

AUTORES
AUTHORS

✉ **Graziela Batista FERREIRA'**
Vítis Vieira de MELO'
José Bruno Oliveira de ALMEIDA'
Alex Ferreira EVANGELISTA'
Roberto Rodrigues de SOUZA''

'Departamento de Engenharia Química,
CCET-UFS, S/N, Rosa Elze, CEP: 49100-000
São Cristóvão-SE - Brasil
e-mail: rrsouza@ufs.br

RESUMO

O amido é um dos polímeros de glicose mais abundantes no reino vegetal podendo ser utilizado como complemento e/ou alternativa em substituição à cana-de-açúcar como açúcar fermentável. O emprego do amido de mandioca (*Manihot spp.*) pelas indústrias de bebidas levaria ao desenvolvimento sócio-econômico de comunidades agricultoras no Brasil, onde esta é uma das principais culturas, qualidade que a torna uma das principais fontes de renda deste país. A hidrólise enzimática é uma boa alternativa entre as diversas formas de hidrolisar o amido: por ser seletiva, ter bom rendimento, sem originar produtos indesejáveis no meio, ter baixo custo e sem consumir energia. Este trabalho teve como objetivo a obtenção de uma bebida a partir das raízes da mandioca (aguardente) pela combinação de hidrólise do amido com amilases de malte de milho (*Zea mays*) e dos açúcares fermentáveis por leveduras (*S. cerevisiae*). No processo de hidrólise do amido, a concentração de glicose alcançou 17 %, pois as enzimas do malte de milho sofreram inibição por desnaturação térmica. A graduação alcoólica após a fermentação foi de 5,5 °GL devido à baixa atividade aquosa do mosto. Após o processo de destilação, a aguardente de mandioca obtida apresentou todas as qualidades dentro das normas brasileiras. Quando a aguardente foi comparada com aguardentes já comercializadas, suas características sensoriais não possuíram diferenças significativas. Isto mostrou que a produção da aguardente de mandioca é viável e pode, assim, agregar valor a esta cultura.

SUMMARY

The starch is a polyglucoside abundant in vegetable reign, can be utilized as complement and/or alternative in ethanol obtaining in the substitution of sugarcane as sugar fermentable source. The employment of starch manioc (*Manihot spp.*) for drink industries is going to carry at the social-economic development of the agricultural Zones, in Brazil, in which it is the cultivate main, quality that becoming it a main rent soure of country. The enzymatic hydrolysis is an alternative very good among hydrolysis by it is selective, it has optimal yield, without to engender undesirable products in middle, to have lower cost and less energy consumption. In this work aimed to drink from root manioc (spirit) for combinated hydrolysis of starch byr amylases from maize (*Zea mays*) malt and fermentables sugars by yeast. In the hydrolysis process the glucose concentration got 17 % for the maize malt enzymes were inhibited by thermal denaturing. The alcohol concentration after fermentation process was of 5.5° GL due to the lower water activity of the must. The manioc spirit obtained after destilation process had all quality of according to Brazilian Laws. Two cane drink samples commerce in Brazil was used as standard samples. The sensitive analysis showed that these was not significative diference among to manioc drink and negotiable sugarcane spiritss. This introduced to manioc spirit manufacture is viable and, so, it may aggregate value to the manioc

PALAVRAS-CHAVE
KEY WORDS

Aguardente, *Manihot spp.*, malte de milho, fermentação, hidrólise do amido, análise sensorial / Spirit, *Manihot spp.*, maize malt, fermentation, starch hydrolysis, sensorial analysis.

1. INTRODUÇÃO

O amido, polissacarídeo abundante no reino vegetal, pode ser utilizado como complemento e/ou alternativa à cana-de-açúcar para a produção do etanol. O emprego de amido, como complemento e/ou alternativa à sacarose da cana-de-açúcar, pode levar o desenvolvimento agroindustrial à várias regiões brasileiras que têm tradição no cultivo de amiláceos, principalmente a mandioca (*Manihot spp.*). Esse importante vegetal acumula amido, que constitui cerca de 30 % em peso de suas raízes. Sua elevada resistência às secas e doenças, bem como uma produtividade de cerca de 20 ton/ha (MENEZES, 1980), tornam-na uma excelente fonte de amido.

Essa matéria-prima, contudo, não é diretamente fermentável, necessitando de uma hidrólise prévia de suas cadeias. A sacarificação ou hidrólise do amido pode ser ácida ou enzimática. A primeira apresenta algumas desvantagens tais como: elevado consumo de energia, baixo rendimento e seletividade e pouca flexibilidade operacional. Em função disso, os processos enzimáticos assumiram maior importância, pois conseguiram eliminar quase que totalmente essas desvantagens.

Por outro lado, a produção de etanol por via fermentativa é uma tecnologia muito desenvolvida no Brasil, cuja transferência renderia muitas divisas ao país e colocá-lo-ia em condições muito favoráveis no panorama energético, principalmente se forem consideradas as constantes oscilações do preço do petróleo internacional (ZANIN et al., 2000).

A utilização do etanol como combustível mostrou-se benéfica, tanto do ponto de vista ambiental quanto pela eficiência na geração de trabalho mecânico, além de sua característica renovável e, portanto, praticamente inesgotável (TROVATI et al., 2002). Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de etanol por via fermentativa. Esta posição de destaque é consequência do Pró-Álcool, implementado pelo governo brasileiro na década de 70 com o objetivo de substituir gasolina dos veículos automotores por etanol (ATALA et al., 2002).

Comumente utiliza-se a cana-de-açúcar (*Saccharae spp.*) para a obtenção do etanol. Entretanto, sua cultura exige solos com elevada pluviosidade e fertilidade, além de possuir um limitado período útil de industrialização (safra).

Qualquer produto que contenha carboidrato constitui-se em matéria-prima para a obtenção de etanol (LIMA et al., 2001). O amido é, depois da celulose, o carboidrato mais encontrado na natureza. Dois vegetais se destacam, no Brasil, como fonte de amido: a mandioca (*Manihot spp.*) e o milho (*Zea mays*); o primeiro, como fonte de amido preponderantemente industrial e de preparo de farinha de mesa; o segundo, como fonte de amidos modificados para a indústria de alimentação e outros fins técnicos (REGULY, 1996).

O emprego do amido de mandioca (*Manihot spp.*) pelas indústrias de bebidas levaria ao desenvolvimento sócio-econômico de comunidades agricultoras, no Brasil, onde esta é uma das principais culturas, qualidade que a torna uma das principais fontes de renda deste país. A hidrólise enzimática é uma boa alternativa entre as diversas formas de hidrolisar o amido: por ser seletiva, ter bom rendimento, sem originar produtos indesejáveis no meio, ter baixo custo e sem consumir

energia. Este trabalho teve como objetivo a obtenção de uma bebida a partir das raízes da mandioca (aguardente) pela combinação de hidrólise do amido com amilases de malte de milho (*Zea mays*) e dos açúcares fermentáveis por leveduras (*S. cerevisiae*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção da farinha de mandioca

Raízes em ótimo estado foram limpas com água clorada, com o intuito de eliminar impurezas sólidas e diminuir a presença de microorganismos no meio fermentativo e descascadas. Parte das amostras úmidas foi utilizada para a determinação do teor de umidade por secagem a 103-105°C (ASCAR, 1985). O restante foi seco em estufa a 100 °C por aproximadamente 8 horas, triturado em moinho tipo Willye TE 650 da Tecnal, colocado em sacos plásticos e armazenado à temperatura ambiente. A composição da farinha foi determinada de acordo com a metodologia apresentada em ASCAR (1985) e BRADFORD (1976).

2.2 Germinação das sementes de milho

As sementes foram selecionadas, pesadas, lavadas, postas à absorção de umidade entre 40 a 45 % e colocadas em meio germinativo em escala laboratorial por aproximadamente 4 a 5 dias. O malte foi seco a 54°C de temperaturas, triturado, colocado em sacos plásticos e armazenado a 10 °C (SANTANA, 2003).

2.3 Sacarificação

Um bioreator com manta de aquecimento, agitação mecânica e operando em batelada a 65°C (valor média dos ótimos das enzimas α e β -amilases). A quantidade de farelo de mandioca (*Manihot spp.*) que desse 11 % de amido no meio foi posta no bioreator, o pH foi corrigido a 6 (valor média dos ótimos das enzimas α e β -amilases) e uma quantidade de malte de milho (*Zea mays*) foi adicionada (5 g/L) dando início ao procedimento. O processo de sacarificação foi acompanhado através da medição do teor de açúcares redutores pelo método do DNS (REGULY, 1996) e a porcentagem de conversão do amido em AR foi calculada.

2.4 Fermentação

O produto da hidrólise no bioreator foi filtrado em algodão para retenção de parte dos sólidos suspensos (flóculos de amido), foram adicionados nutrientes inorgânicos à base de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e de MgSO_4 , na proporção relatada por AQUARONE et al. (2001) para o preparo do mosto. O pH foi ajustado entre 4-5 e o mosto foi esterilizado por choque térmico. Pés-de-cuba de 10 e 100 mL foram preparados a partir da dorna principal e

as leveduras do gênero *Saccharomyces* foram inoculadas no menor destes recipientes. Depois do primeiro dia o volume do menor pé-de-cuba foi transferido para o de 100 mL e após o segundo dia para a dorna principal, onde passou aproximadamente 21 dias fermentando. O teor alcoólico (°GL) e os sólidos solúveis (°Brix) foram medidos regularmente (ASCAR, 1985) para acompanhar o desenvolvimento da

fermentação, como está apresentado na Figura 2.

2.5 Obtenção da aguardente

Foi realizada através do método da destilação diferencial, até que a aguardente alcançasse a graduação

Figura 1. Modelo do questionário utilizado para a análise sensorial da aguardente.

Nome: _____

Data: ____/____/____

Instruções: Você receberá uma série de amostras que serão servidas individualmente. Prove cuidadosamente cada uma e avalie, antes que a próxima seja servida. Marque com um X na posição que identifique melhor a intensidade da característica avaliada.

Característica: **APARÊNCIA**

	AMOSTRAS		
	A	B	C
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			

Característica: **AROMA**

	AMOSTRAS		
	A	B	C
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			

Característica: **SABOR**

	AMOSTRAS		
	A	B	C
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			

alcoólica (em °GL) dentro dos padrões estabelecidos pela Legislação Nacional (AQUARONE et al, 2001).

2.6 Análises sensoriais

Os atributos aparência, sabor, a cor e o aroma da aguardente de mandioca (amostra B) foram comparados com aguardentes caninha 51 (amostra A) e aguardente Pitu (amostra C). Para tanto, foi feita uma pesquisa experimental de base quantitativa, utilizando como instrumento de investigação questionário estruturado e estandarizado (apresentado na Figura 1), com amostra ao acaso, contendo os itens citados acima com variações dentro da escala hedônica (variando de 1 a 9). Os provadores foram num total de 40, distribuídos nas cidades do interior e capital do estado de Sergipe, sem distinção de sexo, raça, ou classe social. Os resultados obtidos com a aplicação dos questionários foram tabulados, tendo em vista a frequência das respostas (TEIXEIRA et al., 1987).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados obtidos para a caracterização do farelo de mandioca utilizado. No que diz respeito às variáveis analisadas, o farelo apresentou composição bastante semelhante à relatada na literatura como média de farelos originários de diferentes indústrias brasileiras (HOLLOWAY, et al., 1985; LEONEL et al., 2000).

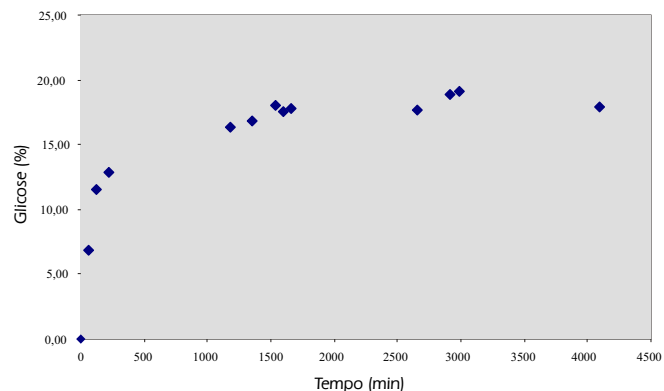
Tabela 1. Composição média do farelo de mandioca.

Variável	Média	Desvio
Umidade inicial (%)	54,17	3,12
Base Seca (%)		
Cinzas	0,81	0,31
Amido	71,65	6,34
Açúcares Totais	0,55	0,04
Proteína	0,50	0,09

Na Figura 2 vê-se a geração de glicose (AR) durante a hidrólise do amido de mandioca no bioreator, pela ação das enzimas amilolíticas do malte de milho. Inicialmente há uma elevada taxa de conversão, que reduz em seguida, para entrar em estado estacionário. Este comportamento se dá devido à boa atividade inicial das enzimas que tende a alta conversão do substrato ao produto, sendo que, em seguida o último começa a agir como inibidor das enzimas (quando próximo do equilíbrio) até que sua total inibição ocorre e a taxa torna-se nula. Outro agente redutor da atividade enzimática é o tempo de exposição das enzimas ao calor, sua ação se dá sobre a

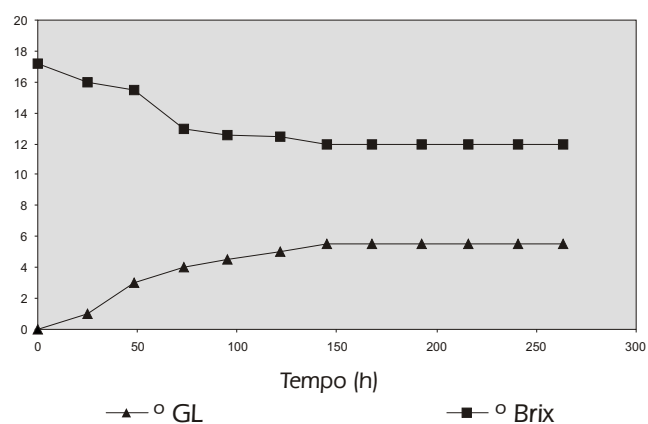
estrutura das mesmas que acabam sofrendo desnaturação térmica (REGULY, 1996, SANTANA, 2003). No entanto, a conversão do amido foi satisfatória, próxima dos 17%.

Figura 2. Curva de hidrólise do amido no bioreator a 65°C e pH 6.



A seguir, a Figura 3 mostra a variação do teor alcoólico e do °Brix durante a fermentação, para uma melhor compreensão do processo fermentativo do mosto de amido de mandioca. Percebe-se que à medida que os açúcares são consumidos ocorre a formação de álcool no meio, até que os mesmos tornam-se estacionários, determinando o final da fermentação após as 150 h (1 semana). O teor alcoólico é bastante baixo (~5,5 °GL) com relação aos mostos tradicionais (11 a 13 °GL), provavelmente pela quantidade de material insolúvel no meio (gel de amido), que diminuem a atividade aquosa.

Figura 3. Acompanhamento da fermentação do mosto de mandioca.



A Tabela 2 mostra os valores dos parâmetros analisados da aguardente de mandioca. A acidez volátil indica a contaminação por fermentações indesejáveis, como a acética, seu valor deve ser inferior a 150 meg de ácido acético por 100 mL de aguardente. O teor de açúcar deve ser inferior a 6 g/L para que não seja considerada como aguardente adocicada, o pH deve estar compreendido entre 3,8 a 4,8, não deve ter

presença de cinzas para que não seja considerado como aguardente alterado artificialmente e o teor alcoólico deve estar entre 38 a 54°GL o que mostra que a aguardente está dentro das normas nacionais.

Os parâmetros densidade e sólidos totais são dependentes da quantidade e do tipo de matéria solúvel no meio, como as demais análises mostraram que há pouca quantidade de açúcar, não há cinzas e o material solubilizado em sua maioria deve ser composto de ácidos orgânicos e principalmente álcool etílico, a densidade e a quantidade percentual de sólidos só poderiam ser baixos.

As Tabelas 3 e 4 mostram os resultados estatísticos das análises sensoriais, sendo que a primeira mostra os valores médios para os atributos avaliados, enquanto que a segunda apresenta os resultados dos testes t Students de comparação de amostras. O valor de t Student tabelado a 95 % de confiança é 1,991, sendo assim, pelas tabelas percebe-se que a média de todas as aguardentes ficou acima dos sete pontos na escala hedônica (correspondente a gostei muito) e que todas as amostras são idênticas, já que não há diferenças significativas entre elas, pois seus valores de t Student calculado foram muito menores que o tabelado (TEIXEIRA et al, 1987).

Na Figura 4 é visualmente perceptível o que foi relatado acima, pois esta figura mostra os valores médios hedônicos

colocados em eixos dos devidos atributos. As curvas das amostras praticamente se sobrepõem mostrando que a aguardente de mandioca foi tão bem aceita quanto às aguardentes comerciais, indicando que esta teria uma aceitação pelos consumidores ao ser comercializada.

Figura 4. Representação em gráfico de escala hedônica dos dados sensoriais.

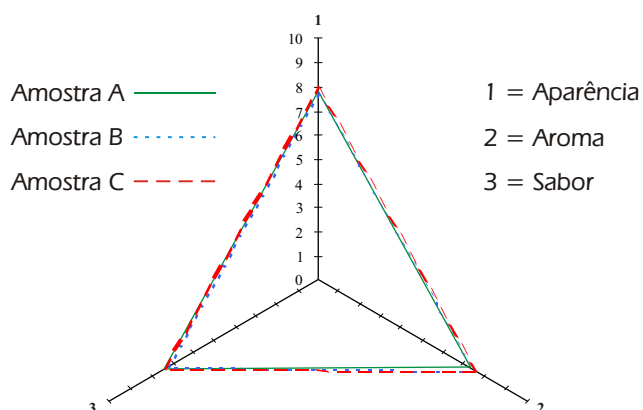


Tabela 2. Resultado das análises físico-químicas da aguardente de mandioca.

Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
Acidez total (meg H2SO4/ 100mL)	58,800 9,800	Densidade (g/ mL)	0,949±0,015
Acidez volátil (meg Ac. Ac./ 100 mL)	46,000 33,045	Sólidos totais (g/ 100 mL)	0,459±0,267
A. Redutores (g/L)	0,031 0,001	Teor alcoólico (°GL)	40±0,5
Cinzas (g/ 100 mL)	0	pH	4,25±0,5

Tabela 3. Valores médios das análises sensoriais para os diferentes atributos.

Amostra	Aparência	Aroma	Sabor
A	7,767	7,267	7,433
B	7,600	7,467	7,133
C	7,867	7,567	7,367

Tabela 4. Resultados dos testes t Students a 95 % de significância.

Amostras Comparadas	Aparência	Amostras Comparadas	Aroma	Amostras Comparadas	Sabor
A-B	0,0273	A-B	0,0437	A-B	0,0164
B-C	0,0358	B-C	0,0179	B-C	0,0537
C-A	0,0554	C-A	0,0432	C-A	0,0123

4. CONCLUSÕES

No processo de hidrólise do amido, a concentração de glicose alcançou 17 %, pois as enzimas do malte de milho sofreram inibição por desnaturação térmica. A graduação alcoólica após a fermentação foi de 5,5 °GL devido à baixa atividade aquosa do mosto.

Após o processo de destilação, a aguardente de

mandioca obtida teve todas as suas qualidades dentro das normas brasileiras. Quando a aguardente foi comparada com aguardentes já comercializadas, suas características sensoriais não possuíram diferenças significativas. Isto mostrou que a produção da aguardente de mandioca é viável e pode, assim, agregar valor a esta cultura.

5. REFERÊNCIAS

ASCAR, J. M.. Alimentos: Aspectos Bromatológicos e Legais. Análise Percentual. v.01. 1ª Ed.. UNISINOS Editora. São Leopoldo RS - Brasil. 1995.

ATALA, D. I. P.; JACYNTHO, G.; LOPES, P. F. e MAUGERI FILHO, F. Estudo do comportamento fermentativo da *Saccharomyces cerevisiae* em meios contendo alta osmolaridade. Anais do XIV COBEQ (CD), Natal, 2002.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein. Utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72. 248-254, 1976.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. A. e SCHMIDELL, W. Biotecnologia na produção de alimentos. v. 5, 1ª Ed., Serie Biotecnologia Industrial. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo, Brasil, 2001, 528p.

HOLLOWAY, W. D.; MONRO, J. A.; GURNSEY, J. C., POMARE, E. W.; STACE, N. H. Dietary fiber and other constituents of some Tongan foods. *Journal of Food Science*, v. 50, p. 1756-1757, 1985.

LEONEL, M. e CEREDA, M. P. Avaliação da concentração de pectinase no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para obtenção de etanol. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 20, n. 2, 2000.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E. BORZANI, W. e SCHMIDELL, W. Processos Fermentativos e Enzimáticos. v. 03. 1º Ed., serie Biotecnologia Industrial. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo - SP, Brasil, 2001, 598p.

MENEZES, T. J. B. Etanol, o Combustível do Brasil. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres Ltda., 1980.

REGULY, Júlio Carlos. Biotecnologia dos Processos Fermentativos. Editora Universitária/UFPel. Vol. 1, 1996.

SANTANA, J. C. C. Recuperação das Enzimas e -amilases em Sistema Bifásico Aquoso PEG/ CaCl₂ para Uso como Biocatalizador de Amiláceos. Campinas SP, FEQ/ UNICAMP, 2003, 232p. (Dissertação de Mestrado)

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; & BARBETTA, P. A. Análise Sensorial de Alimentos. Série Didática. Florianópolis: Editora UFSC, 1987, p 18 - 102.

TROVATI, J.; GALVÃO, C. M. e GIORDANO, R. L. C. Produção Contínua de Etanol a partir de Amido, utilizando Amiloglicosidase e *Saccharomyces cerevisiae* coimobilizadas em geral de Pectina. Anais do XIV COBEQ (CD), Natal, 2002.

ZANIN, G. M. et al. Brazilian Bioethanol Program. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. v. 84-86, p. 1147-1161, 2000.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão das bolsas.