



XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos
Caxias do Sul/RS - 24 a 27 de julho de 2011

INAFERM 2011

Produção de Etanol Utilizando Mandioca Açucarada e Híbrida

Thályta Fraga Pacheco¹, Felipe Brandão de Paiva Carvalho¹, Carolina Madalozzo Poletto¹ e Sílvia Belém¹

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agroenergia

Parque Estação Biológica – PqEB s/nº - 70770-901 Brasília – DF - E-mail: thalyta.pacheco@embrapa.br

RESUMO

A produção de etanol de mandioca no Brasil é discutida desde o Proálcool, contudo problemas agrônômicos e industriais desmotivaram os estudos. Diante do novo cenário de zoneamento da cana-de-açúcar e demanda crescente por combustíveis, a pesquisa de fontes promissoras e processos competitivos tem sido cada vez mais abordada. Este trabalho trata da produção de etanol utilizando novas variedades de mandioca. Foram testadas duas variedades, uma açucarada, que acumula glicose ao invés de amido e pode dispensar a etapa de hidrólise, e outra variedade híbrida das mandiocas açucarada e amilácea, que tem reserva de glicose e alto teor de amido. A mandioca açucarada utilizada atinge até 110 g/L e a híbrida até 187 g/L de glicose após hidrólise enzimática. Esta variedade ainda está em fase inicial de pesquisa, mas indica ser extremamente vantajosa na produção de etanol, especialmente para produtores de menor escala ou para regiões onde a cana-de-açúcar não é viável.

Palavras-chave: Etanol, mandioca açucarada, mandioca híbrida, fermentação alcoólica

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a escassez de petróleo e a poluição causada por este tem voltado a atenção mundial para produção de combustíveis a partir de biomassa.

O cultivo de mandioca (*Manihot esculenta*) para produção de etanol volta a ter interesse em razão da obtenção de novas variedades de mandioca, com maior produtividade, resistência a doenças e bom desenvolvimento em solos de baixa fertilidade.

O Brasil é o segundo maior produtor de mandioca, responsável por 10% da produção mundial. A mandioca é uma espécie que apresenta alta capacidade de produção de biomassa, mas sua produtividade é altamente variável a depender das condições naturais e de cultivo. Quando plantada como cultura de subsistência, atinge de 5 a 20 t/ha/ano. Com a introdução de variedades de alto rendimento e melhoria das práticas de produção, algumas plantações atingem até 90 t/ha/ano, o que corresponde a aproximadamente 30 t/ha/ano de matéria seca (VALLE, FELTRAN e CARVALHO, 2008). Se o rendimento no cultivo da mandioca for



melhorado, de forma a reduzir o custo da matéria-prima, a competitividade do etanol de mandioca poderá ser atingida, chegando a ser, em algumas regiões, mais barato que o da cana-de-açúcar.

No Brasil, a cultura da mandioca não pretende substituir a cana-de-açúcar na produção de etanol, mas pode representar uma opção para produtores de menor escala, com benefícios sociais para comunidades rurais ou ocupação de nichos agrícolas, em regiões em que o cultivo da cana não é viável. Pode ser também uma opção para períodos de entressafra, em que as destilarias de álcool de cana-de-açúcar ficam ociosas (CARDONA e SÁNCHEZ, 2007).

A mandioca apresenta diversos pontos positivos para produção de etanol, dentre eles a possibilidade de cultivo, junto com outras espécies, em diferentes regiões do país, inclusive em climas áridos; aproveitamento dos subprodutos do processamento; colheita durante todo o ano, sem exigência de mecanização complexa nem muito fertilizante ou herbicida (PEDUZZI, 2009; CARVALHO, 2009; COOK, 1985). Além disso, tem vantagens de processamento sobre outras matérias-primas amiláceas pois requer menor temperatura de gelatinização e maior solubilidade em amilose, atingindo conversões acima de 94% (ULIBARRI e HALL, 1997) e rendimento de até 160 L de etanol por tonelada de mandioca processada (SORAPIPATANA e YOOSIN, 2011).

A mandioca acumula carboidratos na forma de amido insolúvel, que deve ser gelatinizado por cozimento e submetido à hidrólise ácida ou enzimática para quebra da cadeia polimérica do amido e formação de monômeros de glicose. Esse hidrolisado pode, então, ser fermentado pela ação de microrganismos para produzir etanol (MUSSATO *et al.*, 2010).

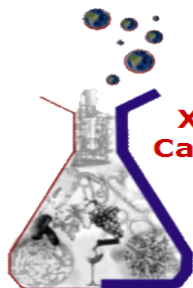
O diferencial do presente estudo está principalmente no tipo de mandioca, pois a mandioca açucarada, utilizada nos experimentos, é uma mutação genética encontrada na Amazônia que, em vez de amido, acumula glicose e alto teor de água na raiz. Esta mutação, após processo de seleção e cruzamento, resultou em uma variedade produtiva com alto teor de açúcar fermentescível (ERENO, 2008). O processo de produção do etanol a partir dessa variedade de mandioca é similar ao da cana-de-açúcar e mais simples e barato que o etanol produzido com a mandioca convencional pois dispensa o processo de sacarificação, na qual amido é convertido em glicose.

A partir de cruzamentos dessa mandioca açucarada com uma mandioca amilácea, foi desenvolvida uma variedade híbrida, extremamente potencial para produção de etanol por apresentar moderado teor de açúcar e alto teor de amido facilmente hidrolisável. Além disso, não há, nestas variedades de mandioca, nenhum composto que iniba o processo de fermentação alcoólica (CARVALHO, 2009).

Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de açúcares fermentescíveis durante o processo de hidrólise enzimática e a produção de etanol na fermentação alcoólica utilizando duas variedades de mandioca: uma mutante açucarada, e outra híbrida de açucarada e amilácea, com alto teor de amido.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se, para avaliação da hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, duas variedades de mandioca, uma açucarada (código 36/16), que acumula majoritariamente glicose e também tem uma pequena reserva de amido, e uma variedade híbrida de açucarada e



XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos
Caxias do Sul/RS - 24 a 27 de julho de 2011

INAFERM 2011

amilácea (código 578/9). Estas cultivares foram modificadas, cultivadas e isoladas na Embrapa Cerrados, em Brasília, Distrito Federal.

Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e apresenta-se a média dos valores obtidos. As mandiocas foram descascadas, picadas e processadas em misturador industrial. Após essa etapa as pastas foram autoclavadas a 121°C por 30 minutos para evitar contaminação bacteriana e para gelatinização do amido presente nos caldos, processo em que a água penetra nos grãos de amido e modifica a sua estrutura. Avaliou-se o desempenho da fermentação alcoólica com a pasta da mandioca hidrolisada e somente com o caldo, separado por centrifugação.

Testou-se o desempenho de duas enzimas comerciais (amilases da Ankom Technology e da Novozymes) empregando solução de amido solúvel e amostras das mandiocas. Para a hidrólise das amostras de mandioca foram utilizadas condições em que a enzima apresenta melhor desempenho e estabilidade. Foi verificada a melhor temperatura de atuação da enzima (50, 70 ou 90°C), tempo ótimo de hidrólise (de 20 minutos a 5 horas) e concentração ideal de enzima no meio (variando de 1 a 6%).

Utilizou-se uma metodologia de análise de amido por hidrólise ácida com o objetivo de verificar o potencial de formação de glicose das mandiocas e o desempenho da hidrólise enzimática (CEREDA, DAIUTO e VILPOUX, 2004). Esse procedimento garante que todo o amido existente nas amostras seja hidrolisado, sendo a concentração final de glicose obtida com essa metodologia a máxima passível de ser obtida com a variedade da mandioca.

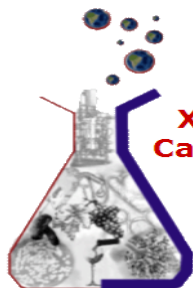
As hidrólises e fermentações foram realizadas em biorreatores de bancada, operados em batelada, com agitação mecânica, capacidade para 2L e camisa para controle de temperatura. Na etapa de hidrólise manteve-se a temperatura constante em 70 °C e agitação de 1200 rpm. Após a gelatinização, a pasta de mandioca se torna bastante viscosa, justificando a alta agitação do reator. As fermentações foram conduzidas a 30°C com agitação de 500 rpm.

Na fermentação alcoólica foram utilizadas duas estirpes de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*: 1vvt/97, selecionada na Embrapa Uva e Vinho e CAT-1, levedura comercial com características floculantes. Essas estirpes foram cultivadas em meio líquido sintético. Avaliou-se, para a fermentação, a suplementação da pasta hidrolisada de mandioca com diferentes sais. O inóculo, correspondente a 5% do peso do material, foi preparado numa suspensão com densidade ótica de 0,200, em leitura a 650 nm.

As etapas de hidrólise e fermentação foram monitoradas por amostragens periódicas, para acompanhamento das concentrações de glicose e etanol. Para estas análises utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) segundo metodologia descrita por Gouveia *et al.* (2009), e adaptada para a análise de frações líquidas. As amostras foram diluídas e clarificadas e em seguida analisadas utilizando-se detector de índice de refração e arranjo de diodos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi selecionado para este trabalho o extrato enzimático da Ankom Technology, o qual mostrou-se mais adequado para a hidrólise da amostra de estudo. As melhores condições de operação determinadas para esta enzima foram: temperatura de 70°C por 20 minutos, com 4,5% v/v de enzima. A utilização de um tempo maior que 20 minutos não se justifica, pois a



XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos
Caxias do Sul/RS - 24 a 27 de julho de 2011

INAFERM 2011

concentração de glicose se eleva pouco em comparação com o gasto energético de manutenção do processo de hidrólise a 70°C (dados não apresentados).

A análise de concentração de amido por hidrólise ácida das polpas gelatinizadas indica que se todo o amido presente na mandioca for transformado em glicose, a mandioca açucarada utilizada tem potencial máximo de produção de glicose de 110 g/L, enquanto a mandioca híbrida pode atingir 187 g/L de glicose, concentração maior que a sacarose presente na cana-de-açúcar.

A centrifugação do material para realização da fermentação alcoólica não interferiu nos resultados e, portanto, não foi realizada nos processos seguintes. Estabeleceu-se a adição de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,25 g/L), KH_2PO_4 (0,5 g/L) e $CaCO_3$ (5 g/L) para suplementação de minerais no meio fermentativo. Não se ajusto o pH do meio, que se manteve em torno de 5. O inóculo foi dosado em baixas concentrações celulares com o objetivo de se avaliar a existência de possíveis inibidores da fermentação.

Inicialmente, na polpa in natura da mandioca açucarada utilizada, havia 73,5 g/L de glicose. Após autoclavagem a concentração de glicose medida foi de 81 g/L. Para a mandioca híbrida, a polpa in natura apresentava 64 g/L de glicose, e após autoclavagem 72 g/L.

Efetuando-se as hidrólises enzimáticas nas melhores condições estabelecidas, obteve-se, para a mandioca açucarada, 95 g/L de glicose. A mandioca híbrida apresentou ao fim do processo 167,4 g/L de glicose. Pode-se observar que é baixo o teor de amido na variedade açucarada, grande parte da glicose já se encontrava livre antes mesmo da hidrólise enzimática, podendo, inclusive, ser dispensada essa etapa.

Foram então conduzidas fermentações alcoólicas com os caldos hidrolisados. Na Figura 1 pode-se observar o perfil de consumo de glicose para a mandioca açucarada e para a híbrida, utilizando-se a levedura 1vvt/97.

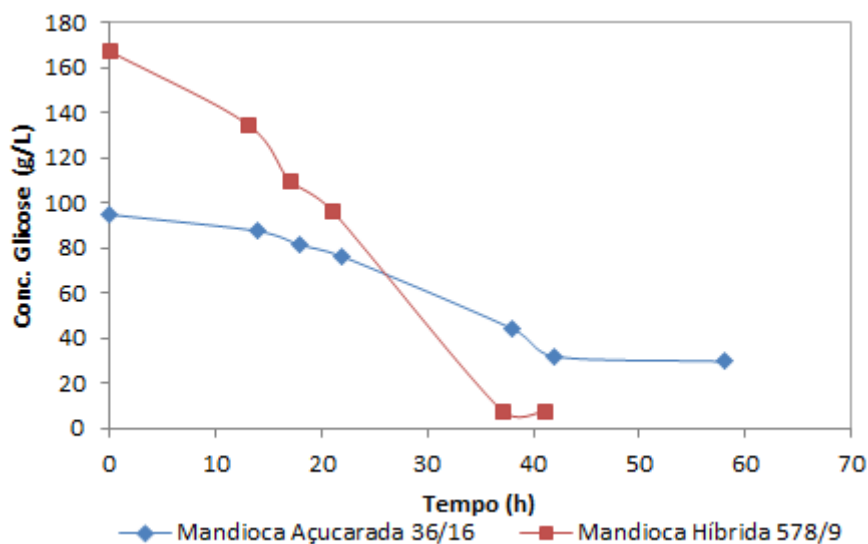
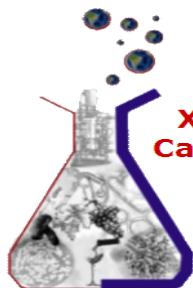


Figura 1 – Perfil de consumo de glicose nas fermentações alcoólicas da mandioca açucarada 36/16 e híbrida 578/9, utilizando a levedura 1vvt/97

As fermentações conduzidas com a levedura comercial CAT-1 foram ligeiramente mais rápidas no consumo da glicose, porém apresentaram menor teor de etanol.

Não foi acompanhado o perfil de produção de etanol no decorrer do processo fermentativo. Em 41 horas, a glicose da mandioca híbrida utilizada foi toda consumida e obteve-se 4,6 g/L de etanol. A fermentação da mandioca açucarada possivelmente sofreu



**XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos
Caxias do Sul/RS - 24 a 27 de julho de 2011**

INAFERM 2011

efeito de inibidores e não foi consumida toda a glicose do meio, mesmo com um tempo maior de fermentação. Obteve-se, para essa variedade, 0,96 g/L de etanol.

A baixa concentração de etanol obtida nos experimentos deve-se, possivelmente, às condições da fermentação ou existência de substâncias interferentes ao processo que causaram inibição da rota de produção de etanol. A agitação vigorosa utilizada fornece muito oxigênio para as células, favorecendo o crescimento celular e desfavorecendo a produção de etanol. A etapa fermentativa está sendo trabalhada para maximização dos níveis de produção de etanol.

CONCLUSÕES

Pode-se observar que ambas as variedades de mandioca testadas apresentaram potencial para produção de etanol. A mandioca açúcarada empregada, antes da etapa de hidrólise, apresentava 81 g/L de glicose e pode representar uma alternativa para a produção de etanol a baixo custo, pois dispensa o gasto com enzimas e energia na hidrólise. O caldo dessa mandioca pode ser diretamente fermentado. Com a hidrólise enzimática, essa mandioca atingiu 95 g/L de glicose, que não foi totalmente consumida durante a fermentação alcoólica, tendo produzido 0,96 g/L de etanol.

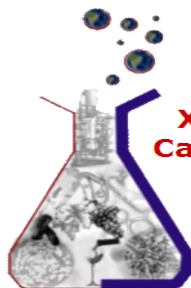
Na hidrólise enzimática da mandioca híbrida, 167,4 g/L de glicose foram disponibilizados para fermentação. A etapa de fermentação consumiu toda a glicose do meio sem sofrer efeitos de inibição, e foram produzidos 4,6 g/L de etanol.

Até o momento foram realizados apenas testes preliminares com a nova variedade híbrida. É notório que esta tem, sob o ponto de vista de processamento, tanto potencial para produção de etanol quanto a cana-de-açúcar por ser facilmente hidrolisada e fornecer alto teor de glicose, além de não apresentar efeitos de inibições no processo fermentativo.

Por enquanto, as condições de operação do processo de produção de etanol para as mandiocas açúcarada e híbrida não exploram todo o potencial destas variedades. Novos experimentos estão sendo realizados para que se possa atingir as melhores condições de processamento em cada um dos casos, porém, até o momento, pode-se afirmar que a produção de etanol a partir de variedades modificadas de mandioca se mostra promissora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cardona, C. A.; Sánchez, O. J. (2007) Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresource Technology*, n. 98, p. 2415 – 2457.
- Carvalho, L. J. C. B. (2009) Pesquisador defende o etanol de mandioca para uso local. *Biocombustíveis em Foco*, ano I, n. 1, Jan/2009, p. 7-8.
- Cereda, M. P.; Daiuto, E. R.; Vilpoux, O. (2004) *Metodologia de determinação de amido por digestão ácida em micro-ondas*. Associação Brasileira dos Produtos de Amido de Mandioca, Ano II, nº 8.
- Cook, J.H. (1985) *Cassava: New potential for a neglected crop*. Westview Press, Boulder, CO, 90 p.



**XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos
Caxias do Sul/RS - 24 a 27 de julho de 2011**

INAFERM 2011

Ereno, D. (2008) Etanol de mandioca doce. *Revista Fapesp* n. 144. Fev/ 2008. Disponível em < http://www.revistapesquisa.fapesp.br/site_teste/extras/imprimir.php?id=3457&bid=1>. Acesso em 21/03/2011.

Gouveia, R.; Nascimento, R. T.; Souto-Maior, A. M; Rocha, G. J. M. (2009) Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova*, v. 32, n. 6.

Mussato, S. I.; Dragone, G.; Guimarães, P. M. R.; Silva, J. P. A.; Carneiro, L. M.; Roberto, I. C.; Vicente, A.; Domingues, L.; Teixeira, J. A. (2010) Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology advances*, n. 28, p. 817 – 830.

Peduzzi, P. (2009) Produção de etanol a partir da mandioca pode ser mais barato que cana. Agência Brasil. Disponível em < <http://www.jornaldaciencia.org.br/Detail.jsp?id=61939> >. Acesso em 20/03/2011.

Sorapipatana, c.; Yoosin, S. (2011) Life cycle cost of ethanol production from cassava in Thailand. *Renewable and sustainable energy reviews*, n. 15, p. 1343 – 1349.

Ulibarri, R. L.; Hall, G. M. (1997) Saccharification of cassava flour starch in a hollow-fiber membrane reactor. *Enzyme and microbial technology*, n. 21, p. 398 – 404.

Valle, T. L.; Feltran, J. C.; Carvalho, C. R. L. (2008) *Mandioca para a produção de etanol*. Instituto Agrônomo (IAC) Campinas.