



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



TESE DE DOUTORADO

DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DA SEMENTE DE JACA (*Artocarpus heterophyllus* L.)

Doutoranda: Shâmia Borborema Cabral

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Elita Martins Duarte

Campina Grande – PB

Julho/2014

SHÂMIA BORBOREMA CABRAL

**DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA PARA PRODUÇÃO DE
BIOETANOL A PARTIR DA SEMENTE DE JACA (*Artocarpus
heterophyllus* L.)**

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

Doutoranda: Shâmia Borborema Cabral

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maria Elita Martins Duarte

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos

Linha de Pesquisa: Bioprodutos

Campina Grande – PB

Julho/2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- C117d Cabral, Shâmia Borborema.
Desenvolvimento de tecnologia para produção de bioetanol a partir da semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus L.*) / Shâmia Borborema Cabral. – Campina Grande, 2014.
122 f. : il. color.
- Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.
- "Orientação: Prof.^a Dr.^a Maria Elita Martins Duarte".
Referências.
1. Jaca – Engenharia de Processos. 2. Hidrólise Ácida. 3. Fermentação Alcoólica. 4. Bioetanol. I. Duarte, Maria Elita Martins. II. Título.
- CDU 620.1:634.393(043)

**DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA PARA PRODUÇÃO DE
BIOETANOL A PARTIR DA SEMENTE DE JACA (*Artocarpus
heterophyllus* L.)**

Tese de Doutorado aprovada em 07 / 07 / 2014

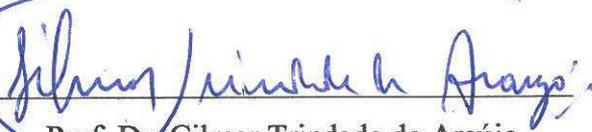
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Maria Elita Martins Duarte
(Orientadora – UAEEAg /UFCG)



Prof.^a. Dr.^a. Ana Paula Trindade Rocha
(Examinadora Externa – UAEEAg /UFCG)



Prof. Dr. Gilmar Trindade de Araújo
(Examinador Externo - UAEEQ /UFCG)



Prof. Dr. Mário Eduardo R. M. Cavalcanti
Mata
(Examinador Interno - UAEEAg /UFCG)



Prof.^a. Dr.^a. Deyzi Santos Gouveia
(Examinadora Externa – UAEEAg /UFCG)

Campina Grande – PB

Julho/2014

*“Cada um de nós compõe a sua história, e cada ser em si
carrega o dom de ser capaz”.*

Almir Sater & Renato Teixeira

Dedico

*Ao meu filho, meu maior orgulho e grande amigo, Nicolas,
dono de uma coleção de virtudes, que se fez presente em
todos os instantes dessa caminhada.*

Filhão, essa tese também é sua!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por sempre permitir a consolidação dos meus sonhos.

Aos meus pais queridos, Maurício Cabral e Cíntia Borborema, pelo amor incondicional. Sei que sempre estarão comigo. Amo vocês!!!

À minha irmã Grázia Cabral, que mesmo longe, sempre esteve na torcida pelas minhas conquistas.

Ao meu companheiro e grande amigo Paulo Eduardo Carvalho, pela dedicação, compreensão e incentivo, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao prof. Dr. Gilmar Trindade de Araújo, por ter partilhado de sua imensa sabedoria, pela valiosa orientação, paciência, confiança e amizade.

À Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Trindade Rocha, pela ideia inicial do projeto, por ter me guiado em todas as etapas da minha trajetória acadêmica e, principalmente, pela amizade consolidada há anos.

À Prof^ª. Dr^ª. Maria Elita Martins Duarte, pela confiança e serenidade, compreendendo sempre as dificuldades que pontuaram esta minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Mário Eduardo Cavalcanti Mata e a Prof^ª. Dr^ª. Deyzi Santos Gouveia, pela disposição e correções indispensáveis a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Gilson Barbosa de Lima, pela compreensão e tolerância na reta final da execução desta pesquisa.

À Wólia Montelo, minha parceira de laboratório, por ter compartilhado todos os momentos de angústias e realizações durante a elaboração dessa tese. Tenho certeza que fui presenteada com uma grande amiga!

À Prof^ª. Dr^ª. Líbia Conrado, ser humano de qualidade invejável, que sempre terá minha imensa admiração. Muito obrigada pelas palavras de incentivo e por ter disponibilizado, além

dos equipamentos, a companhia maravilhosa de todo o grupo LEB (Bia, Rebeca, Paloma, Renan, Carlos, Clebson e Gustavo).

A Douglas Saraiva, por sua companhia adorável, pela forma despreziosa com que disponibilizou incontáveis dias e noites realizando análises no HPLC, pela valiosa amizade que acredito termos firmado nesse tempo em que convivemos.

Às minhas amigas, Thaíse Nogueira, Dominique Frazão, Anna Giovanna Rocha, Patrícia Marinho e Eden Rose Dinoá, por terem dado o maior exemplo de que amizades verdadeiras permanecem, inclusive, na ausência.

À empresa Biomassa e Bioprocesso (CBB), pela importante contribuição dada a esse trabalho no tocante a aquisição da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 e do composto nutricional industrial (Nitrofós).

Ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais (CERTBIO), pelas análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A CAPES, pelo apoio financeiro.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	xii
Lista de Tabelas.....	xv
Resumo.....	xvii
Abstract.....	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Biocombustíveis	4
2.2. Etanol	6
2.2.1. Matérias-primas para produção de etanol	8
2.2.1.1. Matérias-primas amiláceas	10
2.3. Amido.....	11
2.3.1. Estrutura do amido	12
2.3.2. Extração e purificação do amido.....	17
2.4. Jaca.....	19
2.5. Hidrólise do amido	24
2.5.1. Hidrólise ácida do amido.....	26
2.6. Fermentação alcoólica.....	29
2.6.1. Fatores que afetam o rendimento da fermentação.....	30
2.6.2. Processos fermentativos	33
2.6.3. Cinética de processos fermentativos	36
2.7. Estado da arte	37
2.7.1. Produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas	37
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1. Matéria-prima	41
3.1.1. Preparo da matéria-prima	42
3.2. Análises físico-químicas	42
3.2.1. Teor de água.....	42
3.2.2. Açúcares redutores	42
3.2.3. Cinzas.....	43
3.2.4. pH.....	43
3.2.5. Acidez.....	43

3.2.6. Amido.....	43
3.2.7. Proteínas.....	44
3.2.8. Lipídios.....	44
3.2.9. Fibras.....	44
3.3. Extração e purificação do amido.....	44
3.3.1. Rendimento da extração do amido.....	46
3.4. Planejamento experimental visando a otimização dos processos hidrolíticos.....	47
3.5. Hidrólise ácida do amido.....	48
3.6. Determinação das variáveis dependentes do planejamento experimental.....	50
3.6.1. Concentrações de glicose e hidroximetilfurfural no licor hidrolisado.....	50
3.6.2. Eficiência da hidrólise.....	51
3.7. Hidrólise ácida do amido nas condições otimizadas de operação.....	52
3.8. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	53
3.9. Processos fermentativos.....	53
3.9.1. Microrganismo.....	53
3.9.2. Nutrientes.....	53
3.9.3. Ensaio de fermentação.....	54
3.9.4. Determinação dos parâmetros fermentativos.....	55
3.9.4.1. Fator de conversão de glicose em etanol ($Y_{P/S}$).....	56
3.9.4.2. Produtividade volumétrica em etanol (Q_P).....	56
3.9.4.3. Eficiência de conversão (η).....	57
3.9.4.4. Porcentagem de consumo de glicose (Y_{S/S_0}).....	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.1. Caracterização físico-química das sementes de jaca.....	58
4.2. Caracterização físico-química do amido extraído das sementes de jaca.....	60
4.3. Rendimento do processo de extração do amido.....	63
4.4. Planejamento experimental para o processo de hidrólise do amido utilizando ácido sulfúrico como catalisador.....	64
4.4.1. Análise estatística para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	65
4.4.2. Análise estatística para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	70
4.5. Planejamento experimental para o processo de hidrólise do amido utilizando ácido fosfórico como catalisador.....	75

4.5.1. Análise estatística para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	77
4.5.2. Análise estatística para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	81
4.6. Considerações gerais dos planejamentos experimentais.....	82
4.7. Avaliação morfológica dos grânulos de amido nativo e hidrolisado.....	83
4.8. Avaliação da fermentabilidade dos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.....	87
4.8.1. Cinética de fermentação para produção de etanol.....	87
4.8.2. Determinação dos parâmetros fermentativos.....	90
4.9. Balanço Material: Potencial de sementes de jaca para a produção de etanol.....	93
5. CONCLUSÕES.....	95
5.1. Sugestões para trabalhos futuros.....	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.	Emissões de gases de efeito estufa (GEE) evitadas no Brasil em 2012.....	5
Figura 2.2.	Produção brasileira de etanol em 2012.....	7
Figura 2.3.	Produção mundial de etanol em 2012.....	7
Figura 2.4.	Rota de produção de etanol para diferentes matérias-primas.....	9
Figura 2.5.	Representação esquemática do grânulo de amido.....	12
Figura 2.6.	Estrutura interna do grânulo de amido.....	13
Figura 2.7.	Regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido.....	13
Figura 2.8.	Estrutura da amilose.....	14
Figura 2.9.	Estrutura da amilopectina.....	15
Figura 2.10.	Tipos de cadeias existentes na estrutura da amilopectina.....	16
Figura 2.11.	Processo de gelatinização do amido.....	17
Figura 2.12.	Amido comercial.....	18
Figura 2.13.	Jaqueira (<i>Artocarpus heterophyllus</i> L.).....	20
Figura 2.14.	Sementes de jaca.....	22
Figura 2.15.	Terminais redutores e não redutores presentes na molécula de glicose.....	25
Figura 2.16.	Representação da hidrólise ácida do amido.....	27
Figura 2.17.	Processo descontínuo de fermentação alcoólica com recirculação de levedura.....	34
Figura 2.18.	Processo contínuo de fermentação alcoólica com recirculação de levedura.	35
Figura 2.19.	Curvas de ajuste para uma cinética de fermentação idealizada.....	37
Figura 3.1.	Sementes de jaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i> L.).....	41
Figura 3.2.	Fluxograma do processo de extração e purificação do amido das sementes de jaca.....	46
Figura 3.3.	Reator tubular de aço inoxidável.....	49
Figura 3.4.	Banho de óleo com aquecimento controlado sob agitação.....	49
Figura 3.5.	Fluxograma referente ao processo de hidrólise ácida do amido de sementes de executado nas condições otimizadas de operação.....	52
Figura 3.6.	Licores hidrolisados pelos catalisadores: (a) ácido sulfúrico e (b) ácido fosfórico.....	54
Figura 3.7.	Fluxograma referente ao processo de fermentação realizado para os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.....	55
Figura 4.1.	Amido extraído de sementes de jaca.....	64
Figura 4.2.	Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de	

	suas interações sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	67
Figura 4.3.	Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	68
Figura 4.4.	Superfície de resposta para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	69
Figura 4.5.	Curva de contorno para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	69
Figura 4.6.	Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	72
Figura 4.7.	Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	73
Figura 4.8.	Superfície de resposta para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	74
Figura 4.9.	Curva de contorno para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	74
Figura 4.10.	Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	78
Figura 4.11.	Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	79
Figura 4.12.	Superfície de resposta para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	80
Figura 4.13.	Curva de contorno para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	80
Figura 4.14.	Micrografias dos grânulos de amido nativo extraído de sementes de jaca em diferentes ampliações: (A) 500x; (B) 1000x; (C) 1500x e (D) 3000x....	84
Figura 4.15.	Micrografias dos grânulos de amido de sementes de jaca após hidrólise: (A) com ácido sulfúrico (500x); (B) com ácido sulfúrico (3000x); (C) com ácido fosfórico (500x); (D) com ácido fosfórico (3000x).....	86

- Figura 4.16. Perfil cinético da produção de etanol e consumo de glicose em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado por ácido sulfúrico..... 88
- Figura 4.17. Perfil cinético da produção de etanol e consumo de glicose em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado por ácido fosfórico..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1.	Composição química de algumas matérias-primas amiláceas.....	10
Tabela 2.2.	Percentuais de constituintes em sementes de jaca.....	22
Tabela 2.3.	Concentrações de nutrientes minerais para obtenção de uma fermentação alcoólica eficiente.....	32
Tabela 3.1.	Níveis reais e codificados para as variáveis independentes do planejamento fatorial completo 2^3 incluindo os pontos centrais.....	47
Tabela 3.2.	Matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais.....	48
Tabela 4.1.	Composição físico-química das sementes de jaca.....	58
Tabela 4.2.	Composição físico-química do amido extraído das sementes de jaca.....	61
Tabela 4.3.	Valores reais das variáveis independentes e resultados obtidos para as variáveis dependentes após diferentes tratamentos de hidrólise do amido utilizando ácido sulfúrico como catalisador.....	65
Tabela 4.4.	Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	66
Tabela 4.5.	Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	68
Tabela 4.6.	Coeficientes de regressão para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	71
Tabela 4.7.	Análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.....	73
Tabela 4.8.	Valores reais das variáveis independentes e resultados obtidos para as variáveis dependentes após diferentes tratamentos de hidrólise do amido utilizando ácido fosfórico como catalisador.....	76
Tabela 4.9.	Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	77
Tabela 4.10.	Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.....	79
Tabela 4.11.	Resultados obtidos para os parâmetros fermentativos referentes aos ensaios de fermentação conduzidos com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.....	90

Tabela 4.12. Resultados necessários ao cálculo do balanço de massa visando a avaliação do potencial de sementes de jaca para a produção de etanol.....	93
--	----

RESUMO

Atualmente, a matriz energética brasileira centraliza toda a sua produção de bioetanol a partir da cana-de-açúcar, no entanto, tendo em vista a vasta biodiversidade encontrada em seu território, o Brasil dispõe de uma grande variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais cujo bioprocessamento para a produção de bioetanol desperta um grande interesse econômico e social. Nesse contexto, a presente pesquisa teve como objetivo estudar o aproveitamento de sementes de jaca (resíduo) como fonte de amido para a produção de bioetanol. Visando à máxima remoção do amido presente nas sementes de jaca, as mesmas foram submetidas a etapas de extração e purificação. Parâmetros físico-químicos foram determinados tanto para as sementes quanto para o amido extraído das sementes de jaca. O material amiláceo obtido foi, então, submetido a tratamentos hidrolíticos, empregando os ácidos sulfúrico e fosfórico como catalisadores, seguindo um planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais. Foram definidas como variáveis independentes, a temperatura (80, 100 e 120 °C), o tempo de reação (30, 60 e 90 min.) e a concentração do ácido (1, 3 e 5%), e como variáveis dependentes, as concentrações de glicose e hidroximetilfurfural (g.L^{-1}) presentes nos licores hidrolisados. A fim de observar e avaliar o efeito dos tratamentos ácidos, realizados nas condições otimizadas de operação, sobre a superfície dos grânulos do amido extraído de sementes de jaca, a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi empregada. Os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, obtidos nas condições otimizadas de operação, foram submetidos a ensaios fermentativos em uma câmara incubadora com agitação orbital a 160 rpm, sob temperatura controlada de 32 °C, empregando como microrganismo, a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y904, e como nutrientes, o composto nutricional industrial Nitrofós. O material amiláceo extraído das sementes de jaca apresentou elevado teor de amido (85,5%). Maiores concentrações de glicose, 32,98 e 31,23 g.L^{-1} para os tratamentos hidrolíticos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente, concomitantemente, com concentrações de hidroximetilfurfural (HMF) que não inibissem o processo fermentativo, 0,53 e 0,08 g.L^{-1} para os tratamentos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente, foram encontradas no ensaio executado nas condições mais severas estabelecidas para a matriz de planejamento, sendo elas: 120 °C, concentração do ácido a 5% e 90 min. de reação. O tratamento hidrolítico do amido conduzido com o ácido sulfúrico apresentou maior eficiência de hidrólise (70,13%) quando comparada a eficiência alcançada pelo tratamento empregando-se o ácido fosfórico (66,41%). As micrografias revelaram os aspectos morfológicos característicos dos grânulos de amido de sementes de jaca, constatando-se formatos, predominantemente, elipsoides e hemisféricos, e tamanhos variando de 4 a 9 μm , bem como suas modificações estruturais causadas pela ação dos ácidos durante os tratamentos hidrolíticos. Os ensaios fermentativos realizados com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico apresentaram eficiências de fermentação de 97,85 e 95,89%, respectivamente, indicando, portanto, que a levedura foi capaz de metabolizar, praticamente, todo o substrato limitante (glicose) presente nos licores em etanol. Considerando os resultados obtidos em todas as etapas realizadas durante a presente pesquisa, conclui-se que o amido extraído de sementes de jaca apresentou-se como uma matéria-prima promissora para a produção de bioetanol.

Palavras-chave: jaca, amido, hidrólise ácida, fermentação alcoólica, bioetanol.

ABSTRACT

Currently, the Brazilian energy matrix centralizes all their production of bioethanol from sugar cane, however, in view of the vast biodiversity found in its territory, Brazil has a wide variety of agricultural and agro-industrial waste whose bioprocessing for bioethanol production arouses a great economic and social interest. In this context, the present research was to study the use of jackfruit seeds (residue) as a source of starch for the production of bioethanol. For ultimate removal of this starch in jackfruit seeds, they were subjected to extraction and purification steps. Physical and chemical parameters were determined for both the seeds and the starch extracted from jackfruit seeds. The starch material obtained was then subjected to hydrolytic treatments using sulfuric and phosphoric acids as catalysts, following a full 2^3 factorial design with three central points. We defined as independent variables the temperature (80, 100, 120 °C), the reaction time (30, 60 and 90 min.) and the concentration of the acid (1, 3 and 5%), the dependent variables were the glucose concentrations and hydroxymethylfurfural (g.L^{-1}) present in the hydrolyzed liquor. In order to observe and evaluate the effect of acid treatments, based on the optimized operating conditions on the surface of starch granules extracted from jackfruit seeds, scanning electron microscopy technique (SEM) was used. The liquors hydrolyzed by sulfuric and phosphoric acids, obtained in the optimized operating conditions, underwent fermentation trials in a dry incubator with orbital shaking at 160 rpm, under controlled temperature of 32 °C, using industrial yeast *Saccharomyces cerevisiae* Y904 as microorganism, and the industrial nutritional compound Nitrophós as nutrients. The starch material extracted from jackfruit seeds showed high starch content (85.5%). We found higher concentrations of glucose, 32.98 and 31.23 g.L^{-1} to hydrolytic treatment with sulfuric and phosphoric acids respectively, concurrently, with concentrations of hydroxymethylfurfural (HMF) which would not inhibit the fermentative process, 0.53 and 0, 08 g.L^{-1} for treatment with sulfuric and phosphoric acids, respectively. These were found in the test run under the most severe conditions attached to the planning matrix, namely, 120 °C, 5% acid concentration and 90 min. reaction. The hydrolytic treatment of starch conducted with sulfuric acid hydrolysis showed higher efficiency (70.13%) compared to treatment efficiency achieved by employing phosphoric acid (66.41%). The micrographs revealed the characteristic morphology of jackfruit seed starch granules, confirming hemisphere and ellipsoid formats, and sizes ranging from 4 to 9 μm , as well as its structural modifications caused by the action of acid during the hydrolytic treatment . The fermentation trials with liquors hydrolyzed by sulfuric and phosphoric acids showed fermentation efficiencies of 97.85 and 95.89%, respectively, thus indicating that the yeast was capable of metabolizing substantially all the limiting substrate (glucose) present in liquors from ethanol. Considering the results obtained in all steps undertaken during this research, it is concluded that the extracted starch jackfruit seeds appeared as a promising raw material for the production of bioethanol.

Keywords: jackfruit, starch, acid hydrolysis, alcoholic fermentation, bioethanol.

1. INTRODUÇÃO

A constante busca pela preservação do meio ambiente maximizam a importância da inclusão de combustíveis renováveis na matriz energética mundial. Essa nova visão, aumentou o interesse na conversão de biomassa em bioetanol e, hoje, esse biocombustível tornou-se, além de uma realidade imediata, uma alternativa promissora, sendo estudado mundialmente (SILVA, 2012).

O Brasil tem investido na produção de biocombustíveis desde a década de 1970 e, atualmente, é conhecido mundialmente pela produção de etanol a partir da cana-de-açúcar (BERNARDO, 2009), sendo o segundo maior produtor de etanol do mundo, com a produção de 23,5 bilhões de litros anuais (BRASIL, 2013). No entanto, defronta-se com a perspectiva de um aumento significativo da demanda de etanol. Segundo Barcelos (2012), esta previsão sustenta-se em três realidades de mercado: aumento interno do consumo de álcool hidratado pelo sucesso da introdução da alternativa *flex fuel* no mercado de veículos automotivos leves, expansão das exportações brasileiras de etanol em função do crescente interesse mundial pela mistura do álcool a gasolina e opção brasileira pela produção do biodiesel utilizando etanol na transesterificação dos óleos vegetais.

Nesse contexto, o Brasil necessita de uma política de expansão para a produção de etanol, requerendo, portanto, estimular cada vez mais a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias-primas para a produção desse biocombustível. Uma alternativa promissora é a evolução de processos biotecnológicos que visam o aproveitamento de resíduos da agroindústria, uma vez que alia o aumento da produção da indústria alcooleira e a diminuição dos problemas ambientais associados à disposição dos mesmos no meio ambiente.

As matérias-primas usadas para a produção de etanol provenientes da agroindústria são as mais variadas possíveis e, segundo a sua composição química estão distribuídas nas seguintes categorias: açucaradas, amiláceas e celulósicas (WENZEL, 2001; LIMA, 2001; PEREIRA Jr. et al., 2008). Os requisitos desejados para a matéria-prima ideal incluem múltiplos fatores não facilmente conciliáveis, tais como: disponibilidade, preço, qualidade em relação ao processo de conversão e sustentabilidade ambiental (COUTINHO e BOMTEMPO, 2011).

O Nordeste brasileiro apresenta uma grande diversidade de espécies frutíferas nativas e exóticas bem adaptadas às suas condições edafoclimáticas, representando um grande

potencial sócio-econômico, tanto para o mercado interno e externo de comercialização de frutas *in natura*, como para industrialização (FONSECA, 2010). A jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* L.) é uma destas fruteiras exóticas, originária da Índia, bem adaptada ao ambiente de transição entre a Mata Atlântica e o Semiárido nordestino (OLIVEIRA et al., 2011).

Os frutos da jaqueira são comercializados e consumidos quase que exclusivamente na forma *in natura*, e sua alta perecibilidade leva a um índice elevado de perda pós-colheita, acarretando prejuízos aos produtores (OLIVEIRA et al., 2011). Um volume expressivo de resíduos gerados pelo consumo *in natura* ou pela industrialização desse fruto, como o caroço ou semente, que representam de 15 a 25% do fruto, são ricos em nutrientes, tais como carboidratos, proteínas, fibras, sais minerais e ácidos graxos, podendo ser utilizados na indústria alimentícia (ASQUIERI et al., 2008; QUEIROZ et al., 2013), além de possuírem elevado teor de amido, matéria-prima para a obtenção de etanol (MADRIGAL-ALDANA et al., 2011).

Entretanto, o amido não é passível de fermentação pela levedura alcoólica, necessitando, portanto, ser transformado a mono e dissacarídeos fermentáveis por hidrólise ácida ou enzimática, etapa imprescindível à formação de açúcares redutores requeridos à fermentação (BRINGHENTI e CABELLO, 2005).

Segundo Woiciechowski et al. (2002), a hidrólise ácida apresenta vantagens em relação ao tratamento enzimático, principalmente, quando se compara a eficiência na recuperação de açúcares redutores, com os custos de operação, uma vez que, a hidrólise ácida necessita de um menor tempo de reação, bem como de menores gastos com produtos químicos e energia do que a hidrólise enzimática.

A jaqueira, mesmo sendo uma cultura muito popular e de múltiplos objetivos de uso, o mercado ainda não despertou para a rentabilidade que a mesma pode gerar (SILVA et al., 2007). Esse fato evidencia a necessidade de processos simples e baratos, que possam oferecer alternativas para um maior aproveitamento do fruto, promovendo uma perspectivação dos complexos agroindustriais em direção aos empreendimentos, ampliando as políticas de cunho social, ambiental e econômico nas comunidades agrícolas.

A produção de etanol a partir do amido extraído da semente de jaca acena como uma alternativa para transformar o resíduo amiláceo em co-produto, agregando valor à matriz produtora da fruta, minimizando, assim, as perdas provocadas por sua comercialização, e promovendo o aumento de novos investimentos, empregos, renda e desenvolvimento

tecnológico em regiões onde a cultura da jaca se faz presente, além de poder atender parte da crescente demanda brasileira por combustíveis de reduzido impacto ambiental.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo geral desenvolver um processo tecnológico visando o aproveitamento da semente de jaca como fonte de amido para a produção de etanol e, como objetivos específicos:

- Determinar o rendimento do processo de extração do amido das sementes de jaca;
- Caracterizar, através de análises físico-químicas, as sementes de jaca e o amido obtido a partir das sementes de jaca (teor de água, cinzas, proteínas, açúcares redutores, açúcares totais, fibras, amido, lipídios, acidez e pH);
- Definir as condições otimizadas de operação (temperatura, tempo de reação e concentração do ácido) para os tratamentos hidrolíticos conduzidos com os ácidos sulfúrico e fosfórico;
- Comparar as eficiências de hidrólise dos diferentes tratamentos ácidos realizados;
- Verificar as mudanças morfológicas na estrutura do amido da semente de jaca ocasionadas pelos diferentes tratamentos hidrolíticos realizados;
- Avaliar a fermentabilidade dos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico obtidos nas condições otimizadas de operação através de um estudo cinético e da determinação dos parâmetros fermentativos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na seção 2 estão apresentadas as fundamentações teóricas sobre os temas abordados na tese, sendo elas; a importância dos biocombustíveis, bem como um breve histórico sobre o etanol e as matérias-primas para sua produção; em seguida, características estruturais do amido e a viabilidade de sementes de jaca como fonte de amido; posteriormente, aspectos relacionados aos processos de hidrólise e fermentação; finalizando com a descrição de pesquisas visando o aproveitamento de resíduos amiláceos para a produção etanol (Estado da arte).

2.1. Biocombustíveis

Uma sucessão de desvantagens estão relacionadas ao emprego de combustíveis fósseis como fonte de energia, entre elas destacam-se: a elevada projeção de preços a longo tempo, a emissão de gases causadores do efeito estufa e consequências ambientais como mudanças climáticas atribuídas as emissões de dióxido de carbono (MUSSATTO et al., 2010; DOHERTY et al., 2011; TSIGIE et al., 2011). Estas desvantagens podem ser fortemente minimizadas ou mesmo eliminadas com a substituição destes combustíveis pelos biocombustíveis, os quais representam uma fonte de energia limpa e sustentável (HAMELINCK et al., 2005).

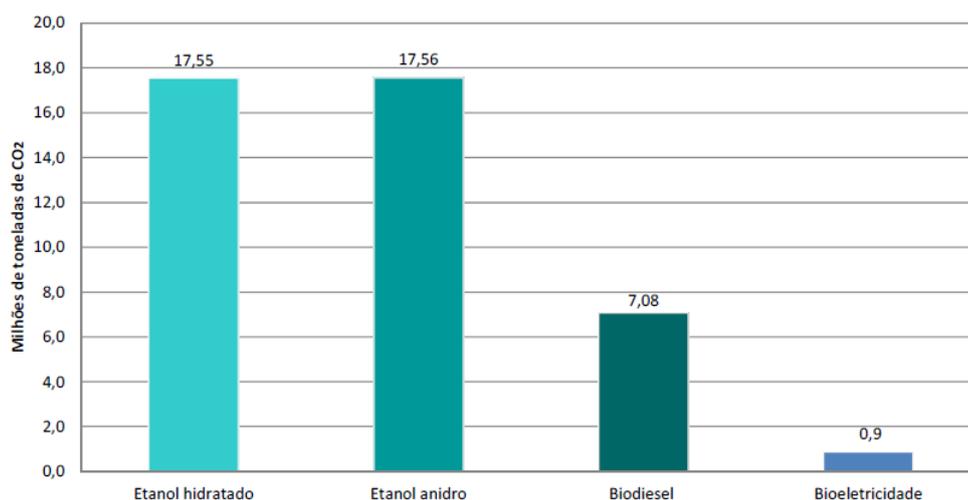
Os biocombustíveis, segundo a Lei N° 9.478, são definidos como sendo um combustível derivado de biomassa renovável que pode substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores à combustão ou em outro tipo de geração de energia (ANP, 2013). Conforme a ANNEL (2005), a biomassa é toda matéria orgânica de origem animal ou vegetal que pode ser utilizada na produção de energia.

O Brasil apresenta potencial para produção de biocombustíveis em grande parte de sua extensão territorial. Suas características edafoclimáticas, biodiversidade, disponibilidade de área e de mão-de-obra, bem como comprovada competência técnica no campo da ciência agrícola contribuem para esta condição (DIAS et al., 2008).

No entanto, alguns estudiosos e ambientalistas demonstram preocupações quanto ao impacto da expansão da área de produção de biocombustíveis, pois o cultivo em larga escala

de matéria-prima requer grandes quantidades de recursos naturais, como água, além de fertilizantes e de pesticidas. Portanto, o planejamento produtivo deve sempre visar o respeito aos requisitos socioambientais, conforme as características edafoclimáticas, a aptidão e a capacidade de uso de cada área ou região, sendo apoiado por tecnologias e metodologias de análise como o zoneamento agroecológico de espécies importantes em áreas de expansão da agroenergia (MANZATTO et al., 2009).

O uso de biocombustíveis na matriz energética nacional já proporciona uma significativa redução nas emissões de gases de efeito estufa (GEE). Na Figura 2.1, observam-se as emissões de gases de efeito estufa evitadas no Brasil em 2012, medidas em toneladas de CO₂ equivalente, decorrentes do uso de biocombustíveis renováveis (etanol anidro e hidratado e biodiesel), em detrimento de seus equivalentes fósseis, gasolina e diesel (BRASIL, 2013).



Fonte: Brasil (2013).

Figura 2.1. Emissões de gases de efeito estufa (GEE) evitadas no Brasil em 2012.

No entanto, o aumento considerável na demanda global por energia exige o contínuo avanço de tecnologias que visem, cada vez mais, a diminuição das emissões de gases de efeito estufa, colaborando assim, com a preservação do meio ambiente. Nesse contexto, inúmeras pesquisas visando o desenvolvimento de novos processos sustentáveis e a otimização dos processos já existentes vêm sendo extensamente desenvolvidas. Segundo Milessi (2012), dentre os biocombustíveis estudados atualmente, o bioetanol recebe destaque no Brasil devido à grande disponibilidade de matéria-prima e ao seu histórico de pioneirismo neste biocombustível desde a década de 1970.

2.2. Etanol

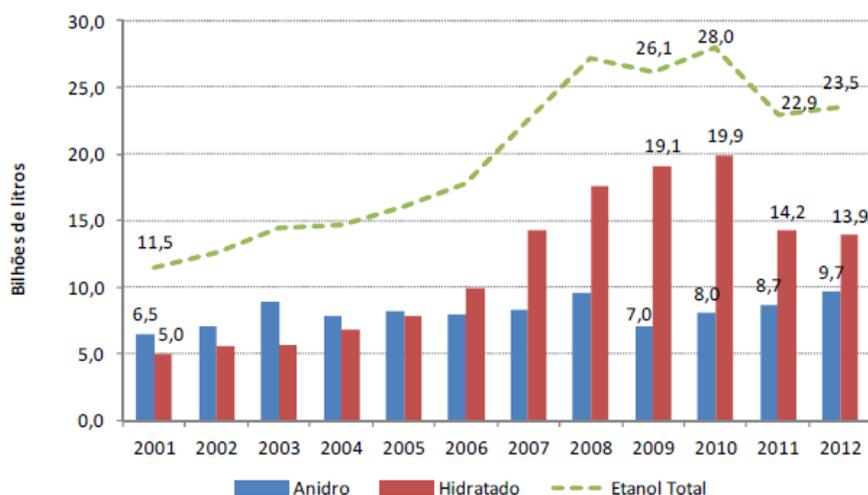
Em meados de 1975, o governo brasileiro, ao levar em conta o potencial do País em expandir área produtiva, sem comprometer outras culturas, adotou o álcool etílico como carburante. Alternativa aparentemente interessante, pois reduziria as despesas com a importação do petróleo, sugerindo então o Programa Nacional do Álcool (Pró-álcool), criado pelo decreto nº 79.953, de 14 de novembro de 1975, visando incentivar a produção de álcool etílico, que tinha como matéria-prima a cana-de-açúcar e, levantando interesse por outras culturas potencialmente energéticas como o sorgo e a mandioca (RIBEIRO FILHO et al., 2008).

Em 1979, o Pró-álcool foi expandido devido à segunda crise do petróleo. Assim, em 1984, 94,4% dos carros novos brasileiros eram movidos a etanol. No entanto, o aumento do preço do açúcar e a liberalização da exportação do produto em 1988, levaram à redução da produção do etanol. Depois de 1989, com o crescente aumento do preço desse combustível, aumentaram as vendas de veículos movidos a gasolina, levando, nos anos 1990, ao final da produção de motores movidos somente a etanol. Entretanto, foi mantida a mistura de etanol à gasolina de 20-25%, a fim de reduzir as emissões de CO₂, especialmente, nos centros urbanos (KOHLHEPP, 2010).

Acompanhando a evolução e as novas tendências do seguimento, no ano de 2002, foi apresentado o primeiro veículo com motor *flex-fuel*, movido a gasolina e a etanol, ou com uma mistura dos dois, modelo desenvolvido por empresas alemãs, e produzido em série no Brasil a partir de março de 2003. Em março de 2004, 16% dos veículos novos vendidos no Brasil já eram equipados com esse tipo de motor, sendo hoje mais de 92% (KOHLHEPP, 2010).

Atualmente, o Brasil é o produtor de bioetanol com maior capacidade competitiva do mundo, possuindo um mercado interno bem desenvolvido e cada vez mais estimulado pelo crescimento das vendas de veículos *flex*. Sendo o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, devido as condições climáticas favoráveis, amplas chuvas durante a época certa e terras produtivas abundantes, o Brasil possui potencial para aumentar significativamente sua produção de etanol e desempenhar um papel importante na satisfação da demanda global futura, sem comprometer a produção de alimentos (CANILHA et al., 2011).

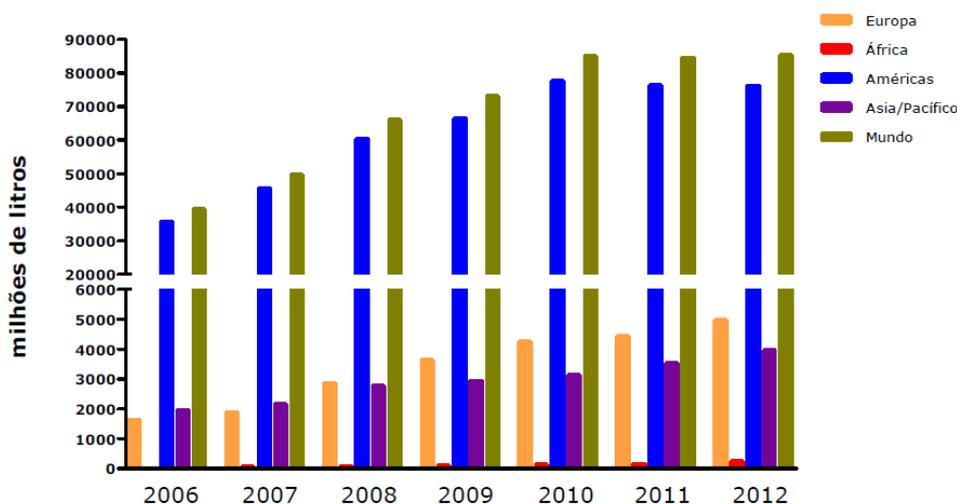
Segundo dados do Ministério de Minas e Energia, em 2012, foram produzidos 23,5 bilhões de litros de etanol no Brasil (volume 2,8% superior a 2011), sendo 9,7 bilhões de anidro e 13,9 de hidratado (BRASIL, 2013), conforme ilustra a Figura 2.2.



Fonte: Brasil (2013).

Figura 2.2. Produção brasileira de etanol em 2012.

Quanto ao cenário mundial, dados reunidos pela renomada consultoria alemã F. O. Licht, divulgados pela Global Renewable Fuels Alliance (Figura 2.3), mostraram que a produção mundial de etanol, em 2012, foi de 85,2 bilhões de litros, revelando uma evolução positiva de 0,9% entre 2011 e 2012 (KNOWTEC, 2013).



Fonte: Knowtec (2013).

Figura 2.3. Produção mundial de etanol em 2012.

O Brasil é o segundo maior produtor de etanol do mundo, sendo precedido apenas pelos Estados Unidos. Enquanto a matéria-prima brasileira é a cana-de-açúcar, os Estados Unidos utilizam o milho para produzir este biocombustível, desta maneira, a cana-de-açúcar e o milho são as principais matérias-primas utilizadas na produção de bioetanol (HARUN et al., 2010).

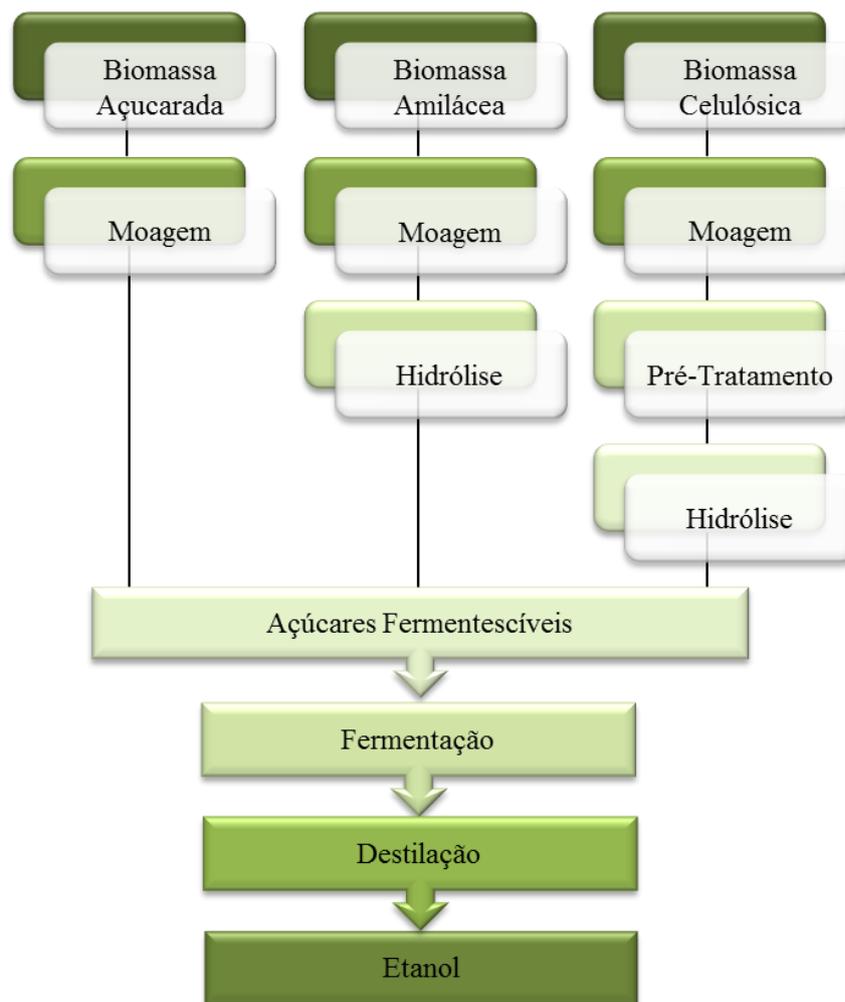
No entanto, estudos indicam que o consumo mundial de álcool combustível será de 205 bilhões de litros em 2025 (KNOWTEC, 2013). Portanto, o estabelecimento de metas extremamente ambiciosas para aumento do consumo do etanol nos próximos anos, requer um aumento substancial da produção de etanol e, nesse sentido, estimula a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias-primas para a produção de etanol.

2.2.1. Matérias-primas para produção de etanol

Alguns critérios devem ser considerados na escolha da matéria-prima para obtenção de etanol, destacam-se a produtividade do processo, o custo de produção, os requisitos de qualidade de solo e clima para a produção em larga escala da matéria-prima, os resíduos gerados no processo com valor energético, a sazonalidade, os usos alternativos dos resíduos e da matéria-prima, o nível de difusão da cultura, o nível tecnológico e os impactos ambientais (SCHULZ, 2010).

A produção de etanol é normalmente realizada em três etapas: obtenção dos açúcares fermentescíveis, fermentação dos açúcares por microrganismos e separação e purificação do etanol, realizada geralmente por destilação, retificação e desidratação (MUSSATO et al., 2010). As matérias-primas utilizadas para sua produção podem ser divididas em três grandes grupos (Figura 2.4): matérias-primas açucaradas, amiláceas e celulósicas (JOHN et al., 2011).

A complexidade do processo de produção de etanol depende da matéria-prima. Desse modo, o espectro de tecnologias concebidas e aplicadas vai desde a simples conversão de açúcares por fermentação, até a conversão em várias fases da biomassa. A grande diversidade de alternativas tecnológicas requer a análise do processo global, juntamente com a concepção e desenvolvimento de cada uma das operações envolvidas (CHAGAS, 2012).



Fonte: Adaptado de Silva (2009).

Figura 2.4. Rota de produção de etanol para diferentes matérias-primas.

A principal diferença entre a produção de etanol a partir de biomassas açucaradas, amiláceas e celulósicas está na etapa de obtenção dos açúcares fermentescíveis. Enquanto biomassas açucaradas necessitam somente de uma etapa de moagem para a extração dos açúcares, a produção de etanol a partir de amiláceos necessita de uma etapa de hidrólise das cadeias de carboidratos para obtenção de um xarope de açúcares (CARDONA e SÁNCHEZ, 2007; MUSSATTO et al., 2010). Já a utilização de biomassa celulósica necessita de um pré-tratamento antes da hidrólise para liberar os açúcares fermentescíveis (PEREIRA Jr. et al., 2008; CARDONA e SÁNCHEZ, 2007; NIGAM e SINGH, 2011).

2.2.1.1. Matérias-primas amiláceas

A busca por novas matérias-primas para produção de etanol, assim como a tecnologia industrial utilizada para fontes amiláceas, já faz parte da agenda dos países detentores de alta tecnologia, como Alemanha, Dinamarca, Bélgica, Suécia, França e Estados Unidos, desde o final da década de 90 (IEL, 2008).

O Brasil é um país rico em plantas que acumulam amido e que apresentam potencialidade de virem a ser introduzidas como matérias-primas para extração de amido comercial, incrementando o setor agrícola e agregando valores às culturas de tuberosas amiláceas tropicais (LEONEL et al., 2004).

No Brasil, a produção de etanol é tradicionalmente baseada na cultura da cana-de-açúcar, mas as necessidades energéticas no mundo viabilizam a sua produção a partir de fontes alternativas (URBANO, 2012). Em virtude disso, novas fontes têm sido exploradas, entre elas, o amido para a produção de etanol (LOTTERMANN, 2012).

Entre as fontes mais comuns de amido exploradas pelo mercado mundial estão o milho, a batata inglesa, a batata-doce e a mandioca (VILPOUX, 2003). Essas matérias-primas apresentam algumas vantagens sobre a cana-de-açúcar para produção de etanol. São ricas em carboidratos totais, apresentando maior concentração de carboidratos por unidade de matéria-prima vegetal que a própria cana-de-açúcar, o que significa diminuição considerável do manuseio de volumes mássicos. Por exemplo, uma tonelada de cana produz 85 litros de etanol, enquanto uma tonelada de mandioca com 33% de amido e 2% de glicose produz 211 litros de etanol (SILVA e CABELLO, 2006). A composição química de algumas matérias-primas amiláceas encontra-se exposta na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Composição química de algumas matérias-primas amiláceas.

Constituinte (%)	Milho	Mandioca	Batata-doce	Batata inglesa
Teor de água	63,5	61,8	69,5	82,9
Proteína	6,6	1,1	1,3	1,8
Lipídios	0,6	0,3	0,1	-
Carboidrato	28,6	36,2	28,2	14,7
Fibra	3,9	1,9	2,6	1,2
Cinzas	0,7	0,6	0,9	0,6

Fonte: Taco (2011)

A produção de etanol por fermentação de substratos amiláceos vem sendo objeto de intensas pesquisas que buscam aperfeiçoar a conversão destes materiais de um modo mais rápido e a menores custos. A ampliação da participação da biomassa, a partir do desenvolvimento de fontes amiláceas, poderá promover uma perspectivação dos complexos agroindustriais em direção aos pequenos empreendimentos, ampliando as políticas de cunhos social, ambiental e econômico nas comunidades agrícolas e de base familiar (COSTA, 2010).

Além de uma nova iniciativa, será também um modo de produzir álcool etílico com menor teor de impurezas, podendo destinar-se à indústria farmacêutica e de bebidas, promovendo o aumento de novos investimentos, empregos, renda e desenvolvimento tecnológico, além de poder atender parte da crescente demanda mundial por combustíveis de reduzido impacto ambiental (SALLA, 2008).

2.3. Amido

O amido é um polissacarídeo pertencente à classe dos carboidratos, formado por meio da união de várias unidades de D-glicose. Sendo a principal fonte de armazenamento de energia nas plantas, está presente em raízes, frutos, tubérculos e sementes (BRUICE, 2006; FRANCISCO JUNIOR, 2008; RUDNIK, 2008). A matéria-prima é disponível em quantidade suficiente, e os processos industriais permitem que o amido seja extraído com elevada pureza. Trata-se de uma matéria-prima renovável, biodegradável e não tóxica (VAN DER BURGT et al., 2000).

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

A prática e o uso industrial de produtos amiláceos e mais recentemente, do próprio amido, vêm se desenvolvendo desde um período primitivo. Há milênios o homem aprendeu como utilizar as plantas amiláceas para obter alimentos e bebidas tão importantes quanto o pão e a cerveja. Atualmente, além da utilização no setor alimentício, é bastante significativo o

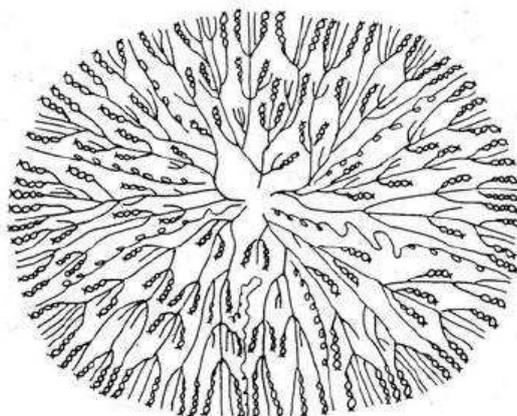
emprego do amido na indústria, chegando mesmo, em alguns casos, a ultrapassar seu uso como alimento (CEREDA, 2002).

Ainda segundo Cereda (2002), além dos usos já citados, o amido tem sido utilizado como matéria-prima na indústria têxtil, na elaboração de compostos farmacêuticos, na produção de resinas naturais e na elaboração de materiais termoplásticos biodegradáveis. Podendo ser também empregado na produção de alcoóis finos para o preparo de bebidas e produção de álcool carburante.

Os países de regiões tropicais, como o Brasil, apresentam grande vantagem em relação aos principais produtores de amido no mundo, que estão localizados em regiões temperadas, devido à grande variedade de culturas tropicais amiláceas (LACERDA, 2006).

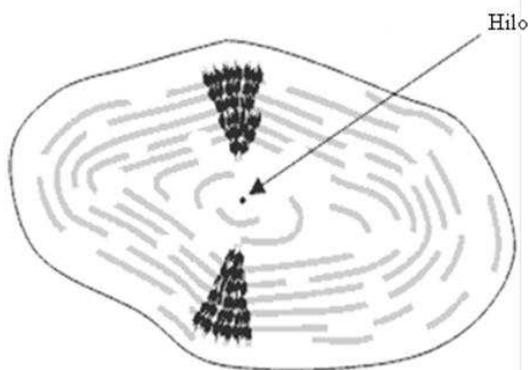
2.3.1. Estrutura do amido

Dentre os polissacarídeos, somente o amido se organiza na forma de grânulos (Figura 2.5), que são pequenas unidades individuais e relativamente densas (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004; LIU, 2005). A biossíntese do grânulo de amido inicia-se no hilo e o grânulo se desenvolve por aposição ao redor desse hilo (Figura 2.6). Os grânulos apresentam variadas formas e tamanhos, dependendo de sua origem botânica. Geralmente, a diferença na morfologia externa é suficiente para permitir a caracterização da origem botânica, podendo ser visualizada através da microscopia (PÉREZ e BERTOFT, 2010).



Fonte: Oliveira (2011).

Figura 2.5. Representação esquemática do grânulo de amido.

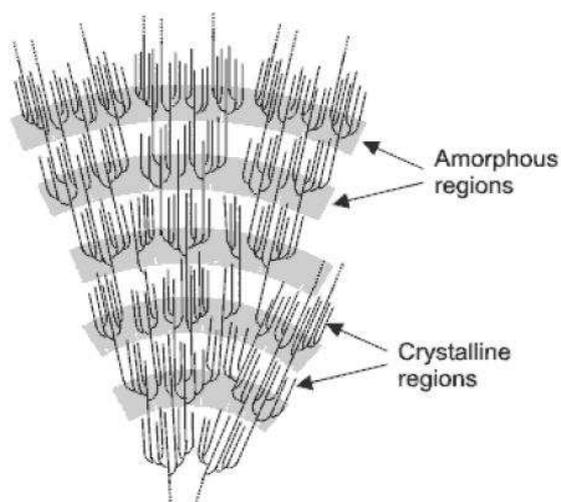


Fonte: Oliveira (2011).

Figura 2.6. Estrutura interna do grânulo de amido.

Por estar ligado ao desenvolvimento da planta, a estrutura do amido está também intimamente relacionada às condições agrônômicas do local na qual se dá o cultivo. Alterações de clima, por exemplo, podem influenciar na formação do grânulo e na deposição do amido. Esses fatores, por sua vez, podem interferir sobre o tamanho e formação do grânulo de amido (DAIUTO e CEREDA, 2004).

Os grânulos de amido quando observados através de um microscópio de luz polarizada exibem uma cruz de malta (Figura 2.7), a qual é uma refração da luz polarizada das regiões cristalinas dos grânulos, já que os grânulos de amido são compostos por anéis de crescimento semi-cristalinos e amorfos alternados (COISIDINE et al., 2011).



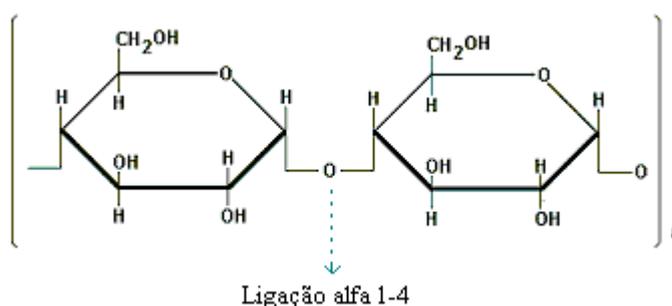
Fonte: Denardin e Silva (2008).

Figura 2.7. Regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido.

As áreas cristalinas são responsáveis por manter a estrutura granular, influenciando seu comportamento em água e tornando-o relativamente resistente ao ataque enzimático ou químico (CEREDA, 2002). A zona amorfa dos grânulos é a região menos densa, mais suscetível aos ataques químicos ou enzimáticos, e absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização (BILIADERIS, 1991).

O amido, que se apresenta na forma de discretos grânulos com forma e tamanho dependente da sua fonte botânica, é composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: a amilose e a amilopectina. O amido deve muito de sua funcionalidade a estas duas macromoléculas, assim como à organização física delas dentro da estrutura granular. A proporção entre amilose e amilopectina é variável com a fonte botânica, a qual confere características específicas à pasta de amido (CEREDA, 2002).

A amilose (Figura 2.8) é uma molécula essencialmente linear, composta por unidades de D-glicose ligadas em α -1,4 com um pequeno número de ramificações (HANSEN et al., 2008). Seu peso molecular é de 1×10^3 a 1×10^5 g/mol e seu comprimento pode variar de 4 a 100 unidades de glicose (JAYAKODY, 2001). A maioria dos amidos contém, aproximadamente, 25% de amilose (BeMILLER e WHISTLER, 2009), e esse conteúdo varia de acordo com a fonte botânica, maturidade fisiológica e condições de solo e clima (CEREDA, 2002).



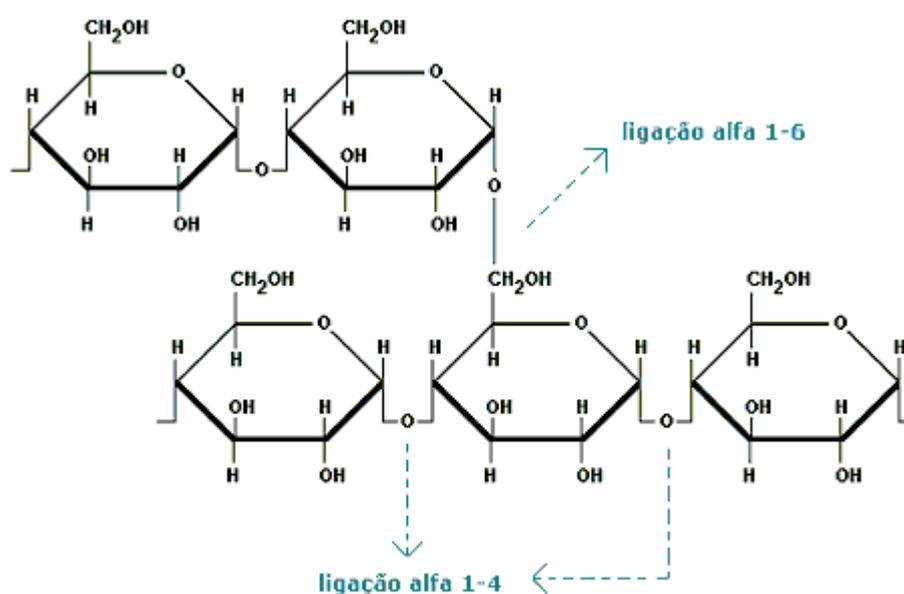
Fonte: Borsolari et al. (2009).

Figura 2.8. Estrutura da amilose.

Segundo Tester et al. (2004), a localização exata da amilose dentro do grânulo de amido não é clara. Acredita-se que a amilose esteja localizada entre as cadeias de amilopectina e, aleatoriamente, entremeadada entre as regiões amorfas e cristalinas. As moléculas de amilose maiores estão concentradas no centro do grânulo e, provavelmente, formam duplas hélices associadas com a amilopectina, enquanto as moléculas menores

presentes na periferia podem ser lixiviadas para fora do grânulo. Apesar de seu papel limitado na formação de cristais, a amilose pode influenciar a organização das duplas hélices, interferindo na densidade de empacotamento das cadeias de amilopectina.

A amilopectina (Figura 2.9) é formada por moléculas de D-glicose em ligações α -1,4, porém, diferentemente da amilose, é bastante ramificada devido a unidades de glicose em ligações α -1,6. É considerada uma das maiores biomoléculas encontradas na natureza, com peso molecular podendo chegar a mais de 1×10^9 g/mol. Esta molécula representa em média 70 a 85% do grânulo (SANTOS, 2009).



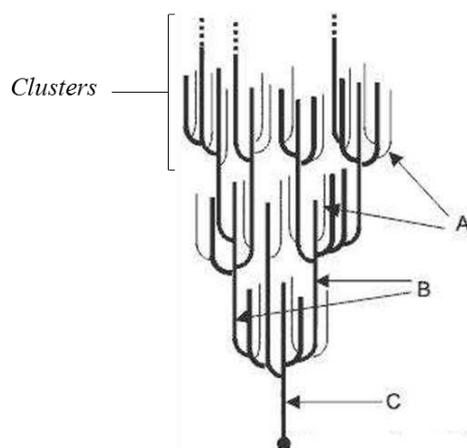
Fonte: Borsolari et al. (2009).

Figura 2.9. Estrutura da amilopectina.

Uma molécula de amilopectina consiste de uma cadeia principal C e numerosas cadeias ramificadas denominadas cadeias A e B (Figura 2.10). As cadeias A são aquelas que são conectadas a outras cadeias via ligações α -1,6, mas não carregam qualquer ramificação. As cadeias B são aquelas conectadas à outras cadeias também via ligações α -1,6, mas possuem uma ou mais cadeias A ou B, ligadas a ela através de ligações α -1,6 (CEREDA, 2002; IZIDORO, 2011).

As ramificações presentes na cadeia da amilopectina consistem de um grande número de cadeias laterais lineares e curtas, arranjadas em duplas hélices, formando cachos ou *clusters* (Figura 2.10). Estas estruturas são extremamente compactas, resultando em regiões cristalinas, conhecidas pela resistência à hidrólise, tanto ácida quanto enzimática. Estas regiões

se alternam com regiões amorfas que, por sua vez, são pouco ramificadas, menos compactas e, conseqüentemente, mais suscetíveis à hidrólise (CORDENUNSI, 2006).



Fonte: Adaptado de Santos (2009).

Figura 2.10. Tipos de cadeias existentes na estrutura da amilopectina.

A amilopectina tem um papel principal na cristalinidade dos grânulos de amido. Altas temperaturas de gelatinização têm sido relatadas como resultantes do alto grau de cristalinidade, que fornece estabilidade estrutural aos grânulos e maior resistência a gelatinização. A presença de amilose reduz o ponto de fusão das regiões cristalinas e a energia para iniciar a gelatinização. Assim, amidos com altos conteúdos de amilose têm maior região amorfa, e perdem cristalinidade em temperaturas menores de gelatinização (SINGH et al., 2003).

Grânulos de amido em contato com água fria incham ligeiramente (10-20%), devido à difusão e absorção de água nas regiões amorfas, mas este inchamento é um processo reversível com a secagem. Porém, quando os grânulos são aquecidos em água a temperaturas maiores, se atinge um ponto em que os grânulos inchados apresentam um fenômeno irreversível, perdem a ordem estrutural devido a fusão dos cristais. Quando os grânulos continuam a se expandir, a amilose é lixiviada para a fase aquosa entre os grânulos. Estas mudanças moleculares levam a um aumento na viscosidade da amostra. Em conjunto, o inchamento, a ruptura da estrutura granular e a solubilização das moléculas de amido, define o término do processo de gelatinização, conforme está apresentado na Figura 2.11 (BELLO-PÉREZ et al., 2006).

A temperatura na qual o amido começa a sofrer estas mudanças é denominada temperatura de gelatinização. Segundo Scipioni (2011), a energia requerida para a gelatinização difere entre os grânulos da mesma fonte botânica ocorrendo em uma faixa de temperatura. Assim como, as temperaturas de gelatinização também variam dependendo da fonte botânica do amido.

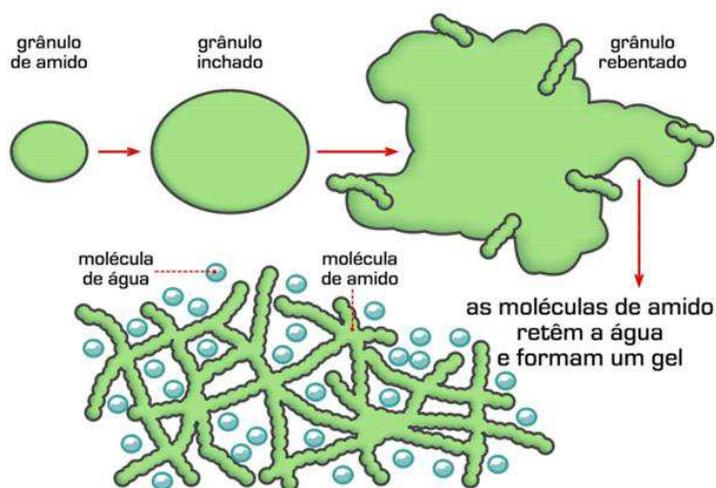


Figura 2.11. Processo de gelatinização do amido.

Com o resfriamento da pasta de amido, após a sua gelatinização, as cadeias de amido ficam com menos energia e as pontes de hidrogênio ficam mais fortes, fazendo com que as moléculas de amilose apresentem uma forte tendência a se associar por pontes de hidrogênio com moléculas de amilose adjacentes, formando uma estrutura ordenada, este processo é conhecido como retrogradação (HOSENEY, 1994; BELLO-PÉREZ et al., 2006).

2.3.2. Extração e purificação do amido

Para que seja possível analisar a estrutura e avaliar as propriedades funcionais do amido, a princípio, faz-se necessária a sua extração e purificação dos componentes do tecido vegetal. A extração do amido, tanto em nível de laboratório quanto industrial, envolve etapas de desintegração, separação em peneiras, concentração e desidratação.

A extração do amido em laboratório constitui uma das etapas mais difíceis da pesquisa, pois as condições em que essa extração se faz, assim como as técnicas de secagem

podem alterar profundamente a cristalinidade do grânulo e, por conseguinte, as propriedades funcionais do amido (CEREDA, 2002).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o amido comercial (Figura 2.12) deve-se mostrar como um pó fino, branco, inodoro e insípido, e quando examinado em camada fina, não deve apresentar impurezas visíveis ou sujidades (BRASIL, 2010). A Legislação Brasileira estabelece que o amido comercial deve apresentar no mínimo 80% de amido, e no máximo 14% de umidade, 0,5% de cinzas, 0,6% de fibras, 0,5% de matéria graxa e 0,1% de proteína (BRASIL, 1978).



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 2.12. Amido comercial.

As técnicas de extração do amido presentes na literatura são diversas, e variam desde a simples extração com água pura até a utilização de diferentes reagentes químicos. A qualidade da extração do amido é avaliada em função de seu conteúdo de proteínas, lipídios, fibras e cinzas. Quanto menor o conteúdo destes componentes, melhor a qualidade do processo extrativo (ARAÚJO FARRO, 2008).

Estudos realizados visando a extração do amido da semente do fruto da *Swartzia burchelli* por Barbosa et al. (2011), e extração do amido de pinhão nativo por Daudt (2012), foram conduzidos utilizando apenas água como solvente. Os resultados demonstraram que as extrações foram eficientes, uma vez que, obtiveram-se amidos com elevado grau de pureza, 99,24% para o amido da semente do fruto da *Swartzia burchelli* e 94,53% para o amido de pinhão nativo.

Alves (2012) extraiu o amido presente na cana-de-açúcar utilizando clorofórmio e etanol. O rendimento de extração foi de 10,6% e o teor de amido obtido foi de 99,1%, o que demonstrou eficiente extração e purificação do mesmo, refletindo em baixos teores de impurezas.

Barbosa (2013) utilizou em sua metodologia para a separação e purificação do amido da semente de jaca, solução de bissulfito de sódio. Os resultados obtidos para a composição química do amido comprovaram a eficácia do processo de extração. O grânulo mostrou teor de amido igual a 86,71%. Outros constituintes considerados como impureza do amido (cinzas, proteínas, lipídios e fibras) foram encontrados em porcentagens mínimas.

Santos et al. (2013) avaliaram três métodos de extração para o amido de sementes de jaca, método de Schoch e Maywald (M1), de extração com água (M2) e de Chiang modificado (M3), quanto ao rendimento de extração e pureza do amido obtido. As sementes de jaca apresentaram 78,8% de amido. Com relação aos tratamentos de extração aplicados, observou-se que os tratamentos M1, utilizando solução de bissulfito de sódio (0,2% m/v), e M2, fazendo uso apenas de água, apresentaram valores semelhantes quanto ao rendimento prático de extração, em média 11,41%, sendo este valor maior do que o encontrado para o tratamento M3, o qual foi empregado solução de hidróxido de sódio (0,2% m/v).

Por apresentarem propriedades específicas, cada amido é considerado único, assim, devido à exigência da indústria, houve nos últimos anos uma prospecção intensa de novas fontes amiláceas, principalmente, dentro de tuberosas tropicais que são ainda pouco exploradas (AMARAL et al., 2011). Devido ao elevado teor de amido encontrado na semente de jaca, outro possível emprego, além da importância alimentícia, é o seu uso na produção de etanol. Com isso, muitos produtores rurais podem ser beneficiados com o cultivo da jaca, podendo, além do cultivo de subsistência, comercializá-la para a indústria do etanol.

2.4. Jaca

Artocarpus heterophyllus L. (Figura 2.13), originária da Ásia, conhecida popularmente no Brasil como jaqueira, pertence à família Moraceae. Foi trazida para o Brasil pelos portugueses durante o período de colonização, sendo bem adaptada devido ao clima tropical. É uma árvore de regiões quentes e úmidas, de clima tropical úmido que também se

desenvolve em regiões de clima subtropical e semiárido, cujo fruto é conhecido como jaca (ABREU e RODRIGUES, 2010).



Fonte: Oliveira (2009).

Figura 2.13. Jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* L.).

O Brasil, em especial a Região Nordeste, apresenta uma grande diversidade de fruteiras nativas e exóticas bem adaptadas às suas condições climáticas, representando um grande potencial sócio-econômico (OLIVEIRA, 2009). Atualmente, a jaqueira encontra-se disseminada desde o sul de São Paulo até os estados do Norte e Nordeste, sendo mais comum na região litorânea que se estende do sul da Bahia até a Paraíba (SACRAMENTO e BARRETTO, 2012). Apesar da disseminação da jaqueira em diversas regiões, e da possibilidade de diferentes usos dos seus frutos, não há relatos confiáveis de áreas plantadas com essa frutífera, nem dados sobre a comercialização no Brasil (SANTOS-SEREJO et al., 2009).

O fruto da jaqueira mede de 12 a 90 cm de comprimento, 13 a 50 cm de diâmetro e apresenta peso variando de 3 a 60 kg, sendo considerado um dos maiores frutos do mundo (GOMES, 2007). Seu interior é formado pela reunião de vários gomos soldados em torno de um eixo central, denominado sincarpo. Cada gomo, constituído de uma porção comestível chamada polpa, envolve as sementes (SEAGRI, 2010).

O ponto de colheita é demonstrado pelo aroma forte que os frutos exalam e por somoco, que emitem quando neles se bate. Uma jaqueira pode produzir frutos por um período de 100 (cem) anos. As plantas provenientes de mudas de sementes iniciam frutificação no 5º ou 6º ano pós transplantio com frutos pequenos e pouco numerosos, com a sucessão dos anos, o tamanho e o número aumentam. A produção de uma jaqueira adulta pode alcançar 50 (cinquenta) a 100 (cem) frutos por árvore e por ano (OLIVEIRA, 2009).

No Brasil, distinguem-se três variedades de jaca: Jaca-dura, com os maiores frutos, bagos de consistência rígida, que se prestam para a produção de compotas; Jaca-mole, com frutos menores, bagos doces e com consistência mole; e Jaca-manteiga, que apresenta bagos adocicados e de consistência intermediária, sendo muito comum no estado do Rio de Janeiro e muito confundida com a Jaca-mole (SEAGRI, 2010).

A jaca é considerada uma fruta energética por ser rica em carboidratos e, também, apresenta um alto teor de fibras que são importantes para o funcionamento intestinal. Na composição química, mostra-se rica também em cálcio, fósforo, ferro e vitaminas do complexo B, principalmente, a vitamina B2 (Riboflavina) e vitamina B5 (Niacina) (SOUZA, 2007). De acordo com os dados fornecidos pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), 100 g de parte comestível da jaca apresentam 1,4 g de proteínas, 0,3 g de lipídios, 22,5 g de carboidratos, 2,4 g de fibras, 11,0 mg de cálcio e 40,0 mg de magnésio.

Embora ainda seja uma fruta pouco explorada, a jaca possui grande potencial para utilização na produção de diferentes produtos, sendo uma boa alternativa no combate a desnutrição (SOUZA et al., 2011). Além do consumo *in natura*, a jaca pode ser utilizada para confecção de compota, doce cristalizado e doce desidratado. O fruto, quando colhido ainda imaturo, pode ser usado como vegetal em cozidos, incluindo sopas, e pratos assados ou fritos, podendo ser cortado em fatias e preparado tipo “chips” (SACRAMENTO e BARRETTO, 2012).

O fruto da jaqueira é constituído de três partes: polpa, sementes e casca. Dos subprodutos da jaca, as sementes (15 a 25% do fruto) são muito utilizadas na alimentação humana, podendo ser cozidas, torradas em forno ou assadas à brasa e, além de serem nutritivas, são saborosas (SILVA et al., 2007). Na Tabela 2.2 encontram-se valores referentes a composição química de sementes de jaca determinados por alguns autores.

Tabela 2.2. Percentuais de constituintes em sementes de jaca.

Constituinte (%)	Albuquerque (2011)	Abedin et al. (2012)	Chongkhong et al. (2012)
Teor de água	58,48	42,25	56,51
Cinzas	1,48	2,12	1,42
Proteínas	5,56	14,81	5,48
Amido	21,35	17,90	20,38
Fibras	-	3,83	1,27
Lipídios	0,24	-	-

Cada semente de jaca (Figura 2.14) se encontra dentro de um arilo branco que envolve uma fina espermoderma marrom a qual, por sua vez, cobre o cotilédone branco e carnudo. Os cotilédones da jaca são ricos em amido (SINGH et al., 1991).



Fonte: Oliveira (2009).

Figura 2.14. Sementes de jaca.

Um volume expressivo de subprodutos, como cascas e sementes, estão disponíveis como resíduos da agroindústria (SILVA et al., 2007). Atualmente, há uma crescente preocupação com o descarte destes resíduos, que podem levar a problemas ambientais pela presença de substâncias de alto valor orgânico, potenciais fontes de nutrientes para microrganismos, como também as perdas de biomassa e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição (ABUD e NARAIN, 2009).

Segundo Silva et al. (2007), a jaqueira mesmo sendo uma cultura muito popular e de múltiplos objetivos de uso, o mercado ainda não despertou para a rentabilidade que a mesma pode gerar. A maior parte da comercialização da jaca é na forma *in natura*, entretanto, a perda pós-colheita é muito elevada devida sua rápida deterioração. Nesse contexto, há a necessidade de desenvolvimento de novos produtos para aumentar a vida útil desta fruta e agregar valor (SOUZA et al., 2011). De acordo com Albuquerque (2011), devido ao elevado teor de amido encontrado em sua semente, a jaca apresenta potencial como fonte amilácea.

Rengsutthi e Charoenrein (2011) compararam o uso do amido da semente de jaca com o amido de milho como espessante e estabilizante em molhos de pimenta. O molho de pimenta contendo amido de semente de jaca apresentou maior viscosidade, antes e durante o armazenamento, quando comparado ao molho de pimenta contendo amido de milho e molho de pimenta sem amido (controle), sendo considerado, portanto, a melhor opção como espessante e estabilizante em molhos de pimenta. Além disso, a avaliação sensorial demonstrou que o molho de pimenta contendo amido de semente de jaca recebeu a maior pontuação em termos de cor, sensação de boca, homogeneidade e qualidade geral.

Albuquerque (2011) extraiu o amido da semente de jaca, das variedades mole e dura, e o caracterizou quanto a sua composição química, estrutural e propriedades térmicas. A semente de jaca apresentou grande potencial para uso como matéria-prima amilácea, tendo em vista a grande quantidade de amido, 92,81% para a variedade mole, e 94,49% para a variedade dura. O amido exibiu baixa temperatura de gelatinização, podendo ser aplicado em sopas desidratadas. Foi verificada alta capacidade de absorção de água e óleo, proporcionando a sua utilização na panificação e no processamento de alguns produtos cárneos. As pastas de amido mostraram-se opacas, tornando possível o seu uso em confecções de pudins e sobremesas prontas. O amido das duas variedades apresentaram baixa viscosidade, podendo ser aplicado na indústria de balas e caramelos.

Barbosa (2013) estudou o efeito da adição de proteínas nas propriedades físicas e reológicas dos géis obtidos a partir de amido da semente de jaca. As concentrações utilizadas para o amido foram 3, 6, 9 e 12%, e para a proteína 0, 2, 4 e 6%. Nos ensaios reológicos, todos os sistemas analisados possuíram um comportamento viscoelástico, com perfil característico de gel. Na análise do perfil de textura com adição de proteína, os géis na concentração de 9% de amido apresentaram-se rígidos e coesos, e na concentração de 12% de amido mostraram-se duros e quebradiços. Os géis mistos em maiores concentrações de amido

e proteína exibiram uma incompatibilidade termodinâmica, apresentando uma separação de fases com consequências na textura.

Dentre as diferentes biomassas que compõem os materiais amiláceos, a semente de jaca pode vir a ser uma fonte promissora para bioconversão em etanol, uma vez que se constitui em um resíduo abundante. No entanto, a produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas necessita de uma hidrólise prévia de suas cadeias para a obtenção de glicose, pois estas matérias-primas não são diretamente fermentáveis.

2.5. Hidrólise do amido

A palavra hidrólise significa decomposição pela água, mas são raros os casos em que somente a água pode realizar uma hidrólise completa. Neste caso, é necessário operar a temperaturas e pressões elevadas, e para que a reação seja rápida e completa é sempre indispensável um agente acelerador, qualquer que seja o mecanismo da reação (BARCZA, 2013).

No processo de hidrólise do amido, além da água, há a necessidade de aceleradores químicos ou enzimáticos capazes de catalisar a quebra das ligações glicosídicas, sob 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). Segundo Franco (2001), a hidrólise se dá pelo desdobramento total das moléculas de amilose e amilopectina, que ao se romperem, transformam-se em dextrinas cada vez mais simples e, finalmente, em glicose.

Grupos funcionais aldeídicos e cetônicos aparecem nas moléculas dos carboidratos, proporcionando um sítio ativo para reações. Carboidratos como a glicose e frutose, apresentam terminais redutores, sendo aldeídicos na glicose e cetônicos na frutose. Na Figura 2.15 é apresentada a molécula plana de glicose com as numerações de carbono. O radical redutor será sempre o carbono 1 (C1), enquanto que o carbono 4 (C4) é uma extremidade não redutora (SURMELY et al., 2003). Segundo Moutta (2009), a hidrólise acontece de forma mais rápida nas ligações em finais redutores quando comparadas aos finais não redutores das cadeias de polissacarídeos.

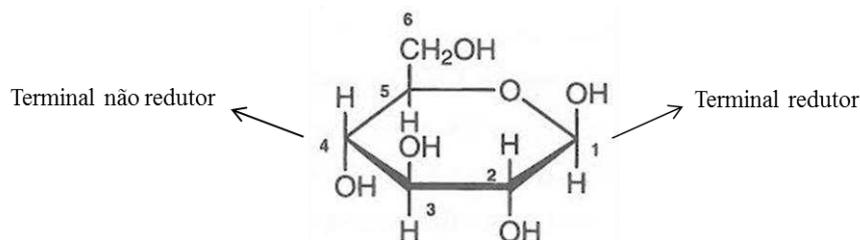


Figura 2.15. Terminais redutores e não redutores presentes na molécula de glicose.

Ao se medir as extremidades redutoras do amido e seus produtos de hidrólise, os resultados serão expressos em glicose equivalente ou Dextrose Equivalente (DE). Quanto maior o valor de DE, maior o efeito de hidrólise ou despolimerização do amido. É possível caracterizar os hidrolisados de amido pelo equivalente dextrose (DE). Por exemplo, DE tem valor de 100 quando a proporção das moléculas de glicose é de 100%, e tem valor próximo de 0 quando o amido não é hidrolisado (SURMELY et al., 2003). Segundo Camili (2010), o DE é empregado como medida do grau de hidrólise da suspensão de amido.

A denominação de hidrolisados de amido reúne todos os produtos do fracionamento do amido, independentemente dos catalisadores usados (ácidos ou enzimas) ou do grau deste fracionamento. Inclui um importante número de produtos diferentes como glicose, maltose, maltotetraose, maltodextrinas, frutose, ciclodextrinas, dextrinas etc. Os hidrolisados apresentam propriedades físicas, funcionais, energéticas e organolépticas que são características de cada tipo de produto (TEAGUE e BRUMM, 1992). Amidos de qualquer origem podem ser utilizados como matéria-prima na fabricação de hidrolisados (SURMELY et al., 2003). As modificações no amido nativo visam proporcionar produtos amiláceos com propriedades específicas para sua utilização em diversos processos (SANTOS, 2012).

O rendimento do processo de hidrólise do amido é calculado sobre a quantidade usada de matéria-prima, mais comumente, considerando a quantidade de amido que entrou no processo. É normal encontrar rendimentos acima de 100%. O fracionamento do amido em cadeias menores é acompanhado pela adição de uma molécula de água (hidrólise) em cada ligação rompida, o que acarreta aumento do peso de amido fracionado e, conseqüentemente, um aumento de rendimento (SURMELY et al., 2003).

Ainda segundo Surmely et al. (2003), a hidrólise enzimática quando comparada à hidrólise ácida, apresenta maior rendimento, um produto mais puro e menos efluentes da produção. No entanto, apesar de todas essas vantagens, os custos elevados com a linha de processamento enzimático, incluindo alto investimento inicial, mão de obra especializada,

laboratórios e análises mais sofisticados, além dos custos com as enzimas, são fatores restritivos para a aplicação desta tecnologia.

Woiciechowski et al. (2002) realizaram um estudo da viabilidade econômica quanto a produção de açúcares redutores a partir do bagaço de mandioca por hidrólise ácida e enzimática. Os resultados revelaram que a hidrólise ácida de 150 kg de bagaço de mandioca necessitaria de US\$ 34.27, enquanto que o processo enzimático, para a mesma quantidade de biomassa, custaria US\$ 2470.99. Portanto, os autores afirmaram que a hidrólise ácida apresenta vantagens em relação ao tratamento enzimático, principalmente, quando se compara a eficiência na recuperação de açúcares redutores, com os custos de operação, uma vez que, a hidrólise ácida necessita de um menor tempo de reação, bem como de menores gastos com produtos químicos e energia do que a hidrólise enzimática.

2.5.1. Hidrólise ácida do amido

Vários compostos químicos induzem a hidrólise do amido, alguns sozinhos e outros com auxílio de um processo físico como calor ou pressão. O tratamento mais utilizado tem sido com ácidos minerais, diluídos ou não. Quando se usa ácido, a hidrólise é tanto mais rápida quanto maior o poder ionizante do ácido (CEREDA, 2002). Tanto a hidrólise ácida quanto a enzimática possuem a finalidade de reduzir o amido em monossacarídeos (SURMELY et al., 2003). As variáveis do tipo e da concentração do ácido, a temperatura, concentração do amido e o tempo de reação devem ser selecionados em função do processo de hidrólise (MOORTHY, 2000).

A hidrólise com ácido diluído, conduzida sob altas temperaturas e pressões, tendo um tempo de reação numa escala de até minutos é provavelmente o método mais difundido entre os diversos métodos químicos. Apresenta como vantagens, o fato da formação de produtos indesejáveis e a corrosão dos equipamentos não serem significativas (YU et al., 2008; MORAIS, 2012). Porém, o rendimento em açúcares depende do tipo de matéria-prima utilizada, bem como das condições operacionais (AKPINAR et al., 2011).

O processo com ácido concentrado utiliza condições de temperatura e pressão relativamente mais suaves, com tempos de reações mais longos, obtendo-se um rendimento mais alto em glicose, quando comparado ao processo realizado com ácido diluído (YU et al. 2008; SÁNCHEZ e CARDONA, 2008). No entanto, a quantidade de ácido requerida para o

processo causa problemas ambientais, corrosão dos equipamentos e elevado custo na recuperação do ácido consumido (YU et al., 2008).

Durante a hidrólise ácida, o amido é suspenso em uma solução ácida, e mantido à temperatura que varia da ambiente àquela logo abaixo da temperatura de gelatinização (MOORTHY, 2000). O aquecimento de suspensões de amido causa uma transição irreversível em sua estrutura (gelatinização), que torna a molécula de amido mais acessível ao ataque do ácido, possibilitando uma reação mais eficiente (HANSEN et al., 2008). Segundo Surmely et al. (2003), a gelatinização do amido é o primeiro passo para o processo de hidrólise. O amido hidrolisado, parcial ou totalmente, forma polissacarídeos de menor massa molar, oligossacarídeos e, finalmente, unidades de D-glicose (BOBBIO e BOBBIO, 2003).

O ácido sulfúrico (H_2SO_4) é o catalisador mais utilizado por ser barato e eficaz. No entanto, a hidrólise ácida pode ser conduzida com outros ácidos inorgânicos, como o ácido clorídrico (HCl), ácido fosfórico (H_2PO_4) e ácido trifluoroacético (TFA) (FENGEL e WEGENER, 1984). Os ácidos orgânicos fracos também podem ser empregues na hidrólise com ácidos diluídos, ainda que os resultados mostrem-se inferiores aos obtidos com ácidos inorgânicos (CARVALHEIRO et al., 2008; GÍRIO et al., 2010).

Na modificação ácida (Figura 2.16), o ácido penetra livremente pelas partes amorfas do grânulo de amido. O íon do ácido ataca o átomo de oxigênio glicosídico e hidrolisa as ligações glicosídicas. O efeito principal do ácido é reduzir o peso molecular das moléculas de amido, alterando suas propriedades físico-químicas, porém, deixando intacta a estrutura cristalina do grânulo (SPIER, 2010).

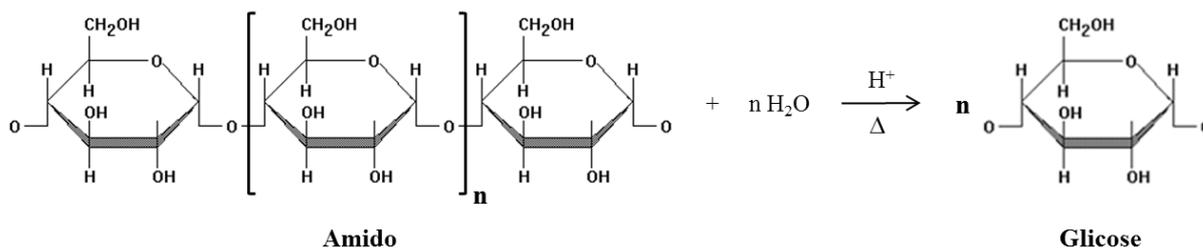


Figura 2.16. Representação da hidrólise ácida do amido.

Segundo Nakazawa e Wang (2004), são observadas duas fases distintas durante a hidrólise ácida em função do tempo. A primeira fase é atribuída a uma hidrólise relativamente rápida, principalmente, na zona amorfa do grânulo, enquanto uma segunda fase ocorre de forma mais lenta na zona cristalina do grânulo. Muitos fatores podem contribuir para a

proteção da zona cristalina, como o empacotamento das cadeias que não permite a penetração do íon do ácido e as ligações glicosídicas que estão no interior das duplas hélices onde o íon de hidrogênio não consegue penetrar.

Alguns fatores, tais como: a composição do amido, a concentração e o tipo de reagente e as condições da reação, podem afetar a reatividade do amido durante modificações químicas. A heterogeneidade dos grânulos dentro de uma única fonte de amido pode também afetar a extensão da modificação. As mudanças nas propriedades físico-químicas, morfológicas, térmicas e reológicas dos amidos após a modificação são a base para a compreensão da eficiência do processo de hidrólise (SINGH et al., 2007).

Os principais problemas provenientes da hidrólise ácida estão relacionados à formação de compostos intermediários indesejáveis. O 5-hidroxi metil-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).

Freitas et al. (2009) estudaram a conversão do amido presente no farelo de mandioca em açúcares fermentescíveis a partir de tratamento ácido (H_2SO_4 9,14 M) e termopressurizado ($121 \pm 1^\circ C / 1,0$ atm) em autoclave. Foram consideradas como variáveis independentes do processo, o pH (0,5 e 1,0) e o tempo de reação (30 e 60 min.), e como variáveis dependentes, o rendimento de hidrólise (%) e o teor de açúcares redutores (%). Os ensaios utilizando pH 0,5 apresentaram valores de açúcares redutores pouco superiores quando comparados aos ensaios empregando pH 1,0. No entanto, a quantidade requerida de ácido para os tratamentos em pH 0,5 foi cerca de três vezes maior do que para os tratamentos em pH 1,0, tornando-se, portanto, menos viável. Além disso, o pH mais baixo (pH 0,5) pode interferir no rendimento final do processo fermentativo, uma vez que aumenta a quantidade de sal formado. O tempo não se mostrou como fator determinante na conversão do amido em açúcares fermentescíveis. Os resultados mostraram que em todos os tratamentos a conversão do amido foi acima de 60%, o que demonstra que o farelo de mandioca é uma boa fonte, alternativa à cana-de-açúcar, para produção de açúcares fermentescíveis, e posteriormente, etanol.

Spada (2011) modificou o amido de pinhão, fruto da *Araucaria angustifolia*, via hidrólise ácida utilizando um planejamento fatorial 2^2 , onde as variáveis independentes

corresponderam a temperatura de hidrólise (30 a 44 °C) e a concentração de ácido clorídrico (3 a 5 mol.L⁻¹), sendo a variável de resposta, o teor de dextrose equivalente (DE), expresso como a porcentagem de açúcares redutores presentes. Neste estudo, verificou-se que sob maiores valores de temperatura e concentração de ácido, maiores valores de DE foram encontrados.

Ferreira et al. (2013) realizaram um estudo sobre a hidrólise ácida na farinha de arroz visando a recuperação de açúcares redutores. A farinha de arroz apresentou elevado teor de amido (90,19%). A hidrólise foi conduzida utilizando-se dispersão 1:5 (p/v) de farinha e solução de ácido clorídrico (HCl) em diferentes concentrações (0,075; 0,15 e 0,3M), temperatura de 50 °C em banho-maria sob agitação e tempos de hidrólise de 7, 8 e 9 horas. Os resultados mostraram que em condições mais severas de concentração do ácido (0,3M) e tempo de hidrólise (9 horas) houve maior produção de açúcares redutores.

A hidrólise ácida do amido tem sido utilizada para produção de etanol a partir dos açúcares redutores produzidos (TASIC et al., 2009). No entanto, visando a obtenção de etanol, o licor hidrolisado, rico em açúcares fermentescíveis, deve ser submetido a um processo fermentativo.

2.6. Fermentação alcoólica

A via fermentativa é o processo mais importante para obtenção do álcool etílico no Brasil. Um dos fatores que torna a produção de etanol por fermentação a forma mais econômica de sua obtenção, é o grande número de matérias-primas naturais existentes em todo país (CASADEI, 2012). A produção de etanol por fermentação de substratos amiláceos vem sendo objeto de intensas pesquisas que buscam aperfeiçoar a conversão destes materiais de um modo mais rápido e a menores custos (COSTA, 2010).

Ainda segundo Costa (2010), a fermentação alcoólica é o processo bioquímico que ocorre no citoplasma da levedura, responsável pela transformação de açúcar em álcool etílico. Esse processo bioquímico é realizado por mais de uma dezena de enzimas, e pode ser considerado como a oxidação anaeróbica, parcial, da glicose, por ação de leveduras, com a produção final de álcool etílico e anidrido carbônico, além de outros produtos secundários. É um processo de grande importância, no qual são obtidos todos os álcoois industriais e todas as bebidas alcoólicas, destiladas e não destiladas e, como produto secundário, o gás carbônico. É

ainda utilizado na produção de leveduras de panificação e na obtenção de leveduras prensadas.

Conforme Sousa e Monteiro (2011), além da produção de etanol e dióxido de carbono, outros compostos são obtidos em uma fermentação alcoólica, tais como: glicerol, ácidos orgânicos, álcoois superiores, acetaldeído, acetoína, butilenoglicol, etc.

Os critérios tecnológicos que fazem com que uma levedura seja utilizada na fermentação alcoólica são: o alto rendimento e a elevada produtividade, ou seja, rápida conversão de açúcar em álcool etílico, com baixa produção de componentes secundários. A espécie mais importante de levedura alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae*, que possui um largo espectro de utilização, sendo empregada na produção de pães, bebidas alcoólicas, etanol, etc. Sua biomassa pode ser recuperada como subproduto de fermentação e transformada em levedura seca, que se constitui em matéria-prima para a fabricação de ração animal ou suplemento vitamínico para o homem (OSTROWSKI et al., 2006; CAMILI, 2010).

Segundo Andrietta et al. (2006), o gênero *Saccharomyces* é um dos grupos de microrganismos mais estudados pela comunidade científica. Esse interesse é função da ampla aplicação biotecnológica desses microrganismos. Essa levedura tem sido relatada como agente de transformação desde 1800.

2.6.1. Fatores que afetam o rendimento da fermentação

Diversos fatores físicos, químicos e microbiológicos afetam o rendimento da fermentação, ou seja, a eficiência da conversão de açúcar em etanol. Geralmente, as quedas na eficiência fermentativa decorrem de uma alteração na estequiometria do processo, levando à maior formação de biomassa e produtos secundários, especialmente, glicerol e ácidos orgânicos (LIMA et al., 2001; CAMILI, 2010).

De acordo com Russel (2003), as leveduras são capazes de crescer em uma ampla faixa de temperatura (5 a 43 °C). No entanto, a faixa de temperatura recomendada para o processo de fermentação está entre 30 e 35 °C. Temperaturas inferiores ao limite diminuem a atividade da levedura, retardando, como consequência, a fermentação, e superiores podem gerar o enfraquecimento da levedura, criar boas condições para o surgimento de outros microrganismos, ou seja, favorecer o aparecimento de contaminações e ocasionar maiores perdas de álcool por evaporação (EMBRAPA, 2012). Portanto, o controle da temperatura em

um processo fermentativo dentro de intervalos estreitos é de grande importância (RIBEIRO, 2010).

Ainda segundo Ribeiro (2010), a maioria dos microrganismos se desenvolvem rapidamente em uma faixa estreita de pH. Embora haja exceções, bactérias usualmente crescem no intervalo de 6,5 a 7,5, e as leveduras na faixa de 4 a 6,5. Desta forma, o pH pode ser controlado durante a fermentação para selecionar, preferencialmente, as leveduras sobre as bactérias, e como consequência, diminuir a susceptibilidade à contaminação bacteriana. Conforme Sousa e Monteiro (2011), durante a fermentação o pH deve estar em torno de 4,5 a 5,0, afim de evitar o desenvolvimento de bactérias indesejadas, e afetar o crescimento das leveduras.

Em aerobiose, as leveduras se reproduzem intensamente. Já em anaerobiose, as leveduras produzem etanol e gás carbônico, e apresentam um pequeno crescimento. Por esta razão, a aeração e a agitação devem ser realizadas no início da fermentação visando uma melhor multiplicação das leveduras. No entanto, devem ser evitadas durante a fermentação, pois a presença de oxigênio pode propiciar a formação de ácido acético, reduzindo, portanto, a produção de etanol (SOUSA e MONTEIRO, 2011; EMBRAPA, 2012).

Durante o processo de fermentação alcoólica, as células de leveduras apresentam necessidades nutricionais. Os nutrientes são importantes porque influenciam no desenvolvimento das leveduras, e conseqüentemente, na eficiência da transformação de açúcar em álcool (AMORIM et al., 2011; SOUSA e MONTEIRO, 2011). No entanto, a concentração adequada de nutrientes no mosto é de suma importância, pois se presentes em quantidades insuficientes ou exageradas, podem refletir de forma negativa sobre o processo fermentativo (CAMILI e CABELLO, 2007). Segundo Sousa e Monteiro (2011), elevadas concentrações de nutrientes podem inibir o crescimento das leveduras.

Entre as necessidades nutricionais das leveduras, assim como as outras formas de vida, estão os elementos químicos; carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, magnésio, ferro, zinco, etc (LIMA et al., 2001). Na Tabela 2.3 encontram-se os valores adequados para as concentrações dos principais nutrientes minerais necessários a uma eficiente fermentação alcoólica.

Tabela 2.3. Concentrações de nutrientes minerais para obtenção de uma fermentação alcoólica eficiente.

Nutrição mineral	Concentração (mg.L ⁻¹)
NH ₄ ⁺	40 – 5900
P	62 – 560
K ⁺	700 – 800
Ca ⁺⁺	120
Mg ⁺⁺	70 – 200
SO ₄ ⁺	7 – 280
Na ⁺	200
Co ⁺⁺	3,5
Zn ⁺⁺	0,5 – 10
Cu ⁺⁺	7
Mn ⁺⁺	10 – 80
Fe ⁺⁺	0,2

Fonte: Adaptado de Lima et al. (2001).

As concentrações de leveduras e substrato devem ser controladas durante o processo fermentativo. Recomenda-se iniciar a multiplicação de leveduras em meio com baixo teor de substrato e, à medida que a concentração de leveduras no meio aumenta, eleva-se também o teor de substrato. Segundo Riesenber e Guthke (1999), as destilarias brasileiras operam com altas concentrações de substrato (10 a 20% do volume da dorna).

Quando em concentrações demasiadas, o etanol presente no mosto em fermentação afeta diretamente a membrana celular das leveduras, inibindo o desenvolvimento das mesmas. Segundo Fernandes et al. (2009), a levedura *S. cerevisiae* pode permanecer viável e metabolicamente ativa até concentrações de 20% v/v de etanol. A temperatura também influencia na toxicidade do etanol à levedura, quanto mais alta a temperatura, maior o efeito tóxico causado pelo etanol.

A contaminação bacteriana, reconhecida como um dos graves problemas tecnológicos encontrados na maioria das destilarias do Brasil, advém de processos fermentativos que não são conduzidos em condições adequadas de assepsia (URBANO, 2012). A infecção bacteriana pode causar danos ao processo, tais como: consumo de açúcar, formação de goma, floculação do fermento, inibição e queda da viabilidade das leveduras, ácidos orgânicos excretados no meio e, por consequência, redução da eficiência do processo fermentativo (MENECHIN, 2007).

O mosto se constitui como um ótimo substrato para o crescimento de bactérias, devido ao elevado conteúdo de nutrientes orgânicos e inorgânicos, presença de água, pH favorável e temperatura ótima (CHERUBIN, 2003). Segundo Casadei (2012), pesquisas realizadas na área de fermentação mostram que as bactérias do grupo Gram-positivo são os microrganismos contaminantes que predominam na fermentação alcoólica, sendo os gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus* os de maior ocorrência.

De acordo com Amorim et al. (2011), para uma destilaria que produz 1 milhão de litros de etanol diariamente, pode haver perdas de 10 a 30 mil litros de etanol por dia se a contaminação atingir 10^8 células por mililitro de amostra. Conforme Campana (2012), estima-se que as destilarias brasileiras gastam por ano cerca de 120 a 150 milhões de reais com antibióticos, ácidos e biocidas para controlar a contaminação bacteriana. Portanto, é importante para a indústria alcooleira ter conhecimento da quantidade de microrganismos contaminantes presentes em cada ponto do sistema, pois sendo assim, adequados procedimentos podem ser realizados visando combater a infecção bacteriana a tempo, evitando problemas mais sérios.

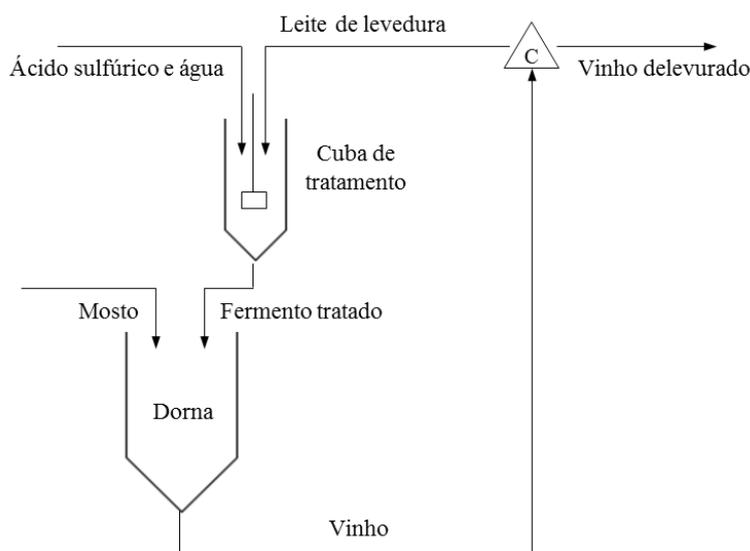
2.6.2. Processos fermentativos

Existem, basicamente, dois tipos de processos fermentativos sendo usados industrialmente no Brasil, sendo eles o sistema em batelada alimentada e o sistema contínuo multi-estágio, ambos praticam o reciclo do fermento (CGEE, 2009).

No processo operado em batelada alimentada, adicionam-se células de levedura e nutrientes ao mosto contendo o substrato açucarado, e os produtos permanecem na dorna até o final da fermentação (KEIM, 1983; WENDHAUSEN JUNIOR, 1998). Em alguns casos, os nutrientes são gradualmente alimentados, em uma vazão constante ou variável com o tempo, assim como a adição do mosto pode ocorrer de forma contínua ou intermitente. No entanto, uma escolha adequada da vazão de alimentação leva a melhores resultados de produtividade e rendimento do processo (CHENG, et al. 2009; ANDRIETTA et al., 2013).

De acordo com Venturini Filho e Mendes (2003), no processo em batelada alimentada, a fermentação é monitorada pelo controle de sua temperatura e pelo acompanhamento da atenuação do °Brix do mosto. Quando a atenuação limite (°Brix constante) é atingida, a fermentação é considerada encerrada, e o vinho (mosto fermentado) juntamente com o

fermento em suspensão é enviado à centrífuga. Esse equipamento separa as células de levedura do vinho. O vinho, praticamente isento de células, segue para a destilaria, visando a recuperação do álcool etílico, enquanto o fermento passa por tratamento químico. As leveduras são enviadas para uma cuba de tratamento na qual recebem água e ácido sulfúrico na proporção de 1:1 até que o pH do meio caia para 2,5-3,0. As células permanecem nesse pH por duas horas, sob agitação realizada por um agitador mecânico ou por injeção de ar. Esse tratamento é realizado visando destruir a maior parte dos microrganismos contaminantes, bem como as leveduras alcoólicas debilitadas. Após o tratamento químico, o fermento é enviado novamente ao fermentador, reiniciando o processo, conforme mostrado na Figura 2.17.



Fonte: Adaptado de Venturini Filho e Mendes (2003).

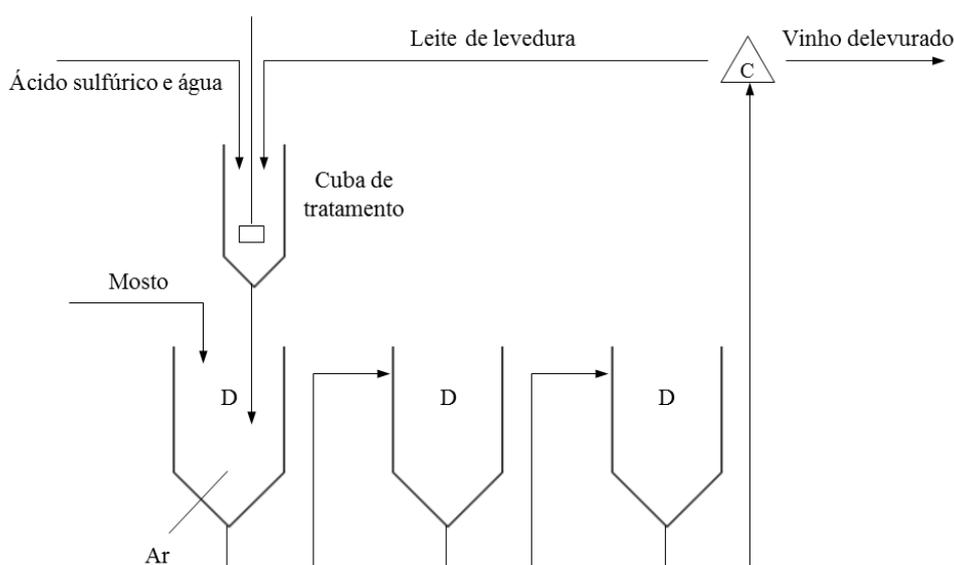
Figura 2.17. Processo descontínuo de fermentação alcoólica com recirculação de levedura.

No processo contínuo, os nutrientes e o substrato são bombeados continuamente para dentro de um biorreator onde os microrganismos encontram-se ativos, e simultaneamente, sob mesma vazão, o produto é retirado do sistema (CAYLAK e SUKAN, 1996). Para que o sistema atinja a condição de estado estacionário, ou seja, condição nas quais 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, faz-se necessária a manutenção de um volume constante de líquido no biorreator (BARCELOS, 2012).

Segundo Venturini Filho e Mendes (2003), o processo contínuo de fermentação alcoólica pode ser conduzido com uma ou mais dornas ligadas em série. O sistema com dornas ligadas em série deve ser preferido por apresentar maior produtividade. Nesse

processo, representado pela Figura 2.18, o primeiro fermentador recebe continuamente mosto e ar, os quais fornecem as leveduras alcoólicas, nutrientes e oxigênio para a multiplicação e produção de etanol. O mosto, parcialmente fermentado, da primeira dorna é enviado em fluxo contínuo para os demais fermentadores, os quais apresentam tempo de residência que varia em função do volume e fluxo de mosto. A fermentação deve terminar na última dorna.

O vinho, contendo o fermento em suspensão, que sai continuamente da última dorna é enviado para centrifugação. Após essa operação, o vinho delevurado segue para a destilaria, enquanto o fermento passa por tratamento ácido, retornando posteriormente ao processo.



Fonte: Adaptado de Venturini Filho e Mendes (2003).

Figura 2.18. Processo contínuo de fermentação alcoólica com recirculação de levedura.

A escolha entre a produção de etanol a partir do sistema batelada alimentada ou contínuo é bastante polêmica, contudo, o sistema batelada domina o mercado de etanol no país (EMBRAPA, 2012). Aproximadamente, 85% das destilarias brasileiras funcionam por batelada alimentada, e apenas 15% funcionam com o processo fermentativo contínuo (CAMPANA, 2012).

No Brasil, o processo em batelada alimentada é considerado mais confiável por muitos engenheiros, devido apresentar sistema de assepsia mais fácil (ALCOOLBRÁS, 2006). Ao final de cada batelada, o biorreator pode ser esterilizado juntamente com um novo meio de cultura, recebendo um novo inóculo que deve ser submetido a todos os controles necessários para assegurar a presença única do microrganismo responsável pelo processo (SCHIMIDELL

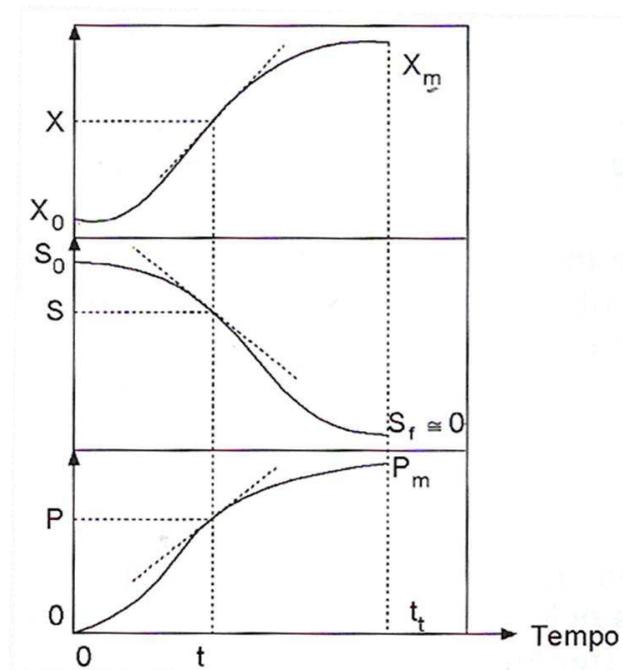
e FACCIOTTI, 2001). Além do menor risco de contaminação, este processo apresenta grande flexibilidade de operação, devido a possibilidade de utilização dos fermentadores para a fabricação de diferentes produtos, e por permitir uma melhor condição de controle com relação à estabilidade genética do microrganismo (CARVALHO e SATO, 2001).

Os processos contínuos, quando bem operados, atingem produtividades elevadas, porém a investimentos iniciais e operacionais muito maiores do que os processos em batelada alimentada, exigindo sistemas de controle mais sofisticados (ATALA et al., 2000). Além disso, no que se refere à assepsia, o processo contínuo é mais suscetível à contaminação bacteriana, por se tratar de um sistema essencialmente aberto e não haver frequente limpeza das dornas (EMBRAPA, 2012).

2.6.3. Cinética de processos fermentativos

O estudo cinético de um processo fermentativo consiste inicialmente na análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se como componentes, o microrganismo, os produtos do metabolismo (ou metabólitos) e os substratos que compõe o meio de cultura, representados por X, P e S, respectivamente. Tais valores experimentais de concentração, quando representados em função do tempo, permitem o traçado das curvas de ajuste, conforme ilustra a Figura 2.19.

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 e FACCIOTTI, 2001).



Fonte: Nascimento (2012).

Figura 2.19. Curvas de ajuste para uma cinética de fermentação idealizada.

Segundo Viegas (2003), o objetivo fundamental do estudo da cinética de processos microbianos é o de quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato, formação de produtos e demais parâmetros cinéticos relacionados, além de avaliar a influência de fatores externos como pH, temperatura, inibidores, etc. nessas taxas.

Portanto, uma vez que esses valores representam parte de um conjunto de dados necessários ao dimensionamento de uma instalação produtiva, fica evidente que sem o conhecimento da cinética torna-se inviável a transposição de um experimento de laboratório para a escala industrial.

2.7. Estado da arte

2.7.1. Produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas

Pesquisas visando o aproveitamento de resíduos amiláceos para a produção biotecnológica de compostos com alto valor agregado, como o etanol, vêm sendo cada vez mais recorrentes. Diversos autores em todo o mundo buscam formas de desenvolver processos

economicamente viáveis e eficientes. Desta forma, alguns desses trabalhos serão descritos, enfatizando os métodos e os resultados obtidos.

Monsalve et al. (2006) hidrolisaram por via ácida amido de mandioca e o conteúdo de celulose e hemicelulose presentes na casca de banana como alternativa à produção de açúcares redutores, e subsequente fermentação utilizando dois microrganismos, a bactéria *Zymomonas mobilis* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, visando a obtenção de etanol. A hidrólise da casca de banana foi realizada utilizando-se 100 g da casca, adição de 50 mL de ácido sulfúrico a 5%, temperatura de 125 °C e pressão de 1 atm, durante 15 minutos. Para a mandioca, a hidrólise foi conduzida preparando-se suspensões de amido/solução de ácido sulfúrico a 20% em diferentes concentrações (170, 180 e 200 g.L⁻¹), temperatura de 94 °C e pressão atmosférica, durante 6 horas. A fermentação foi realizada em frascos de Erlenmeyers contendo 50 mL de hidrolisado, conduzida em anaerobiose a 30 °C e 200 rpm, durante 72 horas para a bactéria *Zymomonas mobilis*, e 5 horas para a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os ensaios de fermentação conduzidos na presença da levedura *S. cerevisiae* mostraram-se mais eficientes, alcançando 7,92% em etanol. No entanto, não houve produção considerável de etanol (menos de 0,1%) para os ensaios utilizando a bactéria *Z. mobilis*.

Com vistas ao aproveitamento do resíduo rico em amido oriundo da extração do óleo de sementes de mamona para a indústria de biodiesel como fonte de açúcares fermentáveis para produção de etanol, Melo et al. (2008) avaliaram o hidrolisado obtido por sacarificação química do amido da torta de mamona (resíduo amiláceo). A hidrólise química foi realizada em frascos cônicos de 250 mL contendo 10 g de torta de mamona seca e solução de ácido sulfúrico na concentração de 0,25 mol.L⁻¹. O processo hidrolítico transcorreu durante 40 min. a 121 °C em autoclave. Após a etapa de hidrólise, a fração solúvel foi usada como mosto, o qual teve o pH corrigido para 5,0 com uso de hidróxido de cálcio hidratado. Durante a fermentação, o sistema não aerado foi mantido sob agitação de 100 rpm durante 8 h a 33 °C. Como agente fermentador foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de 10 g.L⁻¹. A análise cromatográfica do hidrolisado revelou a presença de 27 g.L⁻¹ de açúcares redutores e 0,51 g.L⁻¹ de hidroximetilfurfural. O HMF não interferiu na fermentação, tendo sido observada a completa conversão dos açúcares redutores após 8 h. A produtividade volumétrica (Q_P) do processo fermentativo foi igual a 1,38 g.L⁻¹.h⁻¹, sendo atingida uma concentração em etanol de 11 g.L⁻¹ ao final do processo, o equivalente a um rendimento (Y_{P/S}) de 0,41.

Gonçalves et al. (2009), visando a obtenção de etanol, hidrolisaram o amido presente em raízes de mandioca de 17 acessos provenientes de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul. Os ensaios de hidrólise foram realizados em autoclave, utilizando-se 50 g de mandioca ralada, adição de 250 mL de solução de ácido sulfúrico a 1%, temperatura e pressão fixas em 127 °C e 1,5 atm, respectivamente, durante 60 minutos. Cada acesso de mandioca apresentou um teor diferente de glicose, verificando, portanto, que a produtividade em glicose não depende apenas do clima e do solo, visto que acessos provenientes da mesma localidade apresentaram teores de glicose diferentes. O processo de hidrólise ácida do amido da mandioca mostrou-se eficiente, resultando em elevados teores de glicose para os 17 acessos analisados (19,9 a 26,4%, m/m). Os autores concluíram que para a variedade de mandioca em que se obteve maior teor de glicose (26,4%), o volume de etanol correspondente (valor teórico) seria de 171 litros por tonelada de mandioca.

Costa (2010) avaliou a produção de etanol a partir da hidrólise ácida do amido da farinha de mandioca de três variedades cultivadas no município de Junqueiro, localizado no estado de Alagoas. Os tratamentos hidrolíticos foram conduzidos em autoclaves, utilizando-se 50 g de farinha de cada variedade, adição de 250 mL de solução de ácido sulfúrico a 1% e pressão de 1,5 atm, durante 60 minutos. Após hidrólise, as suspensões foram filtradas, e os hidrolisados tiveram o pH ajustado para 4,5 utilizando solução de hidróxido de sódio a 26%. Os ensaios de fermentação foram realizados em estufa a 38 °C, sob agitação constante (150 rpm), durante 16 horas. Como agentes de fermentação foram utilizadas duas cepas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* de linhagem UPSA, além de uma levedura comercial. Cessada a fermentação, os mostos foram submetidos à análise de determinação do teor alcoólico pelo método ebulliométrico. Os melhores resultados para as três variedades de farinha de mandioca foram alcançados para os ensaios conduzidos com o fermento comercial, onde os maiores valores obtidos para a eficiência de fermentação e produtividade em etanol foram de 82,05% e 1,38 g.L⁻¹.h⁻¹, respectivamente.

Chongkhong et al. (2012) hidrolisaram o amido presente em sementes de jaca visando posterior obtenção de etanol. Os ensaios de hidrólise foram realizados em frascos Erlenmeyers, nos quais foram adicionados 30 g de sementes de jaca trituradas e 30 mL de água destilada, em seguida, os frascos foram submetidos a um banho de óleo em temperaturas variadas (70,75, 80, 85 e 90 °C), em diferentes tempos de aquecimento (5, 10, 15 e 20 min.), sob agitação constante de 100 rpm. Durante a fermentação, frascos Erlenmeyers contendo o hidrolisado e o microrganismo *Loog-pang* foram, também, imersos em um banho de óleo sob

agitação constante (100 rpm). Os ensaios fermentativos foram executados de acordo com uma matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais, tendo como variáveis independentes o tempo (96, 120 e 144 h), o pH (4, 5 e 6) e a temperatura (30, 35 e 40 °C), e como variável dependente o percentual de etanol (%) encontrado no licor hidrolisado. Foram definidas como condições ótimas de operação: temperatura de 32,2 °C, pH de 5,2 e tempo de 124,5 h, resultando em uma produção de etanol de 11,5%.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Na seção 3 estão apresentados os procedimentos metodológicos realizados na presente pesquisa, os quais compreenderam as atividades assim distribuídas: obtenção e preparo da matéria-prima, extração e purificação do amido presente nas sementes de jaca, estudo dos processos hidrolíticos utilizando os ácidos sulfúrico e fosfórico como catalisadores e estudo da fermentação dos hidrolisados visando à produção de etanol. A primeira etapa da pesquisa, referente à obtenção e preparo das sementes de jaca, foi realizada no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola (UAEA) do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais (CTRN), e as demais etapas, foram conduzidas no Laboratório de Química de Biomassa (LQB) e no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química (UAEQ) do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT), sendo todos os laboratórios citados localizados na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus I, Campina Grande, PB.

3.1. Matéria-prima

Nesta pesquisa foram utilizadas, como matéria-prima, sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) fisiologicamente desenvolvidas, das variedades dura e mole (Figura 3.1), adquiridas nos municípios de Belo Jardim – PE e Campina Grande – PB.



Figura 3.1. Sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.).

3.1.1. Preparo da matéria-prima

Os frutos foram higienizados e abertos, as sementes retiradas dos bagos e lavadas em água corrente para remoção dos resíduos da polpa. A película marrom (espermoderma) que envolve as sementes de jaca foi removida manualmente. As sementes foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas sob refrigeração em freezer a -18 °C até subsequente utilização.

3.2. Análises físico-químicas

Os parâmetros físico-químicos foram determinados tanto para as sementes de jaca quanto para o amido extraído das sementes de jaca. Todas as análises descritas a seguir foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como valores médios seguidos de desvios padrões.

3.2.1. Teor de água

A determinação do teor de água foi realizada por método gravimétrico em estufa com circulação de ar regulada a 105 °C, até peso constante da amostra, conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.2. Açúcares redutores

O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método titulométrico de Lane & Eynon, utilizando-se soluções de Fehling, seguindo o procedimento descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.3. Cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada por método gravimétrico, baseado na incineração da amostra em forno tipo mufla a 550 °C, até peso constante da amostra, segundo a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.4. pH

O pH foi determinado através do método potenciométrico, calibrando-se o potenciômetro com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0, de acordo a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em unidades de pH.

3.2.5. Acidez

A acidez da amostra foi definida pelo método titulométrico, utilizando-se solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol.L⁻¹ e solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador, seguindo o procedimento descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.6. 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 pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.7. Proteínas

A determinação do teor de proteínas baseou-se na determinação do teor de nitrogênio presente na amostra 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 pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.8. Lipídios

O teor de lipídios foi determinado após extração em aparelho do tipo Soxhlet, utilizando-se como solvente éter de petróleo, conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.9. Fibras

Para a determinação do teor de fibras, a amostra foi submetida a uma digestão ácida utilizando-se solução aquosa contendo ácido acético glacial, ácido nítrico e ácido tricloracético, de acordo com o método gravimétrico descrito pelas normas propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem.

3.3. Extração e purificação do amido

A extração e purificação do amido das sementes de jaca foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Bobbio et al. (1978).

As sementes de jaca, previamente descascadas, foram imersas em uma solução aquosa de bissulfito de sódio (0,5%, m/v) durante 48 horas, visando evitar o escurecimento do amido. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente, pesadas e desintegradas em liquidificador industrial (marca Siemens) com adição de água destilada na proporção de 1:3 (semente:água, m/v), por 5 minutos.

Após a desintegração das sementes, o material foi passado em peneira de malha 65 *mesh* (marca Granutest), havendo a separação do bagaço do leite do amido. Seguidamente, o bagaço das sementes de jaca foi também desintegrado e purificado, sendo o procedimento finalizado até que o sobrenadante tornar-se límpido, indicando, possivelmente, total remoção do amido presente no bagaço.

A suspensão de amido (leite do amido) foi decantada por um período de 12 horas em ambiente refrigerado. Após a primeira decantação, a suspensão teve seu sobrenadante descartado, e o precipitado suspenso em água destilada, sendo novamente decantado por 12 horas. Este procedimento foi efetuado até que o precipitado apresentasse cor e textura características de amido.

Ao final da etapa de decantação, o amido obtido foi, então, seco em estufa com circulação de ar (marca Cetec) a 50 °C durante 24 horas, moído para a padronização da granulometria por peneiramento (malha 65 *mesh*) e armazenado em sacos de polietileno. Com o objetivo de manter o amido em ambiente no qual não absorvesse umidade, esses sacos foram armazenados em uma caixa de poliestireno expandido contendo sílica gel, e mantidos em temperatura ambiente até posterior utilização. As etapas referentes ao processo de extração e purificação do amido das sementes de jaca estão expostas no fluxograma da Figura 3.2.

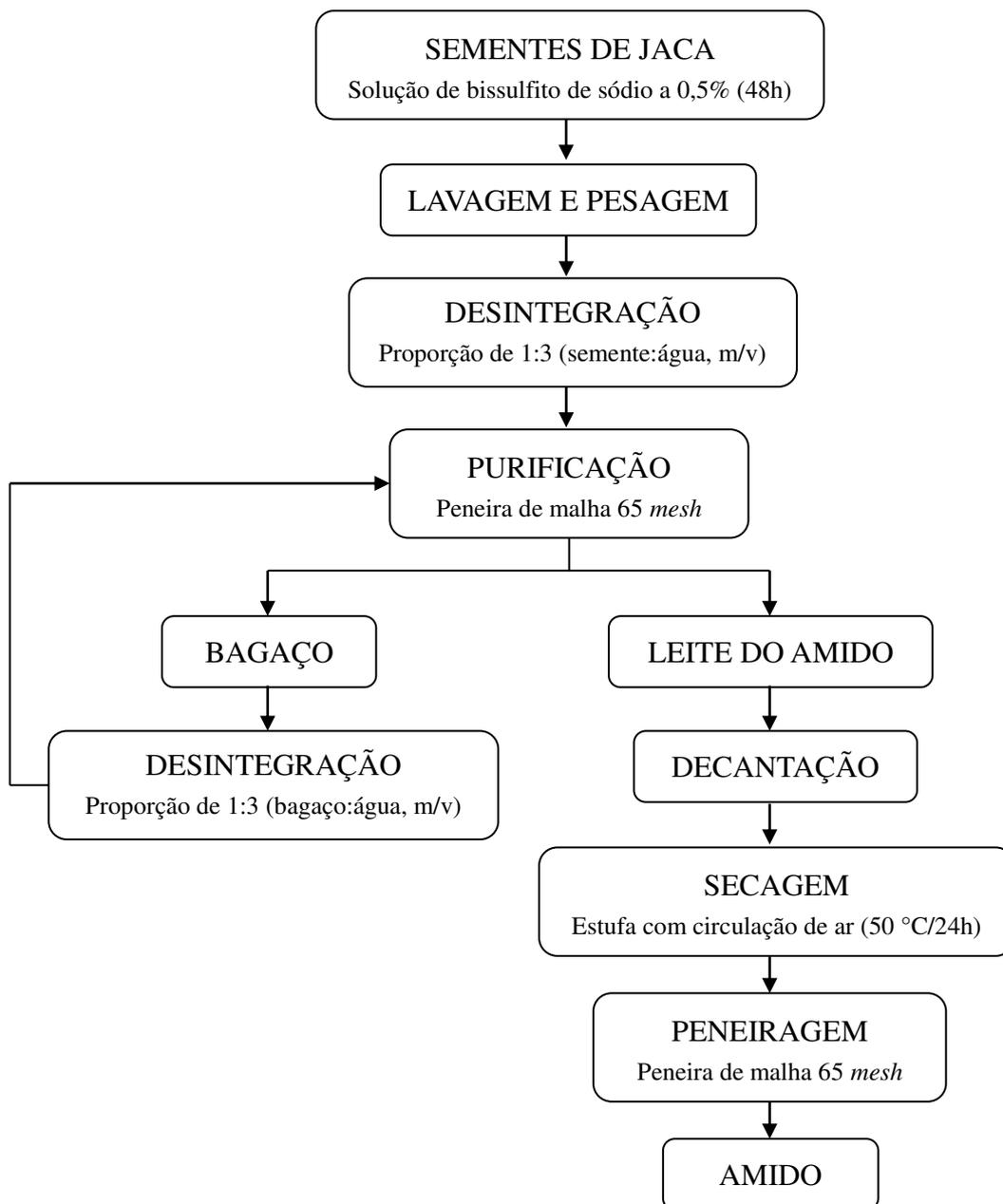


Figura 3.2. Fluxograma do processo de extração e purificação do amido das sementes de jaca.

3.3.1. Rendimento da extração do amido

O rendimento da extração do amido foi calculado como a porcentagem da massa de amido obtido ao final da secagem em relação à massa das sementes de jaca que foram desintegradas, conforme a Equação 3.1.

$$\text{Rendimento da extração do amido (\%)} = \frac{m_a}{m_s} \times 100 \quad (3.1)$$

Onde:

m_a (g) = Massa de amido obtido após secagem;

m_s (g) = Massa das sementes de jaca desintegradas.

3.4. Planejamento experimental visando à otimização dos processos hidrolíticos

Visando otimizar as condições de operação para os processos de hidrólise do amido realizados com os ácidos sulfúrico (H_2SO_4) e fosfórico (H_3PO_4), foi adotado o planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais, totalizando onze experimentos para cada processo.

A temperatura de reação ($^{\circ}C$), o tempo de reação (min.) e a concentração do ácido (%) foram empregadas como variáveis independentes, e como variáveis dependentes, as concentrações de glicose e hidroximetilfurfural ($g.L^{-1}$) presentes no licor hidrolisado e a eficiência de hidrólise (%). Tomando como referência testes preliminares realizados e trabalhos encontrados na literatura (FREITAS et al., 2009; GONÇALVES et al., 2009; COSTA, 2010 e OLIVEIRA, 2011), foram definidos para cada variável independente, os dois níveis codificados alto (+) e baixo (-) e o ponto central (0), conforme está apresentado na Tabela 3.1. Na Tabela 3.2 encontra-se a matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais, a qual foi executada para os processos hidrolíticos conduzidos com os ácidos sulfúrico e fosfórico.

Tabela 3.1. Níveis reais e codificados para as variáveis independentes do planejamento fatorial completo 2^3 incluindo os pontos centrais.

Variável	Nível baixo (-)	Ponto Central (0)	Nível alto (+)
Concentração do ácido (%)	1,0	3,0	5,0
Temperatura de reação ($^{\circ}C$)	80	100	120
Tempo de reação (min.)	30	60	90

Tabela 3.2. Matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais.

Ensaio	Temperatura de reação (°C)	Tempo de reação (min.)	Concentração do ácido (%)
1	(-) 80	(-) 30	(-) 1,0
2	(+) 120	(-) 30	(-) 1,0
3	(-) 80	(+) 90	(-) 1,0
4	(+) 120	(+) 90	(-) 1,0
5	(-) 80	(-) 30	(+) 5,0
6	(+) 120	(-) 30	(+) 5,0
7	(-) 80	(+) 90	(+) 5,0
8	(+) 120	(+) 90	(+) 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, as variáveis independentes (temperatura de reação, concentração do ácido e tempo de reação) e suas interações (temperatura/tempo de reação, temperatura/concentração do ácido e tempo de reação/concentração do ácido) foram avaliadas quanto a influência sobre as variáveis dependentes (concentração de glicose e concentração de hidroximetilfurfural) mediante análise estatística, utilizando o software *Statística@5.0*.

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.

3.5. Hidrólise ácida do amido

Os tratamentos hidrolíticos do amido de sementes de jaca foram realizados na presença dos ácidos sulfúrico e fosfórico em diferentes concentrações (%), temperaturas (°C)

e tempos de reação (min.), conforme estabelecido pela matriz de planejamento apresentada na Tabela 3.2.

Os ensaios de hidrólise foram conduzidos em um sistema formado por seis reatores tubulares de aço inoxidável, com capacidade individual de 160 mL, contendo tampas de aço roscável em uma das extremidades (Figura 3.3) e um banho de óleo com aquecimento controlado sob agitação (Figura 3.4).



Figura 3.3. Reator tubular de aço inoxidável.



Figura 3.4. Banho de óleo com aquecimento controlado sob agitação.

Inicialmente, em cada reator foi adicionado 5 g da amostra contendo amido e 100 mL da solução ácida (proporção 1:20; m/v). Após a carga, os reatores foram imersos em um

banho de óleo pré-aquecido a uma temperatura de 10 °C acima da temperatura de operação, sob agitação. Visando atingir o equilíbrio térmico entre a mistura presente no interior do reator com o banho de óleo, o tempo de reação foi cronometrado cerca de 5 minutos após a imersão dos reatores no banho. Ao atingir os tempos de reação pré-estabelecidos, os reatores foram retirados do banho de óleo e resfriados em água corrente, objetivando interromper a reação de hidrólise.

A suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Buchner. Devido ao menor poder ionizante do ácido fosfórico quando comparado ao do ácido sulfúrico, o resíduo de biomassa resultante da hidrólise conduzida com o ácido fosfórico permaneceu em estado de gelatinização sendo, portanto, retido em tecido de polipropileno com diâmetro de 1 µm, enquanto o resíduo proveniente da hidrólise realizada com o ácido sulfúrico foi retido em papel de filtro.

O licor hidrolisado, oriundo da filtração, foi acondicionado em refrigerador doméstico a 5 °C e, posteriormente, submetido a análise cromatográfica para a determinação das concentrações de glicose e hidroximetilfurfural (HMF).

3.6. Determinação das variáveis dependentes do planejamento experimental

Após a execução dos ensaios de hidrólise para os dois catalisadores em estudo, ácido sulfúrico e ácido fosfórico, seguindo a matriz de planejamento fatorial completo 2³ com três pontos centrais (Tabela 3.2), tornou-se possível quantificar as variáveis dependentes do processo hidrolítico.

3.6.1. Concentrações de glicose e hidroximetilfurfural no licor hidrolisado

As concentrações de glicose e hidroximetilfurfural 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 µL; detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian) para a glicose; detector modelo ProStar 356 (Varian) UV/ visível, comprimento de onda 284 nm

para o hidroximetilfurfural; coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300 mm x 7,7 mm; Varian); temperatura da coluna de 40 °C; fase móvel: solução de ácido sulfúrico a 0,005 mol.L⁻¹ com vazão de 0,6 mL.min⁻¹ e tempo de análise: 60 min. Antes de serem injetadas, as amostras foram, previamente, diluídas e filtradas em membranas de PTFE (politetrafluoroetileno) de porosidade 0,20 µm (Chromafil Xtra).

3.6.2. Eficiência da hidrólise

A eficiência do processo de hidrólise foi definida como a porcentagem de amido removido da semente de jaca e transformado em glicose. Para o cálculo da eficiência de hidrólise fez-se necessária à determinação da concentração teórica de glicose, de acordo com a Equação 3.2.

$$\text{Concentração teórica de glicose (g.L}^{-1}\text{)} = 1,1 \times C_{\text{suspensão}} \times T_{\text{amido}} \quad (3.2)$$

Onde:

$C_{\text{suspensão}}$ (g.L⁻¹) = Concentração da suspensão de amido em solução ácida;

T_{amido} = Teor de amido presente nas sementes de jaca após o processo de extração e purificação.

O fator de conversão 1,1 está relacionado à adição de uma molécula da água (18 g.mol⁻¹) para a liberação de uma molécula de glicose (180 g.mol⁻¹) após o rompimento de cada ligação durante a hidrólise do amido (BARCELOS, 2012).

A partir do valor obtido para a concentração teórica de glicose foi calculada a eficiência do processo de hidrólise, conforme a Equação 3.3.

$$\text{Eficiência da hidrólise (\%)} = \frac{\text{Concentração real de glicose}}{\text{Concentração teórica de glicose}} \times 100 \quad (3.3)$$

A concentração real de glicose (g.L⁻¹) foi determinada a partir da análise cromatográfica realizada no licor hidrolisado, de acordo com a metodologia descrita no item 3.6.1.

3.7. Hidrólise ácida do amido nas condições otimizadas de operação

A partir da determinação das variáveis dependentes do planejamento experimental, concentração de glicose e concentração de hidroximetilfurfural, o processo de hidrólise do amido para os dois catalisadores em estudo, ácido sulfúrico e ácido fosfórico, foi executado nas condições otimizadas de operação, seguindo a metodologia descrita no item 3.5, conforme é apresentado no fluxograma da Figura 3.5.

Objetivando tornar o licor hidrolisado aproveitável para o processo fermentativo, o mesmo teve o seu pH ajustado para valores entre 4,5 e 5,0 utilizando solução de hidróxido de sódio a 50%, sendo em seguida, centrifugado a 2000xg (Cu-5000 – Damon/IEC Division) por 15 min.



Figura 3.5. Fluxograma referente ao processo de hidrólise ácida do amido de sementes de executado nas condições otimizadas de operação.

3.8. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A fim de observar e avaliar o efeito dos tratamentos ácidos, realizados nas condições otimizadas de operação, sobre a superfície dos grânulos do amido extraído de sementes de jaca, 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.

3.9. Processos fermentativos

Visando quantificar o consumo do substrato limitante (glicose) e subsequente obtenção do produto (etanol), com a finalidade de definir os perfis cinéticos para os processos fermentativos, os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico foram reproduzidos nas condições otimizadas de operação definidas após execução do planejamento experimental e, em seguida, submetidos a ensaios de fermentação, conforme descrito a seguir.

3.9.1. Microrganismo

Como agente fermentador foi utilizada a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y904, cedida pela Consultoria em Biomassa e Bioprocesso – CBB.

3.9.2. Nutrientes

Foi utilizado o composto nutricional industrial (Nitrofós) contendo os elementos: fósforo, nitrogênio, magnésio, mangânes e zinco, cedido pela Consultoria em Biomassa e Bioprocesso – CBB.

3.9.3. Ensaio de fermentação

Os ensaios de fermentação foram conduzidos em batelada simples. O mosto foi preparado em um béquer com capacidade nominal de 1 L, ao qual foram adicionados 500 mL do licor hidrolisado (Figura 3.6), 0,3 g de Nitrofós ($0,6 \text{ g.L}^{-1}$) e 6 g de levedura (12 g.L^{-1}). Após homogeneização, o mosto foi mantido em uma câmara incubadora com agitação orbital (SHAKE – Tecnal TE-420) a 160 rpm, sob temperatura controlada de $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

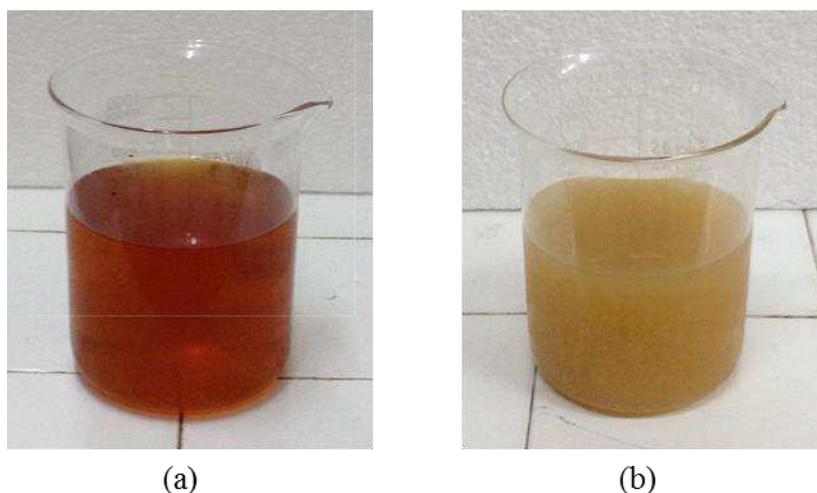


Figura 3.6. Licores hidrolisados pelos catalisadores: (a) ácido sulfúrico e (b) ácido fosfórico.

A fim de construir o perfil cinético referente a cada ensaio fermentativo, alíquotas do mosto, de aproximadamente 1,5 mL, foram coletadas em intervalos regulares de 1 h e, em seguida, centrifugadas a $2000\times g$ (Cu-5000 – Damon/IEC Division) por 15 min, havendo a separação das células de levedura do sobrenadante. O sobrenadante, então, foi diluído e filtrado em membrana de PTFE (politetrafluoroetileno) com porosidade de $0,20 \mu\text{m}$ (Chromafil Xtra) para a determinação das concentrações de glicose e etanol por CLEA (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), seguindo a metodologia descrita no item 3.6.1.

Os ensaios de fermentação foram interrompidos quando, praticamente, todo o substrato limitante (glicose) havia sido consumido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904. As etapas referentes ao processo de fermentação realizado para os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico estão expostas no fluxograma da Figura 3.7.

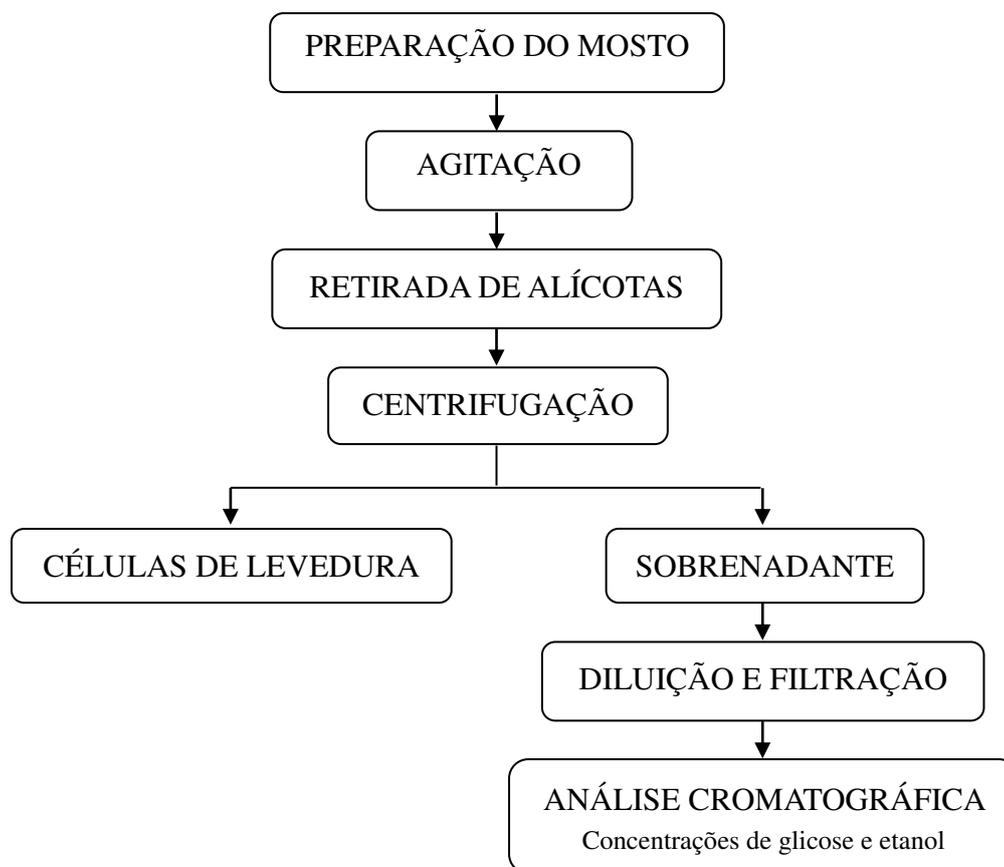


Figura 3.7. Fluxograma referente ao processo de fermentação realizado para os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.

3.9.4. Determinação dos parâmetros fermentativos

Com base na concentração inicial de glicose (S_i), concentrações finais de glicose (S_f) e etanol (P_f) e tempo final de fermentação (t_f), os parâmetros fermentativos: fator de conversão de glicose em etanol ($Y_{P/S}$), produtividade volumétrica em etanol (Q_P), eficiência de conversão (η) e porcentagem de consumo de glicose (Y_{S/S_0}) foram calculados para os ensaios de fermentação conduzidos com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, de acordo com as equações expressas a seguir.

3.9.4.1. Fator de conversão de glicose em etanol

O fator de conversão de glicose em etanol, expressa a quantidade de etanol formado por unidade de substrato limitante consumido, e foi calculado de acordo com a Equação 3.4.

$$Y_{P/S} = \frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \quad (3.4)$$

Onde:

$Y_{P/S}$ = Fator de conversão de glicose em etanol;

P_f (g.L⁻¹) = Concentração final de etanol;

P_i (g.L⁻¹) = Concentração inicial de etanol;

S_f (g.L⁻¹) = Concentração final de glicose;

S_i (g.L⁻¹) = Concentração inicial de glicose.

3.9.4.2. Produtividade volumétrica em etanol

A produtividade volumétrica em etanol, expressa a concentração de etanol produzido por tempo de fermentação, e foi determinada através da Equação 3.5.

$$Q_P = \frac{P_f - P_i}{t_f - t_i} \quad (3.5)$$

Onde:

Q_P (g.L⁻¹.h⁻¹) = Produtividade volumétrica em etanol;

P_f (g.L⁻¹) = Concentração final de etanol;

P_i (g.L⁻¹) = Concentração inicial de etanol;

t_f (h) = Tempo final de fermentação;

t_i (h) = Tempo inicial de fermentação.

3.9.4.3. Eficiência de conversão

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 3.6.

$$\eta = \frac{Y_{P/S \text{ obtido}}}{0,511} \times 100 \quad (3.6)$$

Onde:

η (%) = Eficiência de conversão;

$Y_{P/S \text{ obtido}}$ = Fator de conversão de glicose em etanol obtido pela presente pesquisa.

3.9.4.4. Porcentagem de consumo de glicose

A quantidade de glicose consumida durante os ensaios fermentativos, expressa em porcentagem, foi calculada através da Equação 3.7.

$$Y_{S/S_0} = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100 \quad (3.7)$$

Onde:

Y_{S/S_0} (%) = Porcentagem de consumo de glicose;

S_f (g.L⁻¹) = Concentração final de glicose;

S_i (g.L⁻¹) = Concentração inicial de glicose.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na seção 4 serão apresentados os resultados experimentais e as respectivas discussões referentes às seguintes etapas da pesquisa: caracterização físico-química das sementes de jaca e do amido extraído das sementes de jaca; rendimento do processo de extração do amido; otimização dos processos de hidrólise do amido utilizando os ácidos sulfúrico e fosfórico como catalisadores; avaliação morfológica da microestrutura do amido nativo e hidrolisado nas condições otimizadas de operação e avaliação da fermentabilidade dos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.

4.1. Caracterização físico-química das sementes de jaca

As sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) fisiologicamente desenvolvidas foram submetidas a análises físico-químicas, e os resultados das referidas análises encontram-se na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Composição físico-química das sementes de jaca.

Constituintes	Valores médios*
Teor de água (%)	59,0 ± 0,47
Cinzas (%)	1,06 ± 0,01
Proteínas (%)	4,30 ± 0,08
Açúcares redutores (%)	1,67 ± 0,03
Açúcares totais (%)	3,72 ± 0,02
Fibras (%)	1,21 ± 0,09
Amido (%)	20,81 ± 0,62
Acidez (%)	0,62 ± 0,01
pH	5,39 ± 0,06

* Médias seguidas de desvios padrões

O valor encontrado para o teor de água (59%) mostrou-se semelhante aos determinados por Silveira (2000) e Albuquerque (2011) para sementes de jaca, sendo de 60,57% (variedade mole) e 58,48% (variedade dura), respectivamente.

O teor de cinzas obtido (1,06%) está próximo ao encontrado por Albuquerque (2011) que obteve valor de 1,15% para sementes de jaca da variedade mole, e inferior aos determinados por Silveira (2000), Feitosa (2007) e Albuquerque (2011), que encontraram valores de 1,47% (variedade dura), 1,49% (variedade mole) e 1,48% (variedade dura) para sementes de jaca, respectivamente.

Quanto ao teor de proteínas, o resultado referente a presente pesquisa (4,30%) mostrou-se inferior aos indicados na literatura para sementes de jaca. Silveira (2000) encontrou 5,50% para a variedade dura e 5,07% para a variedade mole, enquanto Albuquerque (2011) constatou 7,98 e 5,56% para as variedades mole e dura, respectivamente. Segundo a Secretária de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária (SEAGRI, 2010), as sementes de jaca contém, em média, 6,6% de proteínas.

A porcentagem encontrada para os açúcares redutores (1,67%) foi inferior ao obtido por Feitosa (2007), que também analisando sementes de jaca, apresentou valor de 2,29%. O conteúdo de açúcares totais (3,72%) foi superior aos reportados por Leonel e Cereda (2002), sendo de 2,02, 1,08, 0,83, 1,19 e 1,34% para as tuberosas amiláceas: açafraão, araruta, biri, inhame e mandioquinha-salsa, respectivamente. De acordo com os autores, um elevado teor de açúcares totais e redutores torna a matéria-prima utilizável não somente para a extração do amido, mas para a produção de hidrolisados e fermentados.

O percentual de fibras encontrado (1,21%) foi superior ao determinado por Silveira (2000) que obteve 1,02% para sementes de jaca da variedade mole, e inferior aos indicados por Silveira (2000) e Feitosa (2007) para sementes de jaca, sendo de 1,57% (variedade dura) e 1,71% (variedade mole), respectivamente. Conforme Brasil (2002), são considerados alimentos sólidos ricos em fibras, aqueles que apresentam teores de fibras acima de 3%, sendo assim, as sementes de jaca não se enquadram nesta categoria.

As sementes de jaca apresentaram elevado teor de amido (20,81%) mostrando-se, portanto, promissoras para serem utilizadas como matéria-prima para a produção de etanol. O valor encontrado foi similar ao citado por Albuquerque (2011) para sementes de jaca da variedade dura (21,35%), e superior aos determinados por Feitosa (2007) e Albuquerque (2011) para sementes de jaca da variedade mole, sendo de 18,83 e 15,9%, respectivamente.

Comparando o percentual de amido encontrado nas sementes de jaca (20,81%) com outras fontes amiláceas, nota-se que valores semelhantes foram reportados por Leonel e Cereda (2002) e Tango et al. (2004) para inhame (20,10%) e sementes de abacate (20,43%), respectivamente. No entanto, as demais tuberosas amiláceas analisadas por Leonel e Cereda (2002) como açafrão, ahipa, batata-doce, biri e mandioquinha-salsa apresentaram valores inferiores, sendo de 8,83, 7,68, 14,72, 18,45 e 15,75%, respectivamente.

A acidez encontrada (0,62%) foi inferior à determinada por Feitosa (2007) ao avaliar o processamento e armazenamento de sementes de jaca (2,44%). Possivelmente, essa discordância de valores está relacionada ao grau de maturidade da fruta, uma vez que, segundo Ventura et al. (1992), a redução da acidez é consequência do metabolismo contínuo, posterior a colheita das frutas e durante o armazenamento, devido ao avanço da maturação.

O valor do pH (5,39) foi compatível com o índice de acidez encontrado (0,62%), visto que, quanto menor a acidez maior será o pH determinado, confirmando, portanto, que as sementes de jaca utilizadas como matéria-prima na presente pesquisa encontravam-se fisiologicamente desenvolvidas e em um grau de maturação avançado.

4.2. Caracterização físico-química do amido extraído das sementes de jaca

Na Tabela 4.2 encontram-se os valores médios seguidos de desvios padrões referentes às análises físico-químicas realizadas no material amiláceo oriundo de sementes de jaca, o qual foi obtido após processos de extração e purificação.

O teor de água presente no amido obtido (7,69%) encontra-se dentro da faixa relatada na literatura pesquisada (entre 5,45 e 11,3%) para amido extraído a partir de sementes de jaca (SILVA et al., 2008; DUTTA et al., 2011), assim como, está de acordo com o limite estabelecido pela Legislação Brasileira, que permite no máximo 14% de teor de água para o amido comercial (BRASIL, 1978). Portanto, as condições de operação utilizadas durante o processo de extração do amido, tempo e temperatura de secagem, foram suficientes para se alcançar um teor de água satisfatório, sendo esse teor adequado para a conservação do amido até posterior utilização.

Tabela 4.2. Composição físico-química do amido extraído das sementes de jaca.

Constituintes	Valores médios*
Teor de água (%)	7,69 ± 0,71
Cinzas (%)	0,14 ± 0,01
Proteínas (%)	2,58 ± 0,16
Lipídios (%)	0,35 ± 0,08
Amido (%)	85,50 ± 0,81
Acidez (%)	0,27 ± 0,03
pH	4,62 ± 0,03

* Médias seguidas de desvios padrões

Os valores obtidos para os teores de cinzas e lipídios, de 0,14 e 0,35%, respectivamente, estão em conformidade com o limite máximo de 0,5% estabelecido pela Legislação Brasileira para amidos comerciais (BRASIL, 1978). Para o teor de cinzas, resultados semelhantes foram relatados por Silva et al. (2008) e Albuquerque (2011), que encontraram 0,12 e 0,16% em amido extraído de sementes de jaca, respectivamente. Quanto ao teor de lipídios, valor muito próximo ao encontrado no presente estudo foi conseguido por Silva et al. (2008). Barbosa (2013) apresentou valor superior, de 0,80%, e Rengsutthi e Charoenrein (2011) reportaram resultado inferior, de 0,03%, tendo todos os autores citados, analisado amido de sementes de jaca.

Segundo Wang e White (1994), dos constituintes presentes em menores concentrações, os que mais influenciam as propriedades funcionais dos amidos são os lipídios. De acordo com 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 teor de proteínas encontrado (2,58%) foi superior ao permitido pela Legislação Brasileira para amidos comerciais, sendo de no máximo 0,1% (BRASIL, 1978). Comparando aos valores apresentados por outros autores, que também analisaram amido extraído de sementes de jaca, o resultado obtido apresentou-se semelhante ao citado por Barbosa (2013), de 2,06% e, superior aos indicados por Rengsutthi e Charoenrein (2011) e Dutta et al. (2011), sendo de 0,09 e 0,4%, respectivamente. No entanto, inferior ao reportado por Mendes (2011)

que encontrou 5,60% de proteínas em amido de sementes de manga, variedade Tommy Atkins.

O resultado obtido para o teor de amido, de 85,5%, apresentou-se superior ao limite estabelecido pela Legislação Brasileira para amidos comerciais, que é de no mínimo 80% (BRASIL, 1978), além de possuir elevado grau de pureza, uma vez que, como mostrado anteriormente, o produto teve baixos teores de cinzas, proteínas e lipídios podendo, portanto, ser considerado promissor para a utilização como fonte amilácea. Quando equiparado a valores indicados na literatura para amido de sementes de jaca, o teor de amido encontrado na presente pesquisa mostrou-se similar aos determinados por Madrigal-Aldana et al. (2011) e Barbosa (2013), sendo de 81,16 e 86,71%, respectivamente, e inferior aos citados por Silva et al. (2008) e Dutta et al. (2011), que encontraram 94,55 e 99,20%, respectivamente, sendo essas diferenças atribuídas, possivelmente, aos métodos de extração executados pelos autores citados. Comparando com outras fontes amiláceas, o teor de amido obtido está próximo ao valor encontrado por Ribeiro (2006), que foi de 84,07% para amido de fécula de mandioca, e revelou-se superior ao amido oriundo de sementes de manga, variedade Tommy Atkins, que foi de 71,56%, relatado por Mendes (2011).

Segundo Oliveira (2011), é esperado para o amido nativo, ou seja, que não passou por processo de fermentação ou modificação (hidrólise), valores de pH próximos da neutralidade. No entanto, o amido obtido apresentou acidez de 0,27% e pH de 4,62. Essa acidez pode ter sido ocasionada pelo tempo de decantação durante o processo de extração, pois de acordo com o mesmo autor, amidos que são deixados por longos períodos em contato com a água, podem iniciar o processo de fermentação, reduzindo, portanto, o pH. Valores próximos a neutralidade foram reportados por outros autores, Henríquez et al. (2008) em seu trabalho com amido de pinhão (semente de *Araucaria araucana*) encontraram pH de 5,9, Moura (2008) analisando amido dos rizomas de *H. coronarium* encontrou pH de 6,37 e Urbano (2012) obteve pH de 5,91 para amido de mandioca.

4.3. Rendimento do processo de extração do amido

Visando verificar a eficiência da metodologia aplicada na presente pesquisa para a extração do amido de sementes de jaca, na qual foi utilizada solução de bissulfito de sódio (0,5%) como reagente, o rendimento do processo de extração foi calculado com base na quantidade de amido obtido após o processo de extração em relação a quantidade de sementes de jaca utilizadas no processo. De acordo com Oliveira (2011), o rendimento de extração do amido é um parâmetro importante a ser considerado, visto que, para a indústria, um maior rendimento em amido torna o processo economicamente mais atrativo.

Em comparação a resultados reportados por outros pesquisadores, que também verificaram o rendimento de extração do amido de sementes de jaca, o valor obtido no presente estudo, de 8,14%, mostrou-se semelhante aos determinados por Silva et al. (2008) e Santos et al. (2013), que encontraram 8,91 e 8,17% em seus protocolos de extração com soluções de bissulfito de sódio (0,5%) e hidróxido de sódio (0,2%), respectivamente. Resultados superiores foram relatados por Rengsutthi e Charoenrein (2011), Madrigal-Aldana et al. (2011), Barbosa (2013) e Santos et al. (2013), sendo de 10,55, 9,30, 9,64 e 11,34%, respectivamente. Todos os autores citados anteriormente utilizaram, como reagente, solução de bissulfito de sódio, exceto Rengsutthi e Charoenrein (2011), que empregaram solução de hidróxido de sódio (0,05 mol.L⁻¹). No entanto, o maior resultado para o rendimento de extração do amido de sementes de jaca encontrado na literatura foi reportado por Santos et al. (2013), que realizando a extração do amido apenas com água, indicaram um valor de 11,48%.

A metodologia utilizada no presente estudo mostrou-se eficiente quanto à pureza do amido, uma vez que, as análises físico-químicas realizadas no amido revelaram baixas frações dos constituintes cinzas, proteínas e lipídios. Segundo Peroni (2003), quanto menor o teor desses constituintes, melhor a qualidade do amido.

O material amiláceo extraído de sementes de jaca (Figura 4.1) apresentou características típicas de amido, exibindo-se como um pó fino, branco, inodoro, insípido e produzindo ligeira crepitação quando comprimido entre os dedos.

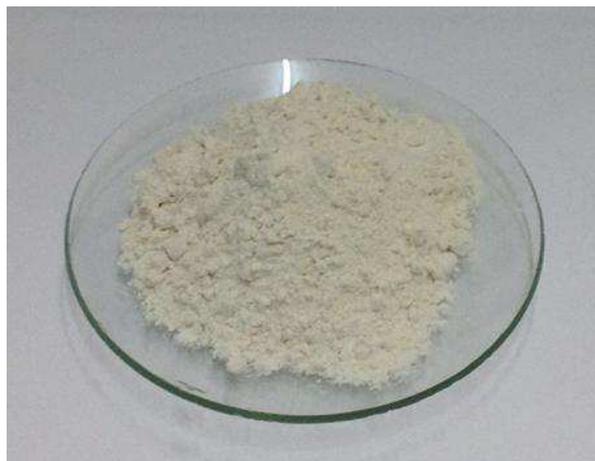


Figura 4.1. Amido extraído de sementes de jaca.

4.4. Planejamento experimental para o processo de hidrólise do amido utilizando ácido sulfúrico como catalisador

Na Tabela 4.3 encontram-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 hidroximetilfurfural e eficiência da hidrólise) após os diferentes tratamentos de hidrólise do amido empregando ácido sulfúrico como catalisador, os quais foram executados de acordo com a matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais apresentada no item 3.5, totalizando 11 experimentos.

Os resultados mostraram que a concentração de glicose presente nos licores hidrolisados por ácido sulfúrico variou de 0,08 a 32,98 g.L⁻¹ para os ensaios 1 e 8, respectivamente. A maior eficiência de hidrólise (70,13%) foi constatada no ensaio 8, sendo esse valor obtido pela razão entre o maior valor encontrado para a concentração de glicose (32,98 g.L⁻¹) e a máxima concentração de glicose que seria alcançada se todo o amido utilizado no ensaio fosse convertido em glicose após o processo de hidrólise (47,02 g.L⁻¹). Dos onze tratamentos realizados, apenas quatro apresentaram hidroximetilfurfural (HMF), sendo o valor máximo encontrado de 0,53 g.L⁻¹ (ensaio 8). Verifica-se, também, que os ensaios realizados no ponto central (ensaios 9, 10 e 11) exibiram pequena variação para a concentração de glicose e, conseqüentemente, para a eficiência da hidrólise, não apresentando variabilidade para a concentração de HMF, indicando, portanto, boa repetibilidade do processo.

Tabela 4.3. Valores reais das variáveis independentes e resultados obtidos para as variáveis dependentes após diferentes tratamentos de hidrólise do amido utilizando ácido sulfúrico como catalisador.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min.)	H ₂ SO ₄ (%)	Glicose (g.L ⁻¹)	HMF (g.L ⁻¹)	Eficiência (%)
1	80	30	1	0,08	0	0,17
2	120	30	1	26,37	0,02	56,08
3	80	90	1	0,16	0	0,34
4	120	90	1	29,76	0,13	63,28
5	80	30	5	0,46	0	0,98
6	120	30	5	27,65	0,17	58,80
7	80	90	5	4,34	0	9,23
8	120	90	5	32,98	0,53	70,13
9	100	60	3	19,55	0	41,57
10	100	60	3	20,20	0	42,96
11	100	60	3	20,05	0	42,64

Mediante análise estatística, considerando um intervalo de confiança de 95%, as variáveis independentes (temperatura, tempo de reação e concentração do ácido) e suas interações (temperatura/tempo de reação, temperatura/concentração do ácido e tempo de reação/concentração do ácido) foram avaliadas quanto a influência sobre as variáveis dependentes, concentração de glicose e concentração de hidroximetilfurfural, obtidas após os diferentes tratamentos hidrolíticos utilizando ácido sulfúrico como catalisador.

4.4.1. Análise estatística para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico

Os resultados obtidos para a concentração de glicose (Tabela 4.3) foram tratados estatisticamente, considerando um intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0,05$), sendo possível determinar os coeficientes de regressão para os parâmetros em estudo, os quais encontram-se na Tabela 4.4. A Equação 4.1 corresponde ao modelo obtido para a concentração de glicose,

onde os termos em negrito representam os parâmetros que foram estatisticamente significativos.

$$\text{Concentração de glicose} = \mathbf{15473,75} + \mathbf{14215,65 T} + 1835,90 t + 884,63 C + 845,90 T \times t - 257,91 T \times C + 468,39 t \times C \quad (4.1)$$

Tabela 4.4. Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	15473,75	1265,27	12,23	0,0066	10029,72	20917,77
Curvatura	6461,30	2422,81	2,67	0,1165	-3963,21	16885,82
(T) Temperatura	14215,65	1265,27	11,23	0,0078	8771,63	19659,68
(t) Tempo	1835,90	1265,27	1,45	0,2839	-3608,13	7279,92
(C) Concentração	884,63	1265,27	0,69	0,5568	-4559,40	6328,65
T x t	845,90	1265,27	0,66	0,5726	-4598,13	6289,92
T x C	-257,91	1265,27	-0,20	0,8573	-5701,94	5186,11
t x C	468,39	1265,27	0,37	0,7468	-4975,63	5912,42

Analisando a Tabela 4.4 e a Figura 4.2, que apresenta, graficamente, os efeitos significativos e não significativos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de glicose ao nível de confiança utilizado, observa-se que a temperatura foi a única variável a apresentar efeito estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) sobre a concentração de glicose, indicando, portanto, que a elevação da temperatura provoca o aumento da concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Apesar dos efeitos das variáveis, tempo de reação e concentração do ácido, não serem estatisticamente significativos ($p > 0,05$), as mesmas, por exibirem coeficientes positivos, apresentaram influência positiva sobre a concentração de glicose, sugerindo, assim, que valores elevados dessas duas variáveis supracitadas favorecem o aumento da concentração de glicose no licor hidrolisado, porém, de forma menos significativa quando comparada a influência da variável temperatura. Comportamentos semelhantes foram observados para as

interações temperatura/tempo de reação e tempo de reação/concentração do ácido. Além disso, o tempo de reação indicou maior efeito sobre a concentração de glicose quando comparado ao efeito da concentração do ácido.

No entanto, o efeito combinado da temperatura com a concentração do ácido, por exibir coeficiente negativo, indica que existe uma influência negativa sobre a concentração de glicose, sinalizando, assim, que o aumento simultâneo dessas duas variáveis não favorece a elevação da concentração de glicose no licor hidrolisado.

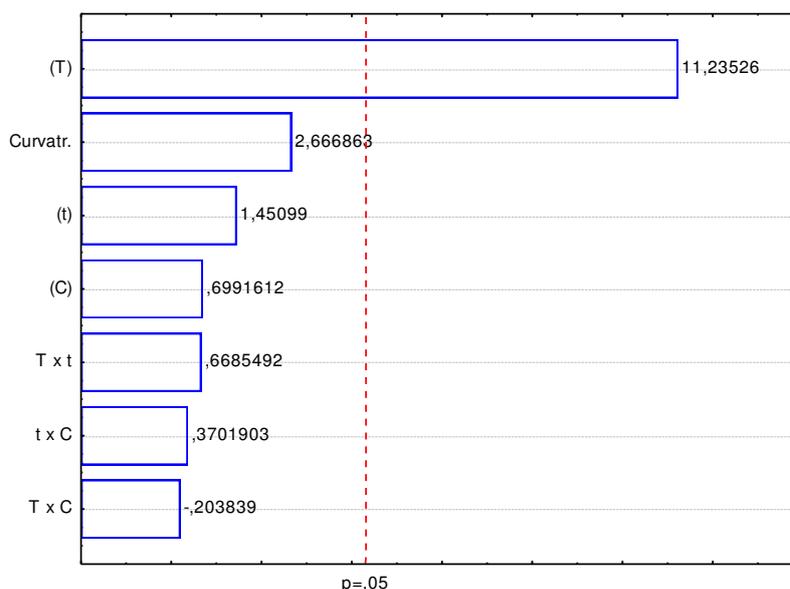


Figura 4.2. Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Na Tabela 4.5 encontra-se a análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico, a qual determina a significância estatística do modelo obtido (Equação 4.1). Analisando-se os resultados exibidos na referida tabela, verifica-se que o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo (R^2) foi de 98,45%, indicando, portanto, que o modelo expressa bem os dados experimentais. Com relação ao teste F, observa-se que o valor de $F_{\text{calculado}}$ é 3,93 vezes maior que o F_{tabelado} , constatando-se, assim, que o modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, mas não preditivo. De acordo com Box e Wetz (1973), uma regressão para não ser apenas significativa, mas também apresentar valor preditivo, necessita que o valor de F calculado seja de 4 a 5 vezes maior do que o F tabelado.

Tabela 4.5. Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F*
Regressão	1749001797	6	249857399,5	3,93
Resíduo	27473905	3	9157968,3	
Falta de ajuste	1859315	1	1859315	
Erro puro	25614590	2	12807300	
Total	1776475702	9		
<hr/>				
$\%R^2$	98,45			
$F_{\text{tabelado}} =$	6,94			
$F_{\text{calculado}} =$	27,28			

* Teste F = $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$

Através da Figura 4.3 pode-se confirmar que o modelo representa bem os dados experimentais, uma vez que os pontos experimentais encontram-se distribuídos próximos a reta de ajuste.

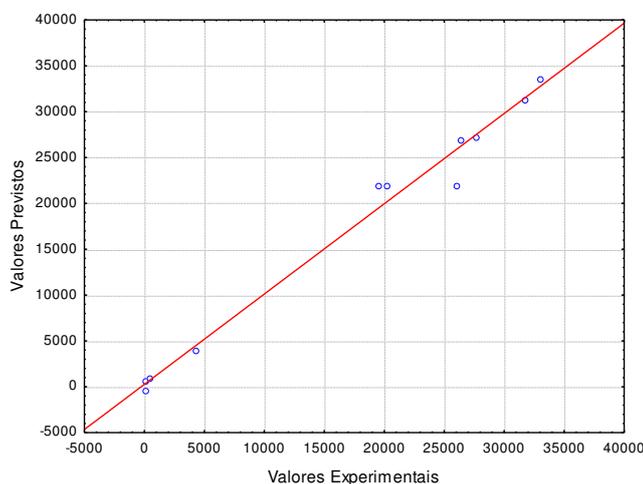


Figura 4.3. Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Como o modelo obtido para a concentração de glicose é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, construiu-se a superfície de resposta para a análise das influências das variáveis independentes sobre a variável dependente em estudo.

A superfície de resposta e a curva de contorno para a concentração de glicose (Figuras 4.4 e 4.5, respectivamente) foram geradas em função das variáveis independentes, temperatura e tempo de reação, pois como já discutido anteriormente, foram essas variáveis que apresentaram maior influência sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

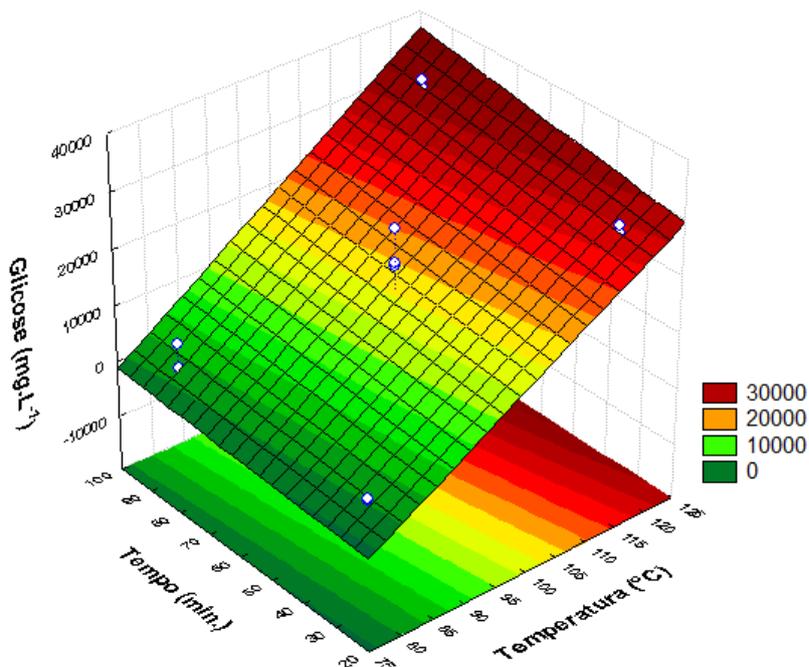


Figura 4.4. Superfície de resposta para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

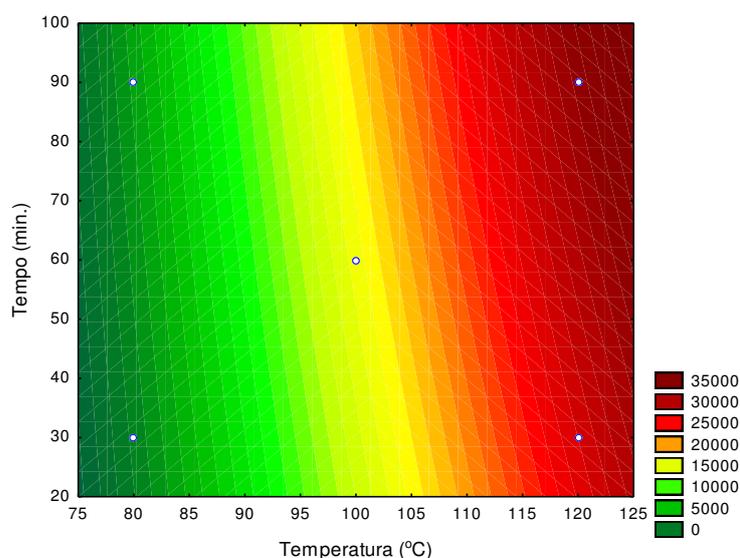


Figura 4.5. Curva de contorno para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Avaliando-se as Figuras 4.4 e 4.5 observa-se que, tomando-se como referência os níveis definidos para as variáveis independentes do planejamento experimental realizado nesta pesquisa, a região de máxima concentração de glicose foi alcançada para os níveis mais elevados (+) de temperatura e tempo de reação, sendo eles, 120 °C e 90 min., respectivamente.

No entanto, como a temperatura teve um maior efeito significativo sobre a concentração de glicose quando comparada ao efeito do tempo de reação, percebe-se, através das figuras supracitadas, que em temperaturas superiores a 120 °C e em tempos inferiores a 90 min. pode-se atingir, também, máxima concentração de glicose. Este fato, possivelmente, tornaria o processo mais econômico, devido a diminuição do tempo para a realização do tratamento hidrolítico. Entretanto, sabe-se que o composto furano, hidroximetilfurfural, é resultante da degradação de hexoses, como a glicose, sob elevadas temperaturas, e inibe o processo fermentativo, quando em concentrações inadequadas.

4.4.2. Análise estatística para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico

A partir dos coeficientes de regressão para os parâmetros em estudo obtidos após tratamento estatístico (Tabela 4.6) realizado para os resultados referentes a concentração de hidroximetilfurfural (Tabela 4.3), tornou-se possível a construção do modelo para a concentração de HMF, o qual encontra-se representado pela Equação 4.2. Os termos em negrito representam os parâmetros que foram estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

$$\text{Concentração de HMF} = \mathbf{106,96} + \mathbf{106,46 T} + \mathbf{59,71 t} + \mathbf{69,36 C} + \mathbf{60,22 T \times t} + \mathbf{68,85 T \times C} + \mathbf{30,84 t \times C} \quad (4.2)$$

Tabela 4.6. Coeficientes de regressão para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Parâmetros	Coefficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	106,96	1,53	69,84	0,0002	100,37	113,55
Curvatura	-93,62	2,93	-31,92	0,0009	-106,24	-81,00
(T) Temperatura	106,46	1,53	69,51	0,0002	99,87	113,05
(t) Tempo	59,71	1,53	38,99	0,0007	53,12	66,30
(C) Concentração	69,36	1,53	45,29	0,0005	62,77	75,95
T x t	60,22	1,53	39,32	0,0006	53,63	66,81
T x C	68,85	1,53	44,96	0,0005	62,26	75,44
t x C	30,84	1,53	20,13	0,0025	24,25	37,43

Os resultados exibidos na Tabela 4.6 e na Figura 4.6 indicaram que todas as variáveis independentes e suas interações apresentaram efeitos estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$) sobre a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

A temperatura, como previsto e comentado anteriormente, foi a variável que apresentou maior efeito significativo sobre a concentração de HMF. Segundo Vargas (2006), o hidroximetilfurfural forma-se por desidratação de hexoses em meio ácido, numa velocidade que varia diretamente com a temperatura.

No entanto, mesmo apresentando menores efeitos sobre a concentração de HMF quando comparadas ao efeito da temperatura, as variáveis, concentração do ácido e tempo de reação, além de todas as combinações entre as variáveis independentes, por apresentarem efeitos estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$), devem ser analisadas durante o processo de hidrólise do amido, visando favorecer menores concentrações de hidroximetilfurfural, sem que haja, entretanto, prejuízos a eficiência do processo. Para Lewkowski (2001), os compostos furânicos, 5-hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, são os inibidores mais potentes derivados da degradação da biomassa através da hidrólise ácida diluída e, de acordo com Zaldivar et al. (2001), podem afetar a fisiologia celular da levedura, podendo causar uma diminuição em sua viabilidade, acarretando diminuição do rendimento e produtividade em etanol.

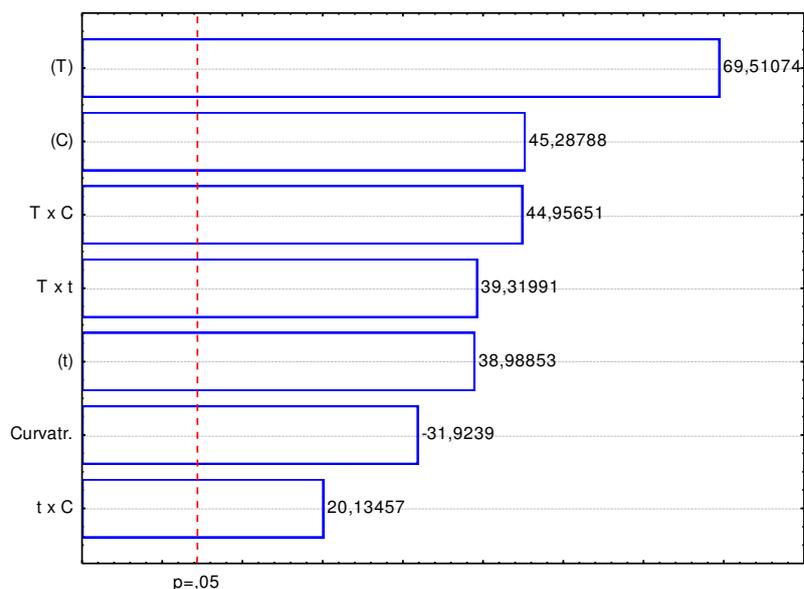


Figura 4.6. Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Analisando os resultados referentes à análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico, os quais encontram-se exibidos na Tabela 4.7, constatou-se que o modelo para a concentração de HMF, Equação 4.2, expressa satisfatoriamente os os dados experimentais, uma vez que o coeficiente de correlação (R^2) entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo foi de 96,95%. Quanto ao teste F, o valor da razão entre o $F_{\text{calculado}}$ e o F_{tabelado} foi de 1,96, indicando, portanto, que o modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, mas não preditivo.

Tabela 4.7. Análise de variância (ANOVA) para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F*
Regressão	251336,7	6	35905,2	1,96
Resíduo	7896,9	3	2632,3	
Falta de ajuste	7859,4	1	1859315	
Erro puro	37,5	2	12807300	
Total	259233,6	9		
$\%R^2$	96,95			
$F_{\text{tabelado}} =$	6,94			
$F_{\text{calculado}} =$	13,64			

* Teste F = $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$

O bom ajuste do modelo aos dados experimentais, $R^2 = 96,95\%$, pode ser comprovado por meio da Figura 4.7, visto que os valores experimentais encontram-se distribuídos próximos a reta de ajuste.

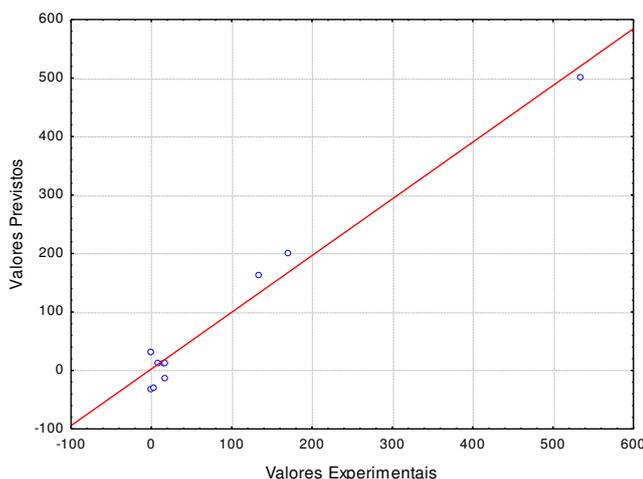


Figura 4.7. Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Em consequência do modelo para a concentração de hidroximetilfurfural ter sido considerado estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, a superfície de

resposta e a curva de contorno para a concentração de HMF (Figuras 4.8 e 4.9, respectivamente) foram construídas visando avaliar a influência das variáveis independentes que apresentaram maiores efeitos significativos sobre a concentração de HMF no licor hidrolisado por ácido sulfúrico, sendo elas, a temperatura e a concentração do ácido.

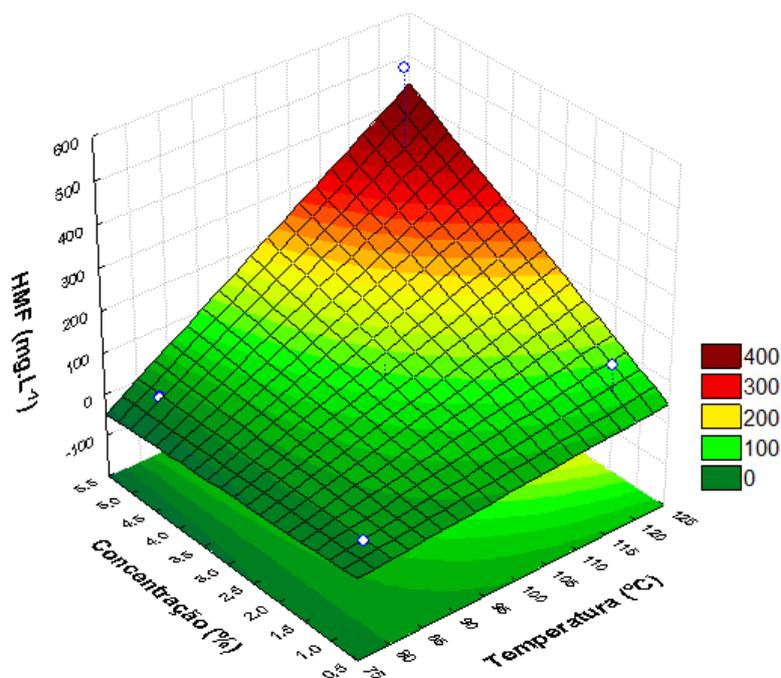


Figura 4.8. Superfície de resposta para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

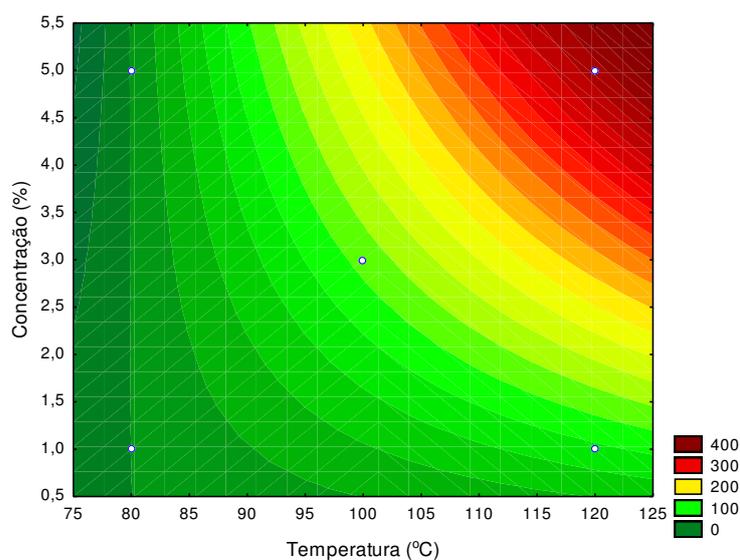


Figura 4.9. Curva de contorno para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

Analisando as Figuras 4.8 e 4.9, percebe-se que a região de máxima concentração de hidroximetilfurfural foi atingida quando o tratamento hidrolítico foi conduzido sob os níveis mais severos (+), de temperatura e concentração do ácido (120 °C e 5%, respectivamente), definidos para o planejamento experimental realizado nesta pesquisa. De acordo com Ogeda e Petri (2010), no tratamento ácido, além da temperatura, a concentração do ácido é fator determinante no controle da degradação de açúcares e formação de produtos tóxicos.

Portanto, sabendo que o hidroximetilfurfural, quando em concentrações inadequadas, inibe o processo fermentativo e, considerando que a variável tempo de reação também revelou efeito significativo sobre a concentração de HMF, o processo de hidrólise do amido com ácido sulfúrico deve ser conduzido em condições de temperatura, concentração do ácido e tempo de reação que visem favorecer menores concentrações de HMF, sem que haja, no entanto, reduções significativas na concentração de glicose presente no licor hidrolisado, o que acarretaria menor rendimento em etanol.

4.5. Planejamento experimental para o processo de hidrólise do amido utilizando ácido fosfórico como catalisador

Na Tabela 4.8 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 hidroximetilfurfural e eficiência da hidrólise) após os diferentes tratamentos de hidrólise do amido utilizando ácido fosfórico como catalisador, os quais foram conduzidos de acordo com a matriz de planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais apresentada no item 3.5, totalizando 11 experimentos.

Os resultados revelaram que a concentração de glicose presente nos licores hidrolisados por ácido fosfórico variou de 0,96 a 31,23 g.L⁻¹ para os ensaios 2 e 8, respectivamente. Os licores hidrolisados oriundos dos tratamentos conduzidos na menor temperatura estabelecida para o planejamento experimental (80 °C) não apresentaram concentrações detectáveis de glicose (ensaios 1, 3, 5 e 7). O valor máximo para a eficiência de hidrólise (66,41%) foi verificado no ensaio 8. Os diferentes tratamentos hidrolíticos do amido com ácido fosfórico não geraram hidroximetilfurfural, com exceção apenas para o ensaio 8, que apresentou 0,08 g.L⁻¹ de HMF. Além disso, os resultados provenientes dos ensaios realizados no ponto central (ensaios 9, 10 e 11) confirmaram a repetibilidade significativa do

processo, uma vez que não houve variação considerável para a concentração de glicose e, conseqüentemente, para a eficiência de hidrólise.

Tabela 4.8. Valores reais das variáveis independentes e resultados obtidos para as variáveis dependentes após diferentes tratamentos de hidrólise do amido utilizando ácido fosfórico como catalisador.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min.)	H ₃ PO ₄ (%)	Glicose (g.L ⁻¹)	HMF (g.L ⁻¹)	Eficiência (%)
1	80	30	1	0	0	0
2	120	30	1	0,96	0	2,04
3	80	90	1	0	0	0
4	120	90	1	8,59	0	18,27
5	80	30	5	0	0	0
6	120	30	5	3,27	0	6,95
7	80	90	5	0	0	0
8	120	90	5	31,23	0,08	66,41
9	100	60	3	1,17	0	2,49
10	100	60	3	1,24	0	2,64
11	100	60	3	1,19	0	2,53

Assim como foi realizado para o processo hidrolítico utilizando o ácido sulfúrico como catalisador, as variáveis independentes (temperatura, tempo de reação e concentração do ácido) e suas interações (temperatura/tempo de reação, temperatura/concentração do ácido e tempo de reação/concentração do ácido) foram avaliadas, por meio de análise estatística (considerando um intervalo de confiança de 95%), quanto a influência sobre as variáveis dependentes, concentração de glicose e concentração de hidroximetilfurfural, obtidas após os diferentes tratamentos hidrolíticos utilizando ácido fosfórico como catalisador.

4.5.1. Análise estatística para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico

Na Tabela 4.9 estão apresentados os coeficientes de regressão para os parâmetros em estudo, os quais foram determinados após tratamento estatístico realizado para os resultados referentes a concentração de glicose (Tabela 4.8). O modelo obtido para a concentração de glicose encontra-se representado pela Equação 4.3. Os termos em negrito representam os parâmetros que foram estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

$$\text{Concentração de glicose} = \mathbf{5,22} + \mathbf{5,22 T} + \mathbf{4,17 t} + \mathbf{2,84 C} + \mathbf{4,17 T \times t} + \mathbf{2,84 T} \\ \times \mathbf{C} + \mathbf{2,26 t \times C} \quad (4.3)$$

Tabela 4.9. Coeficientes de regressão para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Parâmetros	Coeficiente de Regressão	Desvio Padrão	t (2)	p	Limite de confiança (-95 %)	Limite de confiança (+95 %)
Média	5,22	0,01	409,88	0,000006	5,17	5,28
Curvatura	-4,02	0,02	-164,89	0,000037	-4,13	-3,92
(T) Temperatura	5,22	0,01	409,88	0,000006	5,17	5,28
(t) Tempo	4,17	0,01	326,92	0,000009	4,11	4,22
(C) Concentração	2,84	0,01	222,59	0,000020	2,78	2,89
T x t	4,17	0,01	326,92	0,000009	4,11	4,22
T x C	2,84	0,01	222,59	0,000020	2,78	2,89
t x C	2,26	0,01	177,29	0,000032	2,20	2,31

Analisando a Tabela 4.9, 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 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 por ácido fosfórico.

A significância estatística dos efeitos individuais e combinados das variáveis independentes foi confirmada através do diagrama de Pareto mostrado na Figura 4.10. Por meio deste diagrama, tornou-se possível perceber que, assim como foi observado para o licor hidrolisado por ácido sulfúrico, a temperatura foi a variável independente que apresentou maior influência sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico, seguida das variáveis, tempo de reação e concentração do ácido. O efeito menos expressivo foi observado para a combinação entre as variáveis tempo de reação e concentração do ácido.

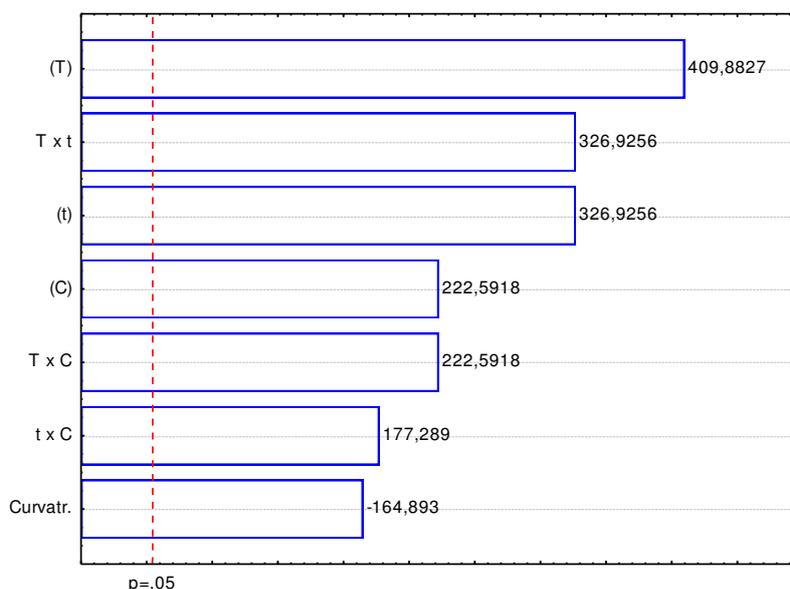


Figura 4.10. Diagrama de Pareto referente aos efeitos das variáveis independentes e de suas interações sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Visando verificar a significância estatística do modelo obtido para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico (Equação 4.3), a análise de variância (ANOVA) foi realizada, e os resultados encontram-se na Tabela 4.10. Avaliando os resultados referentes à análise supracitada, percebe-se que o modelo apresentou boa qualidade de ajuste aos dados experimentais, posto que, o coeficiente de correlação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo (R^2) foi de 94,22%. Em relação ao teste F, constatou-se que o modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, mas não preditivo, pois a razão entre o $F_{\text{calculado}}$ e o F_{tabelado} foi de 1,17.

Tabela 4.10. Análise de variância (ANOVA) para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F*
Regressão	665,98	6	110,99	1,17
Resíduo	40,86	3	13,62	
Falta de ajuste	40,86	1	40,86	
Erro puro	0,01	2	0,01	
Total	706,84	9		
<hr/>				
$\%R^2$	94,22			
$F_{\text{tabelado}} =$	6,94			
$F_{\text{calculado}} =$	8,15			

* Teste F = $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$

Por meio da Figura 4.11, verificou-se a boa qualidade de ajuste do modelo aos dados experimentais ($R^2 = 94,49\%$), uma vez que os valores experimentais estão distribuídos próximos a reta de ajuste.

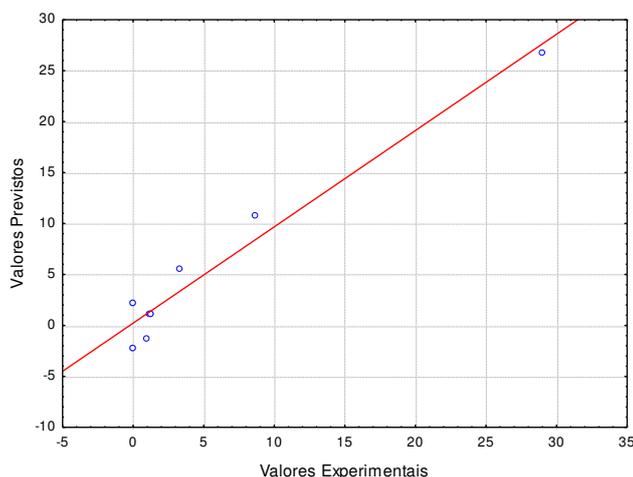


Figura 4.11. Valores previstos pelo modelo em função dos valores experimentais referentes a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Como o modelo obtido para a concentração de glicose é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, a superfície de resposta e a curva de contorno para a concentração de glicose (Figuras 4.12 e 4.13, respectivamente) foram geradas visando avaliar

a influência das variáveis independentes que exibiram maiores efeitos sobre a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico, sendo elas, a temperatura e o tempo de reação.

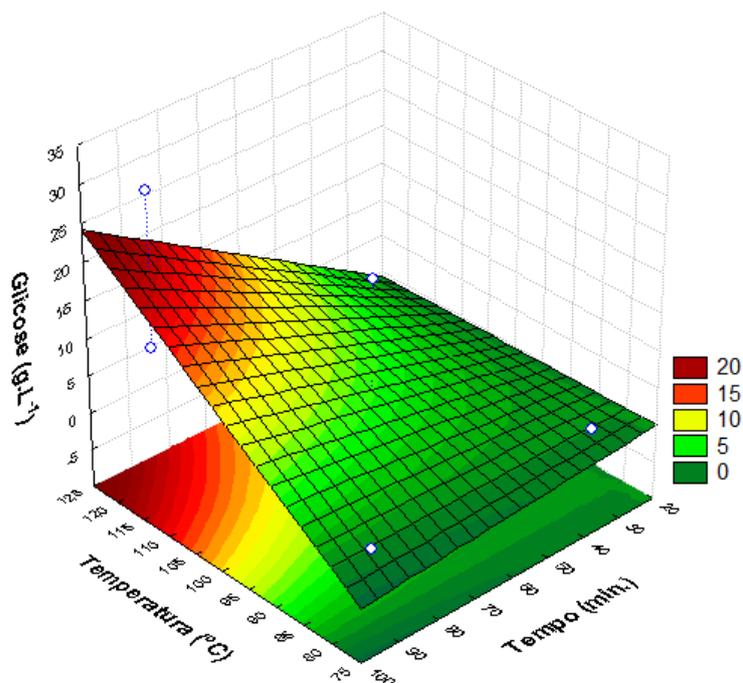


Figura 4.12. Superfície de resposta para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

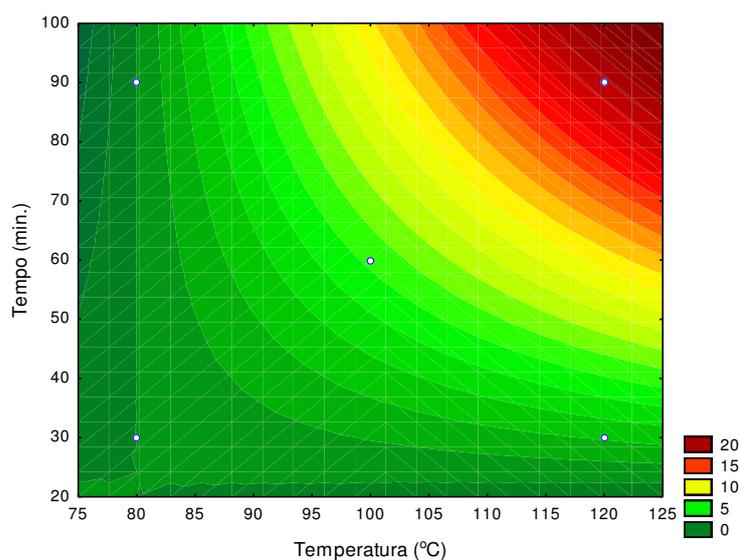


Figura 4.13. Curva de contorno para a concentração de glicose no licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Observando as Figuras 4.12 e 4.13, verifica-se que a região de máxima concentração de glicose foi alcançada quando o tratamento hidrolítico com ácido fosfórico foi realizado sob os níveis mais elevados (+) de temperatura e tempo de reação (120 °C e 90 min., respectivamente) definidos para a matriz de planejamento (Tabela 4.3).

Comparando ao tratamento com ácido sulfúrico, comportamento semelhante foi percebido para a variável temperatura, uma vez que essa variável independente apresentou maior influência sobre a concentração de glicose para os dois tratamentos hidrolíticos realizados na referida pesquisa. Quanto a influência da variável tempo de reação, maior efeito sobre a concentração de glicose foi observado para o tratamento com ácido fosfórico ($p \leq 0,05$) quando comparado ao tratamento com ácido sulfúrico ($p > 0,05$).

Apesar de não ter sido gerada uma superfície de resposta em função da variável concentração do ácido, a mesma apresentou efeito bastante significativo sobre a concentração de glicose, indicando, portanto, que maiores concentrações para o ácido fosfórico provocariam o aumento da concentração de glicose no licor hidrolisado. No entanto, concentrações mais elevadas de ácido, possivelmente, refletiriam na inviabilidade do processo, posto que, segundo Yu et al. (2008), uma maior quantidade de ácido requerida para o processo causaria problemas ambientais, corrosão dos equipamentos e elevado custo na recuperação do ácido consumido. Além da possibilidade de haver maior formação de inibidores.

4.5.2. Análise estatística para a concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido fosfórico

As análises estatísticas realizadas no presente estudo foram executadas visando avaliar a influência das variáveis independentes (temperatura, tempo de reação e concentração do ácido) e de suas interações (temperatura/tempo de reação, temperatura/concentração do ácido e tempo de reação/concentração do ácido) sobre as variáveis dependentes (concentração de glicose e concentração de hidroximetilfurfural). Portanto, em virtude dos tratamentos hidrolíticos com ácido fosfórico não terem gerado concentrações detectáveis de hidroximetilfurfural (HMF), com exceção apenas para o ensaio 8 (0,08 g.L⁻¹), tornou-se inviável realizar uma análise estatística para a referida variável dependente.

4.6. Considerações gerais dos planejamentos experimentais

Os planejamentos experimentais realizados no presente estudo foram executados visando à otimização dos processos hidrolíticos conduzidos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, ou seja, objetivando determinar em que ensaio, dentre os onze ensaios realizados para cada processo de hidrólise, as condições de temperatura, tempo de reação e concentração do ácido possibilitariam um licor hidrolisado contendo uma concentração de hidroximetilfurfural (HMF) que não inibisse o processo fermentativo, concomitantemente, com uma elevada concentração de glicose, favorecendo, portanto, o processo de fermentação, e subseqüente obtenção de etanol a partir do amido de sementes de jaca.

Para os dois processos de hidrólise do amido, o ensaio 8 (Tabelas 4.3 e 4.8) foi escolhido como o ponto ótimo, uma vez que, a 120 °C, concentração do ácido a 5% e após 90 min. de reação obteve-se maiores concentrações de glicose nos licores hidrolisados, 32,98 e 31,23 g.L⁻¹ para os tratamentos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente. Além disso, nessas mesmas condições de operação, a concentração de hidroximetilfurfural nos licores hidrolisados foram de 0,53 e 0,08 g.L⁻¹ para os tratamentos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente. De acordo com Taherzadeh (2000), os compostos formados pela degradação de hexoses e pentoses, hidroximetilfurfural e furfural, respectivamente, inibem a levedura quando encontram-se em concentrações próximas de 4 g.L⁻¹.

Em virtude da maior concentração de glicose no licor hidrolisado, o processo de hidrólise do amido conduzido com o ácido sulfúrico apresentou maior eficiência de hidrólise (70,13%) quando comparada a eficiência alcançada pelo processo utilizando ácido fosfórico (66,41%). Esse fato pode ser justificado pelo elevado poder ionizante do ácido sulfúrico (pKa = 1,92) frente ao ácido fosfórico (pKa = 2,14). Segundo Previdello et al. (2006), a constante de dissociação, pKa, é uma grandeza que permite saber a força de um ácido, quanto menor o pKa, maior ionização e mais forte é o ácido. De acordo com Cereda (2002), quando se usa ácido, a hidrólise é tanto mais eficiente e rápida quanto maior o poder ionizante do ácido.

No entanto, mesmo apresentando menor eficiência de hidrólise, o tratamento hidrolítico com ácido fosfórico apresenta vantagem sobre o tratamento com ácido sulfúrico no que diz respeito aos sais formados. Para Grzybowski (2008), o uso de ácidos mais brandos, como o fosfórico ou o cítrico, tem a vantagem de não necessitar a remoção dos sais formados após hidrólise, pois esses sais podem atuar como nutrientes para fins fermentativos.

Gaewchingduang e Pengthemkeerati (2010) hidrolisaram o bagaço de mandioca utilizando os ácidos sulfúrico e fosfórico em diferentes condições de operação: concentração do ácido (0,05 a 0,5 mol.L⁻¹), temperatura (115 a 130 °C) e tempo de reação (15 a 90 min.). Maiores concentrações de açúcares redutores (800 e 570 mg.g⁻¹ para os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente) foram alcançadas quando os tratamentos hidrolíticos foram conduzidos a 130 °C, concentração do ácido a 0,1 mol.L⁻¹ e 90 min. de reação. Portanto, os autores verificaram que o tratamento com ácido sulfúrico apresentou maior eficiência de hidrólise quando comparado ao tratamento com ácido fosfórico.

Oliveira (2011), operando em condições semelhantes às utilizadas na presente pesquisa (123° C, 90 min. e pH de 1,5), hidrolisou o amido presente no farelo de mandioca empregando, como catalisadores, os ácidos sulfúrico e fosfórico, e encontrou valores inferiores para as eficiências de hidrólises. No entanto, também constatou maior eficiência de hidrólise para o tratamento com o ácido sulfúrico (50,05%) do que para o tratamento com o ácido fosfórico (36,87%). O tratamento com ácido fosfórico não gerou concentrações detectáveis de hidroximetilfurfural no hidrolisado, enquanto no tratamento com ácido sulfúrico, o hidrolisado apresentou 0,02 g.L⁻¹ de HMF.

Zuniga et al. (2013) hidrolisaram o amido presente na farinha do mesocarpo do coco babaçu utilizando três tipos de ácidos (sulfúrico, clorídrico e fosfórico) em diferentes concentrações (1, 3, 5, 7 e 9%). Após análise estatística, os autores verificaram que a concentração dos ácidos teve efeito significativo sobre o percentual de açúcares redutores formados, tendo o tratamento hidrolítico com ácido sulfúrico a 9% revelado maior eficiência de hidrólise (67,2%).

4.7. Avaliação morfológica dos grânulos de amido nativo e hidrolisado

A microestrutura do amido extraído de sementes de jaca, nativo e hidrolisado nas condições otimizadas de operação, foi avaliada a fim de detectar as mudanças morfológicas ocasionadas pelos tratamentos ácidos realizados. Na Figura 4.14 encontram-se as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido nativo extraído de sementes de jaca.

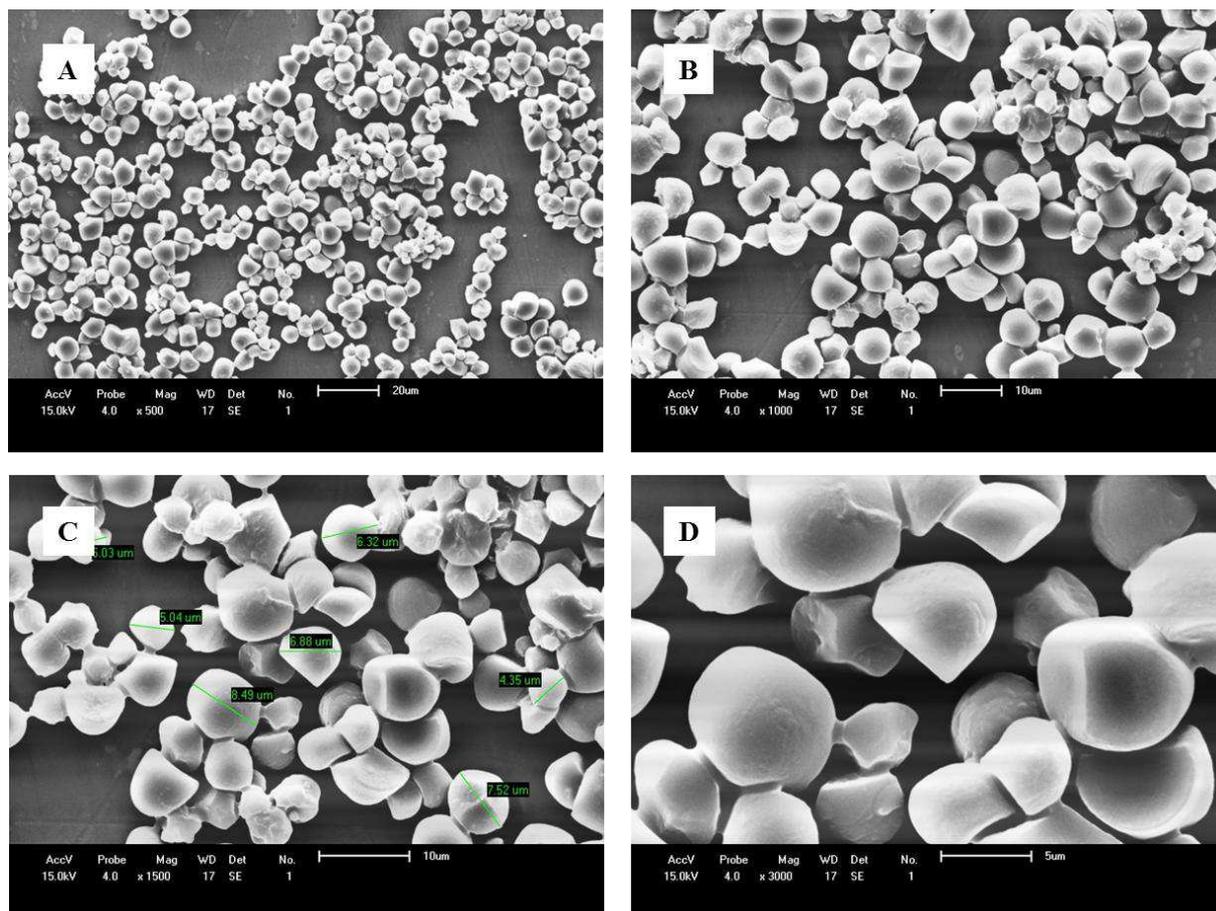


Figura 4.14. Micrografias dos grânulos de amido nativo extraído de sementes de jaca em diferentes ampliações: (A) 500x; (B) 1000x; (C) 1500x e (D) 3000x.

As micrografias dos grânulos de amido nativo evidenciaram a formação de uma matriz coesa, com formas geométricas, predominantemente, elipsoides e hemisféricas, assemelhando-se ao formato de cúpulas. A superfície dos grânulos mostrou-se lisa, sem apresentar fissuras ou porosidade. Quanto ao tamanho dos grânulos, o amido em estudo apresentou diâmetros variados, na faixa de 4 a 9 μm . Segundo Leonel e Cereda (2002), essa variação pode estar relacionada à organização histológica da planta, que apresenta diferenças no tipo e distribuição dos câmbios vasculares. Entretanto, o ponto de maturação das frutas, também é um aspecto a ser considerado como influenciador na heterogeneidade do tamanho dos grânulos do amido. De acordo com Franco et al. (2001), o tamanho e a forma dos grânulos de amido variam conforme a espécie botânica, enquanto que a distribuição de tamanho varia com o estágio de desenvolvimento da planta.

Albuquerque (2011) analisando as microestruturas dos grânulos do amido de sementes de jaca de duas variedades, dura e mole, por microscopia eletrônica de varredura, observou

que, grânulos com diâmetros maiores são característicos da variedade mole, enquanto os menores são peculiares da variedade dura.

Os aspectos morfológicos, formatos e tamanhos, encontrados para os grânulos do amido de sementes de jaca foram característicos desta fonte botânica, visto que os resultados deste trabalho corroboraram com os apresentados por Albuquerque (2011), Dutta et al. (2011), Kittipongpatana e Kittipongpatana (2011), Madrigal-Aldana et al. (2011), Barbosa (2013) e Santos et al. (2013), os quais também analisaram microscopicamente a estrutura do amido de sementes de jaca.

Comparando com amidos de outras espécies botânicas, as formas geométricas dos grânulos do amido de sementes de jaca apresentaram similaridade com os formatos dos grânulos do amido de pinhão, semente da árvore *Araucaria angustifolia*, exibidos por Muccillo (2009) e Spada (2011). Com relação aos tamanhos dos grânulos, os diâmetros encontrados para o amido de sementes de jaca mostraram-se menores que os obtidos para o amido de banana verde (*Musa cavendish*), variedade nanica, citado por Izidoro (2011), sendo de 26,62 μm ; amido da semente de manga (*Mangifera indicans* L.), variedade Tommy Atkins, reportado por Mendes (2011), encontrando-se na faixa de 10,92 a 16,41 μm e amido da semente de abacate (*Persea americana* Mill), referenciado por Silva et al. (2013), situando-se na faixa de 26 a 36,85 μm . Resultados semelhantes foram indicados por Sanabria (2010) e Pontes (2012) para amido de raízes de maca (*Lepidium meyenii* Walp) e amido de arroz (*Oryza sativa*), que encontraram tamanhos nas faixas de 5,3 a 9,3 μm e 2 a 11 μm , respectivamente.

Na Figura 4.15 encontram-se as micrografias referentes aos grânulos de amido de sementes de jaca hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico nas condições otimizadas de operação.

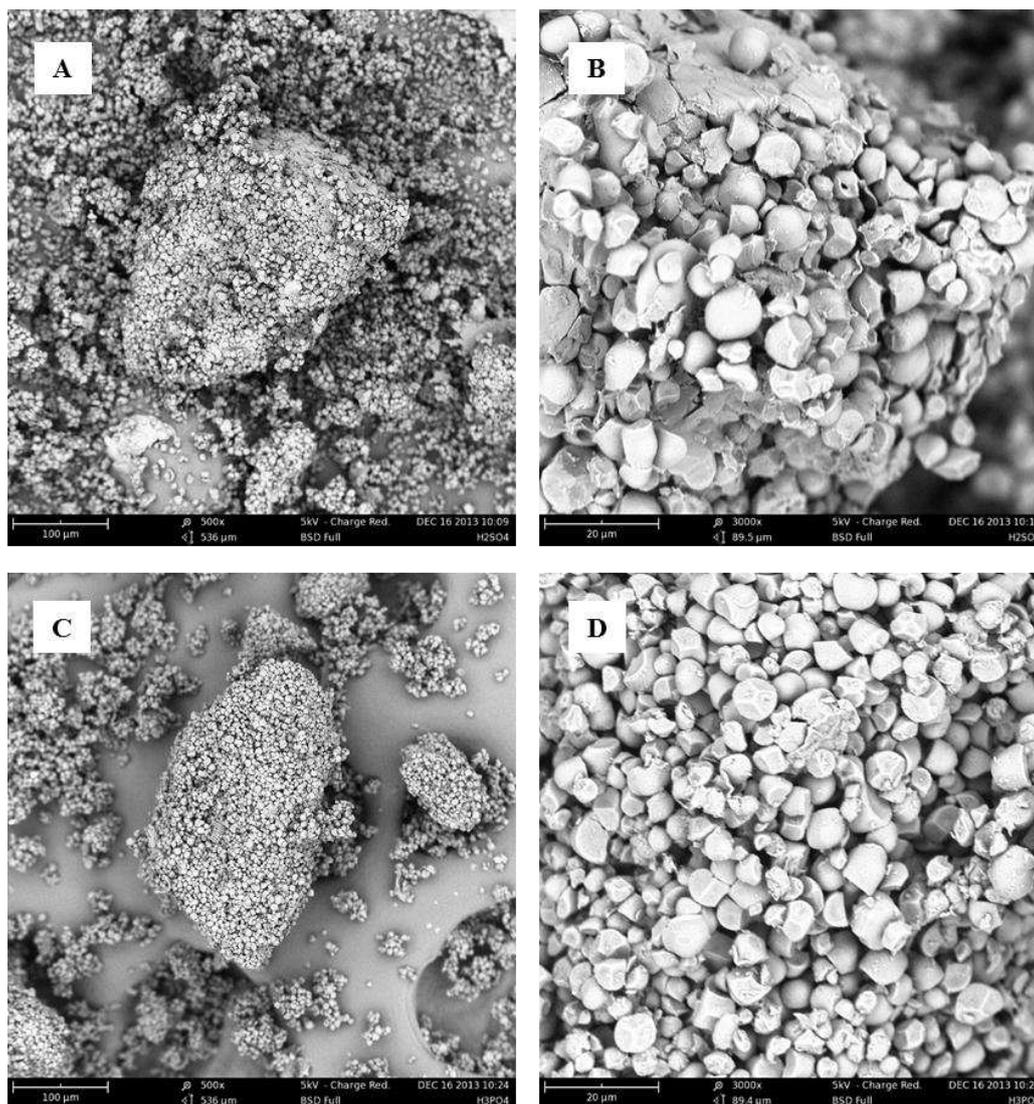


Figura 4.15. Micrografias dos grânulos de amido de sementes de jaca após hidrólise: (A) com ácido sulfúrico (500x); (B) com ácido sulfúrico (3000x); (C) com ácido fosfórico (500x); (D) com ácido fosfórico (3000x).

Comparando à microestrutura dos grânulos de amido nativo (Figura 4.14), os grânulos de amido hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico (Figura 4.15) revelaram-se com diferentes graus de modificação, estando alguns parcialmente degradados, enquanto outros, totalmente degradados, inferindo, portanto, na perda, parcial ou total, da morfologia característica desta espécie botânica.

Contrapondo as micrografias dos grânulos de amido hidrolisado, observa-se que, aqueles oriundos do tratamento com ácido sulfúrico (Figuras 4.15A e 4.15B) apresentaram maior rompimento estrutural em relação aos provenientes do tratamento com ácido fosfórico

(Figuras 4.15C e 4.15D). Esse fato, como já comentado, pode ser justificado pelo elevado poder ionizante do ácido sulfúrico frente ao ácido fosfórico.

Analisando-se as Figuras 4.15A e 4.15C, percebe-se uma massa amorfa ao redor dos aglomerados de grânulos de amido. Este comportamento, possivelmente, está relacionado a gelatinização parcial dos grânulos, que corresponde, segundo Hernández-Medina et al. (2008), a destruição gradual e irreversível da estrutura dos grânulos de amido. De acordo com Hansen et al. (2008), ao atingir-se o estado de gelatinização, a molécula de amido torna-se mais acessível ao ataque do ácido, possibilitando uma reação mais eficiente. Para Surmely et al. (2003), a gelatinização do amido é o primeiro passo para o processo de hidrólise.

Para os dois tratamentos ácidos, os grânulos de amido mostraram-se agrupados, sendo observados poucos grânulos dispostos de forma isolada. Essa aglomeração, provavelmente, ocorreu devido ao processo de retrogradação do amido. Conforme Parker e Ring (2001), após a gelatinização do amido, quando a temperatura é reduzida à temperatura ambiente, algumas moléculas do amido começam a associar-se formando precipitados, o que caracteriza o processo de retrogradação.

4.8. Avaliação da fermentabilidade dos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico

A fim de avaliar a fermentabilidade dos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, os quais foram reproduzidos nas condições otimizadas de operação (item 4.6), ensaios de fermentação foram realizados utilizando, como agente fermentador, a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y904.

4.8.1. Cinética de fermentação para produção de etanol

Através das Figuras 4.16 e 4.17 pode-se observar os perfis cinéticos da produção de etanol e consumo de glicose (substrato limitante) em função do tempo referentes aos ensaios fermentativos utilizando os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, os quais tiveram concentrações iniciais de glicose de 30,41 e 28,98 g.L⁻¹, respectivamente.

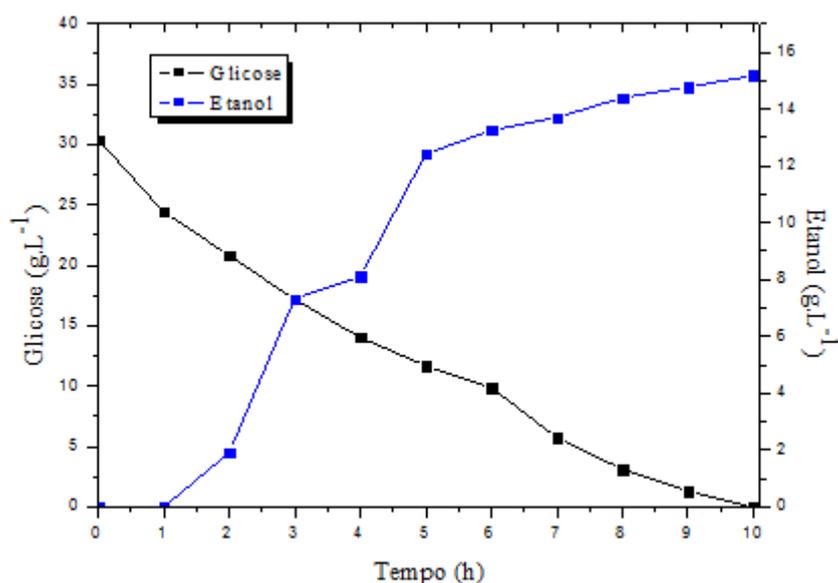


Figura 4.16. Perfil cinético da produção de etanol e consumo de glicose em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado por ácido sulfúrico.

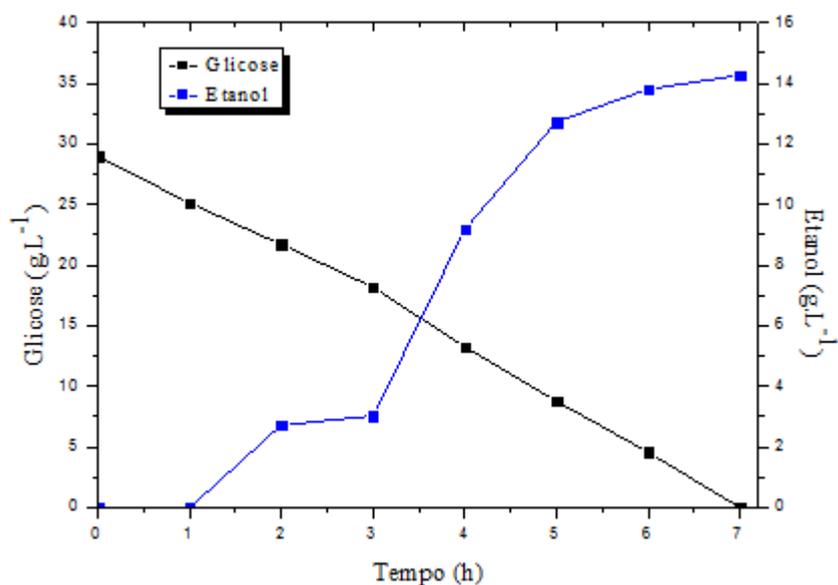


Figura 4.17. Perfil cinético da produção de etanol e consumo de glicose em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado por ácido fosfórico.

Comparando os ensaios fermentativos realizados, percebe-se que, inicialmente, ambos apresentaram comportamentos semelhantes, havendo produção de etanol em duas horas de fermentação. No entanto, a completa conversão de glicose foi alcançada em 7 horas para o ensaio com o licor hidrolisado por ácido fosfórico. Já para o ensaio utilizando o licor

hidrolisado por ácido sulfúrico, a glicose foi integralmente consumida em 10 horas. Esse fato, possivelmente, ocorreu em virtude da maior concentração de hidroximetilfurfural no licor hidrolisado por ácido sulfúrico ($0,49 \text{ g.L}^{-1}$) quando comparada a concentração encontrada no licor hidrolisado por ácido fosfórico ($0,06 \text{ g.L}^{-1}$). A concentração de HMF no licor hidrolisado por ácido sulfúrico, mesmo sendo inferior a estabelecida como tóxica ao microrganismo, pode ter retardado o processo fermentativo. Como já comentado, segundo Taherzadeh (2000), o hidroximetilfurfural inibe a levedura quando encontra-se em concentrações próximas de 4 g.L^{-1} . Entretanto, Larsson et al. (1999) e Felipe et al. (1995) afirmam que mesmo em concentrações baixas de inibidores, é recomendado a detoxificação do licor antes do processo fermentativo, pois há efeitos sinérgicos dos inibidores podendo dificultar a fermentação alcoólica.

Apesar do maior tempo requerido para o ensaio fermentativo utilizando o licor hidrolisado por ácido sulfúrico, tornou-se evidente que a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y904 foi capaz de metabolizar, completamente, o conteúdo de glicose presente nos licores hidrolisados em estudo. Além dos tratamentos hidrolíticos com os ácidos sulfúrico e fosfórico não terem gerado concentrações de HMF consideradas tóxicas ao microrganismo, tal acontecimento pode ser justificado pela concentração da suspensão de amido em solução ácida utilizada nos ensaios hidrolíticos (50 g.L^{-1}) que, mesmo atingindo 100% da eficiência de hidrólise, acarretaria em $47,02 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose, valor este, inferior aos utilizados nos processos fermentativos em escala industrial. De acordo com Gibson et al. (2007), altas concentrações de sólidos dissolvidos no mosto acarretam em fermentações incompletas, uma vez que as células tornam-se vulneráveis a vários mecanismos de estresse, dentre eles, o aumento da pressão osmótica externa e elevadas concentrações de etanol, os quais podem afetar o desempenho da levedura. Segundo Ribeiro (2010), valores entre 350 a 500 g.L^{-1} de açúcares redutores totais (ART) tornam o crescimento celular impossível devido à desidratação ocasionada pelo estresse osmótico.

Urbano (2012) avaliou a fermentabilidade de hidrolisados de amido da mandioca em diferentes concentrações de glicose ($180, 220$ e 260 g.L^{-1}), em tratamentos com e sem aeração, utilizando duas linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Y904 e Y670). Para os ensaios fermentativos, em aerobiose e anaerobiose, com hidrolisados apresentando 180 e 220 g.L^{-1} de glicose, as duas cepas, Y904 e Y670, foram capazes de metabolizar todo o conteúdo de substrato (glicose). No entanto, para os ensaios com os hidrolisados apresentando maior concentração de glicose (260 g.L^{-1}), foi percebido que o conteúdo de

glicose não foi completamente consumido. Os ensaios conduzidos com a cepa Y904 apresentaram concentrações residuais de glicose de 28,40 g.L⁻¹ e 48,60 g.L⁻¹, para os tratamentos em aerobiose e anaerobiose, respectivamente. De forma semelhante, os ensaios realizados com a cepa Y670 revelaram concentrações residuais de glicose de 31,50 g.L⁻¹ e 24,60 g.L⁻¹, para os tratamentos em aerobiose e anaerobiose, respectivamente.

Outro fator que deve ter colaborado para que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 tenha sido capaz de metabolizar todo o conteúdo de substrato limitante (glicose) presente nos licores hidrolisados, foi o elevado potencial fermentativo apresentado pela linhagem supracitada. Steckelberg et al. (2006) isolaram e caracterizaram diferentes linhagens de levedura do gênero *Saccharomyces* oriundas de dornas de fermentação de 19 unidades produtoras brasileiras de etanol. Embora com variações previsíveis, todas as leveduras apresentaram características fermentativas adequadas ao processo industrial, tendo a linhagem Y904 revelado o maior valor encontrado para o nível de conversão de substrato (99,64%).

4.8.2. Determinação dos parâmetros fermentativos

A partir da concentração inicial de glicose (S_i), concentrações finais de glicose (S_f) e etanol (P_f) e do tempo final de fermentação (t_f), os parâmetros fermentativos foram calculados para os ensaios de fermentação conduzidos com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico através das equações exibidas no item 3.9.4., e os resultados encontram-se na Tabela 4.11.

Tabela 4.11. Resultados obtidos para os parâmetros fermentativos referentes aos ensaios de fermentação conduzidos com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico.

Parâmetros	Licores hidrolisados	
	H ₂ SO ₄	H ₃ PO ₄
$Y_{P/S}$	0,50	0,49
Q_P (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	1,52	2,04
η (%)	97,85	95,89
Y_{S/S_0} (%)	100	100

O fator de conversão de glicose em etanol obtido ($Y_{P/S}$) para o ensaio fermentativo realizado com o licor hidrolisado por ácido sulfúrico foi de 0,50, que corresponde a 97,85% de eficiência de fermentação (Π). Esses valores mostraram-se semelhantes, porém, pouco superiores aos determinados para o ensaio fermentativo conduzido com o licor hidrolisado por ácido fosfórico, que foram de 0,49 e 95,89% para o fator de conversão de glicose em etanol e eficiência de fermentação, respectivamente.

Como o fator de conversão $Y_{P/S}$ relaciona a quantidade de etanol produzido a partir da quantidade de glicose consumida, os resultados encontrados foram coerentes, uma vez que o licor hidrolisado por ácido sulfúrico apresentou maior concentração de glicose (30,41 g.L⁻¹) em relação ao licor hidrolisado por ácido fosfórico (28,98 g.L⁻¹) e, em virtude da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 ter sido capaz de metabolizar, de forma semelhante (0,50 e 0,49 g de etanol/ g de glicose para as fermentações com os hidrolisados por ácido sulfúrico e fosfórico, respectivamente) todo o conteúdo de glicose (substrato limitante) presente nos licores hidrolisados supracitados ($Y_{S/S0} = 100\%$), teve-se como consequência, uma maior concentração de etanol para a fermentação com o hidrolisado por ácido sulfúrico (15,18 g.L⁻¹) quando comparada a concentração de etanol para a fermentação conduzida com o licor hidrolisado por ácido fosfórico (14,27 g.L⁻¹).

Tomando como referência os valores alcançados na indústria, os resultados obtidos na presente pesquisa para a eficiência de fermentação mostraram-se promissores. Segundo Ingledew (1999), na indústria, a faixa de eficiência de fermentação atinge de 90 a 93% do valor teórico de conversão de glicose a etanol. De acordo com Ribeiro (2010), o rendimento teórico de etanol por grama de glicose consumida ($Y_{P/S}$) é 0,511, sendo este valor considerado 100% quando o substrato for glicose. Como na condição de fermentação industrial brasileira, a eficiência alcançada é em média 91%, isto corresponde a 0,465 gramas de etanol por grama de glicose consumida.

Quanto a produtividade volumétrica em etanol (Q_P), parâmetro fermentativo que expressa a concentração de etanol produzido por tempo de fermentação, resultado superior foi encontrado para o ensaio fermentativo com o licor hidrolisado por ácido fosfórico (2,04 g.L⁻¹.h⁻¹). Esse fato ocorreu em virtude do referido ensaio ter exigido menor tempo (7 h) para alcançar a maior concentração de etanol (14,27 g.L⁻¹) quando comparado ao ensaio com o licor hidrolisado por ácido sulfúrico, que necessitou de 10 h de fermentação para atingir a maior concentração de etanol (15,18 g.L⁻¹), revelando uma produtividade volumétrica de 1,52 g.L⁻¹.h⁻¹.

Melo et al. (2008), com vistas a produção de etanol, hidrolisaram o amido presente no resíduo oriundo da extração do óleo de sementes de mamona para a indústria de biodiesel utilizando uma solução de ácido sulfúrico ($0,25 \text{ mol.L}^{-1}$). Após hidrólise, a fração solúvel foi usada como mosto, tendo como agente fermentador a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (10 g.L^{-1}). A análise cromatográfica do hidrolisado revelou a presença de 27 g.L^{-1} de açúcares redutores e $0,51 \text{ g.L}^{-1}$ de hidroximetilfurfural. O HMF não interferiu na fermentação, tendo sido observada a completa conversão dos açúcares redutores após 8 h. Os parâmetros fermentativos determinados pelos autores foram inferiores aos encontrados no presente estudo. A concentração de etanol atingida após 8 h de fermentação foi de 11 g.L^{-1} , o que equivale a uma produtividade volumétrica de $1,38 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e um rendimento em etanol por substrato consumido ($Y_{P/S}$) de 0,41, que corresponde a 80,2% de eficiência fermentativa.

Tasic et al. (2009) hidrolisaram o amido da batata doce utilizando os ácidos clorídrico e sulfúrico em diferentes concentrações (0,5 a 2 mol.L^{-1}). Devido ter apresentado maior concentração de glicose (94 g.L^{-1}) e menor concentração de HMF ($0,04 \text{ g.L}^{-1}$), o licor hidrolisado pelo ácido clorídrico na concentração de 1 mol.L^{-1} foi submetido a ensaios de fermentação, empregando a levedura comercial Alltech-Fermin AD (gênero *Saccharomyces cerevisiae*) como agente fermentador. Resultados inferiores aos obtidos na presente pesquisa foram alcançados pelos autores. A concentração de etanol após 18 h de fermentação foi de $31,2 \text{ g.L}^{-1}$, o que corresponde a um fator de conversão de glicose em etanol ($Y_{P/S}$) de 0,33 e uma eficiência de fermentação de 65%.

Oliveira (2011) avaliou a produção de etanol a partir do amido presente no farelo de mandioca. O material amiláceo foi submetido a tratamentos hidrolíticos utilizando, como catalisadores, os ácidos sulfúrico e fosfórico. Por ter obtido maior concentração de açúcares redutores, o hidrolisado por ácido sulfúrico foi submetido à fermentação durante 12 horas, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* M-26. Comparando-se aos resultados observados na presente pesquisa, o autor encontrou valor similar para a quantidade de etanol formado por unidade de substrato consumido (0,50), e resultado inferior para a produtividade volumétrica em etanol ($0,9 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

4.9. Balanço Material: Potencial de sementes de jaca para a produção de etanol

A partir dos resultados obtidos em todas as etapas realizadas durante a presente pesquisa, os quais encontram-se expostos na Tabela 4.12, tornou-se possível efetuar um balanço material visando a avaliação do potencial de sementes de jaca para a produção de etanol.

Tabela 4.12. Resultados necessários ao cálculo do balanço de massa visando a avaliação do potencial de sementes de jaca para a produção de etanol.

Parâmetros	Valores	
Massa inicial de sementes de jaca (ton)	1	
Rendimento de extração do amido (%)	8,17	
Teor de amido (%)	85,5	
Densidade do etanol (g/cm ³)	0,789	
Catalisadores	H ₂ SO ₄	H ₃ PO ₄
Eficiência de hidrólise (%)	70,13	66,41
Eficiência de fermentação (%)	97,85	95,89
Etanol (L)	31,04	29,40

Com base nos cálculos realizados para o balanço de massa do processo global, observa-se que, partindo de 1 ton de sementes de jaca é possível obter 31,04 L de etanol a partir do licor hidrolisado por ácido sulfúrico e 29,40 L de etanol a partir do licor hidrolisado por ácido fosfórico. Esses valores, no entanto, mostram-se inferiores quando comparados ao rendimento em etanol obtido a partir da cana-de-açúcar. Segundo Andreoli e Souza (2007), 1 ton de cana-de-açúcar produz 88 L de etanol.

Não há dúvidas que a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar trata-se de um complexo produtivo impressionante, porém com a matriz energética centrada apenas em uma cultura. Portanto, faz-se necessária a busca por outras fontes de matérias-primas para produção de etanol, visando à sustentabilidade e à consolidação do conceito de energia renovável. O Brasil, além de concentrar grande número de pequenos, médios e grandes produtores, apresenta uma diversidade de condições ambientais que permitem, ao explorar o

potencial de matérias-primas renováveis e com aptidão regional, promover a descentralização da produção de etanol.

Em síntese, com base nos resultados apresentados e discutidos, pode-se dizer que é possível, a partir dos procedimentos metodológicos realizados na presente pesquisa, produzir etanol utilizando sementes de jaca como matéria-prima amilácea. O método utilizado para a extração e purificação do amido mostrou-se eficiente quanto ao rendimento de extração e pureza do amido. As condições otimizadas de operação definidas para os tratamentos hidrolíticos conduzidos com os ácidos sulfúrico e fosfórico foram capazes de romper as cadeias poliméricas do amido, revelando altas concentrações de glicose e baixas concentrações de hidroximetilfurfural (HMF). Nas condições estabelecidas para os ensaios fermentativos, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 conseguiu metabolizar, praticamente, todo o conteúdo de substrato limitante (glicose) presente nos licores hidrolisados em etanol, atingindo elevadas eficiências de fermentação. No entanto, visando à produção de etanol em escala produtiva, melhorias devem ser alcançadas no tocante a eficiência de hidrólise, tendo como consequência, maior rendimento final em etanol.

Contribuindo para o desenvolvimento energético sustentável, as sementes de jaca, lançadas ao meio ambiente sem qualquer valor agregado, acenam como uma alternativa promissora para a produção de combustíveis de reduzido impacto ambiental.

5. CONCLUSÕES

Partindo-se dos objetivos pretendidos e dos resultados alcançados, pode-se concluir que:

- O material amiláceo obtido a partir das sementes de jaca apresentou elevado teor de amido (85,5%), indicando, portanto, que as mesmas demonstram potencial para serem utilizadas como matéria-prima para a produção de etanol.
- A metodologia utilizada para a extração e purificação do amido mostrou-se eficiente quanto ao rendimento de extração (8,14%) e pureza do amido, uma vez que as análises físico-químicas revelaram baixas frações dos constituintes cinzas (0,14%), proteínas (2,58%) e lipídios (0,35%), os quais são considerados impurezas do amido.
- Maiores concentrações de glicose nos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico (32,98 g.L⁻¹) e fosfórico (31,23 g.L⁻¹) foram encontradas para os tratamentos hidrolíticos conduzidos nas condições de operação mais severas definidas para o planejamento experimental utilizado, sendo elas: temperatura de 120 °C, concentração do ácido de 5% e tempo de reação de 90 min. Nessas mesmas condições de operação, as concentrações de hidroximetilfurfural (HMF) nos licores hidrolisados (0,53 e 0,08 g.L⁻¹ para os tratamentos com os ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente) mostraram-se abaixo das concentrações consideradas tóxicas ao microrganismo.
- O tratamento hidrolítico conduzido com o ácido sulfúrico apresentou maior eficiência de hidrólise (70,13%) quando comparada a eficiência alcançada pelo tratamento empregando o ácido fosfórico como catalisador (66,41%). Entretanto, o tratamento com o ácido fosfórico apresenta vantagem em relação ao tratamento 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.
- Dentre as variáveis independentes definidas para o planejamento experimental executado, a temperatura foi a que apresentou maior efeito significativo, ou seja, maior

influência sobre os resultados obtidos para as concentrações de glicose e HMF em todos os tratamentos ácidos realizados.

- As análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciaram os aspectos morfológicos, formatos e tamanhos, característicos do amido de sementes de jaca, bem como suas modificações estruturais causadas pela ação dos ácidos durante os tratamentos hidrolíticos.
- Quanto aos ensaios fermentativos, as condições de temperatura (32 °C), pH do mosto (4,5), agitação (160 rpm) e concentrações de levedura (12 g.L⁻¹) e do composto nutricional Nitrofós (0,6 g.L⁻¹) foram satisfatórias, visto que, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 foi capaz de metabolizar todo o conteúdo de substrato limitante (glicose) presente nos licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico em 10 e 7 h de fermentação, respectivamente, obtendo-se valores excelentes para o fator de conversão de glicose em etanol ($Y_{P/S}$), sendo de 0,50 e 0,49, os quais correspondem a 97,85 e 95,89% para a eficiência de fermentação (Π) referente aos ensaios conduzidos com os licores hidrolisados pelos ácidos sulfúrico e fosfórico, respectivamente.
- Com base no balanço de massa realizado para o processo global foi observado que, partindo-se de 1 ton de sementes de jaca pode-se produzir 31,04 L de etanol a partir do licor hidrolisado por ácido sulfúrico e 29,40 L de etanol a partir do licor hidrolisado por ácido fosfórico.

5.1. Sugestões para trabalhos futuros

- Agregar valor ao processo de extração do amido, aproveitando o resíduo (bagaço) oriundo da extração como ração animal ou como matéria-prima celulósica para a produção de etanol, a depender de caracterizações físico-químicas realizadas no resíduo.

- Expandir a matriz de planejamento executada para os tratamentos hidrolíticos a partir das condições otimizadas de operação definidas na presente pesquisa, objetivando alcançar maiores eficiências de hidrólise.

- Submeter o amido da semente de jaca a hidrólise enzimática, visando comparar a eficiência na obtenção de açúcares redutores e os custos de operação com os tratamentos ácidos realizados.

- Avaliar o perfil cinético referente ao crescimento das células de levedura.

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

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, R. C. R.; RODRIGUES, P. J. F. P. Exotic tree *Artocarpus heterophyllus* (Moraceae) invades the Brazilian Atlantic Rainforest. **Rodriguésia**, v. 61, n. 4, p. 677-688, 2010.

ABEDIN, M. S.; NURUDDIN, M. M.; AHMED, K. U.; HOSSAIN, A. Nutritive compositions of locally available jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*) in Bangladesh. **International Journal of Biosciences**, v. 2, p. 1-7, 2012.

ABUD, A. K. S. de; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 257-265, 2009.

AKPINAR, O.; LEVENT, O.; BOSTANCI, S.; BAKIR, U.; YILMAZ, L. The optimization of dilute acid hydrolysis of cotton stalk in xylose production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v. 163, p. 313-325, 2011.

ALBUQUERQUE, F. S. M. de. **Estudo das características estruturais e das propriedades funcionais do amido de semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) variedades “mole” e “dura”**. 2011, 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

ALCOOLBRÁS. Busca pela vanguarda. **Revista Alcoolbrás**. n. 101, 2006. Disponível em: www.revistaalcoolbras.com.br/edicoes/ed_101/ed_101.html. Acesso em: 14 dez. 2013.

ALVES, F. V. **Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar**. 2012. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

AMANTE, E. R. **Caracterização de amidos de variedades de mandioca (*Maninot esculenta*, Crantz) e de batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. 1986. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

AMARAL, J. E.; KLEIN, B.; SOUZA, J. M. L.; ZANELLA, V. P.; DIAS, A. R. G. Caracterização do amido de araruta (*Maranta arundinacea*) quanto as propriedades de pastas. In: XX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 3, Mostra Científica, **Anais...** Pelotas, 2011.

AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; OLIVEIRA, J. V. D.; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 91, p. 1267-1275, 2011.

ANDREOLI, C.; SOUZA, S. P. de. Cana-de-açúcar: a melhor alternativa para conversão da energia solar e fóssil em etanol. **Economia & Energia**. n. 59, p. 27-33, 2007.

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. Bioetanol: Brasil, 30 anos na vanguarda. In: MULTICIÊNCIA: Construindo a História dos Produtos Naturais, 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, p.1-16, 2006.

ANDRIETTA, S. R.; FERREIRA, E.; ANDRIETTA, M. G. S. **Avaliação da influência da velocidade de alimentação sobre o rendimento e produtividade dos processos de produção de etanol operando em batelada alimentada**. 7 p. Campinas. Disponível em: http://www.enq.ufc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_complexos/t043.doc. Acesso em: 23 jun. 2013.

ANEEL. **Atlas de energia elétrica do Brasil**. 2ª ed. Brasília: ANEEL, 2005. 243p. Disponível em <http://www3.aneel.gov.br/atlas/atlas_2edicao/download.htm>. Acesso em: 04 dez. 2013.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/?id=470>. Acesso em 08 de Dezembro de 2013.

ARAÚJO FARRO, P. C. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade “Real”**. 2008. 320f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ASQUIERI, E. R.; RABÊLO, A. M. S.; SILVA, A. G. M. Fermentado de jaca: Estudo das características físico-químicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 28, n. 4, p. 881-887, 2008.

ATALA, D. I. P.; COSTA, A. C.; MACIEL FILHO, R.; MAUGERI FILHO, F. Fermentação alcoólica com alta densidade celular: Modelagem cinética, convalidação de parâmetros e otimização do processo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 13, Foz do Iguaçu-PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: COBEQ, 2000.

BARBOSA, L. S.; LEÃO, F. R.; ASCHERI, D. P. R. *Swartzia burchelli*: Extração e caracterização do amido da semente para elaboração de filmes biodegradáveis. In: IX Seminário de Iniciação Científica, JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 6, **Anais...** Goiás, p. 1-5, 2011.

BARBOSA, M. C. **Efeito da adição de proteína nas propriedades físicas e reológicas dos géis obtidos a partir de amido da semente de jaca (*Artocarpus integrifolia*)**. 2013. 88f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

BARCELOS, C. A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para a produção de bioetanol**. 2012, 334f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BARCZA, M. V. **Processos unitários orgânicos: Hidrólise**. [S.l.]: Escola de Engenharia de Lorena-USP. Disponível em: <http://w.dequi.eel.usp.br/~barcza/Hidrolise.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2013.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, 3 ed., 2007, 480p.

BELLO-PÉREZ, L. A.; MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A. Almidón: definición, estructura y propiedades. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carbohidratos em alimentos regionales iberoamericano**. São Paulo: Edusp, cap. 1, p. 17 – 46, 2006.

BeMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. **Starch: Chemistry and Technology**. Editora: Elsevier Science, 4 ed., 2009, 894p.

BERNARDO, N. O. **Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2ª geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1ª geração)**. 2009, 138f. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. v. 69, p. 60-78, 1991.

BOBBIO, F. O.; EL-DASH, A. A.; BOBBIO, P. A.; RODRIGUES, R. L. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*). **Cereal Chemistry**, v. 55, p. 505-511, 1978.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 3 ed., 238p., 2003.

BORSOLARI, C. D.; RODRIGO, D.; PICCOLO, H. A. de.; PEREIRA, J. S. dos.; FURUKAWA, L. **Extração e caracterização bioquímica do amido da batata**. 2009. 11p. Universidade Federal do ABC, Santo André.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. **Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function**. University of Wisconsin Technical Report, Madison, n. 9, 1973.

BRASIL. Resolução nº12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova as normas técnicas especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA relativas a alimentos (e bebidas). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1978.

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

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 5 ed , v. 2, 904p., 2010.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia (MME). **Análise de conjuntura dos biocombustíveis**. Empresa de Pesquisa Energética - EPE, Brasília-DF, 2013, 49p.

BRINGHENTI, L.; CABELLO, C. Qualidade do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. **Energia na Agricultura**. Botucatu, v. 20, n. 4, p. 36-52, 2005.

BRUCE, P. Y. **Química orgânica**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, v. 2, 4^a ed., 2006, 590p.

CAMILI, E. A.; CABELLO, C. Produção de etanol de manipueira tratada com processo de flotação. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 3, n. 1, 2007.

CAMILI, E. A. **Parâmetros operacionais do processo de produção de etanol a partir de polpa de mandioca**. 2010, 148f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu.

CAMPANA, F. B. **Monitoramento temporal e espacial de contaminações bacterianas na produção de bioetanol: Caracterização molecular por T-RFLP e detecção quantitativa por qPCR de comunidades formadoras de biofilmes**. 2012. 170f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CANILHA, L.; SANTOS, V. T. O.; ROCHA, G. J. M.; SILVA, J. B. A.; GIULIETTI, M.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F.; CARVALHO, W. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 1467-1475, 2011.

CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, O. J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2415-2457, 2007.

CARDOSO, M. A. P.; JASCO, A. P.; DEMIATE, I. M. Obtenção, purificação e caracterização de amidos de milhos de variedades crioulas da safra 2007/2008. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20, Ponta Grossa-PR. **Anais...** Ponta Grossa: EAIC, 2011.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; GÍRIO, F. M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. **Journal of Scientific & Industrial Research**. v. 67, p. 849-864, 2008.

CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação descontínua alimentada. In: SCHMIDELL, W. et al. (Coord.) **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blucher, v. 2, p. 205-222, 2001.

CASADEI, M. E. **Processos fermentativos a partir da cana-de-açúcar**. 2012, 39p. Monografia (Graduação em Tecnologia em Biocombustíveis). Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba.

CAYLAK, B.; SUKAN, V. Comparison of different production processes for bioethanol. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 351-359, 1996.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas São Paulo: Fundação Cargill, v. 1, 2002, 221p.

CGEE – Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil**. Brasília, 2009. 536 p. Disponível em: http://www.cogen.com.br/paper/2010/Livro_Bioetanol_Cana_Acucar_2009.pdf. Acesso em: 21 jan. 2013.

CHAGAS, A. L. S. **Biocombustíveis**. Núcleo de Estudos de Economias de Baixo Carbono. Universidade de São Paulo. Contrato de colaboração financeira não-reembolsável n° 11.2.0488.1, FUNDACE – BNDES, 145p., 2012.

CHENG, N. G.; HASAN, M.; KUMORO, A. C.; LING, C. F.; THAM, M. Production of ethanol by fed-batch fermentation. **Journal of Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 399-408, 2009.

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. 137f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CHONGKHONG, S.; LOLHARAT, B.; CHETPATTANANONDH, P. Optimization of ethanol production from fresh jackfruit seeds using response surface methodology. **Sustainable Energy & Environment**, v. 3, p. 97-101, 2012.

COISIDINE, T.; NOISUWAN, A.; HEMAR, Y.; WILKINSON, B.; BRONLUND, J. KASAPIS, S. Rheological investigations of interactions between starch and milk proteins in model dairy systems: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 2008-2017, 2011.

CORDENUNSI, B. R. Utilização de novas técnicas de microscopia na caracterização do amido. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos em alimentos regionais iberoamericano**. São Paulo: Edusp, cap. 2, p. 49-62, 2006.

CORMA, A.; IBORRA, S.; VELTY, A. Chemical routes for the transformation of biomass into chemicals. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 6, p. 2411-2502, 2007.

COSTA, M. R. **Estudo comparativo das hidrólises ácida e enzimática de matérias primas amiláceas visando a obtenção de etanol**. 2010, 109f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

COUTINHO, P.; BOMTEMPO, J. V. Roadmap tecnológico em matérias-primas renováveis: uma base para a construção de políticas e estratégias no Brasil. **Química Nova**, v. 34, n. 5, 2011.

DAIUTO, E. R.; CEREDA, M. P. **Processos de produção de fécula de mandioca: comparação Tailândia e China**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, 178p., 2004.

DAUDT, R. M. **Estudo das propriedades do amido de pinhão visando a sua utilização como excipiente farmacêutico**. 2012. 125f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2008.

DIAS, L. A. S.; MULLER, M.; FREIRE, E. Potencial do uso de oleaginosas arbóreas em sistemas silvipastoris. In: FERNANDES, E. M.; PACIULLO, D. S. C.; CASTRO, C. R. T., MULLER, M. D.; ARCURI, P. B.; CARNEIRO, J. C. (Org.) **Sistemas agrossilvipastoris na América do Sul: desafios e potencialidades**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.283-314, 2008.

DOHERTY, W. O. S.; MOUSAVIOUN, P.; FELLOWS, C. M. Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 259-276, 2011.

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. 128, p. 284-291, 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Embrapa de produção agroindustrial de sorgo sacarino para bioetanol: Sistema BRS1G**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1 ed., 120p., 2012.

FEITOSA, R. M. **Processamento e armazenamento das amêndoas de jaca**. 2007. 92f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

FELIPE, M. G.; VIEIRA, D. C.; VITOLO, M.; SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; MANCHILHA, I. M. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 171-177, 1995.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood. Chemistry, ultrastructure, reactions**. Walter de Gruyter: Berlin & New York. 613p., 1984.

FERNANDES, A. A. R.; GHELFI, A.; ABBOTT, D.; PADDON, C.; BELISSIMI, E.; BRAVIM, F.; KEALEY, J.; GALAZZO, J.; ZAHN, K.; BENJAMIN, K.; DI CIERO, L.; FERNANDES, P. M. B. **Levedura: do pão a biotecnologia**. 1. ed. Vitória: Editora da Universidade Federal do Espírito Santo - EDUFES, v. 1, 119 p., 2009.

FERREIRA, S. M.; CALIARI, M.; JÚNIOR, M. S. S.; BELEIA, A. D. P. Produção de açúcares redutores por hidrólise ácida e enzimática de farinha de arroz. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p.383-390, 2013.

FONSECA, V. J. A. **Caracterização, seleção e propagação vegetativa de genótipos de jaqueira na região do recôncavo baiano**. 2010, 109f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia.

FRANCISCO JUNIOR, W. E. Carboidratos: estrutura, propriedades e funções. **Química Nova na Escola**, n. 29, p. 8-13, 2008.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas, propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, 2001, 224p.

FREITAS, A. C.; OLIVEIRA, F.; OLIVA NETO, P. Hidrólise do farelo de mandioca por tratamento ácido termopressurizado. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 21, 2009, São José do Rio Preto-SP. **Anais...** São José do Rio Preto: UNESP, 2009.

GAEWCHINGDUANG, S.; PENGTHEMKEERATI, P. Enhancing efficiency for reducing sugar from cassava bagasse by pretreatment. **Engineering and Technology**, v. 4, 2010.

GIBSON, B. R.; LAWRENCE, S. J.; LECLAIRE, J. P. R.; POWELL, C. D.; SMART, K. A. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. **Microbiology Reviews**, v. 31, p. 535-69, 2007.

GÍRIO, F. M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; MARQUES, S.; BOGEL-LUKASIK, R. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource Technology**. v. 101, p. 4775-4800, 2010.

GOMES, E. R. da S. **Espécies exóticas invasoras em unidades de conservação da cidade do Rio de Janeiro – Estudo da população de jaqueiras (*Artocarpus heterophyllus* L.) no Parque Natural Municipal do Mendanha**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

GONÇALVES, R. S.; SILVEIRA, J. R. P.; BATTISTIN, A.; FERMINO, M. H.; BUSNELLO, A. C. Determinação do teor de glicose de diferentes acessos de mandioca a partir da hidrólise ácida das raízes. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 15, n. 1, p. 69-71, 2009.

GRZYBOWSKI, A. **Hidrólise parcial cítrica ou fosfórica de inulina para obtenção de fruto-oligossacarídeos (FOS)**. 2008. 78f. Dissertação (Mestrado em em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

HAMELINCK, C. N.; HOOIJDONK, G. V.; FAALJ, A. P. C. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. **Biomass and Bioenergy**, v. 28, p. 384-410, 2005.

HANSEN, M. R.; BLENNOW, A.; PEDERSEN, S.; NORGAARD, L.; ENGELSEN, S. B. Gel texture and chain structure of amyloamylase-modified starches compared to gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 8, p. 1551-1566, 2008.

HARUN, R.; DANQUAH, M. K.; FORDE, G. M. Microalgal biomass as a cellulosic fermentation feedstock for bioethanol production. **Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, p. 199-203, 2010.

HENRÍQUEZ, C.; ESCOBAR, B.; FIGUEROLA, F.; CHIFFELLE, I.; SPEISKY, H.; ESTEVÉZ, A. M. Characterization of piñon seed (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed. **Food Chemistry**, v. 107, p. 592–601, 2008.

HERNÁNDEZ-MEDINA, M.; TORRUCO-UCO, J. G.; CHEL-GUERRERO, L. BETANCUR-ANCONA, D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados em Yucatán, México. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 718-726, 2008.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. chap. 2, 2nd ed., p. 29 – 64, 1994.

IEL – Instituto Euvaldo Lodi. Núcleo Central. **Álcool combustível** (Série Indústria em Perspectiva). Brasília: IEL/NC, 2008, 163p.

INGLEDEW, W. M. **Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: a yeast primer, in the alcohol textbook**. UK: Nottingham University Press, 3 ed., 1999, 386 p.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4 ed., 1020p., 2008.

IZIDORO, D. R., **Influência do pré-tratamento com ultra-som e da secagem nas propriedades química, físicas e funcionais do amido de banana verde**. 2011. 201f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

JAYAKODY, J. A. L. P. **The effect acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules.** 2001. 141f. Tese (Master of Science). Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, Newfoundland, Canadá.

JOHN, R. P.; ANISHA, G. S.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 186-193, 2011.

JORGE, N.; MALACRIDA, C. R. Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) como fonte de antioxidantes naturais. **Alimentos e Nutrição**. v. 19, n. 3, p. 337-340, 2008.

KEIM, C. R. Technology and economics of fermentation alcohol – an update. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 5, n. 2, p. 103-114, 1983.

KITTIPONGPATANA, O. S.; KITTIPONGPATANA, N. Preparation and physicochemical properties of modified jackfruit starches. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 1766-1773, 2011.

KNOWTEC. **Relatório de inteligência – Do bagaço ao posto.** p. 4-5, 2013. Disponível em: <<http://www.icna.org.br/sites/default/files/relatorio/RELAT%C3%93RIO%20DO%20AGRONEG%C3%93CIO%20-%20janeiro%20de%202013.pdf>>. Acesso em: 21 mar. 2014.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

LACERDA, L. G. **Uso de técnicas termo-analíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amido de matérias-primas tropicais.** 2006, 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

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

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; CEREDA, M. P.; CÂMARA, F. L. A. Extração e caracterização de amido de jacatupé (*Pachyrhizus ahipa*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 3, v. 23, p. 362-365, 2003.

LEONEL, M.; GARCIA, A. C. D. B.; REIS, M. M. Caracterização físico-química e microscópica de amidos de batata-doce, biri, mandioca e taioba e propriedades de expansão após modificação fotoquímica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, p. 129-137, 2004.

LEWKOWSKI, J. Synthesis, chemistry and applications of 5-hydroxymethylfurfural and its derivatives. **Arkivoc**, v. 1, p. 17-54, 2001.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: LIMA, U.A. et al (Coord.). **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, v. 3, p. 11- 18, 2001.

LIU, Q. Understanding starches and their role in foods. In: CUI, S. W. (ed). **Food carbohydrates: chemistry, physical properties and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2005, 418 p.

LOTTERMANN, M. T. **Purificação e caracterização estrutural de uma α -amilase de *Cryptococcus flavus* expressa em *Saccharomyces cerevisiae* “MFL”**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular). Universidade de Brasília, Brasília.

MADRIGAL-ALDANA, D. L.; GÓMEZ-TOVAR, B.; OCA, M. M. M.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L. A.; Isolation and

characterization of Mexican jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L) seeds starch in two mature stages. **Starch/Starke**, v. 63, p. 364-372, 2011.

MANZATTO , C. V.; ASSAD, E. D.; BACCA, J. F. M.; ZARONI, M. J.; PEREIRA, S. E. M. **Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar: expandir a produção, preservar a vida, garantir o futuro**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 55 p., 2009.

MARCON, M. J. A; AVANCINI, S. R. P; AMANTE, E. R. **Propriedades químicas e tecnológicas do amido de mandioca e do polvilho azedo**. Florianópolis: UFSC, 101p., 2007.

MELO, W. C.; SILVA, D. B. da; PEREIRA Jr., N. 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.

MENDES, M. L. M. **Caracterização para fins industriais dos amidos nativo e modificados extraídos de amêndoas de sementes de manga, variedade “Tommy Atkins”**. 2011. 132f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MENEGHIN, M. C. **Caracterização e comportamento fermentativo de linhagens de *Dekkera* contaminantes da fermentação alcoólica**. 2007. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

MILESSI, T. S. dos S. **Imobilização de células de *Scheffersomyces stipitis* para obtenção de etanol de segunda geração em biorreator STR tipo cesta**. 2012, 148f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena.

MONSALVE, J. F.; PEREZ, V. I. M.; COLORADO, A. A. R. Producción de etanol a partir de La cáscara de banano y almidón de yuca. **Dyna**, a. 73, n. 150, p. 21-27, 2006.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística Aplicada e probabilidade para Engenheiros**. 2 ed., LTC Editora. São Paulo - SP, 2003, 463p.

MOORTHY, S. N. Large scale industries. In. BALAGOPALAN. **Intergrated technologies for value addition and post harvest management in tropical tuber crops**. Thiruvananthapuram: Central Tuber Crops Research Institute, cap. 6, p. 106-137, 2000.

MORAIS, A. R. C. **Otimização de meios de cultura para a produção de xilitol com base em hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de azeitona extratado**. 2012, 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar). Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

MORTON, J. F. **Fruits of Warm Climates**. Winterville, North Carolina, USA: Creative Resources System, 1987, 505p.

MOURA, W. S. **Extração e Caracterização da Fécula do *Hedychium coronarium* e Elaboração de Filmes Biodegradáveis**. 2008. 96f., Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.

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 Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MUSSATO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CAMEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. Technological trends, global market and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 817-830, 2010.

NAKAZAWA, Y.; WANG, Y. J. Effect of annealing on starch-palmitic acid interaction. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 3, p. 327-335, 2004.

NASCIMENTO, J. A. do. **Monitoramento em tempo real de processos fermentativos por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)**. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 37, p. 52-68, 2011.

NREL - National Renewable Energy Laboratory Chemical Analysis and Testing Task Laboratory. **Analytical procedure HPLC LAP-014 dilute acid hydrolysis procedure for determination of total sugars in the liquid fraction of process samples**, 2008.

NUNES, L. B.; SANTOS, W. J.; CRUZ, R. S. Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da região do semi-árido baiano. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 129-134, 2009.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 36, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, D. C. de. **Caracterização e potencial tecnológico de amidos de diferentes cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 2011. 142f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

OLIVEIRA, L. F. de. **Efeito dos parâmetros do processo de desidratação de jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) sobre as propriedades químicas, físico-químicas e a aceitação sensorial**. 2009. 121f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

OLIVEIRA, L. F. de; GODOY, R. L. de O.; BORGES, S. V. Qualidade de jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) desidratada sob diferentes condições de processo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 241-248, 2011.

OSTROWSKI, A. P.; VARGAS, F.; PIZZINATTO, L. E.; ARAÚJO, J. H. B. Obtenção de álcool etílico a partir de amido de mandioca. In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA INTERDISCIPLINAR, 1, Camboriú-SC. **Anais...** Camboriú, 2006.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 1, p. 1-17, 2001.

PEREIRA Jr., N.; BON, E. P. S.; FERRARA, M. A. **Tecnologia de bioprocessos. Séries em Biotecnologia**. Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 1 ed, v. 1, 62p., 2008.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch – Starke**, v. 62, n. 8, p. 389-420, 2010.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003. 118f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto.

PONTES, B. R. B. **Preparação e caracterização de termoplásticos a partir de amido de arroz**. 2012. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Carlos.

PREVIDELLO, B. A. F.; CARVALHO, F. R.; TESSARO, A. L.; SOUZA, V. R.; HIOKA, N. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos coloidais. **Química Nova**, v. 29 n. 3, 2006.

QUEIROZ, A. J. de M.; DANTAS, H. J.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. de. Secagem de farinha de sementes residuais de jaca. In: CONGRESO IBÉRICO DE AGROINGENIERÍA Y CIENCIAS HORTÍCOLAS, 7, 2013, Madrid. **Anais...** Madrid: Seaging Seca, 2013.

RENGSUTTHI, K.; CHAROENREIN, S. Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) and its application as a thickener and stabilizer in chilli sauce. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 1309–1313, 2011.

RIBEIRO, A. P. L. **Efeito das modificações químicas (acidificação e oxidação) sobre as propriedades funcionais do amido de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz).** 2006. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

RIBEIRO, E. J. **Fermentação Alcoólica.** Módulo II. Processamento na Indústria Sucroalcooleira. Uberaba: FAZU, 2010.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química dos Alimentos.** São Paulo: Edgard Blücher, 2004, 196p.

RIBEIRO FILHO, N. M.; FLORENCIO, I. M.; ROCHA, A. S.; DANTAS, J. P. D.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. da. Aproveitamento do caldo do sorgo sacarino para produção de aguardente. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 9-16, 2008.

RIESENBERG, D.; GUTHKE, R. High-cell-density cultivation of microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 4, p. 422-430, 1999.

RUDNIK, E. **Compostable polymer materials.** Oxford: Elsevier, 2008, 224p.

RUSSEL, I. Understanding yeast fundamentals. In: JACQUES, K. A.; LYONS, T. P.; KESALL, D. R. (Ed.). **The alcohol textbook.** 4. ed. [S.I.]: Nottingham University Press, 2003.

SACRAMENTO, C. K. do; BARRETTO, W. de S. Frutas tropicais não tradicionais para o cultivo no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22, 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves, RS, 2012.

SALLA, D. A. **Análise energética de sistemas de produção de etanol de mandioca, cana-de-açúcar e milho.** 2008, 185f. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SANABRIA, G. G. R. **Propriedades físico-químicas do amido isolado, estudo de parâmetros enzimáticos durante o armazenamento e caracterização de enzimas amilolíticas em raízes de maca (*Lepidium meyenii* Walp).** 2010. 131f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo.

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

SANTOS, A. P. **Extração e caracterização do amido do fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) e elaboração de filmes biodegradáveis.** 2009, 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.

SANTOS, L. S.; BONOMO, R. C. F.; FONTAM, R. C. I.; BONOMO, P.; LEITE, C. X. S.; SANTOS, D. O. dos. Efeito dos métodos de extração na composição, rendimento e propriedades da pasta do amido obtido da semente de jaca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 3, p. 255-261, 2013.

SANTOS-SEREJO J. A.; DANTAS, J. L. L.; SAMPAIO, C. V.; COELHO, Y. S. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 509p., 2009.

SANTOS, T. P. R. dos. **Produção de amido modificado de mandioca com propriedade de expansão.** 2012, 96f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu.

SCHMIDELL, W., FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e Processos Fermentativos. In: SCHMIDELL, W. et al. (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Engenharia Bioquímica.** São Paulo: Edgar Blücher, v. 2, p. 179-192, 2001.

SCHULZ, M. A. **Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana.** 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade da Região de Joinville, Joinville.

SCIPIONI, G. C. **Otimização do processo de sacarificação do amido de batata (*Solanum Tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas.** 2011, 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

SEAGRI - Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do Estado da Bahia. **Cultura – jaca.** Governo da Bahia, 2010.

SILVA, F. I. da; CABELLO, C. Caracterização das estruturas moleculares de amido de mandioca utilizando metodologia de permeação em gel. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 21, n. 1, p. 50-68, 2006.

SILVA, F. V. Panorama e perspectivas do etanol lignocelulósico. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 13, n. 20, p. 01-134, 2012.

SILVA, I. R. A.; ALBUQUERQUE, F. S. M. de.; AQUINO, J. S.; NETO, V. Q. Efeito da modificação química por reação de cross-linking nas propriedades do amido de semente de abacate (*Persea americana* Mill). **B. CEPPA**, v. 31, n. 2, p. 295-308, 2013.

SILVA, J. H. V.; JORDÃO FILHO, R.; SILVA, E. L. Efeitos da inclusão do farelo de sementes de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) na ração sobre a produção, pigmentação da gema e umidade fecal em codornas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 523-530, 2007.

SILVA, V. F. N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico.** 2009. 116f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena.

SILVA, W. R.; SERRANO, M. T. R.; MOURA, W. S.; ASCHERID, P. R. Extração e composição centesimal de amido do caroço de jaca (*Artocarpus heterophyllus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 48, Rio de Janeiro – RJ. **Anais...** Rio de Janeiro: CBQ, 2008.

SILVEIRA, P. L. **Estudo da elaboração de passas da polpa, aproveitamento dos caroços e resíduos da jaca (*Artocarpus heterophyllus*)**. 2000. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SINGH, A.; KUMAR, S.; SINGH, I. S. Functional properties of jackfruit seed flour. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v. 24, n. 4, p. 373 – 374, 1991.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.

SINGH, J.; KAUR, L.; McCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – A review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1-22, 2007.

SOUSA, J. L. U. de; MONTEIRO, R. A. B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 100-107, 2011.

SOUZA, M. S. S. de; COSTA, R. A.; CHAVES, A. C. S. D.; NUNES, T. P.; JÚNIOR, A. M. O. de. Desenvolvimento e avaliação de passas de jaca obtidas por desidratação osmótica seguida de secagem convectiva. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 89-94, 2011.

SOUZA, T. S. **Desidratação osmótica de frutículos de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.): Aplicação de modelos matemáticos**. 2007. 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

SPADA, J. C. **Uso do amido de pinhão como agente encapsulante**. 2011. 165f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

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

STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S.; ANDRIETTA, S. R. Caracterização da biomassa isolada de processos fermentativos de produção de etanol para uso como biocombustíveis. **Encontro de Energia no Meio Rural**, An. 6, Campinas, 2006.

SURMELY, R.; ALVAREZ, H.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Hidrólise do amido**. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, cap. 15, p. 377-448, 2003.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Campinas: NEPA/UNICAMP, 4 ed., 161 p., 2011.

TAHERZADEH, M. J.; GUSTAFSSON, L.; NIKLASSON, C.; LIDÉN, G. Physiological effects of 5-hydroxymethylfurfural on *Saccharomyces cerevisia*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, p. 701-708, 2000.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. **BioResources**, v. 2, n. 3, p. 472-499, 2007.

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**, v. 26, n. 1, p. 17-23, 2004.

TASIĆ, M. B.; KONSTANTINOVIĆ, B. V.; LAZIĆ, M. L.; VELJKOVIĆ, V. B. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdã, v. 43, p. 208-211, 2009.

TEAGUE, W. M.; BRUMM, P. J. **Commercial enzymes for starch hydrolysis products**. New York: VCH Publishers, p. 45-77, 1992.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151-165, 2004.

TSIGIE, Y. A.; WANG, C. Y.; TRUONG, C. T.; JU, Y. H. Lipid production from *Yarrowia lipolytica* Polg grown in sugarcane bagasse hydrolysate. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9216-9222, 2011.

UGULINO, S. M. P.; GOUVEIA, D. S.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, S. T. G.; SANTANA, P. B. Avaliação da aceitação de passas de jaca elaboradas por diferentes tratamentos de secagem. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 8, n. 2, p. 143-152, 2006.

URBANO, L. H. **Fermentação etanólica em mostos de hidrolisados de amido de mandioca**. 2012. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 245-266, 2004.

VAN DER BURGT, Y. E. M.; BERGSMA, J.; BLEEKER, I. P.; MIJLAND, P. J. H. C.; KAMERLING, J. P.; VLIEGENHART, J. F. G. Structural studies on methylated starch granules. **Starch**, v. 52, n. 2-3, p. 40-43, 2000.

VARGAS, T. **Avaliação da qualidade do mel produzido na Região dos Campos Gerais do Paraná**. 2006. 148f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

VENTURA, M.; RAVAGLIA, G.; SANSAVINI, S.; GORINI, F.; SPADA, G. L'epoca di raccolta come scelta per migliorare la qualità di pesche e nettarine. **Rivista di Frutticoltura**, n. 7/8, p. 63-67, 1992.

VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. P. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. In: CEREDA, M. P. (coord.). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas**

Latino Americanas. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, cap. 19, p. 530-575, 2003. (Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas).

VIEGAS, M. C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características flocculantes.** 2003. 150f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

VIEIRA NETO, R. D. N. **Frutíferas potenciais para o tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros/Emdagro, 216 p., 2002.

VILPOUX, O. F. **Processos de produção de fécula de mandioca: comparação Brasil, Tailândia e China.** In: CEREDA, M. P. e VILPOUX, O. F. Tecnologia, Usos e Potencialidades de tuberosas Amiláceas Sul Americanas. São Paulo, v. 3., cap. 7, p. 143 – 175, 2003.

WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amilopectin and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 263-460, 1994.

WENDHAUSEN JUNIOR, R. **Estudo sobre utilização de crisotila como suporte de células de *Saccharomyces cerevisiae* para uso em processo contínuo de fermentação alcoólica e biorreduções.** 1998. 92f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

WENZEL, G. E. **Bioquímica experimental dos alimentos.** São Leopoldo: UNISINOS, 213 p., 2001.

WOICIECHOWSKI, A. L.; NITSCHKE, S.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Acid and enzymatic hydrolysis to recover reducing sugars from cassava bagasse: an economic study. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 400, 2002.

YU, Y.; LOU, X.; WU, H. Some recent advances in Hydrolysis of biomass in hotcompressed water and it comparisons with other hydrolysis methods. **Energy Fuels**, v. 22, n. 1, p. 46-60, 2008.

ZALDIVAR, J.; NIELSEN, J.; OLSSON, L. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 56, p. 17-34, 2001.

ZUNIGA, A. D. G.; FRONZA, P.; SILVEIRA, M. R. DA.; MOURA, J. S.; ROJAS, E. E. G. Hidrólise ácida da farinha do mesocarpo do coco babaçu, visando a obtenção de bioetanol. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 3548, 2013.