Cargill, São Paulo, v.3, 711p. 2003.
- CHOUDHURY, M. M; COSTA, T. S. **Perdas na cadeia de comercialização da manga**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 41p, 2004.
- COLEN, G. **Isolamento e seleção de fungos filamentosos produtores de lipases**. 2006. 206p. (Tese – Doutorado) – Universidade Federal de Minas Geais, Belo Horizonte – MG.
- COLEN, G.; JUNQUEIRA, R.G; MORAES-SANTOS, T. **Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil**.World J. Microb. Biotech. v. 22, p.881–885, 2006.
- CORDEIRO, E. M. S; FIGUEIREDO, G. I; MAGALHÃES, C. P; SOUZA FILHO, M. S. M; ROSA, M. F; ITO, E. N. Obtenção e caracterização de anocelulose e amido a partir do caroço da manga visando à produção de bionanocompósitos poliméricos. **In: Encontro de iniciação científica da Embrapa agroindústria tropical**, Resumos, Fortaleza, v.8, 2011.
- CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. de; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. **Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose**. Polímeros, v. 15, n.4, p.268-273, 2005.
- CORRÊA, S. Anuário brasileiro da fruticultura. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2008.
- CLAUDIA, S.; GRAÇA S. A.; SÍLVIO R. A. Caracterização da biomassa isolada de processos fermentativos de produção de etanol para uso como biocombustíveis. 6º Congresso Internacional sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2006, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2006. v.1, 4 p.
- COSTA, J. M. C; GUERRA, K. T; MAIA, ROCHA, G. A; É. M. F. F. Avaliação físico-química e microbiológica da amêndoa da castanha de caju. Publicatio UEPG: **Ciências Exatas e da Terra, Ponta Grossa**, v.15, n.3, p.181-187, 2009.
- COSTA,T. S; SILVA, V. C; FERNANDES, V. S; FLORÊNCIO, I. M; FLORENTINO, E. R. Caracterização da farinha obtida a partir do resíduo de extração do amido da amêndoa da manga (*mangifera indica* l.). Encontro Nacional de Educação, Ciência e Tecnologia (**ENECT**), Campina Grande, p.1-10, 2012.
- CRISTINA, C; MILANI, S; OLIVEIRA, S. Extração e caracterização de amido de jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus*). III Semana de Ciência e Tecnologia IFMG – Campus Bambuí, III Jornada Científica, p.1-5, 2010.

CRUEGER, W. & CRUEGER, A. **Biotechnology: a textbook of industrial microbiology**. Madison: Science Technology, Inc. Science Tech, Inc., 308p, 1984.

CURVELO-SANTANA, J.C.; EHRHARDT, D.D., TAMBOURGI, E.B. **Otimização da produção de álcool de mandioca**. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.30, n.3, p.613-617, 2010. ISSN 0101-2061

CYSEWSKI, G. R.; WILKIE, C.W. Process design and economic studies of fermentation methods for the production of ethanol. *Biotechnol. and Bioeng.* v.20, p.1421-1430, 1978.

DAMAGER, I.; ENGELSEN, S. B.; BLENNOW, A.; MOLLER, B. L.; MOTAWIA, M. S. First Principles Insight into the  $\alpha$  – Glucan Structures of Starch: Their Synthesis, Conformation, and Hydration. **Chemical Reviews**. 110, 2049-2080. 2010.

DIAS, D. R.; PANTOJA, L.; SCHWAN, R. F; FILHO, W. G. **Fermentados de frutas**. In:V. Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnologia. Blücher, 1. Ed, Editora Edgard, São Paulo, v.1, p.85-111, 2010.

DUTTA, H.; PAUL, S. K.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L. Effect of acid concentration and treatment time on acid-alcohol modified jackfruit seed starch properties. **Food chemistry**, v.03, n.16, 2011.

ELIASSON, A.N.; GUDMUNDSSON, M. Starch: Physicochemical and Functional Aspects. In: ELIASSON, A.N. (Ed.) **Carbohydrates in food**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, chap. 9, p. 391-469. 2006.

ELIBOL, M.; OZER, D. Response surface analysis of lipase production by freely suspended *Rhizopus arrhizus*. **Proc. Biochem**, v.38, p.367-372, 2002.

ESTECHE, C. A invisibilidade que brota no lixo. **Rede Sul de Notícias**, 2008. Disponível em: <http://www.redesuldenoticias.com.br/noticias/imprimir.asp?id=12088>. Acesso em 15 Janeiro, 2011.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. Editora Atheneu, São Paulo, 652p, 2008.

FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Major food and agricultural commodities and producers**. Disponível em: <http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=en&item=571&year=2010>. Acesso em: 04 fev. 2010.

FERNANDES, A. F. **Utilização de farinha de casca de batata na elaboração de pão integral**. 2006. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

FERRARI, T. B.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S. Características dos Risomas e do amido de Araruta (*Maranta arundinacea*) em Diferentes Estádios de Desenvolvimento da Planta. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.2, p.93-98, 2005.

FERREIRA, G. B.; MELO, V. V.; LOPES, F. L. G.; SOUZA, R. R.; SANTANA, J. C. C.; TAMBOUGI, E. B. Produção de álcool a partir da hidrólise do amido de mandioca por amilases do malte de milho. **Revista SODEBRAS**, 2006, (on-line).

FREITAS, A. C.; OLIVEIRA, F.; OLIVA NETO, P. Hidrólise do farelo de mandioca do tratamento ácido termopressurizado. **XXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, São José do Rio Preto. P. 02679-02682, 2009.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PÉREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.46, n.2, p.3-16, 1992.

GAMA, T. M. M. T. B.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C.; ZANETTE, F.; CÓRDOVA, K. R. V. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão native (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.04, n.02, p.161-178, 2010.

GARCIA, M. G.; LAIME, S. G.; LEÓN, A. A.; MONTALVO, A. R.; GARRIDO, G. G.; NUÑES-SELLÉS, A. J. Uso etnomédico de la corteza de *Mangifera indica* L. en Cuba. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v.9, n.1, p.1-5, 2004.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; DELPORTE, C.; DELGADO, R. Protective effects of a standard extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG®) against mouse ear edemas and its inhibition of eicosanoid production in J774 murine macrophages. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology, Munique**, Alemanha, v.13, n.6, p.412-418, 2005.

GENOVESE, A. L.; UDAETA, M. E. M.; GALVÃO, L. C. R. Aspectos energéticos da biomassa como recurso no Brasil e no mundo, In: Congresso Internacional sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2006, Campinas-SP. **Anais...** Disponível em: <http://paginas.agr.unicamp.br/energia/agre2006/pdf/54.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2010.

GOMES, C. F. **Argilas: o que são e para que servem**. 1ª edição, Fundação Calouste GulenKian, 1988.

GONÇALVES, F.A.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E.J.; FONSECA, G.G. Utilization of agro-industrial residues and municipal waste of plant origin for cellulosic ethanol production. **J. Environ. Protect**, v. 2, p.1303-1309, 2011.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V., DANTAS, A. S., MEDEIROS, R. L. S., SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.825-827, 2005. Disponível em: <[www.scielo.com.br](http://www.scielo.com.br)>. Acesso em 26.08.2010.

GOUVEIA, J. P. G.; MOURA, R. S. F.; ALMEIDA, F. A. C.; OLIVEIRA, A. M. V.; SILVA, M. M. Avaliação da cinética de secagem de caju mediante um planejamento experimental. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.6, n.3, p.471-474, 2002.

HAHN-HAGERDAL, B. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in Biotechnology**, v.24, n.12, 2006.

HARRIS, J. F.; BAKER, A. J.; CONNER, A. H.; JEFFRIES, T. W.; MINOR, J. L.; PATTERSON, R. C.; SCOTT, R. W.; SPRINGER, E. L.; ZORBA, J. Two-Stage Dilute HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; BORZANE, W.; SCHEMEDELL, W.; LIMA, U.deA. **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos** – vol. 4, p. 523, 2001. **Sulfuric Acid Hydrolysis of Wood: An Investigation of Fundamentals**. General Technical Report FPL-45, U.S. Forest Products Laboratory, Madison, Wisconsin, 1985.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D. **Microbiologia ilustrada**. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

HASHEM, M.; DARWISH, S. M. I. Production of bioethanol and associated by-products from potato starch residue stream by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biomass and Bioen**. v. 34, p. 953-959, 2010.

IBGE – **Produção Agrícola Municipal 2009**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisa>>; Acessado em 15.02.2010

IBRAF – **Instituto Brasileiro de Fruticultura. Comparativo das Exportações Brasileiras de Frutas Frescas de Jan. a Out 2008**. Disponível em: <[www.ibraf.org.br](http://www.ibraf.org.br)>. Acesso em: 4 Dez. 2009.

JAYACODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**. v.35, n.7, p.665-680. 2002.

JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Science Direct**. v.7, p. 210-218. 2004.

KAUR, M.; SINGH, N.; SANDHU, K. S.; GURAYA, H. S. Physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of starches separated from kernels of some Indian mango cultivars (*Mangifera indica* L.). **Food Chemistry**, v.85, p.131–140, 2004.

LARSSON, S.; PALMQVIST, E.; HÄGERDAL, B. H.; TENGBORG, C.; STENBERG, K.; ZACCHI, G.; NIL VEBRANT, N. O. The generation of fermentation inhibitors during Dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme and Microbial Technol*, v.24, p.151-159, 1999.

LEIRO, J.; ÁLVAREZ, E.; ARRANZ, J. A.; SISO, I. G.; ORALLO, F. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric synthase, tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta genes. **Biochemical Pharmacology**, New York, v.65, p.1361-1371, 2003.

LEIRO, J.; GARCIA, D.; ARRANZ, J. A.; DELGADO, R.; SANMARTÍN, M. L.; ORALLO, F. Anacardiaceae preparation reduces the expression of inflammation-related

genes in murine macrophages. **International Immunopharmacology**, Omaha, Nebraska, v.4, p.991-1003, 2004.

LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.579-588. 2007.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P, Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.1, p. 65-69, 2003.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Processamento de araruta (*Maranta arundinacea*) para extração e caracterização da fração amilácea. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.151-155, 2002.

LEONEL, M.; CÂMARA, F. L. A.; CEREDA, M. P. (2000). Processamento industrial de araruta (*maranta arundinacea*) para produção de fécula fermentada – um estudo de caso. In: Simpósio em Energia na Agricultura. Botucatu. Anais... Botucayu: Faculdade de Ciências Agrônômicas/Universidade Estadual Paulista, p.312-321.

LEPE, J. A. S; LEAL, I. B. **Microbiologia enológica: Fundamentos de vinificación**. 3. ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, p.761, 2004.

LIMA, A. S.; MARCELLINI, P. S.; CARIOCA, J. O. B.; MARX, F.; JONAS, R. Food from agroindustrial residues. In: **Preceptions on food and nutrition**, 1 ed, Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora Ltda., 2006.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; PIERUCCI, A. P. T. Estudo do Amido de Farinhas Comerciais Comestíveis. **Polímeros**, Rio de Janeiro, v.22, n.5, p.486-490, 2012.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. **Produção de Etanol -Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo, Edgard Blücher, v.3, 2001.

LIU, Q.; THOMPSON, D.B. Effects of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy-type maize starches. **Carbohydrate Research**, v. 314, n. 3, p. 221-235, 1998.

LLOYD, N. E.; NELSON, W. J. Glucose and fructose containing sweeteners from starch. In: WHISTLER, R.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. **Starch chemistry and technology**. 2<sup>nd</sup> ed. Orlando: Academic Press, p. 611-660, 1984.

LOBO, A. R. & SILVA, G. M. Revista Nutricional., v. 16, p.219, 2003.

LOPES, J. J. Corrêa, Parazzi, C. **Fermentação alcoólica**. Centro de ciências agrárias. UFSC, março. 2007.

LOUSADA JÚNIOR, J. E. ; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. M. N.; RODRIGUEZ, N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas

tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.

MARQUES, A., CHICAYBAM, G.; ARAUJO, M. T.; MANHÃES, L. R. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. **Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*mangifera indica L.*) cv. tommy Atkins**. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4. p. 1206-1210, 2010.

MAIA, G. A.; MACHADO, P. H. S; LIMA, A, S. **Processamento de Sucos de Frutas Tropicais**. Fortaleza: UFC, 2007.

MANI, S.; TABIL, L. G.; OPOKU, A. Ethanol from Agricultural Crop Residues – An Overview, **University of Saskatchewan**, Canada, September, p. 27-28, 2002.

MARANCA, G. **Fruticultura Comercial: Manga e Abacate**. Editora Livraria Nobel (3ed.). p. 13-61, 1978.

MARTIN, C. et al. A study of three strategies for improving the fermentability of sugarcane bagasse hydrolysates for fuel ethanol production. **Internacional sugar Journal**, Glamorgan, v.109, n.1267, p.33-39, 2007.

MATSUGUMA, L. S. **Caracterização do amido de mandioca salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) nativo e modificado por oxidação**. 2006. 112p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2006.

MEDINA, I.C. Cultura: Manga da cultura ao processamento e comercialização. **In: Instituto de tecnologia de alimentos**. São Paulo: ITAL, cap.1, p.9-227, 1981.

MELO, R. B.; CANDIDO, A. S. ; SILVA, J. S.; FEITOSA, T. B. A Importância do Polo Petrolina(PE) Juazeiro(PE) na Produção e Exportação de Manga no Brasil. **In: IV CONNEPI**, Belém: IFPI, 2009.

MELO, W. C.; SILVA, D. B.; JR, P. R.; ANNA, L. M. M. S.; SANTOS, A. S. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis L.*) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. **Química Nova**, v.31, n.5, p.1104-1106, 2008.

MOJOVIC, L.; NIKOLIO, S.; RAKIN, M.; VUKASINOVIC, M. Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates. **Fuel**, n.85, p.1750-1755, 2006.

MONTESINO, T., NAVARRO, J.M. Production of alcohol from raw wheat flour by amyloglucosidase and *Saccharomyces cerevisiae*, **Enzyme and Microbial Technology**, v.27, p.362-370, 2000.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V. KUSKOSKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2002. 255p. (Série Nutrição). ISBN 8532802133.

MUCCILLO, R. C. S. T.; **Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. 2009, 156f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

NGUYEN, Q. **Milestone Completion Report: Evaluation of a Two-Stage Dilute Sulfuric Acid Hydrolysis Process**. National Renewable Energy Laboratory (NREL), 1998.

ORDÓÑEZ PEREDA, J. A.; CAMBERO RODRÍGUEZ, M. I.; FERNÁNDEZ ÁLVAREZ, L.; GARCÍA SANZ, M. L.; FERNANDO MINGUILLÓN, G. D. G. de; HOZ PERALES, L. de la; SELGAS CORTECERO, M. D. **Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. v. 1. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p. ISBN 8536304367.

ODUNSI, A. A. Responsive of laying hens and growing broilers to the dietary inclusion of mango (*Mangifera indica L.*) seed kernel meal. **Trop. Anim. Health Prod., Edinburgh**, v.37, n.2, p.139-150, 2005.

OLIVA-NETO, P. Influência da contaminação por bactérias lácticas na fermentação alcoólica pelo processo de batelada alimentada. 207 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 1990.

OLIVEIRA, M.; VASCONCELOS, Y. Revolução no canavial. **Pesquisa FAPESP**, v. 122, p.62-70, 2006.

OLIVEIRA, T. M. de. **Desenvolvimento e avaliação de filme biodegradável de polietileno incorporado de amido de grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*)**. 2007. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OLIVEIRA, T. M. de; PIROZI, M. R.; BORGES, J. T. da S.; GERMANI, R.; FONTES, M. P. F. Caracterização do amido de grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.27, n.1, p.27-42. 2009.

OLIVEIRA, T. P. de; ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. de. Efeito do sorbitol e da misturas de amidos de milho e de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) no tempo de secagem das soluções filmogênicas e nas características dos filmes biodegradáveis. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v.1, n.1, p.111-128. 2010.

ORABY, H.; VENKATESH, B.; DALE, B.; AHMAD, R.; RANSOM, C.; OEHMKE, J.; STICKLEN, M. Enhanced conversion of plant biomass into glucose using transgenic rice-produced endoglucanase for cellulosic ethanol. **Transgenic Res**, v.16, p.739-749, 2007.

OSTROWSKI, A. P.; VARGAS, F.; PIZZINATTO, L. E.; ARAÚJO, J. H. B. Obtenção de álcool etílico a partir de amido de mandioca. **I MICTI Mostra de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar**. Camboriú: UFSC, 2008. p.1-21.



PAVALAK, M. C. M.; LIMA, T. L. A; CARREIRO S. C. Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *saccharomyces cerevisiae*. *Química Nova*, v.34, n.1, p.82-86, 2011.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. *Journal of Technology Management & Innovation*, v.2, n.1, p.118-27, 2007.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética**. Barueri, SP: Manole, 2003.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos**. FEALQ, Piracicaba, p.309, 2002.

PINHEIRO, T. L. F.; MENONCIN, S.; DOMINGUES, N.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M.; FREIRE, D. M. G. Production and partial characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* obtained by submerged fermentation of conventional and industrial media. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.444-450, 2008a.

PINHEIRO, T. L. F.; LIPKE, N. R.; KEMPKA, A. P.; MENONCIN, S.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M.; FREIRE, D. M. G. Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid state fermentation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.31, n.2, p.119-125, 2008b.

PORTO, S. I. Acompanhamento da Safra Brasileira Café Safra 2013 terceira estimativa, setembro/2013/Companhia Nacional de Abastecimento. - Brasília: Conab, 2013

QUADROS, D. G.; OLIVER, A. P. M.; VALLADARES, R.; SOUZA, P. H. F.; Ferreira, E. J. Biodigestão anaeróbia de dejetos de caprinos e ovinos em reator contínuo de PVC flexível. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.326-332, 2010.

RAHMAN, S.H.A. et al. Optimization studies on acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch fiber for production of xylose. **Bioresour. Technol.**, v.98, p.554- 559, 2007.

RAMOS, K. M. C.; SOUZA, V. A. B. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm). Em populações naturais da região meio-norte do Brasil, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.33, n.2, p.500-508, 2011.

RAO, R. S. et al. Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by *Candida tropicalis*. **Bioresource Technology**, v.97, p.1974- 1978, 2006.

REGULY, J.C. **Biotechnologia dos processos fermentativos**. ed. Universitária - UFPel, 1996. 330 p.

RIBEIRO, N.; ANGELA M. M.; MARQUES, T. A. Produção de glicose a partir do

amido da batata-doce por hidrólise ácida. **Colloquium Agrariae**, v.5, n. Especial, 2009.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p. 620-628. 2008.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 2ª Ed. – Campinas, SP, 2009. 358p.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. 1. ed. Campinas: Editora Casa do Pão, 326 p, 2005.

ROZANE, D. E., DAREZZO, R. J., AGUIAR, R. L., AGUILERA, G. H. A., ZAMBOLIM, L. – **Manga, Produção integrada, industrialização e comercialização**, 1ª Ed., Suprema Gráfica e Editora, 604 p, 2004.

RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.

SAEMAN, J. F. Kinetics of Wood Saccharification - Hydrolysis of Cellulose and Decomposition of Sugars in Dilute Acid at High Temperature. **Industrial & Engineering Chemistry**. v.37, n.1, p.43-52, 1945.

SAITO, I.; CABELLO, C. **Produção de etanol a partir de hidrolisado obtido por tratamento hidrotérmico de farelo de mandioca**. Energia na Agricultura, Botucatu, SP, v.21, n.3, p.33-34, 2006.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Resistant starch – A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v.5, n.1, p.1-17, 2006.

SÁNCHEZ, Ó. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v.99, p.5270–5295, 2008.

SANTANA, J. C. C.; EHRHARDT, D. D.; TAMBOURGI, E. B. Otimização da produção de álcool de mandioca. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.3, p.613-617, 2010.

SANTOS, C. T. **Farinha da Semente de Jaca: Caracterização físico-química e propriedades funcionais**. 2009. 73p. (Dissertação - Mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga- Ba.

SASSNER, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated Salix at high dry-matter content. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, p.756-762, 2006.

SAXENA, R. C., ADHIKARI, D. K.; GOYAL, H. B. **Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review**, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.13, p.167–178, 2009.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial**: Engenharia Bioquímica. 1ª ed. v.2. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2001, 541p.

SHUJUN, W.; WENYUAN, G.; HAIXIA, C.; PEIGEN, X. New starches from *Fritillaria* species medicinal plants. *Carbohydrate Polymers*, v.61, p.111–114, 2005.

SILVA, A. P. da; BARBOSA, H. R.; ASCHERI, D. P. R.; MOURA, W. S. Propriedades físico-químicas do amido da semente de jaca (*Artocarpus heterophilus*). In: **48º Congresso Brasileiro de Química** – CRQ. Rio de Janeiro – RJ, 2008.

SILVA, C. R. R.; FONSECA, E. B. A.; MOREIRA, M. A. A cultura da mangueira. **Boletim Técnico de Extensão da UFLA (Universidade Federal de Lavras)**. Disponível em: <[http://www.editora.ufla.br/boletim/pdfextensao/bol\\_24.pdf](http://www.editora.ufla.br/boletim/pdfextensao/bol_24.pdf)>. Acesso em: 5 jan. de 2009.

SILVA, G. A. S.; CAVALCANTI, M. T.; ALMEIDA, M. C. B. M.; ARAÚJO, A. S.; CHINELATE, G. C. B.; FLORENTINO, E. R. Utilização do amido da amêndoa da manga *Tommy Atkins* como espessante em bebida láctea. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, p.1326-1332, 2013.

SILVA, P. L. **Desenvolvimento de blendas de amido de inhame modificado com quitosana e PVA**. 2010, 120f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará.

SIMARELLI, M. **Frutas do Brasil**. Frutas e derivados, ano 1. Edição 1. p.15-17, Abril, 2006.

SOARES, P. **Conversão da Celulose pela tecnologia Organosolv**. v. 3, NAIPE/USP, São Paulo, SP, 2011.

SOUSA, J. H.; PIGOZZO, C.B.; VIANA, B. F. Polinização de manga (*Mangifera indica* L. - *Anacardiaceae*) variedade Tommy Atkins, Vale do São Francisco, Bahia. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v.14, n 1, p.165-173, 2010.

SOUZA, M. L.; HOLANDA, L. F. F.; MAIA, G. A.; GASPAR JUNIOR, J. C.; FIGUEIREDO, R. W. Processamento e estabilidade do leite de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.J.). **Ciência Agrônômica**, v.18, p.137-146, 1986.

SOUZA, J. S. ALMEIDA, C. O.; ARAUJO, J. L. P.; CARDOSO, C. E. L.; GENU, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. A cultura da mangueira. In: Aspectos socioeconômicos. (Ed.). **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, p.19-29, 2002.

SOUZA, O.; FEDERIZZI, M.; COELHO, B.; WAGNER, T. M.; WISBECK, E. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura e sua valorização

para a produção de biogás. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.438-443, 2010.

SOUZA, OZAIR.; SCHULZ, M. A.; FISCHER, G. A. A.; WAGNER, T. M.; SELLIN, N. Energia alternativa de biomassa: Bioetanol a partir da casca e da polpa de banana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.8, p.915-921, 2012.

SPIER, F. **Efeito dos Tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SURMELY, R.; ALVAREZ, H.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. Hidrólise do amido. In: MENDES, B. de P. et al. Tecnologia, uso e potencialidade de tuberosas amiláceas Latino Americanas. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, 2003, cap. 15, p.377-448. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas).

PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S. R.; MORAIS, P. B.; LINARDI, V. R.; ROSA, C.A. Physiology characterization of yeasts isolated from artisanal fermentations in cachaça distillery. **Revista Microbiológica**, v.29, 1998.

PEREZ, K. P.; AFONSO, T. O. Sustentabilidade: através de biocombustíveis e novas formas de produção do etanol. **Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense**, v.1, p.223-226, 2010.

TAHERZADEH, M. J. **Ethanol from lignocellulose**: Physiological effects of inhibitors and fermentation strategies. Department of Chemical Reaction Engineering, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, 2000, 20p.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal – SP, v.26, n.1, p.17-23, 2004.

TASIC, M.B.; KONSTANTINOVIC, B.V.; LAZIC, M.L.; VELJKOVIC, V.B. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. **Biochem. Eng. J.**, v.43, p. 208-11, 2009.

TEIXEIRA, M. A. V.; CIACCO, C. F.; TAVARES, D. Q.; BONEZZI, A. N. Ocorrência e caracterização do amido resistente em amidos de milho e de banana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.2, p.246-53, 1998.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. QI X. Starch composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, n.1, p.151-165, 2004.

THEMEIER, H.; HOLLMANN, J.; NEESE, U.; LINDHAUER, M. G. Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in starches of different botanical origin. **Carbohydrate Polymers**, v.61, n.01, p.72-79, 2005. DOI:10.1016/j.carbpol.2005.02.017.

THOMAS, D.J.; ATWELL, W. **Practical for guides the food industry** – Starch. Saint Paul: Eagan Press, 94 p. 1999.

THYS, R. C. S., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., AIRES, A. G., CLADERA-OLIVERA, F. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. **Journal of Food Engineering**, 100, 468–473, 2010.

UNIVERSIDADE DE CAMPINAS (UNICAMP). **Tabela brasileira de composição de alimentos/ TACO**. Editora alto astral. O poder das frutas, v.1, n.1, 2009.

URBANO, L. H. **Fermentação Etanólica em Mostos de Hidrolisados de Amido de Mandioca**. 2012. 69f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

URGUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BOODEY, R. M. Produção de Biocombustíveis – A questão do balanço energético. **Revista de Política Agrícola**. 1: 42-46, 2005.

VAN SOEST, J. J. G.; Vliegenthart, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in Biotechnology**. v.15, n.6, p.208-213. 1997.

VIEGAS, M. C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características floculantes**. 2003. 150 f. Tese (Engenharia Química) UNICAMP: Campinas.

VIEIRA, J. C.; MONTENEGRO, F. M.; LOPES, A. S.; PENA, R. S. Influência da adição de fécula de mandioca nas características do pão tipo chá. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B. CEPPA)**, Curitiba, v.28, n.1, p.37-48, 2010.

VILLEN, R. A. **Biociencia** – Histórico e Tendências. Disponível em: <<http://www.hottopos.com/regeq10/rafael.htm>>. Acesso em: 9 jan, 2010.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.974-980, 2005.

WANG, Y. J; WHITE, P., POLLAK, L. Physicochemical properties of starches from mutant genotypes of the Inbred line. **Cereal Chemistry**, v. 70, n.2, p. 199-203, 1994.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.748-753. 2009.

YEAN SOONG, Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v.88, n.3, p.411-417, 2004.

YONEMOTO, P. G. **Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em

Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista.

YOSHIMI, N.; MATSUNAGA, K.; KATAYAMA, M.; YAMADA, Y.; KUNO, T. QIAO, Z.; HARA, A.; YAMAHARA, J.; MORI, H. The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344. **Cancer Letters, Heidelberg**, Alemanha, v.166, n.2, p.163-170, 2001.

YU, YUN.; LOU, XIA.; WU, HONGWEI. Some Recent Advances in Hydrolysis of Biomass in Hot-Compressed Water and Its Comparisons with Other Hydrolysis Methods. **Energy & Fuels**, v.22, n.1, p.46–60, 2008.

ZAMORA, A. Carbohydrates - Chemical Structure. Disponível em: <<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>> Acesso em: 29 de maio de 2010.

ZAVAREZE, E; STORCK, C. R; PEREIRA, J. M.; GULARTE, M. A.; DIAS, A. R. G. Elaboração de pão de queijo com substituição do amido de mandioca por amido de batata-doce (*Ipomoea batatas*) submetido a diferentes processos de secagem. **Brazilian Journal of Food Technology (ITAL)**, 12, 68-76, 2009.

ZOBEL, H. F. X-ray analysis of starch granules In: Whistler, R. L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, v.4, chap. 29, p.109-143. 1964.