

OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE  
PUBA COMO MATÉRIA-PRIMA NA PRODUÇÃO DE ETANOL

01/93

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE

PUBA COMO MATÉRIA-PRIMA NA PRODUÇÃO DE ETANOL

Parecer  
Este exemplar corresponde a redação final da  
tese defendida por Benjamim de Almeida Mendes  
e aprovada pela Comissão Julgadora em  
11.01.93.

*Mendes*

Benjamim de Almeida Mendes *LM 586*

Farmacêutico-Bioquímico

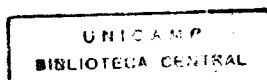
Mestre em Tecnologia de Fermentações

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Iracema de Oliveira Moraes

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da  
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título  
de Doutor em Engenharia de Alimentos

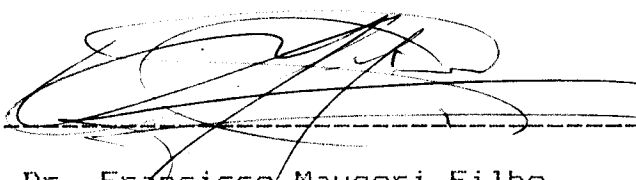
Campinas, SP, 1992



BANCA EXAMINADORA

*Moras*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Iracema de Oliveira Moraes  
(orientadora)

  
Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho  
(membro)

*Ranulfo Monte Alegre*

Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre  
(membro)

*Suzanna Garcia*  
*Garcia*  
Dr.<sup>a</sup> Terezinha de Jesus Garcia Salva  
(membro)

*Tos Barreto*  
Dr. Tobias José Barreto de Menezes  
(membro)

*Suplente*

Prof. Dr. Yoon Kil Chang  
(membro)

*Suplente*

Prof. Dr. Euclides Honório de Araújo  
(membro)

Campinas, 11 de *Janeiro* de 1998.

A Deus - Fonte da Vida, do Amor e da Sabedoria.

Ao Povo Brasileiro - que sempre paga a conta.

Aos meus pais, Mendes e Donana, aos meus dez irmãos vivos e aos dois falecidos (in memoriam).

A Heloísa, esposa, aos filhos Marco Aurélio, Bruno e Giselle e a Lucy - companheiros do dia-a-dia.

Aos que nos antecederam na construção da História e da Ciência.

Aos Incógnitos, os nunca citados, heróis do cotidiano.

A todos vocês dedico este trabalho e a minha eterna gratidão.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho é uma produção coletiva, como tal, foi feito a mil mãos. Dentre tantas gostaria de destacar algumas individualmente e outras institucionalmente, que contribuíram de maneira mais perceptível para a sua execução.

A Universidade Federal de Viçosa que incentivou e permitiu o meu afastamento para treinamento.

A Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP e seus funcionários por me terem propiciado crescimento e felicidade.

A Professora Iracema de Oliveira Moraes pela orientação, confiança depositada, liberdade de ação acadêmica e política e pela amizade.

Aos Professores e Professoras Francisco Maugeri Filho, Ramon Garcia, Flávio Tavares, José Frederico de Magalhães Siqueira, Ricardo Frederico Euclides, Gilberto Paixão Rosado, Débora Tavares, Norma Mancilla Diaz (in memoriam) e Herbert

Fridolim Wirth Kerr (in memoriam), por terem sido os amigos e colaboradores que fizeram crescer o respeito, a solidariedade e a amizade entre as pessoas junto às quais conviveram.

Ao Pesquisador do IAC Dr. José Osmar Lorenzzi, pelo apoio, amizade, piadas e amostras de mandioca utilizadas neste trabalho.

Ao Pesquisador da Petrobrás Dr. Gabriel Henriques da Silva pela cessão dos trabalhos e relatórios internos da Petrobrás sobre produção de etanol.

Aos proprietários do Posto Rejane de Viçosa, Débora e Marcos, pelo acompanhamento dos preços de gasolina e etanol, a partir de 1980.

A Léia Barbosa de Araújo, a gratidão pela crença nos Valores, no futuro do Homem e pelo apoio em momentos delicados de minha vida.

A bibliotecária Thereza Cristina Silva, pela correção da Revisão Bibliográfica.

A Ana Maria do Carmo Silva e Maria das Graças L.S. de Freitas, pelo serviço de digitação e impressão.

Aos companheiros e companheiras Paulo Sérgio, Cláudio Henrique, Ribas, Marcos, Evandro, Bruno, Ivan, Rosana, Bel, Fifa, Iriani, Luciane e Mitie, pela colaboração que cada um(a), a seu tempo, deu na execução deste trabalho.

A Maria Domingos Gonçalves, pelo eterno bom humor e pelos 9.200 tubos de ensaio perfeitamente lavados e limpos.

Aos colegas, amigos e amigas da pós-graduação: José Humberto, Paulo Sobral, Jonas, Aldo, Ortega, Roger, Vivaldo, Fernandinho, Wilsinho, Cida, Gisela e Acácia, pelo coleguismo, solidariedade, amizade e mútuo incentivo.

A CAPES/PICD, pelo auxílio financeiro.

A Associação Brasileira de Indústrias de Alimentação (ABIA), pela edição das cópias desta tese.

A Morena F.M., "companheira das madrugadas".

Aos incógnitos e inominados, construtores do passado e do futuro, que contribuem sempre.

## CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS .....	xiv
LISTA DE FIGURAS .....	xxi
NOTAÇÃO E NOMENCLATURA .....	xxiii
RESUMO .....	xxvii
SUMMARY .....	xxx
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Problemas .....	1
1.2. Hipótese de Trabalho .....	2
1.3. Objetivos .....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1. Mandioca .....	5
2.1.1. Origem e Produção .....	5
2.1.2. Composição Química da Raiz de Mandioca e Teor de Ácido Cianídrico .....	6
2.1.3. Matéria-Prima para Produção de Etanol ...	7
2.2. Puba .....	8



	Página
2.3. A Crise Energética e o PROALCOOL .....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	16
3.1. Obtenção da Puba .....	16
3.1.1. Mandioca .....	16
3.1.2. Água para Pubagem .....	17
3.1.3. Pubadores .....	17
3.1.4. Pubagem .....	19
3.1.4.1. Fluxograma .....	19
3.1.4.2. Condições de Pubagem .....	19
3.1.4.3. Monitoramento da Temperatura Du- rante a Pubagem Natural, ao Ar Livre .....	22
3.1.4.4. Tamisação .....	23
3.1.4.5. Decantação, Sifonação, Expres- são e Secagem da Puba .....	24
3.2. Análises e Caracterização da Puba, Polvilho Aze- do, Amido e Mandioca Com e Sem Casca .....	24
3.2.1. Matérias-primas .....	24
3.2.1.1. Puba .....	26
3.2.1.2. Amido .....	26
3.2.1.3. Polvilho Azedo .....	28
3.2.1.4. Massa de Mandioca Com e Sem Cas- ca .....	28
3.2.2. Padronização Granulométrica .....	28
3.2.2.1. Das Amostras Secas ao Sol e Lio- filizadas .....	28
3.2.2.2. Das Amostras Congeladas e em Suspensão .....	29
3.2.3. Composição Química Centesimal das Amos- tras .....	30
3.2.3.1. Umidade .....	30

	Página
3.2.3.2. Fração Protéica .....	30
3.2.3.3. Fração Lipídica .....	30
3.2.3.4. Resíduo Mineral Fixo .....	31
3.2.3.5. Fibra .....	31
3.2.3.6. Carboidratos .....	31
3.2.4. Outras Propriedades das Amostras .....	31
3.2.4.1. Amido Danificado (A.D.) .....	31
3.2.4.2. Acidez Áquo-Solúvel (A.Aq.S.) ..	32
3.2.4.3. Acidez Álcool-Solúvel (A.Al.S.)	33
3.2.4.4. Teor de Amilose "Blue-value" (B.V.) .....	33
3.2.4.5. Índice de Absorção de Água - I.A.A. ....	34
3.2.4.6. Índice de Solubilidade em Água - I.S.A. ....	35
3.2.4.7. Propriedades de Pasta .....	35
3.2.4.8. Exame Microscópio .....	37
3.3. Gelatinização, Liquefação e Sacarificação das A- tras .....	37
3.3.1. Gelatinização - G .....	39
3.3.2. Hidrólise (Liquefação) - H .....	42
3.3.3. Sacarificação - S .....	43
3.3.3.1. Procedimentos Gerais .....	43
3.3.3.2. Determinação de A.R.T. ....	44
3.3.3.3. Análise dos Resultados das Sacar- ificações .....	45
3.3.4. Fermentações - FERM. ....	45
3.3.4.1. Aspectos Gerais .....	45
3.3.4.2. Meios de Cultura e Solução de Sais .....	48

3.3.4.2.1. Meio de Cultura Utilizado para Preparo do Inóculo .....	48
3.3.4.2.2. Meio de Fermentação ..	48
3.3.4.2.3. Solução de Sais .....	49
3.3.4.3. Preparação do Inóculo e da Fermentação .....	49
3.3.4.4. Determinação da Concentração de Massa Celular [X] <sub>0</sub> .....	50
3.3.4.5. Determinação Eletrométrica do pH ..	51
3.3.4.6. Determinação da Concentração de Substrato [S] <sub>0</sub> .....	51
3.3.4.7. Determinação da Concentração de Etanol [P] <sub>0</sub> .....	52
3.3.4.8. Análise dos Resultados das Fermentações .....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
4.1. Resultados da Pubagem .....	54
4.2. Composição Química Centesimal das Amostras .....	55
4.3. Amido Danificado (A.D.), Acidez Alcool-Solúvel (A.Al.S.), Acidez Áquo-Solúvel (A.Aq.S.), "Blue-Value" (B.V.), Índice da Absorção de Água (I.A.A.) e Índice de Solubilidade em Água (I.S.A.) .....	58
4.4. Parâmetros Viscoamilográficos Obtidos a Partir das Suspensões de Amido, Puba, Polvilho Azedo e Massa de Mandioca .....	61
4.5. Exame Microscópico .....	64
4.6. Sacarificações .....	65
4.6.1. Preliminares .....	65
4.6.2. Modelagem Matemática .....	67
4.6.2.1. Modelo Cúbico .....	67

4.6.3.	ART a Ser Produzido (St), sua Concentração Equivalente (C.Eq.) e Massa de ART Produzida Devido à Sacarificação (M.S.Sac), Total até a Sétima Hora (M.S.7) e Total ao Final da Sacarificação (M.S.f.) .....	70
4.6.3.1.	Massa de ART Correspondente à Conversão Total do Amido Inicial - St .....	70
4.6.3.2.	Concentração Equivalente - C.Eq.	70
4.6.3.3.	Massa de ART Produzida .....	72
4.6.4.	Parâmetros Cinéticos das Sacarificações: Rendimentos, Produtividades e Eficências	73
4.6.4.1.	Rendimento na Sacarificação e Rendimento Global - Rs e Rg ....	73
4.6.4.2.	Produtividade na Sacarificação e Produtividade Global - PSAs e PSAi .....	74
4.6.4.3.	Eficiência nas Sacarificações e Eficiência Global - es e eg ....	75
4.7.	Fermentações .....	76
4.7.1.	Preliminares .....	76
4.7.2.	Parâmetros Observados e Estimados nas Fermentações FERM.01 a 23 .....	76
4.7.3.	Modelagem Matemática .....	80
4.7.3.1.	Modelo Cúbico para Variação de pH, Consumo de Substrato e Formação de Etanol .....	81
4.7.3.2.	Modelo Logístico-Mendesiano para Crescimento Celular. Uma Proposta .....	88
4.7.4.	Parâmetros Cinéticos e Outros Resultados Apostos às Tabelas 15, 21 e 22 .....	97
4.7.4.1.	Transformação de [P]f (g/l) em [P]f (°G.L.) .....	97

4.7.4.2. Resultados dos Tempos de Geração (Tg), dos Rendimentos; Massa Celular/Substrato ( $Y_{X/S}$ ), Etanol/Substrato ( $Y_{P/S}$ ) e Etanol/Massa Celular ( $Y_{P/X}$ ); das Produtividades; Massa Celular/Substrato ( $P_{XS}$ ), Etanol/Substrato ( $P_{PS}$ ) e Etanol/Massa Celular ( $P_{PX}$ ) e das Variações Percentuais de Massa Celular (V.M.C.) .....	99
4.8. Resumo dos Melhores Resultados Obtidos .....	105
4.8.1. Nas Sacarificações, até a Sétima Hora ...	105
4.8.1.1. Com Amostras Gelatinizadas .....	105
4.8.1.2. Com Amostras Cruas .....	105
4.8.2. Nas Fermentações Alcóolica, até a Décima Segunda Hora .....	106
5. CONCLUSÕES .....	108
6. SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES .....	111
5.1. Sugestões .....	111
5.2. Recomendações .....	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	114
APÊNDICE .....	127

## LISTA DE TABELAS

		Página
1	Condições dos Experimentos de Pubagem, Ambiente de Pubagem (A.P.), Tipo de Pubador (T.P.), Variedade(s) da Mandioca (V.M.), Massa de Mandioca (M.M.), Massa de Água (M.A.), Idade da Mandioca (I.M.) e pH Inicial da Água de Pubagem (pH da A.P.) .....	21
2	Correspondência entre o Código das Amostras, Origem, Produto e Condições de Conservação ou Processamento .....	25
3	Correspondência entre as Sacarificações, SAC.1 a 41 e Amostras (AM), Tratamentos (Trat.), Concentrações P/P (Conc.), Massas das Amostras (M.Am.), Massas Reacionais (M.Reac.), Volumes das Enzimas nas Hidrólises e Sacarificações, pHs e Tempos ...	40
4	Resultados das Condições de Pubagem .....	54
5	Composição Química das Amostras Estudadas .....	56
6	Valores de Amido Danificado (A.D.), Acidez Alcool-Solúvel (A.Al.S.), Acidez Aquo-solúvel (A.Aq.S.), "Blue-value" (B.V.), Índice de Absorção de Água (I.A.A.) e Índice de Solubilidade em Água (I.S.A.) nas Amostras Estudadas .....	58
7	Valores dos Parâmetros Viscoamilográficos Obtidos a Partir das Suspensões de Amido, Puba e Massa de Mandioca .....	62

8	Valores da Massa de Amido (M.Am), Massa Reacional (M.Reac.), Massa de ART Correspondente à Conversão Total do Amido Inicial (S.t.) e de seu Equivalente em Concentração (C.Eq.) nas Sacarificações Estudadas. SAC.13 a 41 .....	66
9	Valores das Concentrações de ART Inicial ( $S_{Di}$ ), à Sétima Hora ( $S_{D7}$ ), Final ( $S_{Df}$ ), das Diferenças entre Elas ( $\Delta S_{DZ}$ e $\Delta S_{Df}$ ), da Massa de ART Gerada nas Sacarificações até a Sétima Hora (M.S.sac), da Massa Total de ART Produzida até a Sétima Hora (M.S.7) e da Massa Final de ART (M.S.f), nas Sacarificações Estudadas. SAC.13 a 41 .....	68
10	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART em Função do Tempo, nas Sacarificações Estudadas .....	69
11	Valores dos Rendimentos ( $R_s$ , $R_g$ ); das Produtividades (PSAs, PSAi) e das Eficiências (es, eg); Obtidos até a Sétima Hora nas Sacarificações Estudadas SAC.13 a 41 .....	72
12	Correspondência Existente entre as Fermentações, Amostras, Sacarificações, Tratamento Durante a Sacarificação, Origem e Produtos .....	77
13	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 01 .....	78
14	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 12 .....	79
15	Tempo de Fermentação (T.F.), Valores Iniciais, Finais e Respectivas Diferenças para pH, Concentração de Células, Açúcares Redutores e Etanol nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora .....	80
16	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação do pH do Meio em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas .....	82
17	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas .....	84

18	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de Etanol em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas .....	87
19	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de Microrganismos em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas ..	91
20	Valores das Concentrações de Massa Celular Inicial (Observada, $X_{oi}$ e Estimada, $X_{ei}$ ) e Finais (Observada, $X_{of}$ e Estimada, $X_{ef}$ ); das Constantes d, (a+d), dos Tempos $[T(\mu_{xm})]$ , $\mu_{xm}$ , Concentrações Celulares Estimadas em $t(\mu_{xm})$ e Derivadas Temporais em $t(\mu_{xm})$ , nas Fermentações Estudadas. FERM.01 a 23 .....	98
21	Valores do $T_g$ , das $\mu_x$ , $\mu_s$ e $\mu_p$ Máximas (Pontuais), de $Y_x/s$ , $Y_p/s$ , $Y_p/x$ ; e das Produtividades: Massa Celular/Substrato, Etanol/Substrato e Etanol/Massa Celular e Variação da Massa Celular nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora .....	99
22	Valores de S.U. (%), $[P]$ , $E(i)$ , $E(r)$ , $e(si)$ , $e(sc)$ , $R(si)$ e $R(sc)$ nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora .....	102
1A	Preços, ao Consumidor, de Etanol, Gasolina e Razão Percentual entre eles, de 1980 (01/01) até 1992 (21/11) .....	128
2A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.13 .....	132
3A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.14 .....	133
4A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.15 .....	134
5A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.16 .....	135
6A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.17 .....	136



7A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.18 .....	137
8A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.19 .....	138
9A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.20 .....	139
10A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.21 .....	140
11A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.22 .....	141
12A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.23 .....	142
13A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.24 .....	143
14A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.25 .....	144
15A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.26 .....	145
16A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.27 .....	145
17A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.28 .....	146
18A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.29 .....	146
19A	Valores das Concentrações de ART ([S] <sub>D</sub> e [S] <sub>S</sub> ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.30 .....	147

20A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.31 .....	147
21A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.32 .....	148
22A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.33 .....	148
23A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.34 .....	149
24A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.35 .....	149
25A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.36 .....	150
26A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.37 .....	150
27A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.38 .....	151
28A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.39 .....	151
29A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.40 .....	152
30A	Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$ e $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC.41 .....	152
31A	Valores das Concentrações de ART Inicial ( $S_{Si}$ ), à Sétima Hora ( $S_{S7}$ ), Final ( $S_{Sf}$ ), das Diferenças entre Elas ( $\Delta S_{S7}$ e $\Delta S_{Sf}$ ), da Massa de ART Gerada nas Sacarificações até a Sétima Hora (M.S.S.sac), da Massa Total de ART Produzida até a Sétima Hora (M.S.S.7) e da Massa Final de ART (M.S.S.f), nas Sacarificações Estudadas. SAC.13 a 41. Dados Obtidos pelo Somogyi-Nelson .....	153

32A	Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART (pelo Somogyi-Nelson) em Função do Tempo, nas Sacarificações Estudadas .....	154
33A	Valores dos Rendimentos (RsS, RgS); das Produtividades (PSAsS, PSAiS) e das Eficiências (ess, egs); Obtidos até a Sétima Hora nas Sacarificações Estudadas SAC.13 a 41, com Resultados pelo Somogyi-Nelson .....	155
34A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 02 .....	156
35A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 03 .....	157
36A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 04 .....	158
37A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 05 .....	159
38A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 06 .....	160
39A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 07 .....	161
40A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 08 .....	162
41A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 09 .....	163
42A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 10 .....	164
43A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 11 .....	165
44A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 13 .....	166
45A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 14 .....	167
46A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 15 .....	168
47A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 16 .....	169

48A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 17 .....	170
49A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 18 .....	171
50A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 19 .....	172
51A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 20 .....	173
52A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 21 .....	174
53A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 22 .....	175
54A	Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 23 .....	176

## LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Fluxograma da Produção de Etanol a Partir de Mandioca. Hidrólise Enzimática .....	15
2	Pubadores. (A) Cerâmico: Experimentos 1 e 3; (B) Polietilênico: Experimentos 2, 4 e 6; (C) Cerâmico com Fundo de Cimento e Cal: Experimento 5 ....	18
3	Fluxograma de Produção de Puba em Pó, em Bolos de Carimã e em Suspensão .....	20
4	Esquema do Sistema de Monitoramento da Temperatura de Pubagem Natural ao Ar Livre: (A) Pubador Cerâmico; (B) Junta Fria; (C) Registrador .....	22
5	Esquema Explicativo dos Tratamentos e Origem das Amostras de Amido, Puba e Massa de Mandioca, nos Experimentos 1 a 9 .....	27
6	Esquema do Sistema para Gelatinização, Hidrólise e Sacarificação .....	38
7	Esquema do Minifermentador .....	47
8	Viscoamilogramas das Amostras A.01, A.16, A.02, A.03 e A.22. Concentração 6% (P/V) .....	63
9	Concentração de ART x Temp <sub>g</sub> na SAC.41.3 [S] <sub>1</sub> = 56,20 + 0,3619T - 0,000591T <sup>2</sup> + 2,7051E-7T <sup>3</sup> (R <sup>2</sup> = 0,9943) .....	71

10	pH x Tempo na FERM.14, $pH_t = 4,093 + 0,0321T - 0,02446T^2 + 0,001384T^3$ ( $R^2 = 0,9987$ ) .....	83
11	Concentração de ART x Tempo na FERM.13, $[S] = 67,51 - 0,5576T - 0,805T^2 + 0,03108T^3$ ( $R^2 = 0,9965$ ) .....	85
12	Concentração de Etanol x Tempo na FERM.4, $[P] = 1,076 + 0,4158T + 0,0651T^2 + 0,0065T^3$ ( $R^2 = 0,9997$ ) .....	89
13	Logística-Mendesiana Representando a Variação da Massa Celular com o Tempo, suas Assíntotas Primeira Derivada e Velocidade Específica de Crescimento .....	92
14	Concentração de Massa Celular x Tempo na FERM.23, $[X] = [3,022/(1 + 47,33 e^{-0,5941T})] + 1,373$ ( $R^2 = 0,9998$ ) .....	95
15	Fluxograma da Produção de Etanol de Mandioca - Puba. Hidrólise Enzimática .....	110

## NOTAÇÃO E NOMENCLATURA

AM = Amostra.

AMG = Amiloglicosidase.

AR = Açúcares Redutores, expresso em glicose.

ART = Açúcares Redutores Totais, expresso em glicose.

B.S. = Base Seca.

B.U. = Base Úmida.

DNS = Ácido 3-5, Dinitrossalicílico.

DEA = Departamento de Engenharia de Alimentos.

DTA = Departamento de Tecnologia de Alimentos.

F = Fração.

G = Gelatinização.

G = Gravidade(s).

H = Hidrólise (liquefação).

$^{\circ}\text{GL}$  = Grau Gay-Lussac.

IAL = Instituto Adolfo Lutz.

IAC = Instituto Agronômico de Campinas.

I.P.V.A. = Imposto sobre a Propriedade de Veículos Automotores.

I.V.V. = Imposto sobre Vendas a Varejo de Combustíveis Líquidos e Gasosos.

R = Resfriamento.

$r_e = r_p = dP/dt = [P]$  = Velocidade de Formação de Etanol,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

$r_s = dS/dt = [S]$  = Velocidade de Consumo de Substrato,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

$r_x = dX/dt = [X]$  = Velocidade de Crescimento Celular,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

$r^2$  = Coeficiente de Determinação.

R.P.M. = Rotações por Minuto.

$[P]$  = Primeira Derivada Temporal da Função Concentração de Etanol,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

$[P]_e$  = Concentrações de Etanol Estimada,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

$[P]_{ei}$ ,  $[P]_{ef}$  = Concentração de Etanol Estimada Inicial e Final,  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ .



[P]o = Concentração de Etanol Observada,  $g \cdot l^{-1}$ .

[P]oi, [P]of = Concentração de Etanol Observada Inicial e Final,  $g \cdot l^{-1}$ .

P.V.C. = Policloreto de Vinil.

S = Sacarificação.

[S] = Concentração de Substrato,  $g \cdot l^{-1}$ .

SAEG = Sistema de Análises Estatísticas da UFV.

[S]<sub>D</sub> = Concentração de Substrato obtida pelo DNS,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S]e = Concentração de Substrato Estimada,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S]<sub>S</sub> = Concentração de Substrato obtida pelo Somogyi-Nelson,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S]ei, [S]ef = Concentração de Substrato Estimada Inicial e Final,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S]o = Concentração de Substrato Observada,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S]oi, [S]of = Concentração de Substrato Observada Inicial e Final,  $g \cdot l^{-1}$ .

[S] = Primeira Derivada Temporal da Função Concentração de Substrato,  $g \cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$ .

S.N. = Somogyi-Nelson.

U.B.S. = Umidade em Base Seca.

U.B.U. = Umidade em Base Úmida.

U.F.V. = Universidade Federal de Viçosa.

[X] = Concentração Celular,  $g \cdot l^{-1}$ .

[X] = Primeira Derivada Temporal da Função Concentração Celular,  $g \cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$ .

[X]e = Concentração Celular Estimada,  $g \cdot l^{-1}$ .

[X]o = Concentração Celular Observada,  $g \cdot l^{-1}$ .

[X]oi, [X]of = Concentração Celular Observada Inicial e Final,  $g \cdot l^{-1}$ .

## RESUMO

Seis experimentos de pubagem foram realizados com vistas à obtenção de puba. Utilizaram-se três variedades de mandioca, dois tipos de pubadores e duas condições de pubagem. A puba obtida foi submetida às análises: composição centesimal, granulometria, amido danificado, acidez, água, e álcool solúveis, "blue-value", índice de absorção e de solubilidade em água, propriedades de pasta e exame microscópico. Os resultados obtidos serviram para caracterizar a puba e permitiram a comparação com os obtidos para amido, polvilho azedo e massa de mandioca com e sem casca.

A puba obtida e a adquirida no comércio, bem como amostras de amido de mandioca, polvilho azedo e massa de mandioca com e sem casca foram submetidas a 27 ensaios de gelatinização a 85°C, 22 ensaios de liquefação com alfa-amilase, em diversas condições e 39 ensaios de sacarificação com amiloglicosidase, em condições variadas. A formação de açúcares redutores totais (ART) foi acompanhada pelo método de

Somogyi-Nelson e do ácido 3,5 dinitrossalicílico (D.N.S.), a cinética foi verificada, modelos matemáticos e suas representações gráficas, traduzindo a variação de ART x tempo, foram propostos.

Os produtos das gelatinizações, liquefações e sacarificações foram utilizados como matérias-primas para vinte e duas fermentações alcoólicas, cujos resultados foram comparados entre si e com os obtidos da fermentação de uma amostra de sacarose.

Nas vinte e três fermentações conduzidas utilizaram-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* M 304-2C, concentrações de ART variando de 29,90 a 120,24 g/l, a temperatura de 36°C e pH inicial do mosto próximo a 4,0. As fermentações foram acompanhadas através das determinações da concentração de massa celular, variação de pH, consumo de ART e formação de etanol. Os resultados assim obtidos foram analisados pelo Sistema de Análises Estatísticas - UFV (SAEG) gerando modelos matemáticas e suas respectivas representações gráficas. A partir da análise dos resultados obtidos de concentração de massa celular x tempo desenvolveu-se o modelo logístico-mendesiano, segundo o qual  $[X] = [a/(1 + be^{-cT})] + d$ . Os resultados obtidos no acompanhamento das fermentações permitiram o cálculo dos seguintes parâmetros: tempo de geração; rendimentos: massa celular/substrato, etanol/substrato, etanol/massa celular; produtividades; massa celular/substrato, etanol/substrato, etanol/massa celular; variações percentuais de massa celular; velocidades específicas de: crescimento, consumo de substrato e formação de etanol; percentual de substrato utilizado;

eficiência global teórica e real e rendimento global teórico e relativo ao ART consumido. Todos esses valores foram comparados internamente e verificou-se que a puba pode ser uma matéria-prima tecnicamente viável para a produção de etanol de mandioca, sem os problemas inerentes à mesma. Um fluxograma de produção de etanol, utilizando puba como matéria-prima, foi proposto.

## SUMMARY

"Puba" was produced through six alternative experiments, using three cassava varieties and two types of containers and experimental conditions. The resulting "puba" was submitted to proximate composition, particle distribution, damaged starch, water and alcohol soluble acidity, blue value, water absorption, water solubility, pasting properties analyses and microscopic examination. The results from these analyses were used to characterise and compare the "puba" with those of local commercial cassava starch (normal and fermented) and grated cassava pureé obtained from both peeled and unpeeled cassava roots.

Besides, the samples were submitted to 27 gelatinization studies at 85°C, 22 liquification trials with alfa-amilase and 39 saccharification tests with amiloglucosidase. The kinetics of total reducing sugar (TRS) production was traced by Somogyi-Nelson and 3,5 dinitrossalicilic acid (DNSA), thus establishing mathematical

models relating graphically the variation of TRS with reaction time.

The products of starch gelatinization and hydrolysis were used as raw materials for 22 alcoholic fermentations, whose results were compared to each other and to those obtained from the fermentation of a sucrose sample. *Saccharomyces cerevisiae* yeast M304-2C, a TRS concentration ranging from 29,90 to 120,24 g/l, at 36°C and a initial pH of 4,0 were used in the twenty-three fermentations conducted. The course of fermentation was accompanied through determination of cellular mass concentration, pH variation, TRS consumption and alcohol production. The results were analysed with the help of the computer program SAEG, thus developing both the mathematical models and appropriate graphical representations.

On the basis of time and cellular mass concentration results, a "Mendensian" - logistic model was established, and represented as  $[X] = [a/(1 + be^{-CT})] + d$ . The fermentation results, on the other hand, were used to calculate: the generation time; yield and productivity of cellular mass/substrate, ethanol/substrate, ethanol/cellular mass; percentage variation of cellular mass; specific growth rate; substrate consumption and ethanol formation; percentage utilization of substrate; global, theoretical and real efficiency and global, theoretical yield related to the consumed TRS. All these values were compared with internal control and it was verified that "Puba" lends itself as a viable raw material (of sthand) production from cassava. A fluxogram for its utilization in ethanol production was proposed.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. *Problemas*

Na produção de etanol de mandioca vários problemas foram levantados por MELLO e URBAN (1975), MENEZES (1979 e 1980), QUEIROZ et alii (s.d., 1982 e 1983) e por RODRIGUES et alii (1984). São eles:

- a) consumo de energia na gelatinização (cozimento) da massa de mandioca levando a um "balanço energético negativo";
- b) consumo elevado de enzimas, com altos custos;
- c) perda de etanol por adsorção às fibras presentes no mosto;
- d) necessidade de filtração do vinho para retirar as fibras;
- e) ausência de um processo de redução de tamanho que seja econômico e leve a massa de mandioca a uma granulometria adequada à eficiente ação enzimática;
- f) dificuldades no setor agrônomo; e



g) impossibilidade de estocagem da matéria-prima depois de colhida.

Esses são, dentre outros, alguns problemas existentes que podem ser minimizados ou parcialmente solucionados.

### *1.2. Hipótese de Trabalho*

Parte-se da premissa de que o processo de pubagem poderá transformar a mandioca numa matéria-prima mais viável tecnicamente, para produção de etanol. Através da pubagem a mandioca poderá ser uma matéria-prima que dispensará diminuição das raízes e apresentará: granulometria adequada, redução do teor de fibras, redução do consumo de energia e enzimas; acidificação natural da puba e o aumento da possibilidade de êxito na sacarificação da puba crua. Essas vantagens poderão compensar o aumento do tempo de processamento e tornar positivo o balanço energético da produção de etanol de mandioca.

### *1.3. Objetivos*

Visando a solução de alguns problemas existentes na utilização de mandioca como matéria-prima na produção de etanol e a otimização do processo como um todo, através da maximização de resultados em todas as etapas que o compõem, foram definidos os seguintes objetivos para este trabalho:

1. Obter a puba em suspensão, em pó e em bolos de carimã, através da reprodução, em laboratório, das técnicas utilizadas pelos produtores do Estado da Bahia.

2. Fazer estudo comparativo da composição química, propriedades de pasta e de outras propriedades físico-químicas das pubas obtidas e adquiridas no comércio, com amido, polvilho azedo e massa de mandioca moída.

Nesse estudo, o amido é o padrão, o polvilho azedo é o produto conhecido e estudado mais próximo da puba e as massas de mandioca com e sem casca são as matérias-primas com as quais as comparações devem ser feitas uma vez que a puba será uma alternativa a elas.

3. Fazer ensaios de gelatinização, hidrólise e sacarificação com as amostras de puba, amido, polvilho azedo e massa de mandioca, utilizando tratamentos diferentes nas várias etapas com vistas a privilegiar a utilização de amostras cruas. O que representa economia de energia.
4. Fermentar os produtos das sacarificações para obtenção de etanol.
5. Apresentar modelos matemáticos que traduzam o comportamento da formação de Açúcares Redutores Totais (ART), nas sacarificações e seu consumo nas fermentações, bem como a formação de etanol.
6. Desenvolver um modelo matemático de fácil utilização, que represente bem a variação da massa celular em função do tempo, numa fermentação alcoólica.
7. Conhecer e apresentar os parâmetros cinéticos resultantes das sacarificações e fermentações.

8. Apresentar um fluxograma de produção de etanol de mandioca-puba que seja uma alternativa em relação ao utilizado para a mandioca e seja tecnicamente viável.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Mandioca

#### 2.1.1. Origem e Produção

A mandioca, conhecida botanicamente sob o nome de *Manihot esculenta* Crantz é uma euforbiácea que apresenta mais de trezentas variedades (MUCHNIK, 1984) e é originária do continente americano, provavelmente do Brasil, América Central ou México. FERREIRA FILHO (1942), CEREDA (1973) e NAKAMURA et alii (1976) denominam-na *Manihot utilissima* Pohl. ou *Manihot palmata*. A maioria dos autores utilizam a primeira denominação.

Peckolt a denomina "pão dos trópicos" por constituir substancioso alimento do homem e dos animais (GODOY, 1940).

O Brasil é o maior produtor mundial de mandioca. Em 1986 alcançou uma produção de 25,62 milhões de toneladas numa

área colhida de 2,05 milhões de hectares, com um rendimento agrícola médio de 12,49 toneladas por hectare (LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA - L.S.P.A., 1991). No mesmo ano a produção mundial foi de 137 milhões de toneladas FAO (citado por CHANG, 1987). Em 1991 a produção, área colhida e rendimento dos mandiocais brasileiros foram 24,60 milhões de toneladas, 1,93 milhões de hectares e 12,57 toneladas por hectare, respectivamente (L.S.P.A., 1991). Os valores apresentados para 1986 e 1991 bem como os dos anos intermediários, não explicitados, demonstram que não houve expansão de cultura, nem aumento de produtividade agrícola da mandioca no país.

Os custos de produção elevados e a baixa produtividade, em torno de 12,5 t/ha.ano não colocam o Brasil numa posição de destaque no mercado internacional. Na prática, toda a produção brasileira é destinada à alimentação humana sob a forma de farinha de mesa e de mandioca "in natura".

#### *2.1.2. Composição Química da Raiz de Mandioca e Teor de Ácido Cianídrico*

Existe uma faixa de variação na composição química da raiz de mandioca que segundo MENEZES (1981) é a seguinte: carboidratos 83,6 a 95,2%, com teor de amido variando entre 80,0 e 89,0%; proteínas 2,1 a 6,2%; fibras 1,7 a 3,8%; lipídeos 0,2 a 0,7% e cinzas 0,9 a 2,4%. Essa variação na sua composição química é devida principalmente a dois fatores: variedade e idade.

PEREIRA et alii (1983) classificam as variedades de mandioca, quanto ao teor de ácido cianídrico, em mansas (até

10 mg de ácido cianídrico por 100 g de polpa crua das raízes), intermediárias (de 10 a 20 mg) e bravas ou tóxicas (acima de 20 mg). Na prática utiliza-se o critério: "quanto mais amarga, maior a quantidade de veneno".

### *2.1.3. Matéria-Prima para Produção de Etanol*

Na produção de etanol por via fermentativa podem-se utilizar diversas matérias-primas açucaradas: cana-de-açúcar, beterraba, sorgo sacarino, sucos de frutas, etc.; amiláceas: mandioca, milho, batata, sorgo granífero, outros cereais, raízes e tubérculos; celulósicas: madeira e resíduos agrícolas.

No Brasil, a utilização de mandioca como matéria-prima para produção de etanol iniciou-se em 1932 (MENEZES, 1980). Mais recentemente, na década de 70, houve uma tentativa de produção em grande escala efetuada pela Petrobrás na Usina de Alcool de Mandioca de Curvelo (CALMINAS), em Minas Gerais.

Em nenhum dos trabalhos consultados sobre produção de etanol de mandioca consta a preocupação dos autores com problemas como: propriedades de pasta, presença de fibras, granulometria adequada para a sacarificação e diminuição do consumo de energia no cozimento, hidrólise e sacarificação. Esses foram, dentre outros, os motivos que dificultaram a utilização da mandioca como matéria-prima na produção de etanol. A esses problemas podem se associar outros de ordem agrônômica: variedades, mecanização, manejo agrícola, manejo do solo, presença de fitopatógenos e outros que, face à

cultura de cana-de-açúcar, tornam a mandioca menos atraente e rentável que essa.

## 2.2. *Puba*

FERREIRA (1975), no seu Novo Dicionário da Língua Portuguesa, escreve: *puba* [do tupi *pubae*, 'fermentado'] S.f. 1. Bras. A mandioca posta na água até amolecer e fermentar. *Pubar*: fazer fermentar, tornar *puba* (a mandioca) e *Pubo*: fermentado, podre.

MENDES et alii (1988c) conceituam *puba* como sendo o produto da fermentação natural de raízes inteiras de mandioca, com ou sem película suberosa, produzido no Nordeste do Brasil e utilizado como alimento regional.

GRAMACHO (1975) descreve: "carimã, mandioca "puba" ou simplesmente "puba" é o produto da raiz integral que sofreu maceração, em decorrência da qual se produzem as fermentações. No processo mais rudimentar e rotineiro, as raízes são colocadas em água estagnada durante três a quatro dias, a depender da cultivar e da idade da planta, que as produziram, da temperatura da água, do pH, etc. até que amoleçam e comecem a soltar a casca. É produto tradicional do Norte e Nordeste do País, largamente empregado na culinária regional sob a forma de bolos, pamonhas, cuscuz, mingaus, pudins, etc."

No município de Entre Rios-BA, o autor acompanhou a produção e comercialização desse produto e algumas observações merecem ser destacadas:

1. A idade das plantas fornecedoras das raízes estava entre 8 e 12 meses.
2. Era removida a película subérosa mas a do córtex permanecia.
3. As raízes eram pubadas inteiras postas em barris de madeira ou em sacos de aniagem nos cursos d'água de riachos pouco profundos, de águas límpidas. Nesse caso a puba produzida era de baixa acidez.
4. Nas pubas produzidas em batelada faziam-se várias lavagens até que o odor e a acidez da puba se adequassem aos subjetivos padrões de qualidade dos produtores.
5. A comercialização do produto ocorria em feiras livres sob a forma de "aglomerados" de puba úmida chamados "bolos de carimã" ou sob a forma de pó, seco ao sol.

A primeira descrição sobre a produção de carimã (bolo branco?) foi feita pelo padre José de Anchieta e é relatada por GRAVATA (1940).

ALMEIDA et alii (s.n.t.) e ALMEIDA (1992) citam alguns gêneros e famílias de microrganismos que estão presentes na pubagem: *Corynebacterium*, *enterobacteria*, *Lactobaccilus*, *Streptococcus*, *Leucomostoc*, enterococci e "levedura de filme". Verificaram, também, que há um aumento da flora láctica e esporulada, chegando-se ao final da fermentação com essa flora representando 80% da microbiota total. Adotam a temperatura de 35°C como sendo a adequada para a pubagem e preconizam a



utilização de culturas puras (starters) para diminuição do tempo de pubagem.

CEREDA (s.n.t.) cita os gêneros *Clostridium*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, além de leveduras e bolores como participantes do microbiota responsável pela fermentação natural das raízes de mandioca e descreve: ... "para se obter esse produto (puba ou carimã), raízes de mandioca inteiras são colocadas a fermentar em água parada ou corrente (margem de rios ou riachos) por três a sete dias. Com a fermentação, o cilindro central amolece, ficando com aspecto de polpa ácida, enquanto que externamente ocorre pouca modificação. A casca se destaca com facilidade e a polpa é prensada no "tipity" e seca ao forno".

Na produção de "gari"; NGABA (1979) afirma que a fermentação das raízes de mandioca se deve principalmente aos *Lactobacillus* sp. e em menor grau aos *Streptococcus* sp., sendo eles os responsáveis pela acidez e pelo "flavor" do produto.

Segundo ALMEIDA (1992) a fermentação natural da mandioca é, dentre outras, acética, láctica e butírica. O autor verificou que a presença de ácido acético ocorre desde o início da fermentação, sendo sua concentração inicial, de 23 mg%, atingindo, ao final do processo (60 horas), o valor de 144 mg%. No tempo inicial, não foram detectados os ácidos láctico e butírico. Na oitava hora a concentração de ácido láctico era de 13,5 mg% chegando a 193 mg%, após 72 horas do início da fermentação. A detecção do ácido butírico deu-se às 32 horas do início da fermentação, na concentração de 12 mg%, chegando à 60.<sup>a</sup> hora, ao valor de 388 mg%. Segundo STANIER

(citado por ALMEIDA, 1992), essa seqüência de produção de metabólitos é típica das fermentações láctica e acetobutírica.

Quanto ao aumento do teor protéico na puba, quando comparado com a massa de mandioca moída deve-se justificar pelo mesmo mecanismo que ocorre na produção de polvilho azedo: existência de microrganismos não-simbióticos, fixadores de nitrogênio, na fermentação (CEREDA, 1987).

Além do polvilho azedo existem produtos fermentados de mandioca que são similares à puba, são eles gari, attieké, cassave, chicouangue, batons, fofou e bononoka, dentre outros. O que existe de comum entre eles é a semelhança na composição das microbiotas presentes às fermentações. Esse fenômeno, segundo DJIEN (1972), não ocorre na obtenção do "tapé ketella" (Indonésia) ou "tapé téló" (Java).

Finalmente, tem-se a dizer que a puba até o presente momento é utilizada unicamente na alimentação humana sob várias formas das quais BRANDÃO (1948) destaca beiju, bolo, mingau e pamonha de carimã e PEREIRA et alii (1983) acrescentam cuscuz e bolo de mandioca-puba.

### *2.3. A Crise Energética e o PROÁLCOOL*

No dia 09 de outubro de 1975 o Presidente Ernesto Geisel fez um pronunciamento à Nação Brasileira, pela televisão, anunciando duas medidas destinadas a reduzir o impacto na economia do excessivo aumento dos preços do petróleo, entre 1973 e 1974: US\$ 2,91 em setembro de 1973 para US\$ 12,45, em março de 1974, por barril ( $\approx$  159 l). A primeira medida era a

permissão para exploração do petróleo em território brasileiro, por companhias estrangeiras, através de "contratos de risco"; a segunda era a criação do Programa Nacional do Alcool (o PROÁLCOOL) (PENIDO FILHO, 1980) e (MACIEL, 1991).

Através do decreto n.º 76.593 de 14 de novembro de 1975 era institucionalizado o PROÁLCOOL com os seguintes objetivos, dentre outros:

- a) economizar divisas, através da substituição de importações de petróleo;
- b) redução das disparidades regionais de renda, dado que todo o País, mesmo nas regiões de baixa renda, dispõe das condições mínimas para produção de matérias-primas em volume adequado;
- c) crescimento da renda interna, pelo emprego de fatores de produção, terra e mão-de-obra principalmente, ora ociosos, ora em desemprego disfarçado.
- d) expansão da produção de bens de capital do setor alcooleiro;
- e) diminuição das desigualdades individuais de renda;
- f) criação de novos empregos: 700.000 no setor de cana-de-açúcar podendo estender-se a 1.200.000 no caso da *mandioca*.

Diante desses objetivos de relevante interesse nacional, no que pesem sérias críticas feitas por BUENO (1984) e SILVA (1986), não se pode negar que os resultados alcançados pelo Proálcool são respeitáveis: de 555.627 m<sup>3</sup> na safra 75/76

evoluiu-se para um volume de 11.728.400 m<sup>3</sup> na safra 86/87, de 11.782.928 m<sup>3</sup> na safra 90/91 (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1991) e de 12.700.000 m<sup>3</sup> na safra (91/92), além de ter empregado nessa mesma safra um contingente de mais de um milhão de trabalhadores que vivem em função do Proálcool (BERTELLI, 1992).

Pode-se verificar que o programa nacional do álcool, ao longo de sua trajetória conheceu duas fases bem distintas: de 1975 a 1979 e de 1979 até o presente.

A fase inicial foi caracterizada pela implantação das "destilarias anexas" às usinas de açúcar já existentes. A segunda, foi coincidente com novo choque no preço do barril de petróleo que se elevou de US\$ 12,26, em 1978, para US\$ 30,57, ao final de 1979; o que influiu substancialmente no endividamento externo e na economia brasileira. Dessa forma uma mudança radical nas aplicações e objetivos do programa se fez necessária e foi consubstanciada na produção de álcool hidratado para abastecimento de veículos movidos exclusivamente a etanol. Essa nova meta visava alcançar a produção de 10,7 bilhões de litros em 1985, o que exigia uma expansão anual, a partir de 1979, da ordem de 20,8%.

Em 1982, o governo estimulou o aumento da demanda de álcool combustível através de medidas como a diminuição do Imposto sobre a Propriedade de Veículos Automotores (I.P.V.A.) dos carros a álcool e a fixação do preço do álcool em valores nunca superiores a 59% do preço da gasolina. Esse percentual foi alterado para 69% e 75%, em 1986 e 1989, respectivamente. Pode-se constatar que o preço do etanol já representou 40,71%

do preço da gasolina, representando hoje, com a incidência do Imposto sobre Vendas a Varejo (I.V.V.) de combustíveis líquidos e gasosos, 78,94% (21/11/92).

Considerando-se que o poder calorífico do etanol ( $6.400 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) representa 61% do da gasolina ( $10.500 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) e assumindo-se que esse parâmetro seja o determinante na opção pelo combustível, conclui-se que o custo do etanol não deveria ultrapassar 61% do preço da gasolina, caso contrário os proprietários que optaram por veículos automotores movidos a álcool estarão pagando mais por quilômetro rodado.

Um fato é claro nas metas do PROÁLCOOL - a mandioca como matéria-prima não teve sucesso. Trabalhos do (MIC, 1975, 1979 e 1980), e estudos desenvolvidos por ARAÚJO (1969), ARAÚJO (1975), ARAÚJO FILHO (1977) e ARAÚJO (1985) mostram a viabilidade técnica da mandioca como matéria-prima para produção de etanol. Na Figura 1 apresenta-se o fluxograma de produção de etanol, a partir de mandioca, por hidrólise enzimática, adotado pelas indústrias do setor.

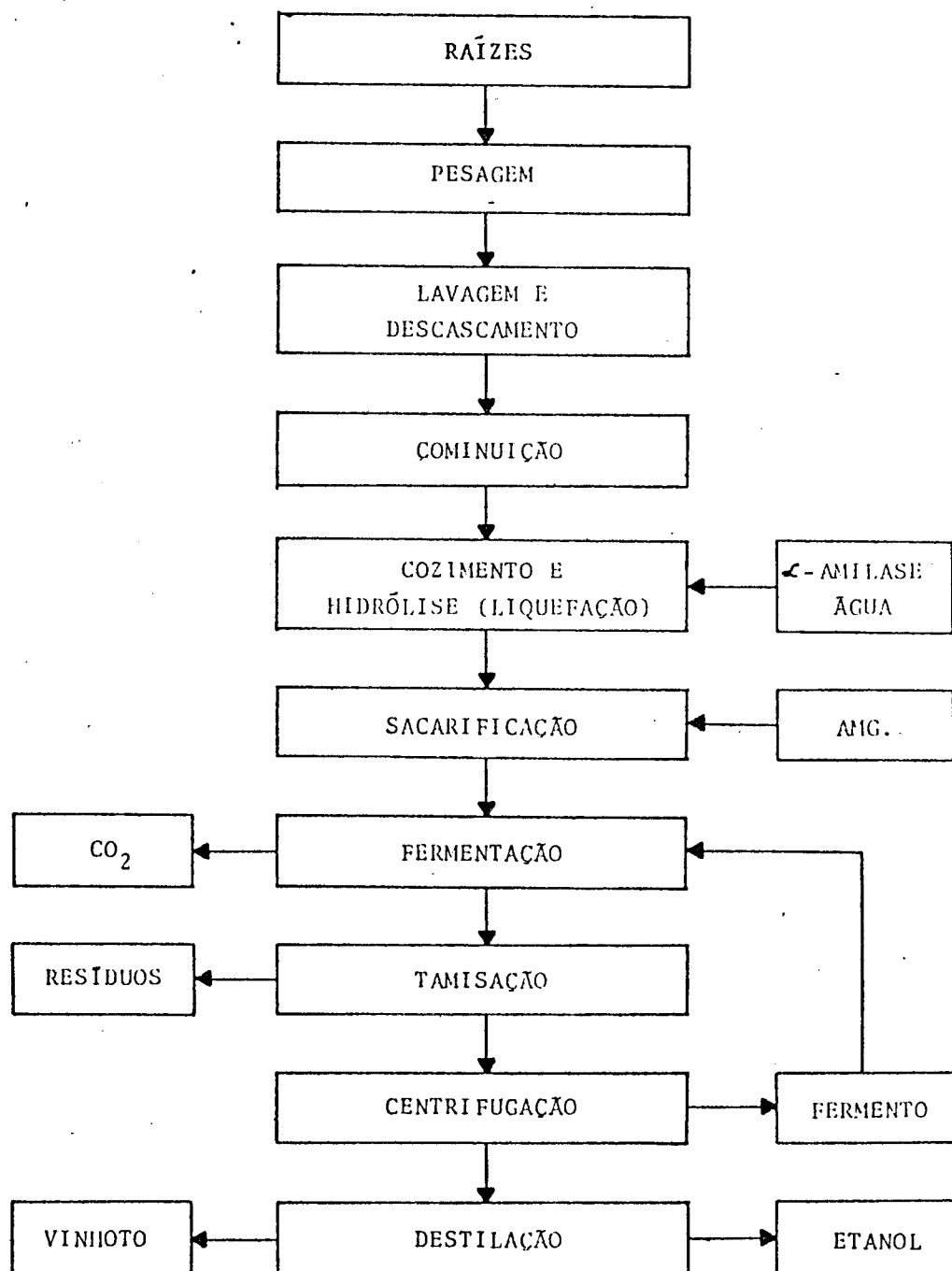


FIGURA 1 - Fluxograma da Produção de Etanol a Partir de Mandioca. Hidrólise Enzimática.

FONTE: MENEZES (1980).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. *Obtenção da Fuba*

##### 3.1.1. *Mandioca*

Tanto no experimento preliminar, desenvolvido em 1985 que gerou a amostra A-11, na UNICAMP, quanto nos seis experimentos posteriores, foram utilizadas as variedades:

- a) Cigana Preta da Bahia - CPB (IAC/SRT-1116), com idade de dezessete meses e quatorze dias;
- b) Branca de Santa Catarina - BSC (IAC/SRT-59), com a mesma idade da anterior;
- c) IAC Mantiqueira - IACM (mesa e forragem) e IAC 12-829 - IAC12 (industrial), ambas com idade de seis meses.

Todas as variedades foram cultivadas na Estação Experimental do Instituto Agronômico de Campinas (I.A.C.), em Tietê-SP.

### 3.1.2. *Água para Pubagem*

Foi retirada de cisterna existente em Barão Geraldo, Campinas-SP. A água não foi submetida a nenhum tratamento químico tendo sido apenas coada em pano de saco de algodão com duas camadas. Seu pH a 25°C era igual a 5,88.

### 3.1.3. *Pubadores*

Na Figura 2 estão representados os três tipos de pubadores que foram utilizados nos experimentos realizados. São eles:

- a) Cerâmico com fundo de cimento-amianto. Manilha cilíndrica de argila cozida, microporosa apresentando embolsamento e corpo. As dimensões relativas ao corpo são: 20,5 cm de diâmetro interno, 24,5 cm de diâmetro externo e 60 cm de altura; as dimensões relativas ao embolsamento são: 28,5 cm de diâmetro interno, 32,5 cm de diâmetro externo e 8,0 cm de altura. O volume útil é de aproximadamente 30 l, o fundo de cimento-amianto foi colado à manilha com "Durepox Plus" e o embolsamento ficou voltado para cima (Figura 2.A).
- b) Polietilênico. Bombona cilíndrica de polietileno de alta densidade com as dimensões iguais a 32,0 cm de diâmetro interno, 33,5 cm de diâmetro externo e 44,0 cm de altura. O



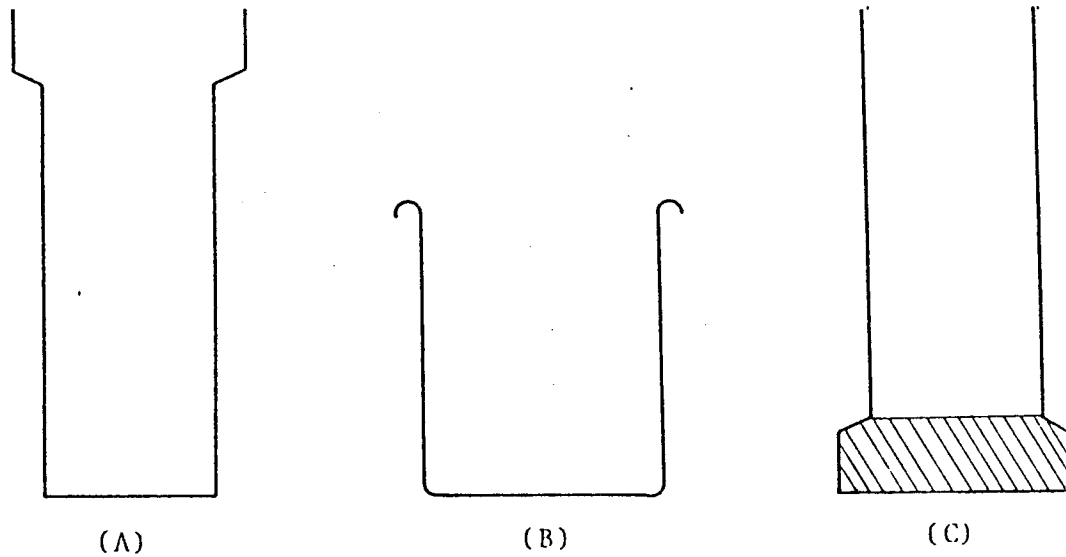


FIGURA 2 - Pubadores. (A) Cerâmico: Experimentos 1 e 3; (B) Polietilênico: Experimentos 2, 4 e 6; (C) Cerâmico com Fundo de Cimento e Cal: Experimento 5.

volume útil total é de aproximadamente 35,4 l (Figura 2.B).

c) Cerâmico com fundo de cimento e cal. Manilha cilíndrica idêntica à descrita no item a, embolsamento voltado para baixo, volume de aproximadamente 20 l e fundo feito com massa de cimento e cal (Figura 2.C).

Os pubadores cerâmicos permaneceram cheios de água de cisterna durante os cinco dias que antecederam o início da pubagem. A água utilizada nessa operação foi descartada e uma outra, limpa, foi utilizada para a pubagem.

### 3.1.4. Pubagem

#### 3.1.4.1. Fluxograma

A Figura 3 mostra o fluxograma para a obtenção de puba em pó, em bolos (carimã) e em suspensão.

#### 3.1.4.2. Condições de Pubagem

As pubagens foram conduzidas nos pubadores já descritos, abertos, com utilização de água de cisterna à razão variável, em peso, de até duas partes de água para uma parte de mandioca.

A água que evaporava era repostada a cada doze horas, até o volume inicial, tendo-se o cuidado de manter as raízes inteiras de mandioca completamente imersas. A temperatura ambiente foi monitorada através de um termohigrógrafo marca RENÉ GRAF, durante os experimentos conduzidos ao ar livre. O PH do meio de fermentação foi determinado com pH-metro digital marca MICRONAL, em amostras do meio coletadas de seis em seis ou de oito em oito horas, que após a determinação eram devolvidas aos pubadores.

A pubagem ocorreu em duas condições diferentes, a saber:

- a) Condições naturais - feita ao ar livre, sem sombras de árvores ou prédios nos pubadores durante todo o período de insolação e com monitoramento contínuo das temperaturas do meio de fermentação e do ambiente.

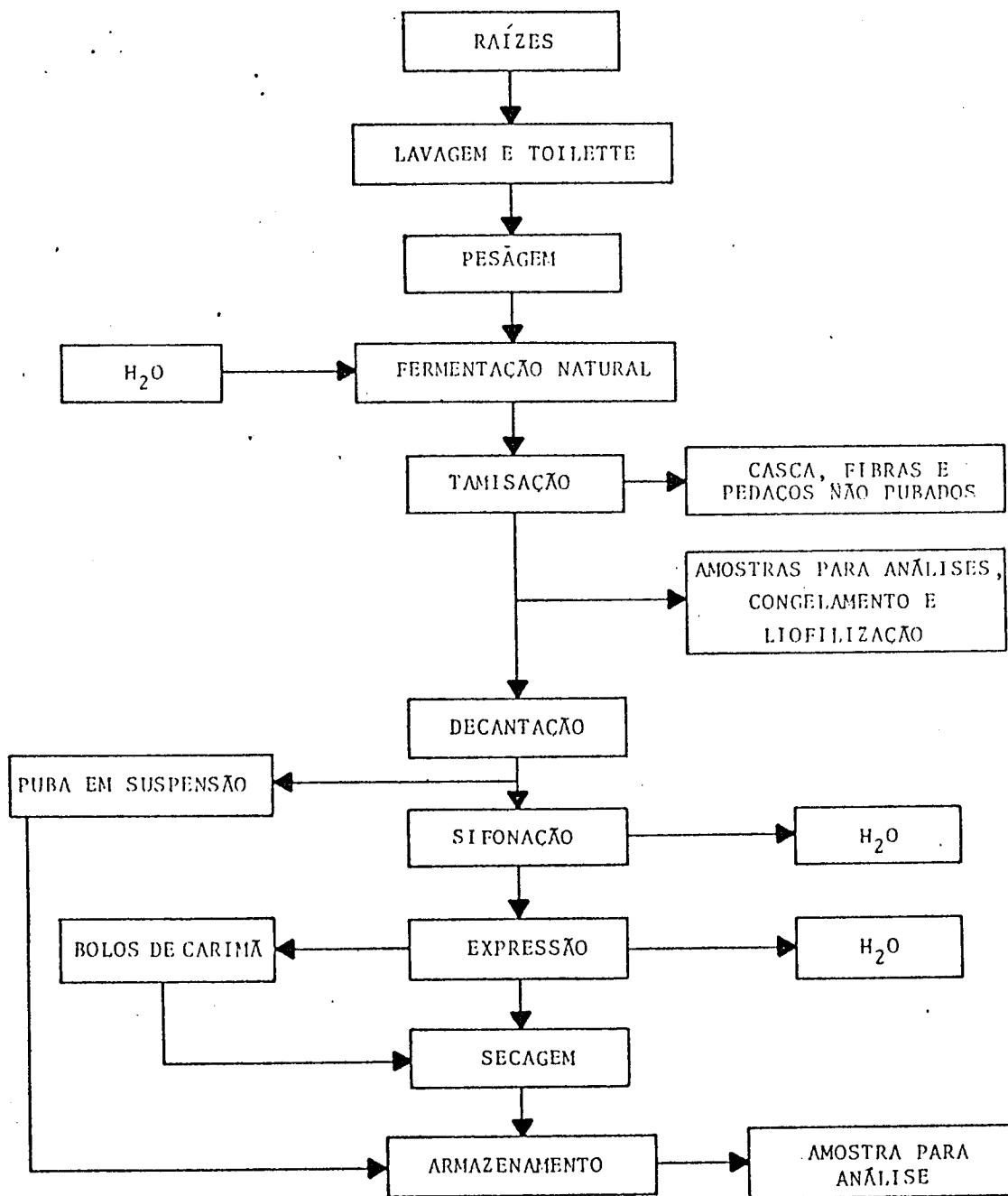


FIGURA 3 - Fluxograma para a Produção de Puba em Pó, em Bolos de Carimã e em Suspensão.

b) Câmara isotérmica com temperatura controlável - feita em câmara isotérmica, marca FANEM, com as dimensões: 2,0 m de comprimento, 1,5 m de largura e 2,0 m de altura, regulada a 30°C, com circulação de ar forçada e luz interna apagada durante o processo.

Em ambas as condições verificou-se o despreendimento de gases sob a forma de bolhas pequenas e contínuas no início e com farta formação de espuma e mudança de cor do meio ao final do processo.

Na Tabela 1 apresenta-se um resumo relacionando os experimentos realizados com os ambientes de pubagem, os tipos de pubadores, variedades de mandioca utilizadas, as massas de mandioca e de água, a idade da mandioca e os pHs iniciais da água de pubagem.

TABELA 1 - Condições dos Experimentos de Pubagem, Ambiente de Pubagem (A.P.), Tipo de Pubador (T.P.), Variedade(s) da Mandioca (V.M.), Massa de Mandioca (M.M.), Massa de Água (M.A.), Idade da Mandioca (I.M.) e pH Inicial da Água de Pubagem (pH da A.P.)

Experimento	A.P.	T.P.	V.M.	M.M. kg	M.A. kg	I.M. meses	pH da A.P.
E.1	Ar livre	Cerâmico	IACM e IAC-12	8,80	16,00	6,0	5,89
E.2	Câmara a 30°C	Polietilênico	C.P.B.	13,20	22,00	17,5	6,28
E.3	Ar livre	Cerâmico	C.P.B.	10,00	14,00	17,5	6,40
E.4	Câmara a 30°C	Polietilênico	B.S.C.	10,00	20,00	17,5	5,76
E.5	Ar livre	Cerâmico	B.S.C.	10,00	14,00	17,5	7,30
E.6	Ar livre	Polietilênico	B.S.C.	10,00	20,00	17,5	5,84

3.1.4.3. Monitoramento da Temperatura Durante a Pubagem Natural, ao Ar Livre

O acompanhamento da temperatura do meio de fermentação, nos pubadores situados ao ar livre, foi feito através de registrador monocanal, marca E.C.B, modelo RB-101 colocado na Planta-Piloto de Bioengenharia do Departamento de Engenharia de Alimentos, de acordo com o recomendado por BORCHARDT & GOMES (1971).

Na Figura 4 apresenta-se o sistema de monitoramento da temperatura onde constam pubador, termopar, junta fria, extensão e registrador.

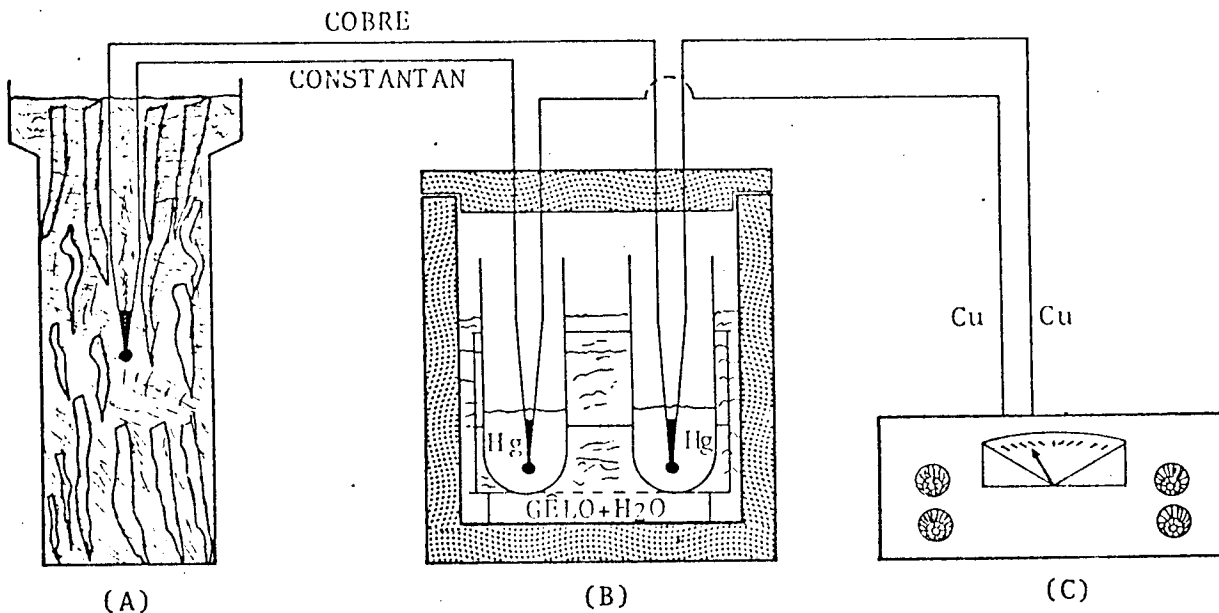


FIGURA 4 - Esquema do Sistema de Monitoramento da Temperatura de Pubagem Natural ao Ar Livre: (A) Pubador Cerâmico; (B) Junta Fria; (C) Registrador.

O termopar de cobre/constatan se estendia até a junta fria. A junta fria era formada pela ligação do par Cu/constatan a dois fios de cobre eletrolítico com  $0,3 \text{ mm}^2$  de seção reta e vinte e um metros de comprimento, cada. A junta fria foi mantida imersa em mercúrio metálico contida em dois tubos de ensaio que por sua vez estavam imersos em banho de água e gelo picado contidos num recipiente adiabático de isopor.

A extensão de cobre ligava a junta fria ao registrador. Inicialmente os fios foram protegidos por tubos de P.V.C. de uma polegada, posterior e definitivamente os fios utilizados inicialmente foram substituídos por cabos múltiplos de cobre, isolados com rede de blindagem metálica que funcionava como "ligação terra" evitando interferências dos campos magnéticos criados pelas redes e motores elétricos situados próximos ao sistema.

O termopar era posicionado no centro geométrico do pubador, dali seguia para a junta fria e dessa para o registrador, que funcionava continuamente com tensão regulada para 10 mV e com velocidade do papel de 5 cm/h.

#### 3.1.4.4. Tamisação

A separação das cascas e fibras, representantes da fração ligno-celulósica existente nas raízes e, dos pedaços não pubados, quando ocorriam, era feita através de peneira de taquara. As raízes fermentadas, amolecidas e entumescidas eram colocadas sobre a peneira e manualmente forçadas contra as malhas (de  $4 \text{ mm}^2$  de luz) que permitiam a passagem da fração

amilácea, retendo cascas, fibras e pedaços não pubados. Esse resíduo era lavado, para que se lhe retirasse o amido, e separado para posterior secagem e pesagem.

#### 3.1.4.5. *Decantação, Sifonação, Expressão e Secagem da Puba*

Após a tamisação foram coletadas amostras para análise, liofilização e armazenamento em suspensão, utilizando-se, neste caso, frascos escuros de boca larga que foram mantidos à temperatura ambiente, no laboratório, até a utilização. A massa restante foi deixada em baldes plásticos cobertos com saco de algodão a decantar ao ar livre, durante a noite. Pela manhã o sobrenadante foi sifonado e o decantado expresso em pano de algodão até um teor de umidade, em torno de 55% base úmida (B.U.). O bolo assim formado era esfarelado manualmente e posto a secar ao sol sobre tabuleiros de alumínio forrados com pano de algodão. A temperatura de bulbo seco e a umidade relativa do ar foram acompanhadas. O processo de secagem se encerrava quando a umidade da puba atingia 12%-13% de umidade, base úmida (U.B.U.). Foram recolhidas amostras para as análises necessárias.

### 3.2. *Análises e Caracterização da Puba, Polvilho Azedo, Amido e Mandioca Com e Sem Casca*

#### 3.2.1. *Matérias-primas*

Na Tabela 2 apresenta-se a correspondência entre as amostras, numeradas de 1 a 25 (A.01 a A.25), sua origem, o

TABELA 2 - Correspondência entre o Código das Amostras, Origem, Produto e Condições de Conservação ou Processamento

Amostra Código	Origem	Produto	Conservação ou Processamento	Observação
A.01	E.7	Amido	Seco ao sol	-
A.02	E.2	Puba	Seca ao sol	-
A.03	E.3	Puba	Seca ao sol	-
A.04	E.7	Mandioca moída	Seca ao sol	Sem casca
A.05	Comércio-BA	Puba	Em geladeira	1985/Seca ao sol
A.06	Comércio-BA	Puba	Em geladeira	1986/Seca ao sol
A.07	Comércio-BA	Puba	Em geladeira	1987/Seca ao sol
A.08	E.7	Mandioca moída	Seca ao sol	Sem casca
A.09	E.8	Mandioca moída	Congelada	Com casca
A.10	E.9	Mandioca moída	Liofilizada	Sem casca
A.11	UNICAMP	Puba	Seca ao sol	1985
A.12	E.1	Puba	Seca ao sol	-
A.13	E.5	Puba	Seca ao sol	-
A.14	E.4 e 6	Puba	Seca ao sol	-
A.15	Comércio-SP	Amido	S/informação	Saco plástico
A.16	Comércio-SP	Polvilho azedo	S/informação	Saco plástico
A.17	E.1	Puba	Liofilizada	-
A.18	E.3	Puba	Liofilizada	-
A.19	E.2	Puba	Liofilizada	-
A.20	E.7	Amido	Liofilizado	-
A.21	Comércio-PR	Amido	S/informação	Saco plástico
A.22	E.8	Mandioca moída	Congelada	Sem casca
A.23	E.3	Puba	Em suspensão	Vidro Esc.T.Ambiente
A.25	E.2	Puba	Em suspensão	Vidro Esc.T.Ambiente

produto que é e o tipo de processamento ou conservação a que o produto foi submetido. Algumas observações são apresentadas e dentre as amostras não existe a de código A.24. No universo estudado as matérias-primas estão divididas entre 14 amostras de puba, quatro de amido, cinco de mandioca moída com e sem casca e uma de polvilho azedo.

As amostras de puba, amido e mandioca moída com e sem casca que foram obtidas de experimentos desenvolvidos na Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, têm sua



origem explicada no esquema apresentado na Figura 5.

#### 3.2.1.1. *Puba*

As amostras apresentadas na Tabela 2 foram obtidas nos experimentos 1 a 6 feitos na UNICAMP em 1987 e de um ensaio preliminar em 1985. As outras foram adquiridas em feiras livres no município de Entre Rios-BA, nos anos de 1985, 1986 e 1987. Essas amostras eram comercializadas sob a forma de bolos que na região são denominados de carimã. Nessa forma foram conservadas sob refrigeração até que, esfareladas e secas ao sol, foram analisadas e utilizadas nas etapas posteriores deste trabalho, sendo armazenadas em sacos de polietileno de 125 µm de espessura como foi sugerido por MENDES et alii (1981a).

#### 3.2.1.2. *Amido*

As amostras A.01 e A.20 foram obtidas de mandioca Cigana Preta da Bahia de acordo com técnica adotada pelo Laboratório de Cereais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA. Na Figura 5 pode-se verificar que após descascamento e moagem da mandioca foi extraído o amido (E.7) e se obtiveram as amostras A.01, seca ao sol, e a amostra A.20, liofilizada. A amostra A.21 de marca COPAGRA, foi adquirida no comércio em Maringá, PR e a amostra A.15 de marca KITAND, foi adquirida no comércio e foi conservada em sacos de polietileno de 125 µm de espessura e postos em latas tampadas, à temperatura ambiente (MENDES et alii, 1981a).

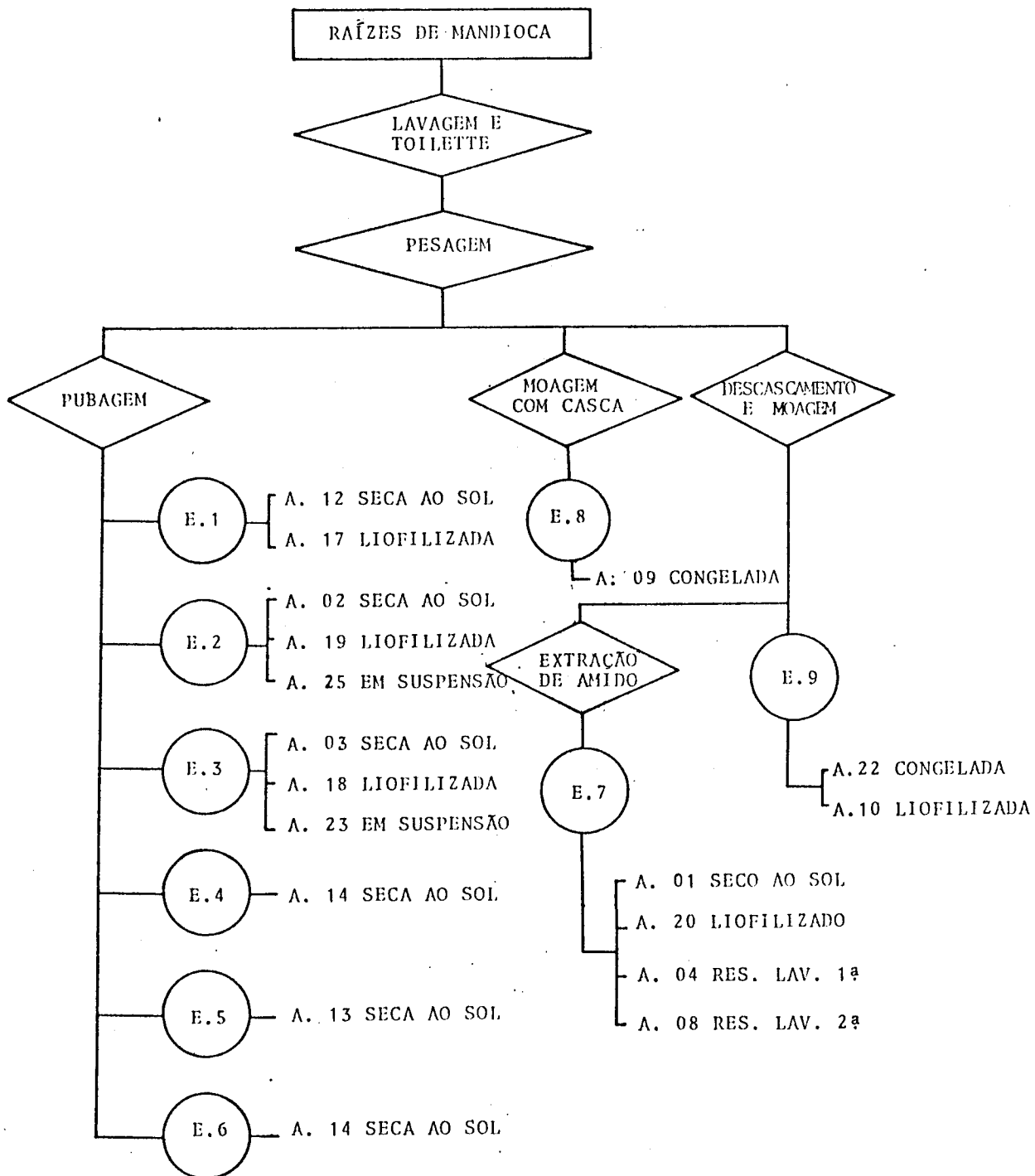


FIGURA 5 - Esquema Explicativo dos Tratamentos e Origem das Amostras de Amido, Puba e Massa de Mandioca, nos Experimentos 1 a 9.

### 3.2.1.3. *Polvilho Azedo*

Da marca KITANO, foi adquirido no comércio em Campinas-SP, recebeu a identificação A.16 e foi armazenado da mesma forma que as amostras A.15 e A.21.

### 3.2.1.4. *Massa de Mandioca Com e Sem Casca*

Obtidas da variedade Cigana Preta da Bahia, as amostras de massa de mandioca foram produzidas nos experimentos E.8 e E.9. O experimento E.8, moagem da mandioca com casca gerou a amostra A.09 que foi congelada. O experimento E.9, descascamento e moagem da mandioca, gerou as amostras A.22 que foi congelada e A.10, liofilizada, bem como as amostras A.04 e A.08. A amostra A.04 é resíduo da primeira lavagem para obtenção de amido de primeira e A.08 é o resíduo da segunda lavagem na obtenção do amido de segunda.

A moagem das raízes foi feita manualmente em ralador tipo calha de uso doméstico.

## 3.2.2. *Padronização Granulométrica*

### 3.2.2.1. *Das Amostras Secas ao Sol e Liofilizadas*

Durante a secagem e liofilização ocorria "aglomeração" de partículas o que dificultava a padronização granulométrica. Para se contornar esse problema submeteram-se as amostras à desintegração em liquidificador com copo especial e passou-se

o pó em tamis de 32 "mesh", marca GRANUTEST com diâmetro de partícula inferior a 0,5 mm.

### 3.2.2.2. Das Amostras Congeladas e em Suspensão

Neste ensaio foi utilizado uma seqüência de cinco tamises montados sobre um suporte adequado que repousava sobre um balde plástico; o tamis inferior era de 32 "mesh" e o superior de oito, os outros três eram de 10, 14 e 16 "mesh" (de cima para baixo). As amostras foram ressuspensas em água, à razão de uma parte de amostra para nove partes de água, em peso. Esta suspensão foi vigorosamente agitada e despejada de uma só vez sobre os tamises que já tinham sido secos, a 45°C em câmara com circulação de ar, e pesados.

Após secagem nas mesmas condições, os tamises foram novamente pesados e a massa das frações retidas em cada um deles ficava determinada.

No caso da massa de mandioca com e sem casca foram utilizados 100 g de cada amostra obtidos, logo após a cominuição e ressuspensos em 900 g de água. Nesse caso, 78,5% da massa das amostras passou o tamis oito correspondendo a um diâmetro igual ou inferior a 2,36 mm. A fração que passou 32 "mesh" e as perdas foram da ordem de 9,5%. As amostras de pupa em suspensão e de amido ressuspensos passaram o tamis de 32 "mesh" sem deixar resíduo.

### 3.2.3. Composição Química Centesimal das Amostras

#### 3.2.3.1. Umidade

As determinações de umidade das amostras de amido, puba, polvilho azedo e massa de mandioca com e sem casca foram realizadas segundo o método n.º 45-15A da AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS - A.A.C.C. (1983). Determinações com fins comparativos também foram feitas através de Balança METTLER LP 11 + P 160 N, com iluminamento de 3 lux, tempo de exposição de 30 minutos massa, de 1 g para amostras secas e, de 2 g, para amostras úmidas. A estabilização da massa ocorria em torno de 20 minutos de exposição à radiação infra-vermelha.

#### 3.2.3.2. Fração Protéica

O teor de proteína foi determinado pelo método de KJELDAHL n.º 46-13 da A.A.C.C. (1983). O fator 6,25 foi utilizado para a conversão de nitrogênio em proteína total. Na digestão utilizou-se digestor controlador TECHNICON BD-20/40 e na destilação, equipamento da TECNAL.

#### 3.2.3.3. Fração Lipídica

Determinou-se o conteúdo de lipídios, após extração em Soxhlet com hexana, de acordo com o método n.º 30-20, da A.A.C.C. (1983).

#### 3.2.3.4. *Resíduo Mineral Fixo*

O teor de cinzas foi determinado após calcinação, em mufla, a 540°C, por quatro horas, segundo o método n.º 8-3 da A.A.C.C. (1983).

#### 3.2.3.5. *Fibra*

Utilizou-se o método de VAN DE KAMER & VAN GINKEL (1952).

#### 3.2.3.6. *Carboidratos*

O teor de carboidratos foi calculado por diferença, em relação ao valor dos demais componentes. Assim:

$$\begin{aligned} \% \text{ de Carboidratos} &= 100 - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ F. Protéica} + \\ &\% \text{ F. Lipídica} + \% \text{ F. Mineral} + \% \text{ Fibra}) \end{aligned}$$

O valor da fração amilácea foi considerado igual ao teor de carboidratos.

### 3.2.4. *Outras Propriedades das Amostras*

#### 3.2.4.1. *Amido Danificado (A.D.)*

As amostras secas tiveram seu teor de amido danificado (damaged starch) determinado através da técnica desenvolvida por WILLIAMS & FEGOL (1969).

O teor de amido danificado foi calculado pela fórmula:

$$\text{FEU} = 0,286 + 50,3 \cdot A;$$

onde:

FEU - unidade Ferrand equivalente;

A - absorvância.

#### 3.2.4.2. *Acidez Aq-Solúvel (A.Aq.S.)*

Foi determinada através do método do Instituto Adolfo Lutz (PREGNOLATTO & PREGNOLATO, 1987) com as seguintes modificações.

A massa de amostras secas foi de 5 g (B.S.). Após a adição dos 100 ml de água e agitação todas as amostras foram filtradas em papel de filtro e o pH foi determinado em pHmetro digital marca MICRONAL. Foram titulados 50 ml do filtrado. Nas amostras com alto teor de umidade, a massa de água presente na mesma foi descontada da água adicionada.

A acidez, em ml de solução normal por cento, V/P, foi determinada pela fórmula:

$$\text{A.Aq.S} = \frac{200 \times V \times f}{5} = 40.f.V,$$

onde V = volume, em ml, de solução de hidróxido de sódio 0,01 N' gasto na titulação; f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,01 N.

### 3.2.4.3. *Acidez Álcool-Solúvel (A.A.I.S.)*

Na determinação da acidez álcool-solúvel seguiu-se o procedimento adotado pelo IAL (PREGNOLATTO & PREGNOLATTO, 1985).

A acidez, em ml de solução normal por cento, V/P, foi determinada pela fórmula:

$$A.A.I.S. = \frac{100 \times 5 \times f \times V}{5} = 100 \cdot f \cdot V,$$

onde V = volume, em ml, de solução de hidróxido de sódio 0,01'N gasto na titulação; f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,01'N.

### 3.2.4.4. *Teor de Amilose "Blue-value" (B.V.)*

Na determinação do teor de amilose pelo "Blue-value" adotou-se o procedimento recomendado por CIACCO (1987) descrito a seguir.

Pesa-se 200 g de amostra (base úmida) e, se umedece com 1 ml de etanol. Eleva-se o volume a 100 ml em balão volumétrico com solução 0,5 N de hidróxido de sódio. Aquece-se em banho-maria à temperatura de ebulição por três minutos. Resfria-se em banho de gelo. Filtra-se em filtro seco. Toma-se 1 ml do filtrado e adiciona-se 0,3 ml de HCl (37%,  $\rho = 1,19 \text{ g.cm}^{-3}$ ) 200 ml de solução de bitartarato de potássio a 0,4% e 0,5 ml de "reagente iodo" (0,2 g de iodo e 2 g de iodeto de potássio em água q.s.p. 100 ml).



Acerta-se o pH para 4,40-4,50 com volume conhecido de ácido ou base. Completa-se o volume para 50 ml com água destilada. Deixa-se por 20 minutos à temperatura ambiente. Faz-se leitura da absorbância em espectrofotômetro, a 680 nm.

A composição do branco foi a seguinte:

- . 1 ml de solução 0,5 N de hidróxido de sódio.
- . 1 ml de solução 0,5 N de ácido clorídrico.
- . 20 ml de solução a 0,4% de bitartarato de potássio.
- . 0,5 ml de solução iodo-iodeto. Acerta-se pH a 4,50.
- . Adiciona-se água destilada até volume final de 50 ml.

O valor do "Blue-value" é dado pela fórmula:

$$B.V. = 4 \times \frac{\text{absorbância}}{\text{conc. (mg/dl)}}$$

#### 3.2.4.5. *Índice de Absorção de Água - I.A.A.*

Na determinação do I.A.A. o roteiro cumprido foi o adotado por CIACCO (1987).

Pesa-se 2,5 g de amostra, base úmida. Adiciona-se 30 ml de água destilada a 30°C, em tubo de centrifuga previamente tarado. Agita-se continuamente a suspensão por 30 minutos, a 30°C em agitador por inversão. Centrifuga-se a ± 1300 G por 10 minutos. Despeja-se o sobrenadante em placa de Petri, previamente pesada. Pesa-se o resíduo do tubo.

Calcula-se o I.A.A. pela aplicação da fórmula:

$$\text{I.A.A.} = \frac{\text{peso da água abosorvida}}{\text{peso da amostra (base-seca)}}$$

#### 3.2.4.6. *Índice de Solubilidade em Água - I.S.A.*

O sobrenadante obtido em 3.2.4.5 foi despejado em placa de Petri previamente tarada que foi posta a secar em estufa a 100°C, com circulação de ar, até peso constante.

O I.S.A. foi calculado através da fórmula:

$$\text{I.S.A.} = \frac{\text{peso do resíduo após evaporação}}{\text{peso da amostra (base seca)}}$$

#### 3.2.4.7. *Propriedades de Pasta*

As propriedades de pasta foram determinadas através de visco-amilógrafo Brabender, tipo 801300, regulado para sensibilidade de 700 cm gf, de acordo com o recomendado por SHUEY & TIPPLES (1980).

A velocidade angular foi de 75 rpm e a taxa de aquecimento e resfriamento foi de 1,5°C/minuto entre 25 e 95°C, no aquecimento, e 95 e 50°C no resfriamento. O tempo de permanência a 95°C foi de 20 minutos. O viscoamilograma completo foi obtido em 96,7 minutos.

Foram utilizadas suspensões com concentrações P:V iguais a 5:100 e 6:100, o que implicou na utilização de 22,5 e 27,0 g de amostra, em base seca, para 450 ml de água destilada.

Nos viscoamilogramas obtidos foram feitas as seguintes determinações:

Temperatura de Pasta - T.P. - temperatura, em  $^{\circ}\text{C}$ , na qual a viscosidade da pasta, aumentou de 0 até 10 unidades amilográficas (U.A.).

Temperatura de Viscosidade Máxima - T.V.M. - temperatura, em  $^{\circ}\text{C}$ , correspondente ao ponto mais alto da curva do amilograma.

Faixa de Temperatura Correspondente à Menor Viscosidade da Pasta - F.T.M.V.P. - intervalo de temperatura, em  $^{\circ}\text{C}$ , no qual a pasta apresentou a menor viscosidade, após o início da formação de pasta.

Viscosidade Máxima - V.M. - valor máximo da viscosidade da pasta, em U.A., em qualquer fase do ciclo: aquecimento, temperatura constante ou resfriamento.

Viscosidade Mínima a  $95^{\circ}\text{C}$  - V.M.95 - valor mínimo da viscosidade, em U.A., no ciclo de temperatura constante.

Viscosidade a  $50^{\circ}\text{C}$  - V.50 - valor da viscosidade, em U.A., ao final do ciclo de resfriamento.

Viscosidade ao Início do Ciclo de Temperatura Constante - V.I.C.T.C. - é o valor da viscosidade, em U.A., quando a temperatura atingiu  $95^{\circ}\text{C}$ , cessou o aquecimento e a temperatura permaneceu constante. Corresponde à viscosidade no início do ciclo de cozimento da pasta.

Viscosidade Mínima no Processo - V.M.P., menor valor da viscosidade, em U.A. correspondente ao ciclo completo, após a passagem pela viscosidade máxima.

#### 3.2.4.8. Exame Microscópico

As amostras foram observadas ao microscópio óptico, marca JENAMED-ZEISS, em aumentos de 100 a 400 vezes, sob luz comum e luz polarizada. Pequena quantidade de amido foi colocada sobre uma lâmina histológica de vidro, e foi acrescentada uma gota de mistura 1:1 de etanol e glicerina. As preparações foram recobertas com lamínulas e permaneceram duas horas em repouso para completa sedimentação.

As amostras analisadas foram:

- A.10 - Massa moída, sem casca, liofilizada, E.10.
- A.16 - Polvilho azedo KITANO, comercial.
- A.17 - Puba de mandioca I.A.C 12-829, liofilizada, E.1.
- A.18 - Puba liofilizada, E.3.
- A.19 - Puba liofilizada, E.2.
- A.20 - Amido de Cigana Preta da Bahia, liofilizado, E.7.
- A.21 - Amido COPAGRA, comercial.

#### 3.3. Gelatinização, Liquefação e Sacarificação das Amostras

A Figura 6 representa o esquema do sistema de gelatinização, hidrólise e sacarificação.

Nesta fase do trabalho foram feitos 41 ensaios dos quais, doze serviram de aprendizado e domínio das técnicas

ESQUEMA DO SISTEMA PARA GELATINIZAÇÃO  
HIDRÓLISE E SACARIFICAÇÃO

- 1 - Agitadores mecânicos
- 2 - Suportes para os agitadores e reatores
- 3 - Tampas de borracha dos reatores
- 4 - Vasos dos reatores, pirex, 1000 ml cada
- 5 - Meio reacional
- 6 - Água do banho-maria
- 7 - Cuba do banho-maria
- 8 - Base do sistema
- 9 - Botão de comando do termostato

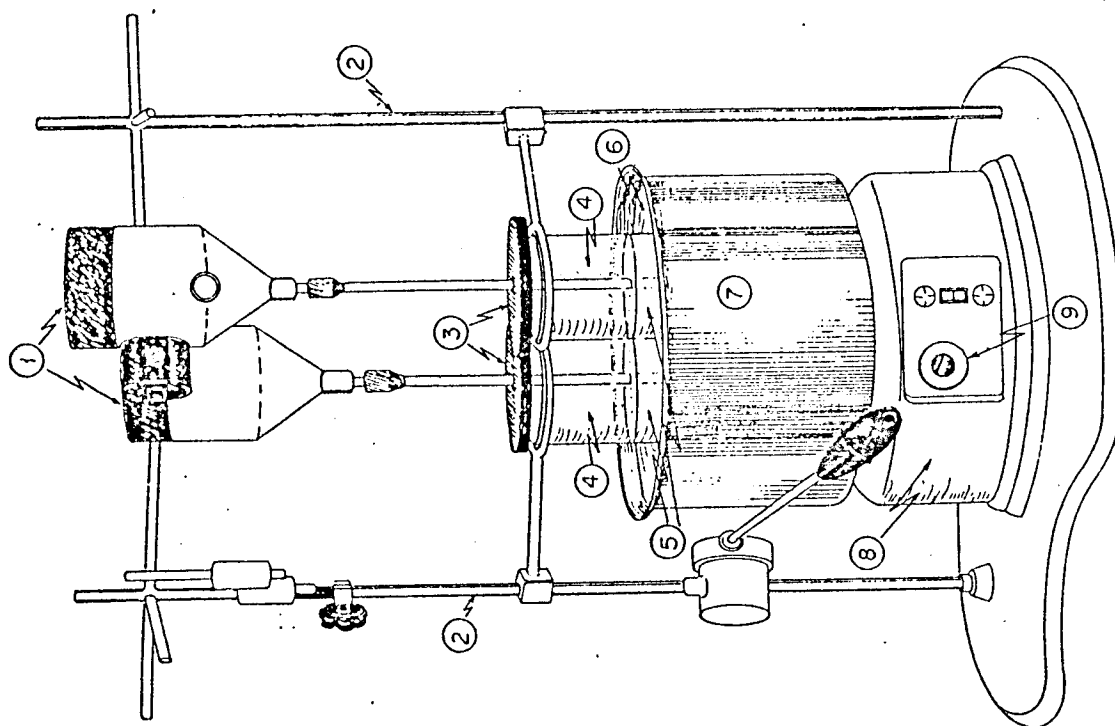


FIGURA 6 - Esquema do Sistema para Gelatinização, Hidrólise e Sacarificação.

envolvidas. Os ensaios 22 e 23 foram repetidos, sendo identificadas as repetições com os códigos SAC.40 e 41, respectivamente.

Na Tabela 3 apresenta-se o resumo dos tratamentos a que cada amostra foi submetida, bem como, a concentração (P/P), massa de amostra utilizada que foi considerada como sendo de amido puro, massa reacional (amido mais água) volumes das enzimas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase, pHs na gelatinização (G), na hidrólise (H) e na sacarificação (SAC) e os tempos de gelatinização, hidrólise e resfriamento (R) e de sacarificação.

### 3.3.1. Gelatinização - G

Gelatinizaram-se 27 amostras em dois reatores cilíndricos, Figura 6, com capacidade total de 1000 ml cada. Os reatores dotados de tampas de borracha com furo central para passagem do eixo do agitador foram presos em suportes circulares (anéis) e parcialmente imersos em banho-maria a 85°C. Dois agitadores FISATON de hélice de três pás foram utilizados com velocidade angular variando entre 640 e 720 rpm, avaliada através de Tacômetro MICROTEST, modelo F-44.

Nos ensaios cuja concentração (P/P) era 6%, utilizaram-se 30,00 ou 36,00 g (B.S.) de amostra para 470,00 ou 564,00 g de água destilada; nos de concentração 10% a massa de amostra foi de 50,00 ou 60,00 g para 450,00 ou 540,00 g de água e nas de concentração 12% a massa de amostra, foi de 60,00 ou 72,00 g para 440,00 ou 528,00 g de água, respectivamente. O

TABELA 3 - Correspondência entre as Sacarificações, SAC.1 a 41 e Amostras (AM), Tratamentos (Trat.), Concentrações P/P (Conc.), Massas das Amostras (M.Am.), Massas Reacionais (M.Reac.), Volumes das Enzimas nas Hidrólises e Sacarificações, pHs e Tempos

SAC	AM	Trat.*	Conc.	M.Am.	M.Reac.	Volume de Enzima		pH		Tempo	
						$\alpha$ -amilase	AMS	G+H	SAC	G+H+R	SAC
N.º	Cod.	Cod.	(P/P)	g	g	$\mu$ l	$\mu$ l			min	min
1	A.11	1	20	150	750	1.155	370	5,90	4,50	120	1.260
2	A.11	3	6	30	500	-	120	-	4,50	45	915
3	A.21	3	6	30	500	-	240	-	4,50	30	1.020
4	A.21	1	6	30	500	120	120	6,00	4,20	60	1.280
5	A.21	1	12	60	500	120	120	6,50	4,20	60	1.200
6	A.11	1	12	60	500	120	120	6,50	4,20	40	1.415 <sup>2</sup>
7	A.11	4 e 3	12	60	500	-	250+120	-	-	3.020 <sup>1</sup>	1.245 <sup>2</sup>
8	A.11	4	12	60	500	-	250	-	4,50	-	2.880
9	A.21	7	10	50	500	-	120	-	4,30	35	1.320
10	A.21	4	12	60	500	-	100	-	4,00	-	2.490
11	A.03	4	12	60	500	-	100	-	4,90	-	2.760
12	A.03	4	12	60	500	-	100	-	4,90	-	4.620
13	A.03	4	12	72	600	-	100	-	4,00	-	3.120
14	A.02	4	10	60	600	-	100	-	4,00	-	2.100
15	A.16	4	10	60	600	-	100	-	4,00	-	2.100
16	A.01	4	10	50	500	-	100	-	4,00	-	1.560
17	A.21	4	10	60	600	-	100	-	4,00	-	1.560
18	A.09	4	6	36	600	-	50	-	4,00	-	1.440
19	A.22	4	6	30	500	-	50	-	4,00	-	1.440
20	A.23	4	6	36	600	-	50	-	4,00	-	4.500
21	A.25	4	6	36	600	-	50	-	4,00	-	4.500
22	A.21	3	12	72	600	-	100	-	4,00	60	1.590
23	A.21	1	12	72	600	1.000	100	4,60	4,50	60	1.590
24	A.21	2	12	72	600	100	-	4,60	-	2.640 <sup>3</sup>	-
25	A.21	6	12	72	600	200	-	4,60	-	2.640 <sup>3</sup>	-
26	A.01	1	12	72	600	200	100	6,50	4,00	30	1.260
27	A.21	1	12	72	600	200	100	6,50	4,00	30	1.260
28	A.02	1	12	72	600	200	100	6,50	4,00	70	1.220
29	A.03	1	12	72	600	200	100	6,50	4,00	70	1.220
30	A.09	1	6	36	600	100	50	6,50	4,00	60	1.320
31	A.22	1	6	36	600	100	50	6,50	4,00	60	1.320
32	A.02	5	12	72	600	200	100	4,70	4,70	70	1.560
33	A.03	5	12	72	600	200	100	4,10	4,50	70	1.560
34	A.09	5	6	36	600	100	50	5,08	5,88	30	1.380
35	A.22	5	6	36	600	100	50	5,02	4,45	30	1.380
36	A.16	1	12	72	600	200	100	6,50	4,00	60	1.320
37	A.11	1	12	72	600	200	100	3,75	4,00	60	1.320
38	A.23	1	6	36	600	100	50	6,50	4,00	60	1.350

Continua...

TABELA 3, Cont.

SAC	AM	Trat.*	Conc.	M.Am.	M.Reac.	Volume de Enzima		pH		Tempo	
						$\alpha$ -amilase	AMS	G+H	SAC	G+H+R	SAC
N.º	Cod.	Cod.	(P/P)	g	g	$\mu$ l	$\mu$ l			min	min
39	A.25 <sup>1</sup>	1	6	36	600	100	50	6,50	4,00	60	1.350
40	A.21 <sup>2</sup>	3	12	72	600	-	100	-	4,00	55	1.345
41	A.21 <sup>4</sup>	1	12	72	600	200	100	4,60	4,50	55	1.345

<sup>1</sup> Tempo correspondente ao tratamento 4 (1.ª fase).

<sup>2</sup> Tempo correspondente ao tratamento 3 (2.ª fase).

<sup>3</sup> Tempo de hidrólise com amostra crua (see G e R).

<sup>4</sup> Repetições das SAC 22 e 23, respectivamente.

\* Tratamentos: 1 (G + H + Sac.); 2 (G + H); 3 (G + Sac.); 4 (Sac. com amostra crua); 5 (G + H + Sac., nas condições da amostra); 6 (H com amostra crua); 7 (G em pH 4,50 e Sac.).

teor de umidade das amostras foi descontado da água adicionada. Os reatores A e B tinham as seguintes massas: 304,35 g e 314,35 g, respectivamente.

Após a gelatinização, cuja duração nunca ultrapassou uma hora, os reatores foram resfriados até 58°C e pesados. A massa de água evaporada foi repostada com o objetivo de manter a concentração inicial.

Tentou-se manter a agitação com um certo grau de constância variando-se a velocidade de rotação do eixo para compensar o aumento de viscosidade do meio, na gelatinização, quando a  $\alpha$ -amilase não foi adicionada no início do processo.



### 3.3.2. Hidrólise (Liquefação) - H

Nos 22 ensaios de hidrólise com  $\alpha$ -amilase as amostras se apresentavam gelatinizadas ou em suspensões de amostras cruas. As hidrólises foram realizadas nos mesmos reatores onde ocorreram as gelatinizações.

Nos ensaios de hidrólise de amostras gelatinizadas, a enzima  $\alpha$ -amilase foi adicionada na maioria das vezes, antes do início da gelatinização. Nesse caso, gelatinização e hidrólise ocorreram simultaneamente. Um poucas vezes não se seguiu esse procedimento e a enzima foi adicionada após a gelatinização. No ensaio SAC.25, feito com a amostra A.21 (amido COPAGRA), a hidrólise foi tentada com amido cru, a 56-57°C, por 44 horas, pH 4,60. No ensaio SAC.24 com amostra A.21 a hidrólise foi tentada com amido gelatinizado. Em ambos os ensaios não ocorreram sacarificações com amidoglicosidase (AMG). Em todos os ensaios de liquefação a quantidade de enzima TERMAMYL 120 L, da Novo Enzymes foi de 100  $\mu$ l e de 200  $\mu$ l para as suspensões de 6% e 12% respectivamente o que correspondia a 14,4 e 28,8 KNU (kilo Novo  $\alpha$ -amylase Units) capazes de hidrolisar respectivamente 75,74 g e 157,49 g de amido em uma hora, nas condições padrão. Em cada ensaio adicionou-se 1,0 ml de solução 1,05 M de  $\text{CaCl}_2$  o que correspondia a 70 ppm de  $\text{Ca}^{++}$  na suspensão.

O pH das suspensões variou de um ensaio para outro. Nos ensaios feitos nas condições da amostra o pH foi o da amostra, nos ensaios em que houve controle, o pH foi 6,50. Em todos os ensaios o pH sempre foi superior a 4,00.

O tempo de liquefação das amostras gelatinizadas foi de, no máximo, uma hora e quinze minutos. Nesse intervalo de tempo a temperatura variou da ambiente até 85°C e depois caiu até 36-37°C (MENDES et alii, 1988b). O reator foi pesado e a água evaporada foi repostada. Foram coletadas amostras para análise no início e após a liquefação, para determinação de ART por DNS (MILLER, 1959) e (TRIBOLI, 1987) e Somogyi-Nelson (AMORIM et alii, 1972) e (GONÇALVES, 1988).

### 3.3.3. Sacarificação - S

#### 3.3.3.1. Procedimentos Gerais

Trinta e nove ensaios de sacarificação foram conduzidos com ou sem os tratamentos preliminares de gelatinização e/ou liquefação conforme está apresentado na Tabela 3. Em todos eles a temperatura foi de  $(56,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C})$  (MENDES et alii, 1988b). A concentração de substrato foi variável sendo que 13 ensaios ocorreram a 6%, 20 a 12%, 1 a 20% e 5 a 10%.

A quantidade de enzima AMG 300 L, da Novo Enzymes, utilizada a partir da SAC.10 foi de 50 µl e 100 µl nos ensaios cujas concentrações eram 6 e 12% respectivamente, correspondendo a 15 e 30 AGU (Novo Amyloglicosidase Unit). A quantidade de enzima recomendada pelo fabricante é de 0,65 a 0,80 l de AMG 300 L por 1000 kg de amido seco.

O tempo de sacarificação foi variável.

Nos ensaios em que houve tomada de amostras, 1 a 5 ml da mistura foram coletadas com pipeta automática PIPETMAN da GILSON, de 5000  $\mu$ l.

Os intervalos de tempo para tomada de amostras foram de 10 minutos até o final da primeira hora, de 20 minutos entre a primeira e a segunda hora e de uma hora até, pelo menos, a sétima hora, daí em diante a periodicidade foi variável.

Nos ensaios em que o pH foi 4,00 utilizou-se tampão acetato. Naqueles cujas etapas anteriores foram desenvolvidas a pHs superiores a 4,60 eles foram corrigidos para 4,00-4,60 por adição de HCl.

Na amostra coletada, a reação enzimática foi inibida instantaneamente pela adição das mesmas a igual volume de tampão tris de pH 7,6, 0,0205 M que não interferiu na determinação posterior da concentração dos açúcares redutores totais.

### 3.3.3.2. Determinação de A.R.T.

Após coleta com pipeta automática, regulável, as amostras foram misturadas com igual volume de tampão tris, ou H<sub>2</sub>O destilada, conforme fosse necessário ou não elevar o pH para 7,6, filtradas em papel de filtro e levadas à determinação dos ART. Teve-se o cuidado de utilizar no branco, tampão tris no lugar de água, quando necessário. Os métodos utilizados foram DNS e Somogyi-Nelson. Os resultados estudados posteriormente foram os obtidos pelo DNS, tabulados como [S]<sub>D</sub>. Os do Somogyi-Nelson constam das Tabelas 2A a 30A no apêndice. Segundo

CHIARELLO (1986) o acompanhamento da sacarificação de amido deve ser feito pelo S.N.

Os resultados lidos, em absorvância, foram convertidos em concentração através das equações:

. Para D.N.S.:  $[S]_D$  (g/l) = diluição (a. absorvância + b),

onde:

$$a = 1,645, \quad b = 0,06 \quad e \quad r^2 = 99,89\%$$

. Para S.N.:  $[S]_S$  ( $\mu$ g/ml) = diluição (c. absorvância + d),

onde:

$$c = 0,443, \quad d = 0,0026 \quad e \quad r^2 = 99,96\%$$

### 3.3.3.3. *Análise dos Resultados das Sacarificações*

Os resultados da variação da concentração de ART,  $[S]_D$ , em função do tempo foram analisados pelo programa Sistema de Análises Estatísticas da U.F.V. (SAEG), utilizando-se 12 modelos de equações pré-definidas.

### 3.3.4. *Fermentações - FERM.*

#### 3.3.4.1. *Aspectos Gerais*

Vinte e três fermentações alcoólicas descontínuas divididas em três grupos de seis e um grupo de cinco fermentações foram feitas com o produto das várias hidrólises e sacarificações.

A fermentação de código FERM.1 foi realizada com sacarose e serviu como padrão em relação às demais.

Foram utilizados seis mini-fermentadores, modelo M-1000 da NEW BRUNSWICK de 1000 ml de volume total, com agitação magnética e controle de temperatura. Na Figura 7 apresenta-se o esquema dos minifermentadores utilizados. Para controle da temperatura utilizou-se um banho termostático com circulação de água externa de marca TECNAL, regulado para 36°C.

Todas as amostras foram filtradas, adicionadas de nutrientes, tiveram seus pHs ajustados para 4,00 e foram esterilizadas por 10 minutos a 15 psig. Após resfriamento até 36°C foram inoculadas e postas a fermentar. A levedura utilizada nas 23 fermentações foi a *Saccharomyces cerevisiae* M 304-2C, cujo desempenho já foi descrito por TAVARES & ECHEVERRIGARAY (1987).

Em cada fermentação determinou-se:

1. Massa celular, por turbidimetria;
2. pH, potenciometricamente;
3. ART, pelo D.N.S. e Somogyi-Nelson;
4. Teor alcoólico, por cromatografia gasosa.

ESQUEMA DO MINIFERMENTADOR

- 1 - Entrada de água para resfriamento ou aquecimento
- 2 - Saída de água de resfriamento ou aquecimento
- 3 - Diafragma de borracha para introdução de inóculo
- 4 - Filtro de ar com leito de lã de vidro
- 5 - Tubo pirex para termômetro
- 6 - Termômetro
- 7 - Linha de saída de meio fermentado
- 8 - Pinça de Hofmann
- 9 - Agitador magnético
- 10 - Base do fermentador
- 11 - Vaso pirex 1000 ml
- 12 - Tampa

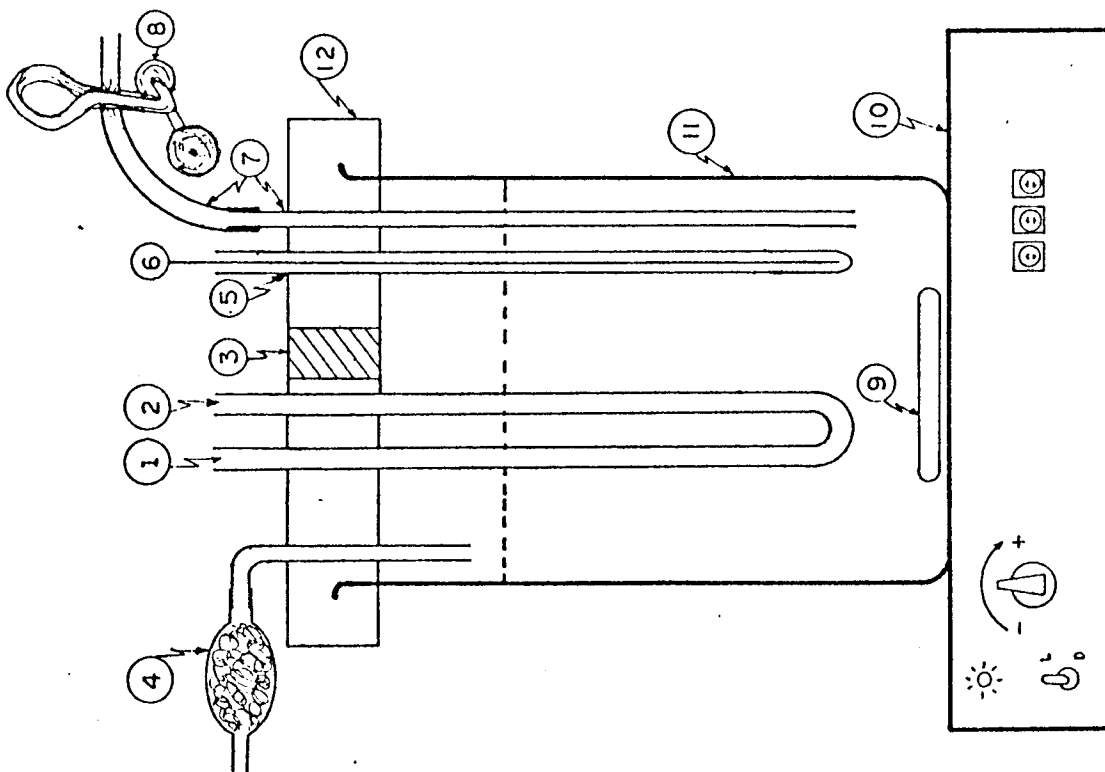


FIGURA 7 - Esquema do Minifermentador.

### 3.3.4.2. Meios de Cultura e Solução de Sais

#### 3.3.4.2.1. Meio de Cultura Utilizado para Preparo do Inóculo

Glicose	20,00 g
Extrato de levedura	5,00 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	5,00 g
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1,50 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,70 g
KCl	1,15 g
Água de torneira q.s.p.	1,000 l
pH	6,00

#### 3.3.4.2.2. Meio de Fermentação

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5,95 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,35 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,12 g
Extrato de levedura	3,50 g
Solução de Sais	0,70 ml
Água destilada q.s.p.	0,7 l
pH	4,00
ART	variável

A concentração de ART variou entre 29,90 e 120,24  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ , de acordo com cada experimento.

O pH dos meios descritos foi ajustado com ácido clorídrico (37%,  $\rho = 1,186 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ).

### 3.3.4.2.3. Solução de Sais

$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	21,900 g
NaCl	100,000 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,760 g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,470 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,750 g
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,280 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,016 g
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,300 g
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,200 g
KI	0,100 g
Solução de HCl 3M q.s.p.	1,0 l

Os meios de cultura para os inóculos foram distribuídos em erlenmyers de 500 ml com defletores, à razão de 140 ml por erlenmyer, tampados com algodão deslintado e papel KRAFT e esterilizados em autoclave de bancada, por 15 minutos a  $121^\circ\text{C}$  ( $\approx 15,0$  psig.). Após resfriamento foram guardados em câmara fria a  $5^\circ\text{C}$ , até posterior utilização.

Os meios de fermentação foram colocados em mini-fermentadores completamente equipados e, esterilizados por 15 minutos, a  $121^\circ\text{C}$ . Na manhã seguinte se iniciou a fermentação, simultaneamente, nos seis fermentadores.

### 3.3.4.3. Preparação do Inóculo e da Fermentação

A partir de culturas de *S. cerevisiae* conservadas em meio P.D.A. (Potato-Dextrose-Agar) inclinado em tubo de



ensaio, semeou-se a levedura com uma alçada de platina no meio de cultura contido em erlenmeyers alétodos. Essa operação foi conduzida em câmara de fluxo laminar marca VECO equipada com luz ultra-violeta, e na presença de chama de bico de Bunsen.

Os erlenmeyers semeados foram postos em agitador recíproco sob agitação de 200 rpm, por 12-16 horas. O agitador encontrava-se instalado no interior de uma câmara isotérmica marca FANEM, com temperatura regulada em 36°C.

A fermentação se iniciou com a injeção de um volume de inóculo correspondente a um décimo de volume presente em cada fermentador. Nessa operação utilizou-se uma seringa de vidro de 100 ml, esterilizada. Logo após a injeção, sob agitação do meio, foi coletada a primeira amostra através de um dispositivo adequado existente em cada fermentador. Tomou-se o cuidado de descartar os dois primeiros mililitros coletados.

A coleta de amostras foi feita de uma em uma hora, até a décima segunda hora e, a partir dessa, em intervalos de tempo variáveis até que se desse a fermentação por terminada.

Os 8 ml coletados foram utilizados para determinação de concentração de massa celular  $[X]_0$ ; pH, concentração de substrato,  $[S]_D$  e  $[S]_S$  e concentração de etanol produzido,  $[P]_0$ .

#### 3.3.4.4. *Determinação da Concentração de Massa Celular* $[X]_0$

A concentração de massa celular presente no meio de fermentação foi determinada mediante leitura da absorbância a

600 nm das amostras convenientemente diluídas, num espectrofotômetro ESPECTRONIC 20 da BAUSCH & LOMB. Para calibração do aparelho utilizou-se meio de cultura adequadamente diluído. Como branco foi utilizado o meio de cultura estéril.

A correlação entre concentração de massa celular seca  $[X]_0$  e absorvância foi estabelecida através da equação:  $[X]_0$  (g/l) = 0,61 Ab + 0,098,  $r^2 = 0,999$ , conforme procedimento descrito por MILANESI (1987).

#### 3.3.4.5. *Determinação Eletrométrica do pH*

Após centrifugação da amostra a 3000 G, por 20 minutos, o pH do sobrenadante foi determinado a 25°C. Como a quantidade de amostra era pequena, na determinação eletrométrica do pH utilizou-se um tubo de ensaio especial com 1,8 cm de diâmetro interno e 6 cm de altura para se levar a amostra até o eletrodo do pH-metro.

#### 3.3.4.6. *Determinação da Concentração de Substrato $[S]_0$*

A concentração de substrato, expressa sob a forma de A.R.T. foi avaliada pelos métodos do D.N.S., e pelo método de Somogyi-Nelson. Dos resultados obtidos pelos dois métodos foram considerados apenas os do D.N.S.

A determinação de A.R.T. pelo D.N.S. seguiu o procedimento proposto por MILANESI (1987), com a seguinte modificação: a leitura da absorvância foi feita a 540 nm num espectrofotômetro MICRONAL 300.

Na determinação por S.N. os procedimentos preliminares foram os mesmos adotados para o D.N.S.

### 3.3.4.7. Determinação da Concentração de Etanol $[P]_0$

Foi realizada por cromatografia de fase gasosa, utilizando-se um cromatógrafo C.G modelo 37-D provido de detetor de ionização de chama.

As condições de operação e a metodologia foram as mesmas adotadas por MILANESI (1987) e VERGA et alii (1980), sendo que no presente trabalho, utilizaram-se como padrões internos duas soluções de butanol, cujas concentrações foram respectivamente 15 e 30 g/l. Nas amostras obtidas até a sétima hora utilizou-se o padrão de 15 g/l, nas amostras posteriormente obtidas, o de 30 g/l.

As equações utilizadas foram:

$$[P]_0 \text{ (g/l)} = 17,845076 \bar{\gamma} - 0,429602, \text{ com } r^2 = 99,99\%,$$

para as amostras 1 a 8, e

$$[P]_0 \text{ (g/l)} = 38,494 \bar{\gamma} - 2,133, \text{ com } r^2 = 99,89\%,$$

para as demais amostras.

$\gamma$  é a razão entre as alturas dos picos do etanol e do butanol e  $\bar{\gamma}$  é a média de três determinações.

#### 3.3.4.8. *Análise dos Resultados das Fermentações*

Os resultados das concentrações de ART,  $[S]_0$ , e de etanol,  $[P]_0$ , foram analisados pelo SAEG, utilizando-se modelos de equações pré-definidas. Na análise dos resultados das concentrações de  $[X]_0$  desenvolveu-se um modelo matemático, a partir de modelo logístico, que é o proposto modelo logístico-mendesiano a ser discutido posteriormente.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Resultados da Pubagem

Na Tabela 4 são apresentados alguns resultados obtidos nos seis experimentos de pubagem, relativos a tempo de pubagem, temperaturas máxima e mínima do ambiente e do meio de pubagem e pHs inicial e final da água de pubagem.

TABELA 4 - Resultados das Condições de Pubagem

Experimento	Tempo de Pubagem h	Temperatura Ambiente		Temperatura nos Pubadores		pH	
		MAX	MIN	MAX	MIN	Inicial	Final
		°C		°C			
E.1	96.	32,5	18,5	36,0	24,5	5,88	4,83
E.2	238	32,0	28,0	34,0	28,0	6,28	4,59
E.3	120	32,5	18,5	35,5	27,5	6,40	4,70
E.4	234	32,0	28,0	35,0	28,0	5,78	4,57
E.5	172	32,5	18,5	36,0	27,0	7,30	4,82
E.6	196	32,5	18,5	35,5	28,0	5,84	4,68

Analisando-se os resultados do tempo de pubagem verifica-se que todos eles foram elevados, com valores bem maiores dos que os obtidos por GRAMACHO (1975): três a quatro dias, MENDES et alii (1988a) e ALMEIDA (1992): três dias.

MENDES et alii (1981b) obtiveram resultados semelhantes aos da Tabela 4 quando utilizaram a variedade Branca de Santa Catarina num ambiente de pubagem sem insolação, com temperatura ambiente variando entre 20 e 24°C e pubadores azulejados.

Com os resultados obtidos pode-se inferir que deve haver influência sobre o tempo de pubagem, da idade e variedade da mandioca, do ambiente de pubagem (insolação e temperatura) e do tipo de pubador.

Em relação à temperatura, existe uma faixa de variação entre 28 e 36°C que deve ser a recomendada para o processo. ALMEIDA et alii (s.n.t.) recomendaram 35°C e, posteriormente, ALMEIDA (1992) passou a utilizar a faixa de temperatura entre 28 e 32°C como sendo a ótima.

Quanto à variação do pH os resultados da Tabela 4 são confirmados pelos valores obtidos por ALMEIDA (1992), 6,5 a 4,7 e por MENDES et alii (1988a), 6,4 a 4,5.

#### *4.2. Composição Química Centesimal das Amostras*

Na Tabela 5 apresenta-se o resultado das composições químicas das amostras no que diz respeito a umidade, frações: protéica, lipídica e mineral; fibra e carboidratos.

TABELA 5 - Composição Química das Amostras Estudadas

Produto	Amostra (Código)	Unidade	F. Protéica	F. Lipídica	F. Mineral	Fibra	Carboidratos
		B.U. %	B.U. %	B.U. %	B.U. %	B.U. %	B.U. %
Amido	A.01	13,30	0,14	0,13	0,07	0,24	86,12
Puba	A.02	10,91	0,38	0,14	0,32	1,58	86,67
Puba	A.03	13,00	0,41	0,15	0,36	1,07	85,01
M. Moída	A.04	9,92	0,35	n.d.	0,77	2,30	86,66
Puba	A.05	13,50	0,53	0,17	0,39	1,18	84,23
Puba	A.06	13,50	0,31	0,16	0,44	1,44	84,15
Puba	A.07	13,00	0,36	0,15	0,45	1,40	84,64
M. Moída	A.08	9,00	0,81	n.d.	0,83	2,50	86,86
M. Moída	A.09	65,94	0,50	0,11	0,62	1,90	30,93
Puba	A.11	12,30	0,36	0,12	0,40	1,21	85,61
P. Azedo	A.16	14,29	0,23	0,15	0,08	0,26	94,99
Amido	A.21	9,73	0,17	0,11	0,09	0,27	89,63
M. Moída	A.22	68,42	0,39	0,12	0,52	1,56	29,22

\* Média de três repetições.

n.d.: Não detetável.

As amostras A.01 e A.21 são de amido e suas composições não diferem do que é apresentado por CHANG (1987) e CIACCO & CRUZ (1982). As amostras A.02, A.03, A.05, A.06, A.07 e A.11 são de pubas secas de várias origens, suas composições são semelhantes às obtidas por ALMEIDA (1992). Nelas pode-se observar que o teor de proteína é bem maior do que o encontrado no amido, chegando, no caso da amostra A.05, a ser 3,8 vezes maior do que o da amostra A.01. O teor de lipídios somente foi inferior ao observado no amido na amostra A.11. No caso da fração mineral e do teor de fibras se constata a superioridade desses teores em relação aos apresentados pelos amidos. Esses resultados já eram esperados uma vez que no processamento da puba fica diminuído o teor de fibras em relação à mandioca

móida, não chegando porém aos níveis do amido e do polvilho azedo. Na amostra A.16, polvilho azedo, tem-se a composição em acordo com o já verificado por CEREDA (1973). Note-se que o teor de proteína é, como na puba, superior ao do amido. Pode-se daí inferir que sendo ambos os produtos consequentes de processos fermentativos, há um enriquecimento protéico durante esses processos, fato já constatado, no caso do polvilho azedo, por CEREDA (1987).

Na amostra A.09, mandioca móida com casca, a composição não difere do que é apresentado por CONCEIÇÃO (1979) e é evidente que os teores de fibra e minerais têm que ser superiores aos das demais amostras de amido, puba, polvilho azedo e da mandioca sem casca. Esse fato deve ser creditado à presença da casca o que não ocorre na amostra A.22 que foi móida sem casca.

As amostras A.04 e A.08 são sub-produtos obtidos na produção de amido. É evidente que os teores de fibra e minerais dessas amostras são os maiores, uma vez que no experimento E.7 as fibras ficam retidas e o que passa pelo pano e posteriormente pelo tamis é o amido. De difícil explicação é o aumento do teor protéico de 0,35%, na amostra A.04 (resíduo da primeira lavagem) para 0,81% na amostra A.08 (resíduo da segunda lavagem).

Pelos resultados apresentados constata-se que um dos objetivos deste trabalho é atingido quando se verifica que os teores de fibra na puba ficam sempre em patamares inferiores aos apresentados pela massa de mandioca móida com e sem casca.



4.3. Amido Danificado (A.D.), Acidez Alcool-Solúvel (A.AI.S.), Acidez Áquo-Solúvel (A.Aq.S.), "Blue-Value" (B.V.), Índice da Absorção de Água (I.A.A.) e Índice de Solubilidade em Água (I.S.A.)

Os resultados dessas análises encontram-se na Tabela 6.

TABELA 6 - Valores de Amido Danificado (A.D.), Acidez Alcool-Solúvel (A.AI.S.), Acidez Áquo-Solúvel (A.Aq.S.), "Blue-value" (B.V.), Índice de Absorção de Água (I.A.A.) e Índice de Solubilidade em Água (I.S.A.) nas Amostras Estudadas\*

AM N.º	A.D. F.E.U.	A.AI.S. NaOH, 1N ml/100 g	A.Aq.S. NaOH, 1N ml/100 g	B.V. $\times 10^2$	I.A.A.	I.S.A. $\times 10^3$
A.01	2,23	0,96	0,65	1,94	1,14	4,50
A.02	0,56	2,12	0,98	1,93	1,60	5,57
A.03	0,45	1,71	0,94	1,94	1,63	6,30
A.04	2,65	2,52	7,13	1,76	2,18	98,61
A.05	2,93	0,84	0,34	1,94	1,47	7,77
A.06	0,73	0,99	0,29	1,93	1,92	6,43
A.07	1,41	2,50	1,83	1,93	1,55	8,21
A.08	1,52	1,38	2,04	1,88	3,87	16,68
A.09	3,64	4,51	7,00	1,88	N.D.	N.D.
A.10	6,94	3,08	6,73	1,87	N.D.	N.D.
A.11	1,04	0,89	6,19	1,93	1,76	8,80
A.12	1,52	13,79	16,25	1,94	1,46	39,75
A.13	0,59	0,73	0,29	1,93	N.D.	N.D.
A.14	0,45	0,92	0,37	1,93	N.D.	N.D.
A.15	1,16	1,25	0,72	1,94	N.D.	N.D.
A.16	7,61	2,74	2,17	1,95	1,11	6,04
A.17	1,23	7,49	18,05	1,93	N.D.	N.D.
A.18	1,18	15,28	15,88	1,93	N.D.	N.D.
A.19	1,75	12,11	15,34	1,92	N.D.	N.D.
A.20	1,12	0,92	0,77	1,90	N.D.	N.D.
A.21	2,23	0,65	0,41	1,95	N.D.	N.D.
A.22	2,83	4,48	7,94	1,94	N.D.	N.D.
A.23	N.D.	N.D.	4,11	N.D.	N.D.	N.D.
A.25	N.D.	N.D.	7,23	N.D.	N.D.	N.D.

\* Média de três determinações.  
N.D. - não determinado.

A determinação dos teores de amido danificado permite a verificação de danos mecânicos causados aos grânulos de amido. Neste trabalho não se utilizou nenhum processo de cominuição que envolvesse mecanismos de cisalhamento que, sabe-se, provocam os maiores danos mecânicos.

As amostras que apresentam valores de A.D. maiores que 2,00 são justamente aquelas que sofreram cominuição ou foram adquiridas no comércio e sobre as quais não se tem controle nem informação sobre o processamento. No caso da amostra A.16, polvilho azedo, há, em relação às demais, um alto teor de amido danificado. Isso se justifica pelo fato da existência de longo período de fermentação, além do dano mecânico causado ao amido que serviu como matéria-prima na obtenção do polvilho azedo.

A acidez álcool-solúvel foi determinada, uma vez que há interesse na quantificação de seus valores, levando-se em consideração o fato de que as amostras se destinam à produção de etanol no qual a acidez é indesejável por provocar corrosão nos motores que o utilizarem como combustível. O mesmo critério deve ser aplicado à A.Aq.S. considerando-se que a água é miscível com o etanol em qualquer proporção e dessa forma a acidez levada pela água afetarà significativamente a acidez total do etanol. As amostras A.12, A.17, A.18 e A.19 são as que apresentam valores altos de A.A1.S. e A.Aq.S. todas são amostras de pubas e nesse caso os resultados são esperados e não podem ser comparados com outros, obtidos anteriormente, por serem inexistentes.

O "blue-value" é um indicador quantitativo da amilose nativa presente no amido. A cor azul do complexo amilose-iodo ocorre quando existem no mínimo quarenta unidades de glicose na cadeia (CIACCO & CRUZ, 1982). Os resultados obtidos apontam para a não existência de amilose livre uma vez que o B.V. está variando entre 0,0176 e 0,0195. Mesmo assim se verifica que as massas de mandioca moída e as frações do experimento E.7 apresentam valores inferiores às demais amostras.

O índice de absorção de água é indicativo da "disponibilidade dos grupos hidrofílicos se ligarem às moléculas de água e à capacidade das macromoléculas formarem géis" (CHANG, 1987).

Nos amidos, pubas e polvilho azedo nos quais se determinaram o I.A.A. verificaram-se valores entre 1,11 e 1,92, todos baixos e próximos. Nas frações residuais A.04 e A.08 do experimento E.7, os elevados valores de I.A.A.: 2,18 e 3,87 são explicados pela presença de fibra desidratada em valores crescentes e não pela capacidade de formação de géis o que é confirmado pelos parâmetros viscoamilográficos dessas amostras apresentados na Tabela 6.

"O índice de solubilidade em água é consequente da gelatinização e dextrinização sofrida pelo grânulo de amido. O I.S.A. aumenta com a severidade do tratamento recebido" (CHANG, 1987). Os resultados apresentados para I.S.A. são de amostras cruas que não foram submetidas a gelatinização. Os valores discrepantes dos demais, encontrados para as amostras A.04, A.08 e A.12 devem refletir o grau de dextrinização

sofrida por essas amostras, podendo vir a ser objeto de estudos em outras pesquisas.

#### 4.4. *Parâmetros Viscoamilográficos Obtidos a Partir das Suspensões de Amido, Puba, Polvilho Azedo e Massa de Mandioca*

A Tabela 7 traz os valores dos parâmetros viscoamilográficos, os diâmetros das partículas, e a concentração percentual das suspensões em (P/V).

Na Figura 8 são mostrados os viscoamilogramas das amostras A.01, A.02, A.03, A.16 e A.22 cujos parâmetros de interesse estão explicitados na Tabela 7.

O que há de interessante, para o presente trabalho, com a obtenção desses resultados, é a verificação de que existem uma T.P., menor que 85°C e uma T.V.M., menor que 95°C que representam economia de energia, uma vez que no sistema convencional de produção de etanol de mandioca o cozimento se dá a 121°C acompanhado de "flash explosion" da massa cozida sem que se espere a redução da temperatura para valores nos quais a viscosidade seja mínima e possa ocorrer bombeamento da massa cozida. Todos os críticos da produção de etanol de mandioca arguem "balanço energético negativo" como sendo um fator extremamente desfavorável à utilização dessa matéria-prima. O que se verifica na maioria dos trabalhos que tratam do assunto é a ausência de qualquer referência às propriedades de pasta da mandioca ou dos seus sub-produtos. Há que se entender que seus estudos são fundamentais à otimização e viabilidade econômica do processo.

TABELA 7 - Valores dos Parâmetros Viscoamilográficos Obtidos a Partir das Suspensões de Amido, Puba e Massa de Mandioca

AM COD.	CONC % (P/V)	T.P. °C	T.V.M. °C	F.T.M.V.P. °C	V.M. U.A.	V.M.95 U.A.	V.50 U.A.	V.I.C.T.C. U.A.	V.M.P. U.A.	φ Mesh.
A.01	5	60	85,0	92,0-87,5	470	260	405	375	250	( 32
A.01	6	60	83,0	92,0-84,0	770	365	530	550	355	( 32
A.02	5	85	95,0	87,5-82,5	365	230	325	355	220	( 32
A.02	6	83	95,0	92,0-91,0	550	330	490	530	325	( 32
A.03	6	82	95,0	93,0-89,0	570	335	490	550	325	( 32
A.04	6	80	87,5	95,0	100	50	60	80	50	) 32
A.04	6	80	89,0	95,0	90	30	35	40	30	( 32
A.05	6	82	95,0	94,5-90,5	550	510	750	465	505	( 32
A.06	6	80	95,0	94,0-90,0	425	325	490	395	320	( 32
A.07	6	81	95,0	86,5-80,5	460	325	410	405	280	( 32
A.07	6	84	95,0	86,0-79,5	460	345	400	405	305	( 32
A.08	6	72	95,0	89,5-84,5	195	170	270	195	165	DESC
A.09 <sup>1</sup>	6	73	80,5	95,0	55	20	40	20	20	) 32
A.11	6	65	95,0	91,0-89,0	380	345	345	370	230	( 32
A.12	6	82	95,0	85,5-73,5	270	115	145	220	100	( 24
A.13	6	82	95,0	91,0-83,0	420	360	490	385	345	( 32
A.14	6	81	95,0	92,5-89,0	480	305	490	465	345	( 32
A.15	6	64	83,0 e 93,0	88,5-85,0	410	245	360	405	240	( 32
A.15	6	64	82,5 e 92,5	91,0-83,5	400	225	335	390	220	( 32
A.16	6	61	67,0	89,5-81,5	390	85	120	150	75	( 32
A.21	6	62	72,0	93,0-87,5	640	210	380	305	205	( 32
A.22	6	68	80,5	950	120	35	60	50	40	) 32

<sup>1</sup> Apresentou um segundo pico no valor de 40 U.A. durante o resfriamento.

Temperatura de pasta (T.P.), temperatura de viscosidade máxima (T.V.M.), faixa de temperatura correspondente à mínima viscosidade da pasta (F.T.M.V.P.), viscosidade máxima (V.M.), viscosidade mínima a 95°C (V.M. 95), viscosidade a 50°C (V. 50), viscosidade mínima no processo (V.M.P.).

Comparando-se os parâmetros viscoamilográficos das amostras de puba com os das amostras de mandioca moída, verifica-se que os valores das temperaturas de pasta e os das viscosidades são menores, na mandioca moída. Num primeiro momento essa constatação pode levar à conclusão de que é mais interessante se utilizar a massa de mandioca do que a puba,

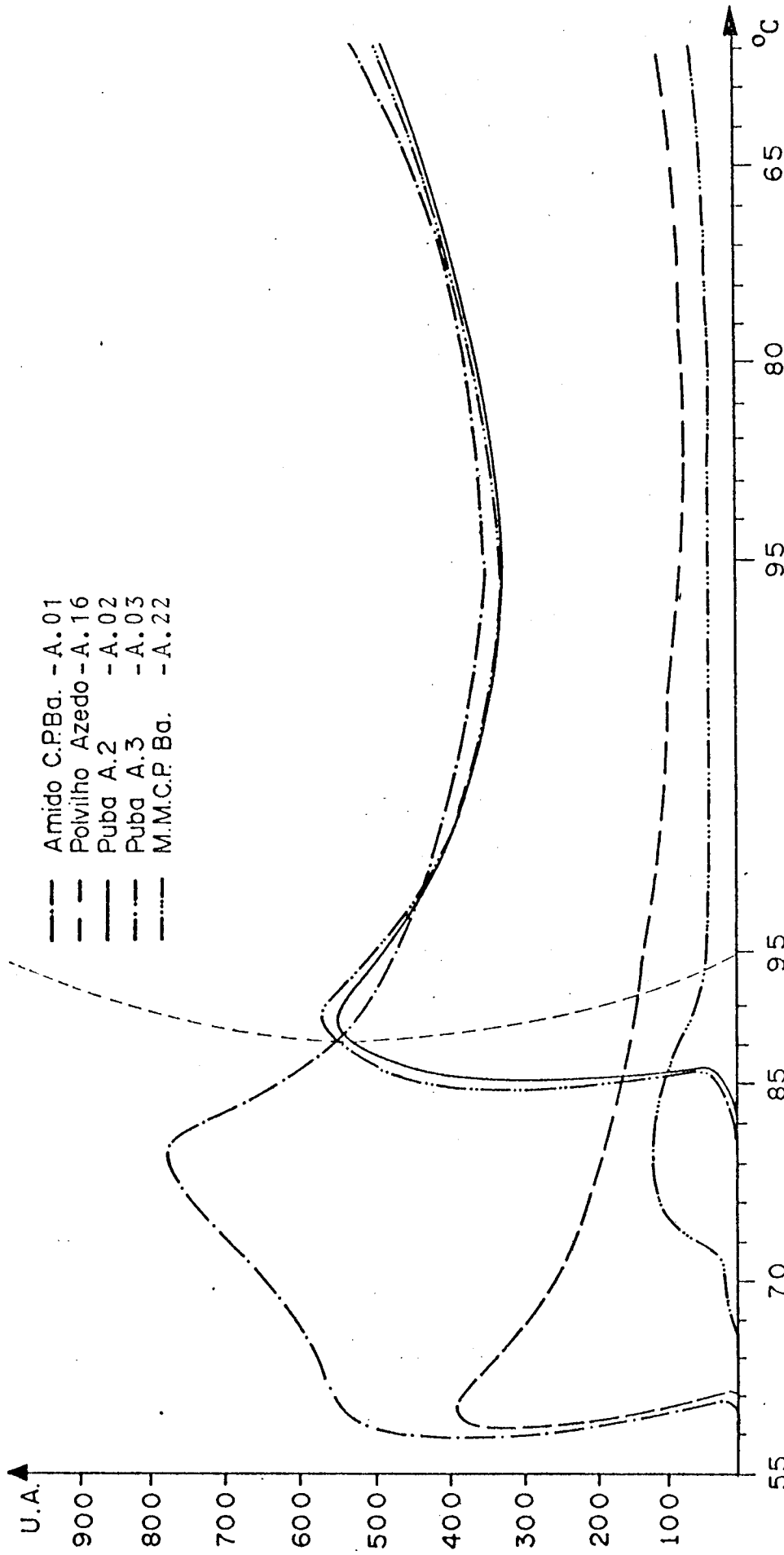


FIGURA 8 - Viscoamilogramas das Amostras A.01, A.16, A.02, A.03 e A.22. Concentração 6% (P/V).

uma vez que menores temperatura e viscosidade podem significar economia de energia e facilidade de bombeamento, respectivamente. O que ocorre é a gelatinização e formação de pasta no caso das amostras de puba. Nas amostras de mandioca moída há concorrência das fibras com os grânulos de amido, pela água, com formação de grumos em torno das partículas de mandioca, cujo "mesh" é maior que 32. Há formação de suspensões que podem trazer como conseqüências entupimento de tubulação e dificuldade de bombeamento, na etapa de gelatinização. Problemas posteriores poderão surgir na fase de sacarificação: dificuldade de acesso das enzimas ao interior dos grumos e na fermentação: adsorção de etanol aos grumos e fibras, levando à necessidade de filtração do vinho, antes da destilação (SILVA, 1979 e QUEIROZ et alii, 1982).

#### 4.5. Exame Microscópico

O resultado do exame microscópico é o seguinte:

1. Todos os grânulos de amido estão bem preservados.
2. Os amidos apresentam a mesma forma: heterogeneidade de diâmetro, depressão central, eventuais rachaduras na depressão central.
3. A amostra A.17 exhibe, quantitativamente, maiores rachaduras partindo da depressão central.
4. A presença da estrutura cristalina está mantida porque todos, sem exceção apresentam Cruz de Malta.

Esperava-se que as amostras de puba apresentassem grânulos de amido destruídos, bastante alterados ou sem a Cruz de Malta em função do processo fermentativo. Esse resultado demonstra que a pubagem afetou muito pouco o grânulo de amido. A maior alteração ocorreu nos grânulos provenientes da amostra A.17 que é uma puba originada do experimento E.1, onde se utilizou mandioca com apenas seis meses de idade. Nesse caso o grânulo de amido deve ser mais suscetível ao ataque enzimático e à ação dos ácidos formados.

#### 4.6. Sacarificações

##### 4.6.1. Preliminares

Na discussão desse tópico há que se considerar alguns pressupostos indispensáveis ao seu perfeito entendimento:

1. As massas das amostras (M.Am.) ensaiadas são consideradas como tendo 100% de amido em sua composição e estão mostradas nas Tabelas 3 e 8.
2. O fator de conversão de amido em ART, como glicose, é o estequiométrico:  $180/162 = 1,111$  g de ART/g de amido.
3. No cálculo da massa de ART (S.T.) correspondente a conversão total do amido inicial e do seu equivalente em concentração (C.Eq.). Dessa forma, para fins de cálculo das produtividades, eficiências e rendimentos globais da sacarificação (neste caso envolvendo gelatinização e hidrólise), os teores de ART iniciais, foram considerados iguais a zero.



TABELA 8 - Valores da Massa de Amido (M.Am), Massa Reacional (M.Reac.), Massa de ART Correspondente à Conversão Total do Amido Inicial (S.t.) e de seu Equivalente em Concentração (C.Eq.) nas Sacarificações Estudadas. SAC-13 a 41

SAC N.º	M.Am. g	M.Reac. g	S.t g	C.Eq. g/l
13	72,00	600,00	80,00	139,90
14	60,00	600,00	66,67	115,64
15	60,00	600,00	66,67	115,64
16	50,00	500,00	55,56	115,64
17	60,00	600,00	66,67	115,64
18	36,00	600,00	40,00	68,27
19	30,00	500,00	33,33	68,27
20	36,00	600,00	40,00	68,27
21	36,00	600,00	40,00	68,27
22	72,00	600,00	80,00	139,90
23	72,00	600,00	80,00	139,90
24	72,00	600,00	80,00	139,90
25	72,00	600,00	80,00	139,90
26	72,00	600,00	80,00	139,90
27	72,00	600,00	80,00	139,90
28	72,00	600,00	80,00	139,90
29	72,00	600,00	80,00	139,90
30	36,00	600,00	40,00	68,27
31	36,00	600,00	40,00	68,27
32	72,00	600,00	80,00	139,90
33	72,00	600,00	80,00	139,90
34	36,00	600,00	40,00	68,27
35	36,00	600,00	40,00	68,27
36	72,00	600,00	80,00	139,90
37	72,00	600,00	80,00	139,90
38	36,00	600,00	40,00	68,27
39	36,00	600,00	40,00	68,27
40	72,00	600,00	80,00	139,90
41	72,00	600,00	80,00	139,90

4. Nas análises dos resultados, tomou-se a sétima hora (420 minutos) como tempo comum para comparação entre as sacarificações das vinte e nove amostras, das quais se fez estudo da cinética (SAC.13 a SAC.41).

5. No estudo dos parâmetros cinéticos da sacarificação propriamente dita, reação catalisada pela AMG, descontou-se a concentração de ART existente ao início do processo e representaram-se os resultados com os sub-índice sac. na Tabela 9.

6. As Tabelas 2A a 30A, apresentadas no apêndice, contêm os valores das concentrações de ART, segundo o tempo de sacarificação, e o número da amostra.

#### 4.6.2. Modelagem Matemática

Para que se pudesse traduzir através de uma equação matemática a formação de ART em função do tempo, foram testados doze modelos pré-definidos existentes no SAEG. Dentre eles, um mostrou-se satisfatório: o modelo cúbico, pois os coeficientes de determinação ( $r^2$ ), o ajuste dos valores estimados em relação aos observados e a lisura e continuidade das curvas representativas das equações traduziram satisfatoriamente o fenômeno em estudo.

##### 4.6.2.1. Modelo Cúbico

Neste modelo a concentração de ART formado em função do tempo, é dada pela equação:

$$[S]_D = a + bT \pm cT^2 \pm dT^3.$$

No tempo  $T = 0$  há uma discrepância muito grande entre os valores observados e os estimados pelo modelo. Há uma

TABELA 9 - Valores das Concentrações de ART Inicial ( $S_{Di}$ ), à Sétima Hora ( $S_{D7}$ ), Final ( $S_{Df}$ ), das Diferenças entre Elas ( $\Delta S_{D7}$  e  $\Delta S_{Df}$ ), da Massa de ART Gerada nas Sacarificações até a Sétima Hora (M.S.sac), da Massa Total de ART Produzida até a Sétima Hora (M.S.7) e da Massa Final de ART (M.S.f), nas Sacarificações Estudadas. SAC 13 a 41.

SAC N.º	$S_D$			$\Delta S_D$		M.S.		
	i	7. <sup>a</sup>	f	7. <sup>a</sup>	f	sac	7. <sup>a</sup>	f
	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g	g	g
13	0,65	72,01	83,22	71,36	82,57	40,81	41,18	47,59
14	0,14	54,09	81,94	53,95	81,80	31,10	31,18	47,24
15	0,12	68,32	82,77	68,20	82,65	39,32	39,39	47,72
16	1,06	78,66	79,97	77,10	78,91	37,04	37,55	38,42
17	0,98	45,39	51,98	44,41	51,00	25,60	26,17	29,97
18	5,09	28,76	32,23	23,67	27,14	13,87	16,85	18,88
19	3,14	29,93	38,82	26,79	30,07	13,08	14,61	18,95
20	0,57	27,88	29,07	27,31	28,50	16,00	16,34	17,03
21	1,64	32,36	52,64	30,72	51,00	18,00	18,96	30,84
22	10,39	128,07	133,60	117,70	123,91	67,31	73,25	76,40
23	102,85	100,77	102,85	-2,08	0,00	N.D.	57,62	59,81
24	65,15	86,37	94,98	21,22	29,83	12,13	49,39	54,31
25	0,89	17,26	72,02	16,37	71,13	9,36	9,87	41,18
26	72,35	119,82	119,77	47,47	17,42	27,15	68,52	68,49
27	78,28	115,93	112,52	37,65	34,26	21,52	66,29	64,34
28	68,40	84,30	111,21	15,90	42,81	9,09	48,21	63,59
29	62,80	97,12	107,91	34,32	45,11	19,63	55,54	61,71
30	32,72	46,47	46,38	13,75	13,66	8,06	27,23	27,17
31	40,62	58,24	56,92	17,62	16,30	10,32	34,12	33,35
32	4,60	90,96	96,39	86,36	91,79	49,38	52,01	55,12
33	10,16	78,28	83,55	68,12	73,39	38,95	44,76	47,78
34	25,97	38,31	40,78	12,34	14,81	7,23	22,45	23,89
35	5,62	32,39	39,63	26,77	34,01	15,68	18,98	23,22
36	77,95	131,29	131,29	53,34	53,34	30,50	75,08	75,08
37	72,02	125,36	130,96	53,34	58,94	30,50	71,69	74,89
38	33,37	50,34	51,29	16,97	17,92	9,94	29,49	30,05
39	41,45	51,08	53,13	9,63	11,68	5,64	29,93	31,13
40	3,63	125,81	136,89	122,18	133,25	69,87	71,94	78,28
41	53,95	126,74	132,28	68,26	78,33	39,03	72,47	75,64

tendência à minimização a partir de  $T = 40$  min. e um retorno à discrepância ao final do processo. Mesmo assim, na maioria das sacarificações, os  $r^2$  de 23 equações foram maiores que 90,00%,

no universo das 29 equações representadas na Tabela 10.

TABELA 10 - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART em Função do Tempo, nas Sacarificações Estudadas

Sac. N.	a	$10^2 \cdot b$	$-10^5 \cdot c$	$10^9 \cdot d$	$r^2$ %
13	20,96	18,58	13,60	26,91	87,79
14	15,01	17,62	14,79	38,55	88,54
15	13,15	18,35	15,16	38,89	92,89
16	23,59	29,73	45,19	185,04	86,42
17	14,54	16,12	23,13	93,29	88,24
18	8,66	6,88	5,82	15,48	95,75
19	8,60	9,94	11,85	43,83	92,41
20	1,82	17,20	36,19	250,45	98,80
21	8,63	6,23	2,69	3,41	91,40
22	29,20	52,23	63,57	222,28	90,25
23	111,75	67,48	4,03	20,79	50,51
24	76,53	6,16	5,48	13,04	67,84
25	7,39	3,22	2,93	10,46	96,23
26	74,81	22,22	30,13	121,68	95,62
27	78,10	22,06	38,02	180,04	97,55
28	66,99	7,17	3,19	3,19	96,02
29	64,48	12,66	11,40	32,47	98,77
30	33,15	2,42	-0,73	-13,76	91,59
31	39,57	7,70	10,15	40,23	92,00
32	16,66	46,47	81,48	352,41	91,13
33	17,74	37,52	63,62	271,02	91,08
34	26,51	6,01	9,08	39,67	96,58
35	11,70	14,28	25,90	123,36	92,41
36	73,48	23,26	26,89	95,30	96,44
37	70,46	18,32	12,96	19,33	98,41
38	34,35	10,71	20,35	98,88	92,04
39	43,42	4,10	6,54	29,96	85,25
40	10,36	69,36	127,30	615,11	97,63
41	56,20	36,19	59,08	270,51	99,43

$$[S]_D = a + bT \pm cT^2 \pm dT^3 \text{ (modelo cúbico).}$$

Na SAC.41 ocorreu o melhor ajuste do modelo cúbico aos valores observados, através da equação:

[S] =  $56,20 + 0,3619T - 5,908 \cdot 10^{-4} T^2 + 2,7051 \cdot 10^{-7} T^3$ ,  $r^2 = 99,43\%$ , cuja representação gráfica se encontra na Figura 9.

4.6.3. ART a Ser Produzido (St), sua Concentração Equivalente (C.Eq.) e Massa de ART Produzida Devido à Sacarificação (M.S.Sac), Total até a Sétima Hora (M.S.7.<sup>a</sup>) e Total ao Final da Sacarificação (M.S.f.)

Os resultados obtidos para esses parâmetros que se encontram nas Tabelas 8 e 9 foram utilizados para o cálculo dos parâmetros cinéticos que estão mostrados na Tabela 11.

A seguir apresentam-se as fórmulas utilizadas para calculá-los.

4.6.3.1. Massa de ART Correspondente à Conversão Total do Amido Inicial - St (g de ART, em glicose)

$$St = M.Am \times \frac{180}{162} = 1,111 \times M.Am.,$$

4.6.3.2. Concentração Equivalente - C.Eq. ( $g \cdot l^{-1}$ )

$$C.Eq. = \frac{St}{\frac{(M.Reac - M.Am)}{\rho_{H_2O}} + \frac{St}{1,544}} \times 1000 = \frac{1544 \cdot St}{1,544 \cdot M.H_2O + St}$$

Neste caso adotou-se  $\rho_{H_2O} = 1,00 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$  e  $\rho_{glicose} = 1,544 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ . Considera-se que os ART produzidos estejam sob a forma de glicose.

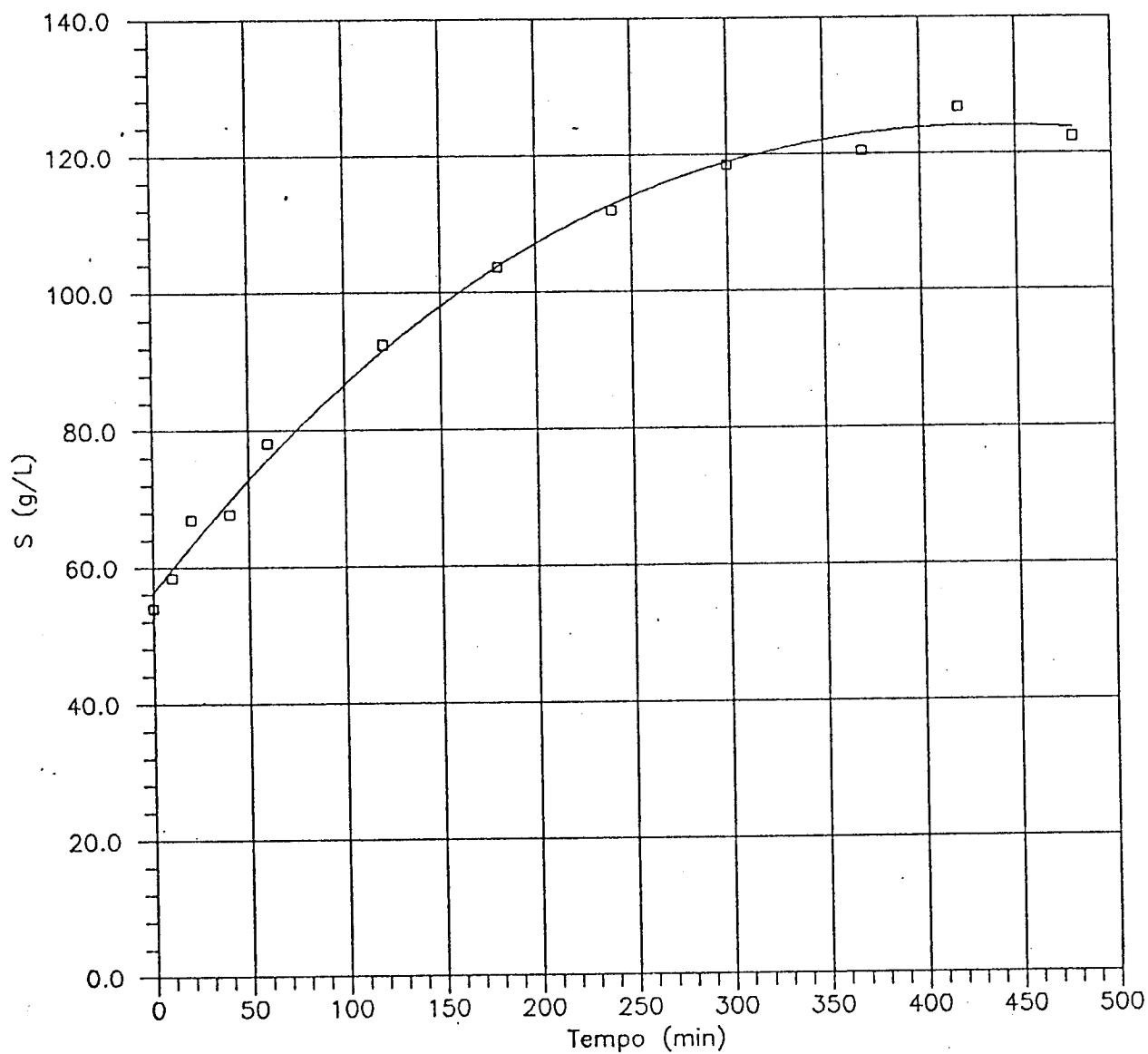


FIGURA 9 - Concentração de ART x Tempo na SAC.41.  $[S] = 56,20 + 0,3619T - 0,000591T^2 + 2,7051E-7T^3$  ( $R^2 = 0,9943$ ).

TABELA 11 - Valores dos Rendimentos (Rs, Rg); das Produtividades (PSAs, PSAi) e das Eficiências (es, eg); Obtidos até a Sétima Hora nas Sacarificações Estudadas SAC-13 a 41.

SAC	Rs	Rg	PSAs	PSAi	es	eg
N.º	gS/gAm x 10 <sup>2</sup>	gS/gAm x 10 <sup>2</sup>	gS/gAm.h x 10 <sup>2</sup>	gS/gAm.h x 10 <sup>2</sup>	%	%
13	56,68	57,19	8,10	8,17	51,01	51,47
14	51,84	51,97	7,41	7,42	46,66	46,77
15	65,53	65,65	9,36	9,38	59,98	59,09
16	74,09	75,10	10,59	10,73	66,68	67,59
17	42,67	43,62	6,10	6,23	38,40	39,26
18	38,52	46,81	5,50	6,69	34,67	42,13
19	43,60	48,70	6,23	6,96	39,24	43,83
20	44,45	45,39	6,35	6,48	40,01	40,85
21	50,00	52,67	7,14	7,52	45,00	47,40
22	93,48	101,73	13,35	14,53	84,13	91,56
23	N.D.	80,03	N.D.	11,43	N.D.	72,03
24	16,85	68,60	2,41	9,80	15,17	61,74
25	13,00	13,71	1,86	1,96	11,70	12,34
26	37,70	95,16	5,39	13,59	33,93	85,64
27	29,90	92,07	4,27	13,15	26,90	82,86
28	12,63	66,95	1,60	9,56	11,37	60,26
29	27,26	77,13	3,89	11,02	24,53	69,42
30	22,33	75,63	3,20	10,80	20,14	63,07
31	28,68	94,79	4,10	13,54	25,81	80,31
32	68,59	72,24	9,80	10,22	61,73	65,02
33	54,10	62,17	7,73	8,88	49,69	55,95
34	20,08	62,35	2,87	8,91	18,07	56,12
35	43,57	52,72	6,22	7,53	39,21	47,45
36	42,36	104,27	6,05	14,90	38,12	93,84
37	42,36	99,56	6,05	14,22	38,12	89,60
38	27,62	81,93	3,95	11,70	24,86	73,74
39	15,67	83,13	2,24	11,88	14,10	74,82
40	97,04	99,92	13,86	14,27	87,34	89,93
41	54,21	100,66	7,74	14,38	48,79	90,59

N.D. não determinado.

#### 4.6.3.3. Massa de ART Produzida (g)

a) Exclusivamente na sacarificação até a sétima hora -  
M.S. sac.

$$M.S.sac = \frac{St}{C.Eq.} \times \Delta S 7.^a$$

b) Globalmente até a sétima hora - M.S.7.<sup>a</sup>

$$M.S.7.^a = \frac{St}{C.Eq.} \times S 7.^a$$

c) Globalmente até o final da sacarificação - M.S.f.

$$M.S.f. = \frac{St}{C.Eq.} \times Sf$$

#### 4.6.4. *Parâmetros Cinéticos das Sacarificações: Rendimentos, Produtividades e Eficiências (adimensionais)*

Na Tabela 11 estão listados os resultados dos parâmetros citados, até a sétima hora das sacarificações.

A comparação desses valores permite que se verifique o que ocorreu com as amostras em termos de conversão a ART durante a sacarificação propriamente dita e globalmente, ambas até a sétima, considerando-se, nesse caso, a massa inicial de ART e os efeitos da gelatinização, hidrólise e sacarificação.

##### 4.6.4.1. *Rendimento na Sacarificação e Rendimento Global - Rs e Rg*

$$Rs = \frac{M.S.sac.}{M.Am.}, e$$

$$Rg = \frac{M.S.7.^a}{M.Am.}$$



Examinando-se a Tabela 11 constata-se que as sacarificações SAC.40 e SAC.22, feitas com amostras de amido COPAGRA na concentração de 12% (P/P), submetido ao tratamento 3 (G + Sac), com 100 ml de AMB, apresentaram rendimentos de 0,9704 e 0,9348, sendo esses os melhores rendimentos observados.

Na análise do Rg o melhor resultado foi o do polvilho azedo KITANO na SAC.36: 1,0427 g de S/g de Am, essa amostra passou pelo tratamento 1 (G + H + Sac.). A SAC.22 apresentou o segundo melhor resultado, Rg = 1,0173.

Nas amostras de puba o melhor Rs foi o da SAC.16 sendo também o melhor resultado das amostras, Rs = 0,7409, seguindo-se a SAC.32 com Rs = 0,6859 e com tratamento 5 (G + H + Sac, nas condições da amostra).

Analisando-se os Rg das amostras de puba verifica-se que os melhores rendimentos são os da SAC.37 e SAC.26 sendo seus respectivos valores Rg = 0,9956 e 0,9516; ambas sofreram tratamento 1 (G + H + Sac).

#### 4.6.4.2. Produtividade na Sacarificação e Produtividade Global - PSAs e PSAi (g S/g Am.h)

$$PSAs = \frac{M.S.sac}{M.Am.t} = \frac{Rs}{t} = \frac{Rs}{7} = 0,143 Rs$$

$$PSAi = \frac{M.S.7.^a}{M.Am.t} = \frac{Rg}{t} = \frac{Rg}{7} = 0,143 Rg$$

Considerando-se que a produtividade difere do rendimento apenas por um fator constante, as análises feitas para os rendimentos são as mesmas para as produtividades até a sétima hora. Diferem se considerarmos as produtividades até o final do processo, o que não foi o caso.

#### 4.6.4.3. Eficiência nas Sacarificações e Eficiência Global - $e_s$ e $e_g$ (adimensionais)

Em ambas as eficiências considerou-se a massa inicial de amido com referência, de maneira que se todo amido fosse transformado em ART a eficiência seria de 100%, dessa forma os resultados indicarão a percentagem do total teórico de ART formado ou de amido que foi consumido, até a sétima hora.

$$e_s = \frac{\text{M.S.sac.}}{\text{M.Am. } 180} \times 100 = 90 \quad \frac{\text{M.S.sac}}{\text{M.Am}} = 90 \quad R_s$$

$$\frac{\text{-----}}{162}$$

$$e_g = \frac{\text{M.S.7.}^a}{\text{M.Am. } 180} \times 100 = 90 \quad \frac{\text{M.S.sac}}{\text{M.Am}} = 90 \quad R_g$$

$$\frac{\text{-----}}{162}$$

Da mesma forma que a produtividade, a eficiência difere do rendimento apenas pelo fator 90, assim sendo, a análise feita para os resultados de rendimento é válida para as eficiências e os resultados são os mesmos a menos da constante.

Verifica-se dessa forma que análises de rendimentos, produtividades e eficiências só diferem se os intervalos de tempo e o instante considerados nas análises forem diferentes.

## 4.7. Fermentações

### 4.7.1. Preliminares

Visando o perfeito entendimento dos resultados, suas análises e discussões apresentam-se alguns esclarecimentos preliminares que ajudarão no bom e claro entendimento desta parte do trabalho:

1. A correspondência entre os códigos das fermentações (FERM. n.<sup>o</sup>), os das amostras, os das sacarificações, os dos tratamentos nas sacarificações, as origens e os produtos estão apresentados na Tabela 12.
2. Os volumes dos meios reacionais e as concentrações iniciais de substrato ([S]<sub>0i</sub>) foram diferentes em todas as fermentações. Os volumes dos meios tiveram valores entre 700 e 900 ml e as concentrações de ART entre 120,24 e 29,90 g/l.
3. A décima segunda hora, comum a todas as fermentações, foi tomada como tempo de referência para comparação dos resultados entre as fermentações.

### 4.7.2. Parâmetros Observados e Estimados nas Fermentações FERM.01 a 23

Os resultados dos 23 experimentos de fermentações foram tabulados nas Tabelas 13, 14 e 34A a 54A. Para se evitar repetições de tabelas semelhantes optou-se por registrar na Tabela 13 os resultados da FERM.01 que foi o experimento padrão feito com sacarose; na Tabela 14 os da FERM.12 que

TABELA 12 - Correspondência Existente entre as Fermentações, Amostras, Sacarificações, Tratamento Durante a Sacarificação, Origem e Produtos

Ferm. N.º	Amostra Código	SAC. Código	Trat. <sup>1</sup> na Sac.	Origem	Produto	Observações
01	-x-	-x-	-x-	Comércio-SP	Sacarose	Testeavinha
02	A.21	S.5	1	Comércio-PR	Amido	"Copagra"
03	A.01	S.26	1	E.7	Amido	-
04	A.11	S.(6+37)	1	UNICAMP/1985	Puba	-
05	A.(2+3)	S.(28+29)	1	E.(2+3)	Puba	-
06	A.21	S.(24+27)	(2+1)	Comércio-PR	Amido	"Copagra"
07	A.09	S.30	1	E.8	M.mandioca	Com casca
08	A.22	S.31	1	E.9	M.mandioca	Sem casca
09	A.23	S.38	1	E.3	Puba	Em suspensão
10	A.25	S.39	1	E.2	Puba	Em suspensão
11	A.21	S.22	3	Comércio-PR	Amido	"Copagra"
12	A.21	S.23	1	Comércio-PR	Amido	pH=4,60 na hidro.
13	A.03	S.13	4	E.3	Puba	-
14	A.02	S.14	4	E.2	Puba	-
15	A.01	S.16	4	E.7	Amido	-
16	A.21	S.17	4	Comércio-PR	Amido	"Copagra"
17	A.09	S.18	4	E.8	M.mandioca	Com casca
18	A.22	S.19	4	E.9	M.mandioca	Sem casca
19	A.16	S.15	4	Comércio-SP	Polv.Azedo	"Kitano"
20	A.23	S.20	4	E.3	Puba	Em suspensão
21	A.25	S.21	4	E.2	Puba	Em suspensão
22	A.21	S.(40+41)	(1+3)	Comércio-PR	Amido	"Copagra"
23	A.(2+3)	S.(32+33)	5	E.(2+3)	Puba	-

<sup>1</sup> Tratamentos: 1 = G + H + Sac.; 2 = G + H; 3 = G + Sac.; 4 = Sac. com amostra crua; 5 = G + H + Sac., nas condições da amostra.

apresentam os resultados mais desfavoráveis e nas Tabelas 34A a 54A, que foram para o apêndice, os demais resultados. Dessa forma, no que se refere às análises dos resultados das fermentações, o que foi apresentado para as FERM.01 e 12 (Tabelas 13 e 14) se estende às demais fermentações.

Dessas tabelas extraíram-se alguns valores que foram utilizados na Tabela 15, a saber: pHs iniciais e finais;

TABELA 13 - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 01

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,82	1,46	1,38	64,03	63,44	0,73	1,23	-	-	-
2	1	3,78	1,46	1,46	62,25	63,00	1,30	0,91	0,07	0,77	0,07
3	2	3,70	1,55	1,59	61,66	61,24	1,55	1,33	0,10	1,48	0,53
4	3	3,61	1,71	1,78	57,96	58,34	2,92	2,55	0,12	1,92	0,83
5	4	3,51	1,96	2,03	54,55	54,48	4,53	4,29	0,14	2,10	0,98
6	5	3,36	2,44	2,35	48,78	49,84	6,89	6,50	0,15	2,11	1,03
7	6	3,29	2,79	2,70	44,76	44,61	8,17	9,02	0,13	2,02	1,00
8	7	3,22	3,07	3,05	38,93	38,96	11,26	11,89	0,11	1,90	0,95
9	8	3,15	3,28	3,35	34,89	33,08	14,38	14,85	0,08	1,77	0,89
10	9	3,10	3,51	3,58	27,88	27,15	18,38	17,83	0,06	1,65	0,83
11	10	3,06	3,76	3,75	22,33	21,35	21,12	20,74	0,04	1,51	0,75
12	11	3,02	3,94	3,86	12,76	15,86	24,12	23,44	0,02	1,37	0,66
13	12	3,01	3,96	3,93	9,79	10,87	25,58	25,85	0,01	1,19	0,56
14	13	3,00	4,00	3,97	8,22	6,55	27,55	27,84	0,01	0,99	0,44

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

concentrações iniciais e à décima segunda hora de: massa celular, substrato e etanol e na Tabela 21 velocidades específicas máximas (pontuais) de: crescimento, consumo de substrato e formação de etanol.

Os cálculos de todos os parâmetros estimados serão apresentados na discussão dos modelos matemáticos de ajuste das equações e suas respectivas representações gráficas.

A FERM.12 se destacou pelos resultados dispares em relação às demais: seus rendimentos foram muito baixos. O pH permaneceu constante durante a fermentação, em torno de 4,08.

TABELA 14 - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 12

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,09	1,33	1,30	54,53	55,18	1,02	0,54	-	-	-
2	1	4,09	1,33	1,33	54,20	53,80	1,05	1,24	0,02	0,97	0,45
3	2	4,07	1,33	1,37	53,52	52,58	1,16	1,75	0,03	0,84	0,31
4	3	4,06	1,38	1,41	51,52	51,43	1,75	2,10	0,03	0,74	0,19
5	4	4,06	1,46	1,45	49,94	50,49	2,14	2,30	0,04	0,66	0,10
6	5	4,05	1,52	1,50	49,23	49,56	3,10	2,38	0,04	0,61	0,02
7	6	4,08	1,59	1,55	48,23	48,66	2,68	2,37	0,03	0,57	0,04
8	7	4,08	1,60	1,59	47,70	47,77	2,85	2,28	0,02	0,57	0,08
9	8	4,08	1,60	1,63	49,15	48,85	1,64	2,13	0,02	0,58	0,10
10	9	4,08	1,66	1,66	43,77	43,87	1,68	1,96	0,01	0,61	0,11
11	10	4,08	1,66	1,69	43,57	44,81	1,75	1,77	0,01	0,66	0,11
12	11	4,08	1,72	1,71	45,45	43,62	1,52	1,60	0,00	0,74	0,10

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol (h<sup>-1</sup>), respectivamente.

Na sacarificação SAC.23 da amostra A.21. geradora do substrato para essa fermentação o que ocorreu de diferente foi a utilização de 1.000  $\mu$ l de  $\alpha$ -amilase (cinco vezes mais que o normal) e a utilização de meio tamponado em pH 4,60 durante o tratamento 1 (G + H + Sac.). Não se pode perder de vista o fato de se haver repetido as sacarificações SAC.22 e 23 cujas duplicatas foram as sacarificações SAC.40 e 41 respectivamente, sendo os ART obtidos utilizados como substrato na FERM.22. Em ambas as fermentações os parâmetros relativos às células foram ruins.

TABELA 15 - Tempo de Fermentação (T.F.), Valores Iniciais, Finais e Respectivas Diferenças para pH, Concentração de Células, Açúcares Redutores e Etanol nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora

FERM N.º h	T.F.	pH			[X]			[S]			[P]			
		pHi	pHf	ΔpH	Xi	Xf	ΔX	Si	Sf	ΔS	Pi	Pf	ΔP	
				g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	°B.L.	g/l
1	13	3,82	3,01	0,81	1,46	3,96	2,50	64,03	9,79	54,24	0,73	25,58	3,24	24,85
2	12	4,33	3,11	1,22	1,35	4,26	2,91	69,37	28,98	40,39	2,53	27,24	3,45	24,71
3	12	4,04	2,86	1,18	1,33	4,35	3,02	78,02	22,97	55,05	1,37	24,50	3,10	23,13
4	12	4,02	3,00	1,02	1,32	4,26	2,94	73,38	16,33	57,05	1,39	24,35	3,08	22,96
5	12	4,03	2,97	1,06	1,32	4,47	3,15	72,59	12,53	60,06	1,34	24,79	3,14	23,45
6	12	4,10	3,74	0,36	1,33	3,16	1,83	120,24	64,07	56,17	1,11	24,04	3,05	22,93
7	12	4,08	3,50	0,58	1,87	4,99	3,12	39,39	1,62	37,77	0,78	15,30	1,94	14,52
8	12	4,04	3,23	0,71	1,50	4,87	3,37	42,03	0,14	41,89	1,37	17,38	2,20	16,01
9	12	4,13	3,40	0,53	1,55	4,65	3,10	50,58	0,16	50,42	0,20	20,92	2,65	20,72
10	12	4,09	3,83	0,26	1,74	4,13	2,39	52,06	0,19	51,87	1,43	13,26	1,68	11,83
11	12	4,03	3,42	0,61	1,36	3,91	2,55	53,87	0,14	53,73	1,19	21,62	2,74	20,43
12	12	4,09	4,08	0,01	1,33	1,76	0,43	54,53	36,86	17,67	1,02	1,56	0,20	0,54
13	12	4,14	3,25	0,79	1,23	4,26	3,03	69,17	0,11	69,06	0,86	24,70	3,13	23,04
14	12	4,16	3,35	0,81	1,23	4,30	3,07	54,03	0,09	53,94	0,93	22,69	2,97	21,76
15	12	4,08	3,14	0,94	1,20	4,40	3,20	62,26	0,23	62,03	0,96	25,27	3,20	24,31
16	12	4,06	3,77	0,29	1,16	2,57	1,41	49,76	0,22	49,54	1,18	15,19	1,92	14,01
17	12	4,12	3,70	0,42	1,21	3,41	2,20	31,71	0,33	31,38	1,03	14,23	1,80	13,20
18	12	4,23	3,62	0,51	1,23	3,76	2,53	29,90	0,40	29,50	1,73	13,61	1,72	11,88
19	13	3,88	3,21	0,67	1,46	4,45	2,99	50,74	0,10	50,64	0,78	23,70	3,00	22,92
20	13	3,91	3,65	0,26	1,49	3,69	2,20	36,23	0,08	36,15	0,71	17,58	2,23	16,87
21	13	3,92	3,72	0,20	1,43	3,73	2,30	41,20	0,02	41,12	0,73	16,54	2,10	15,81
22	13	3,95	3,53	0,42	1,47	3,04	1,57	53,05	0,13	52,92	0,86	25,47	3,23	24,61
23	13	3,82	3,02	0,80	1,46	4,29	2,83	65,82	0,27	65,61	0,70	28,08	3,56	27,38

#### 4.7.3. Modelagem Matemática

Utilizando-se o programa SAEG, analisaram-se os resultados observados de pH, [X]<sub>o</sub>, [S]<sub>o</sub> e [P]<sub>o</sub>, apresentados nas Tabelas 13, 14 e similares, obtendo-se as equações, representações gráficas e os valores estimados de [X]<sub>e</sub>, [S]<sub>e</sub> e [P]<sub>e</sub> que satisfaziam a condição de pertinência à curva e proximidade dos valores observados.

Para cada equação foi determinado o coeficiente de determinação ( $r^2$ ), definido como o quadrado da correlação entre os valores observados e os estimados pela equação.

Nas análises dos valores de pH, [S]<sub>0</sub> e [P]<sub>0</sub> procedeu-se da mesma forma utilizada com os resultados das sacarificações: ajuste dos pontos através de 12 modelos pré-definidos, verificando-se qual apresentava o melhor  $r^2$ . Esse era o escolhido.

Os valores de [X]<sub>0</sub>, em cada fermentação, foram analisados através do processo de ajustamento não linear proposto por MARQUARDT (citado por DRAPER & SMITH, 1981) permitindo que se chegasse à equação logística-mendesiana, sua representação gráfica, excelentes valores de  $r^2$  e de [X]<sub>e</sub>, muito próximos dos observados, obtidos iterativamente.

#### 4.7.3.1. Modelo Cúbico para Variação de pH, Consumo de Substrato e Formação de Etanol

O melhor ajuste para os valores observados de pH, [S]<sub>0</sub> e [P]<sub>0</sub> foi dado pelo polinômio:

$$\text{pH, [S]}_e, \text{[P]}_e = a \pm bT \pm cT^2 \pm dT^3 \quad (1)$$

##### a) Resultados de pH

Os valores de a, b, c, d e  $r^2$  para o pH estão listados na Tabela 16, nas 23 fermentações analisadas. A curva correspondente à equação representativa da variação do pH em função do tempo é a da FERM.14 e está mostrada na Figura 10. Com exceção da FERM.12, todas as outras equações tem  $r^2 > 96\%$ .



TABELA 16 - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação do pH do Meio em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas

Ferm. N.º	10.a	-10 <sup>2</sup> .b	-10 <sup>3</sup> .c	10 <sup>5</sup> .d	r <sup>2</sup> %
1	39,00	13,18	-05,57	-06,41	98,74
2	43,87	12,96	04,23	48,38	98,82
3	41,62	16,99	-05,50	-03,57	97,51
4	40,84	14,61	-05,43	-05,65	98,82
5	40,61	08,59	07,99	60,00	98,96
6	40,72	00,24	05,67	29,72	97,26
7	40,85	-01,02	15,06	79,03	97,36
8	40,63	62,59	16,45	88,79	97,88
9	40,99	-05,01	17,95	82,45	98,47
10	40,94	00,92	04,59	27,00	97,48
11	40,46	01,63	08,07	42,60	99,61
12	40,97	02,18	00,41	00,21	66,92
13	41,25	-00,47	17,46	96,73	99,82
14	40,93	-03,21	24,46	138,40	99,87
15	40,68	00,68	20,69	123,83	99,74
16	40,70	03,54	-03,20	-19,23	96,78
17	41,28	02,79	08,80	69,35	98,53
18	41,46	02,60	10,80	80,13	97,66
19	38,76	-50,20	15,08	86,51	99,17
20	39,03	78,05	04,09	24,48	96,51
21	39,13	01,15	02,11	14,17	96,79
22	39,53	02,64	02,07	09,96	99,27
23	38,27	02,25	13,66	82,12	99,74

$$\text{pH} = a \pm b.T \pm c.T^2 \pm d.T^3 \text{ (modelo cúbico).}$$

#### b) Resultados da Concentração de Substrato - [S]e

Na variação da concentração de substrato em função do tempo, o termo independente de T, a e os coeficientes b, c, d e r<sup>2</sup> estão na Tabela 17. O gráfico-modelo escolhido para representar esse fenômeno está na Figura 11, tem por equação: [S]e = 67,51 - 0,5576T - 0,805T<sup>2</sup> + 0,03108T<sup>3</sup>; r<sup>2</sup> = 99,65%, correspondente à FERM.13, com mosto proveniente de puba.

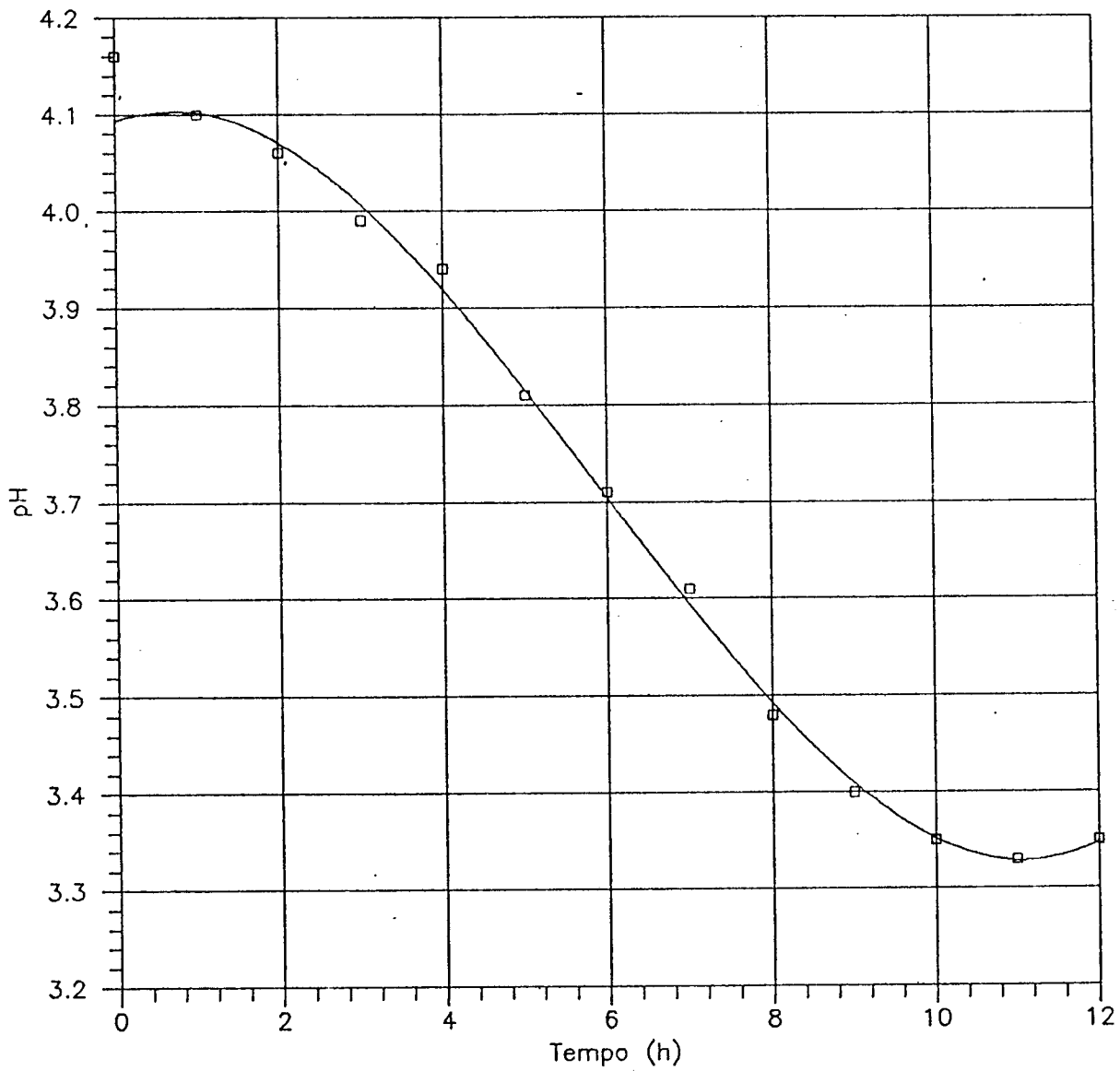


FIGURA 10 - pH x Tempo na FERM.14.  $pH_t = 4,093 + 0,0321T - 0,02446T^2 + 0,001384T^3$  ( $R^2 = 0,9987$ ).

TABELA 17 - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas

Ferm. N. <sup>o</sup>	a	-10 <sup>2</sup> .b	-10 <sup>2</sup> .c	10 <sup>3</sup> .d	r <sup>2</sup> %
1	63,44	-28,42	75,19	30,26	99,61
2	88,90	70,18	68,62	27,01	99,89
3	76,91	207,05	34,81	11,88	99,77
4	72,51	134,37	45,11	15,25	99,40
5	70,96	227,79	36,22	-11,60	99,58
6	119,56	-134,71	71,28	-16,87	98,32
7	40,89	113,57	68,10	39,11	97,88
8	42,26	-107,41	110,91	57,02	97,84
9	48,31	-328,90	147,70	69,56	98,18
10	53,31	201,96	44,67	23,41	97,43
11	52,18	-118,58	91,77	40,36	99,14
12	55,18	146,78	-9,46	51,54	94,40
13	67,51	55,76	80,50	31,08	99,65
14	50,81	105,81	76,33	40,10	97,71
15	61,64	196,68	44,01	13,72	99,14
16	49,48	190,03	-10,63	-23,15	99,04
17	30,86	269,62	39,33	34,41	98,76
18	30,44	226,77	50,38	41,22	98,66
19	48,89	-338,56	158,85	79,88	98,36
20	36,32	-123,09	115,03	65,49	97,60
21	39,24	-370,38	158,94	83,04	98,41
22	52,31	-207,85	91,25	32,57	97,89
23	64,05	-136,08	93,60	32,84	98,13

$$[S]_e = a \pm b.T \pm c.T^2 \pm d.T^3 \text{ (modelo cúbico).}$$

Destacada a excepcionalidade da FERM.12, verifica-se que nas demais equações de  $[S]_e \times T$ , todos os  $r^2$  são superiores a 97%. A curva que mais se ajustou aos valores observados foi a da equação da FERM.02:

$$[S]_e = 88,9 - 0,7018T - 0,6862T^2 + 0,02701T^3; r^2 = 99,89\%.$$

Os valores de  $[S]_e$  e  $[P]_e$  que estão apresentados nas Tabelas 13 e 14 e similares foram determinados através da

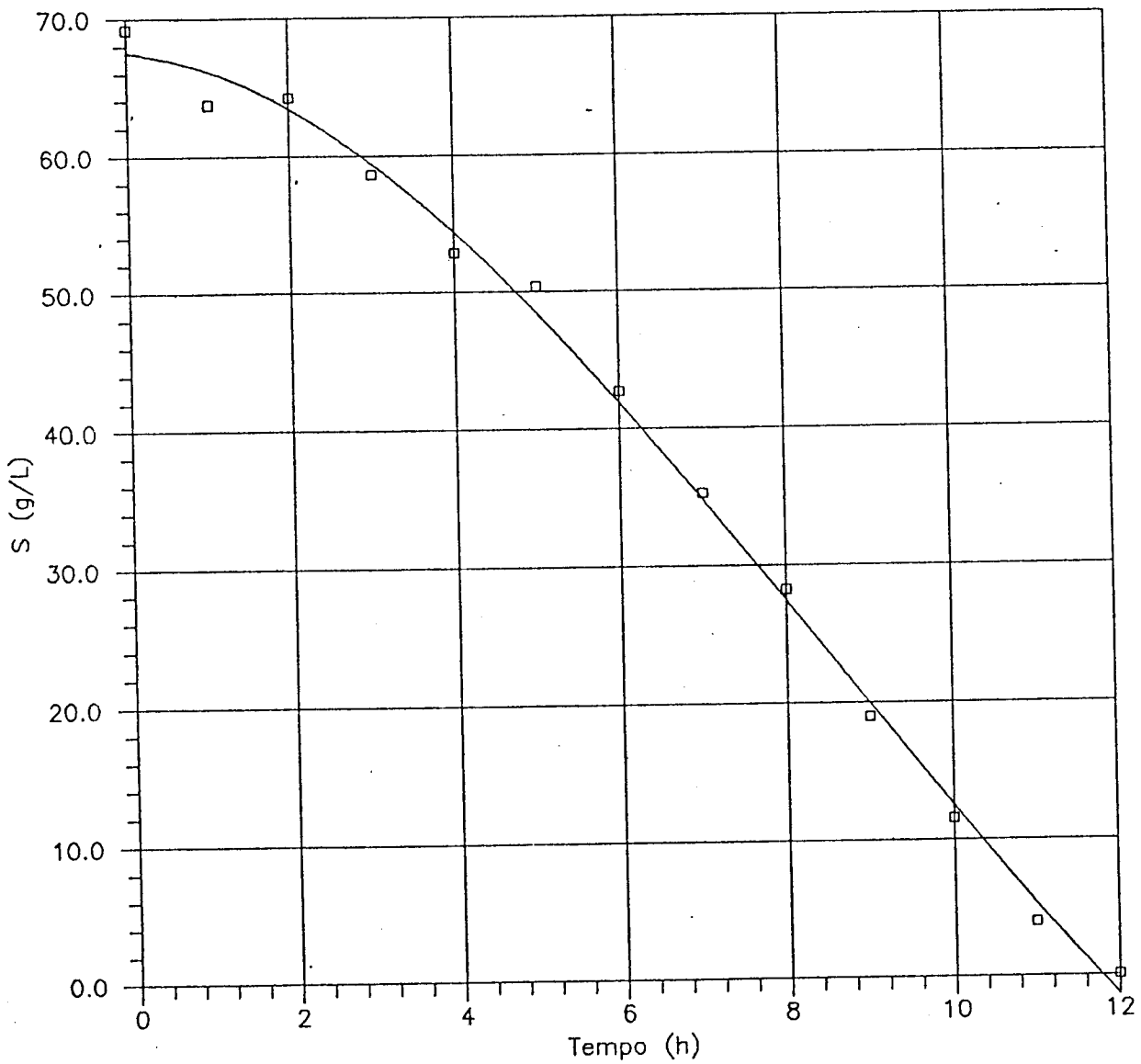


FIGURA 11 - Concentração de ART x Tempo, na FERM.13.  $[S] = 67,51 - 0,5576T - 0,805T^2 + 0,03108T^3$  ( $R^2 = 0,9965$ ).

substituição dos valores de T nas equações representativas das 23 fermentações.

A primeira derivada da função  $[S]_e = f(T)$  é:

$$\frac{d[S]_e}{dT} = [S]_e = \pm b \pm 2cT \pm 3dT^2 \quad (2)$$

Seus valores foram calculados para os tempos considerados, em todas as fermentações, permitindo o cálculo da velocidade específica de consumo de substrato em cada ponto. Assim, se tem:

$$\mu_S = \frac{1}{[X]_e} \cdot \frac{d[S]_e}{dt} = - \frac{[S]_e}{[X]_e} \quad (3)$$

Os valores das  $\mu_S$  máximos ( $\mu_{sm}$ ) estão listados na Tabela 21, o maior deles é  $3,569 \text{ h}^{-1}$ , na FERM.16.

### c) Resultados da Concentração de Etanol - $[P]_e$

Na Tabela 18 estão os valores de a, b, c, d e  $r^2$  correspondentes, respectivamente, aos termos independentes de T e aos coeficientes nas equações que traduzem a variação da concentração de etanol em função do tempo.

A derivada primeira da função  $[P]_e = f(T)$ , é:

$$\frac{d[P]_e}{dt} = [P]_e = \pm b \pm 2cT \pm 3dT^2 \quad (4)$$

Seus valores foram determinados ponto a ponto e permitiram o cálculo das velocidades específicas de formação de etanol através da fórmula:

TABELA 18 - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de Etanol em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas

Ferm. N.º	10.a	-10 <sup>2</sup> .b	-10 <sup>2</sup> .c	10 <sup>3</sup> .d	r <sup>2</sup> %
1	12,29	75,97	45,49	18,38	99,74
2	12,52	-79,64	19,30	6,34	98,98
3	5,36	-60,25	19,73	6,57	99,44
4	17,24	74,92	40,67	15,27	99,56
5	17,25	65,99	46,57	20,56	99,70
6	8,83	-51,05	13,82	2,24	99,31
7	13,19	149,18	74,84	46,67	97,96
8	11,39	31,14	43,82	23,14	97,32
9	9,01	92,65	53,55	25,60	98,76
10	6,17	-93,37	10,51	7,51	97,23
11	15,25	57,59	36,06	15,47	98,93
12	5,39	-79,98	-10,47	-3,71	62,58
13	8,67	-158,67	-10,30	-11,73	99,39
14	14,60	-61,31	10,63	-0,36	92,45
15	17,30	37,53	42,93	19,02	98,82
16	15,51	10,48	21,86	9,23	96,94
17	10,92	-94,56	16,10	12,87	96,62
18	15,17	-120,51	20,81	19,15	98,25
19	15,13	164,61	77,68	39,92	99,40
20	12,45	130,35	61,76	32,40	98,72
21	15,90	159,64	70,77	38,06	97,37
22	10,11	50,97	35,73	12,35	99,78
23	13,80	124,10	54,43	21,66	99,60

$$[P]_e = a \pm b.T \pm c.T^2 \pm d.T^3 \text{ (modelo cúbico).}$$

$$\mu_P = \frac{1}{[X]_e} \cdot \frac{d[P]_e}{dt} = \frac{[P]_e}{[X]_e} \quad (5)$$

Os valores das  $\mu_P$  máximas ( $\mu_{pm}$ ) pontuais estão apresentados na Tabela 21 e o maior deles é  $1,478 \text{ h}^{-1}$ , na FERM.21, amostra proveniente de puba.

A função-modelo [P]e = f(T), da FERM.4:

$$[P]e = 1,076 + 0,4158T + 0,0651T^2 + 0,0065T^3; r^2 = 99,97\%$$

está representada na Figura 12.

#### 4.7.3.2. Modelo Logístico-Mendesiano para Crescimento Celular. Uma Proposta

Foram testados vários modelos encontrados na literatura especializada SINCLAIR & KRISTIANSEN (1987), LE DUY & ZAJIC (1973), ABOUTBOUL (1984) e ABOUTBOUL et alii (s.d.) que não se ajustaram aos valores observados, apresentaram distorções consideráveis no início da curva e conduziram a baixos valores de  $r^2$ .

Os modelos de logísticas apresentadas por HARBERMAN (1977):

$$[X]e = \frac{a/b}{1 + \left(\frac{a - bXi}{bXi}\right) \cdot e^{-at}}, \quad (6)$$

por KREBS (1986):

$$[X]e = \frac{K}{1 + e^{a-rt}}, e \quad (7)$$

por PIELOU (1969):

$$[X]e = \frac{a/b}{1 + e^{-at}} \quad (8)$$

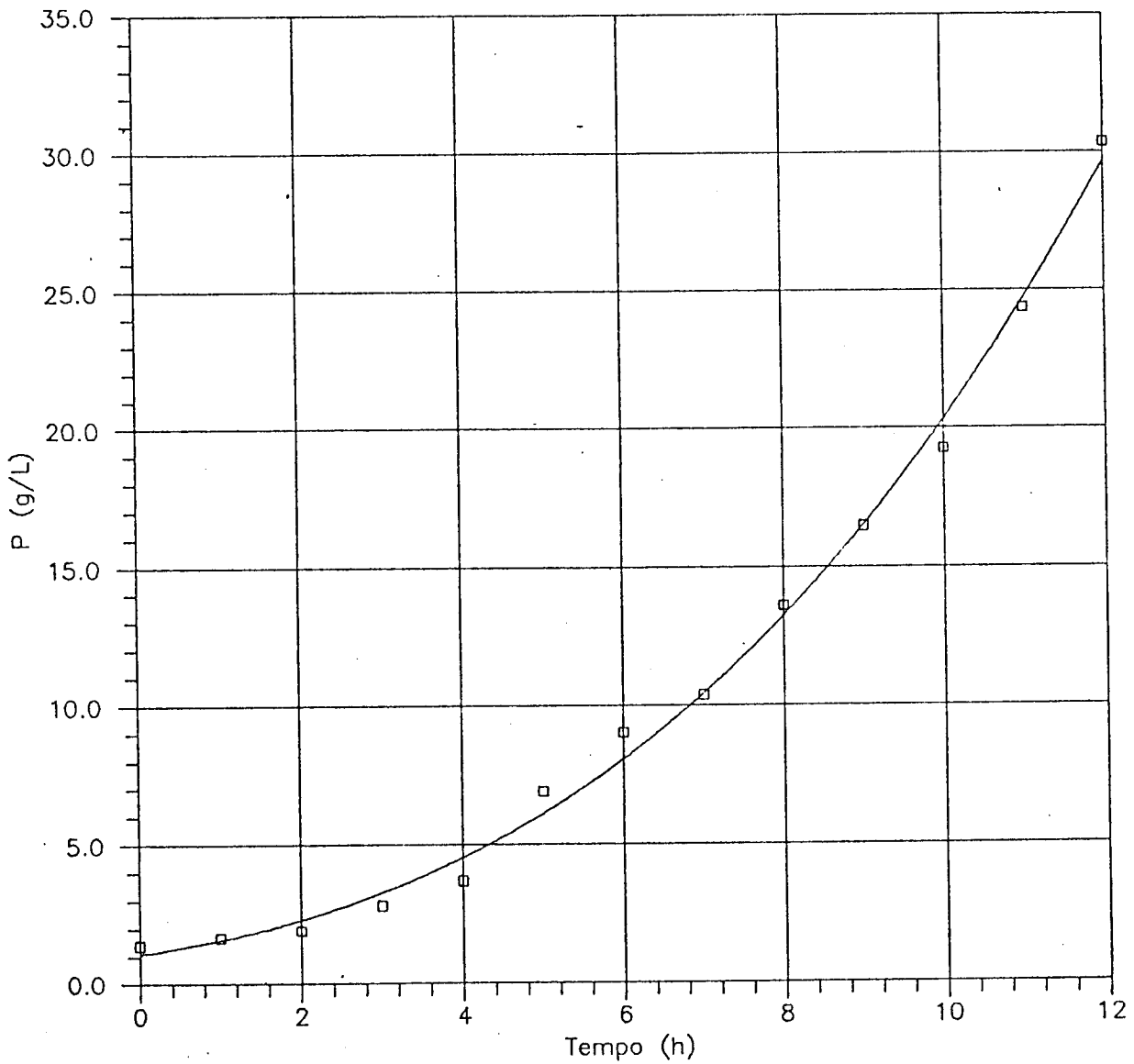


FIGURA 12 - Concentração de Etanol x Tempo na FERM.4.  $[P]_t = 1,076 + 0,4158T + 0,0851T^2 + 0,0065T^3$  ( $R^2 = 0,9997$ ).



foram modificados e testados e mesmo assim não apresentaram bons níveis de ajuste.

MENDES & FREITAS (1972) propuseram um modelo semelhante aos das equações (6), (7) e (8), no qual se introduziu a parcela  $d$ , resultando no seguinte:

$$[X]_e = [a/(1 + b.e^{-cT})] + d. \quad (9)$$

Aplicando-se esse modelo, cresceu a proximidade entre os valores observados,  $[X]_o$  e os estimados,  $[X]_e$ , apresentados nas Tabelas 13 e 14, os coeficientes de determinação de 22, das 23 equações apresentadas, na Tabela 19, superiores a 99,54% e o ajuste da curva, Figura 14, ficou muito bom.

A representação gráfica da equação (9) se encontra na Figura 13, parte central. Os valores de  $[X]_e$  estão representados na ordenada esquerda.

Na equação (9), quando  $a = 0$ , tem-se:

$$[X]_e = d, \quad (10)$$

que é a equação da assíntota inferior. Fisicamente, representa a concentração celular estimada do inóculo, quando  $T \rightarrow -\infty$ .

Neste trabalho observou-se que  $d < [X]_{ei}$ , em 20 equações; as exceções são creditadas às FERM.05, 10 e 11.

Quando  $T \rightarrow \infty$ , a equação (9) assume a forma:

$$[X]_e = a + d, \quad (11)$$

TABELA 19 - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de Microrganismos em Função do Tempo, nas Fermentações Estudadas

Ferm. N.º	10.a	b	10 <sup>2</sup> .c	10.d	r <sup>2</sup> %
1	27,93	19,86	51,23	12,48	99,82
2	32,81	15,20	50,49	10,91	99,89
3	33,99	15,82	49,08	10,69	99,90
4	35,59	10,05	41,57	9,24	99,85
5	33,74	25,07	56,99	11,45	99,86
6	20,00	40,95	55,15	12,75	99,86
7	31,29	317,84	97,92	19,33	99,55
8	34,26	133,13	83,97	15,07	99,86
9	32,14	77,04	66,36	15,00	99,58
10	22,89	624,08	110,85	17,96	99,69
11	22,19	39,59	66,88	12,83	99,75
12	4,06	15,60	58,63	12,86	98,74
13	33,66	30,53	52,00	10,83	99,98
14	33,05	47,18	60,91	11,46	99,96
15	35,19	25,19	51,52	10,22	99,97
16	17,60	22,96	42,82	10,69	99,78
17	22,65	56,53	77,22	11,58	99,96
18	25,47	71,82	86,92	11,91	99,96
19	29,84	91,97	70,74	14,39	99,95
20	22,25	434,59	86,71	15,05	99,86
21	22,96	431,96	84,47	14,63	99,89
22	16,99	38,11	55,99	13,70	99,54
23	30,22	47,33	59,41	13,73	99,98

$$[X]_e = [a/(1 + b.e^{-cT})] + d \text{ (logística mendesiana).}$$

passando a ser a equação da assíntota superior. Fisicamente, representa a concentração celular estimada total, quando  $T \rightarrow \infty$  e permite a constatação de que  $(a + d) > [X]_{ef}$ . Na prática este fato foi confirmado em 19, dentre os 23 experimentos (Tabela 20). Assim sendo, conclui-se que  $a > \Delta X$  ou  $a > ([X]_{ef} - [X]_{ei})$ .

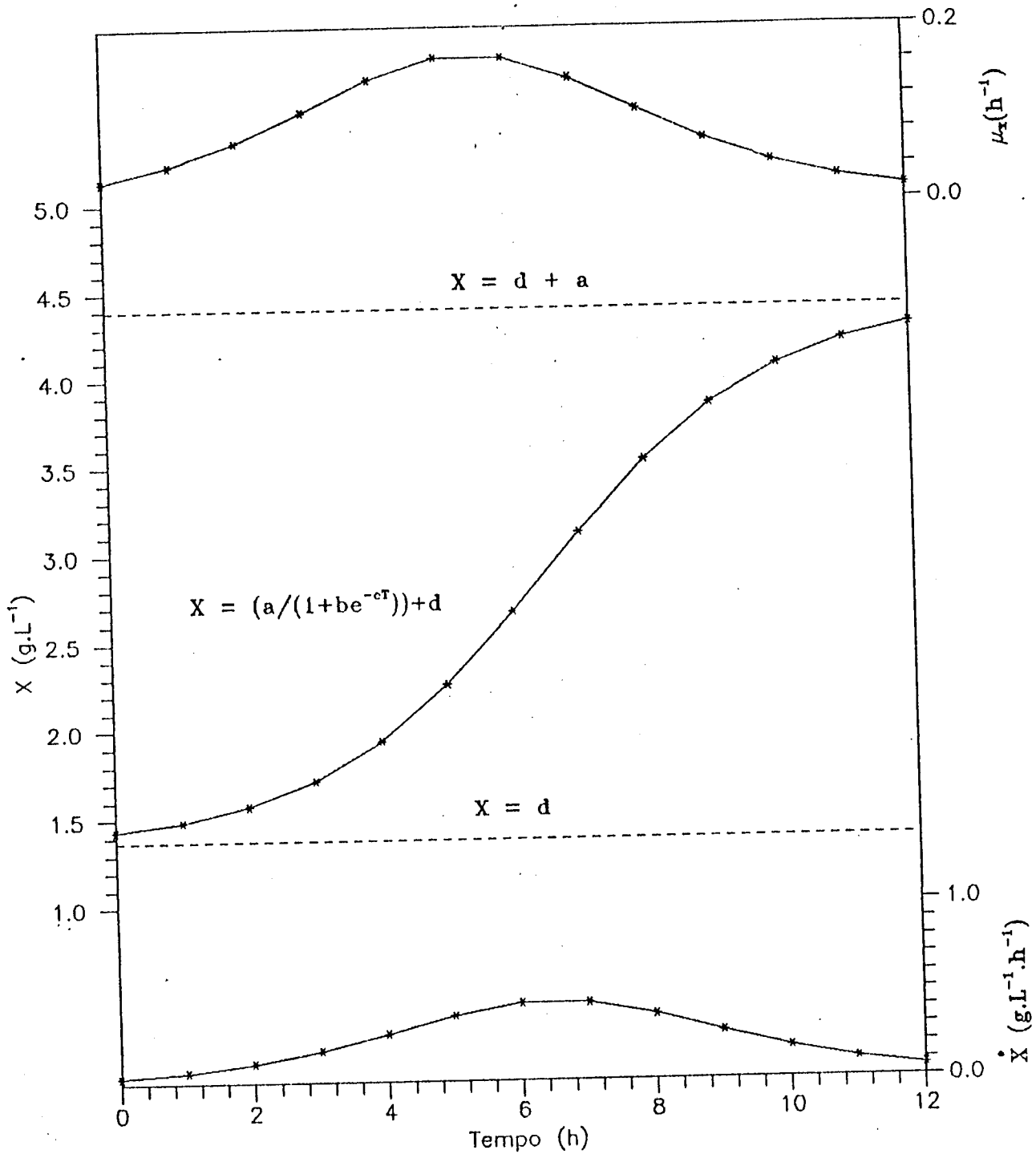


FIGURA 13 - Logística-Mendesiana Representando a Variação da Massa Celular com o Tempo, suas Assíntotas, Primeira Derivada e Velocidade Específica de Crescimento.

Assumindo-se que no instante  $T = 0$ , o valor de  $[X]_e$  é o inicial,  $[X]_{ei}$ , o valor da constante de integração,  $b$ , pode ser determinado pela equação:

$$b = \frac{a + d - [X]_{ei}}{[X]_{ei} - d} \quad (12.1)$$

Outra maneira de se calcular o valor de  $b$  é:

$$b = e^{-cT(\mu_{xm})} \quad (12.2)$$

Nessa equação surge o termo  $T(\mu_{xm})$  que se encontra matematicamente definido na equação (18). O significado físico desse termo é o seguinte - tempo no qual o valor da primeira derivada,  $[X]_e$ , é máximo e por via de consequência a  $\mu_x$  também será.

O valor da constante  $c$ , definido em função da velocidade específica de crescimento máxima ( $\mu_{xm}$ ) pode ser calculado pelas fórmulas:

$$c = 2 \mu_{xm} + \frac{4d\mu_{xm}}{a} \quad \text{ou,} \quad (13.1)$$

$$c = \frac{\ln b}{T(\mu_{xm})} \quad (13.2)$$

Caso houvesse a possibilidade de  $d = 0$ , ter-se-ia:

$$c = 2 \mu_{xm}. \quad (14)$$

Na análise dimensional destas constantes verifica-se que suas equações dimensionais são:

[a] = [d] = L<sup>-3</sup>M, a unidade é g/l

[b] = adimensional.

[c] = T<sup>-1</sup>, a unidade é h<sup>-1</sup>.

Os valores da primeira derivada da equação (9) podem ser calculadas pela fórmula:

$$\frac{d[X]_e}{dT} = [X]_e = \frac{a \cdot b \cdot c \cdot e^{-cT}}{(1 + b e^{-cT})^2} \quad (15)$$

Sua representação gráfica está na Figura 13, parte inferior, com os valores de  $[X]_e$  representados na ordenada direita.

Os valores da velocidade específica de crescimento ( $\mu_x$ ) são calculados pela fórmula:

$$\mu_x = \frac{1}{[X]_e} \cdot \frac{d[X]_e}{dT} = \frac{[X]_e}{[X]} \quad (16)$$

A curva  $\mu_x = f(T)$  está na Figura 17, parte superior, sendo que os valores de  $\mu_x$  estão representados na ordenada direita.

Os valores de  $\mu_x$  que são apresentados nas Tabelas 13 e 14 foram calculados pela aplicação da equação (16). Seus valores máximos estão listados na Tabela 21 sendo que o maior deles é 0,242 h<sup>-1</sup>.

A segunda derivada da Eq. 9 dá a conhecer o tempo no qual a primeira derivada assume seu máximo valor  $\{[X]_e (\mu_{xm})\}$ .

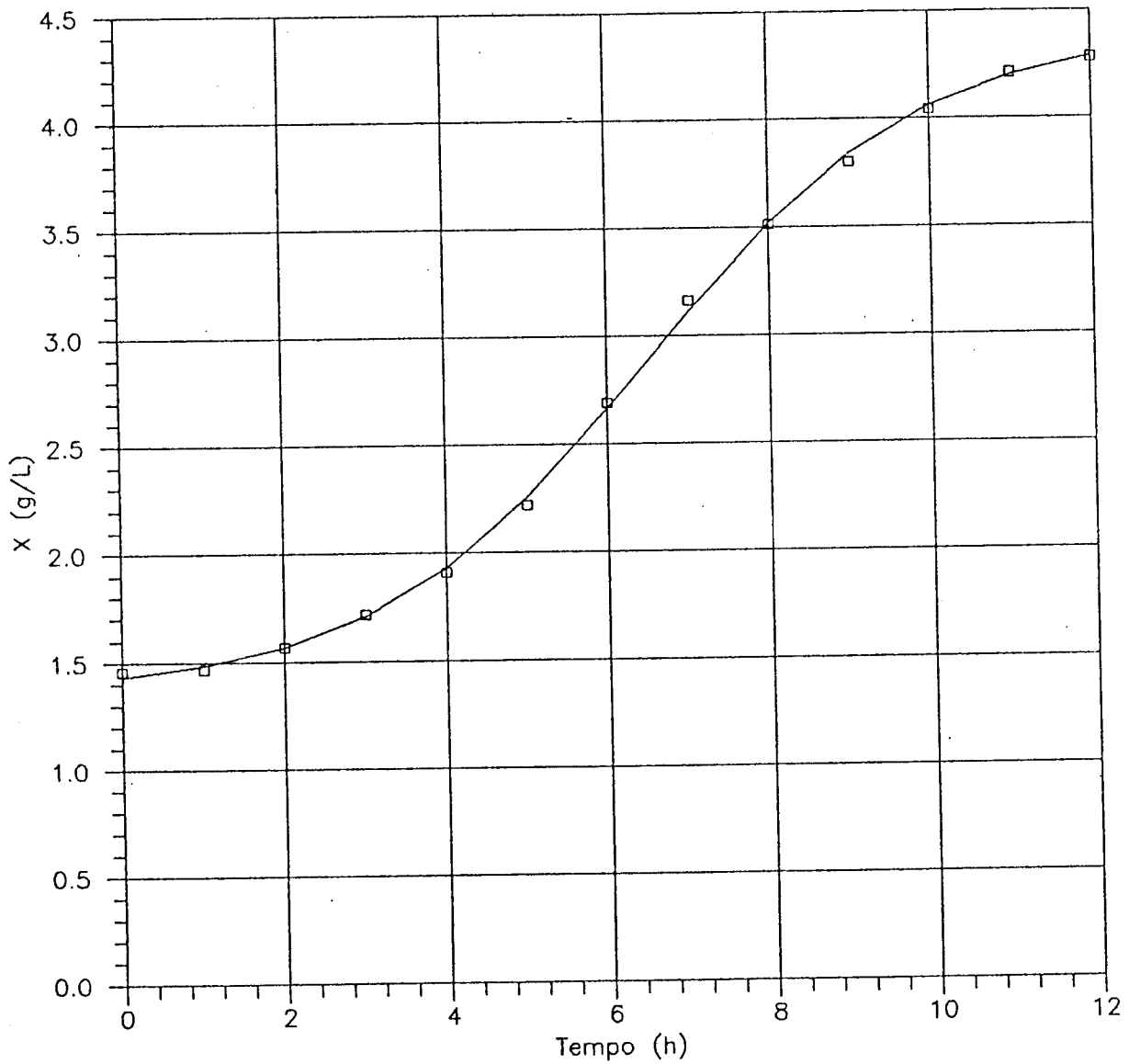


FIGURA 14 - Concentração de Massa Celular, X, Tempo na FERM. 23.  
 $[X] = [3,022 / (1 + 47,33e^{-0,5941t})] + 1,373$  ( $R^2 = 0,9998$ ).

Sua equação é:

$$\frac{d^2[X]e}{dt^2} = [X]e = \frac{a \cdot b \cdot c^2 \cdot e^{-cT} (be^{-cT} - 1)}{(1 + b \cdot e^{-cT})^3} \quad (17)$$

Da eq. 17, para  $[X]e = 0$ , sendo  $a, b, c \neq 0$ , vem o valor do tempo no qual  $[X]e$  é máxima e calculada pela fórmula:

$$T_{(\mu_{xm})} = \frac{\ln b}{c} \quad (18)$$

A confirmação de que o valor de  $T(\mu_{xm})$  está correto, sendo realmente o que levará ao máximo valor de  $r_x$ , poderá ser feito através da verificação da invariância:

$$b \cdot e^{-cT(\mu_{xm})} = 1, \quad (18.1)$$

que somente se verificará quando  $T = T(\mu_{xm})$ .

Os valores de  $T(\mu_{xm})$  encontram-se listados na Tabela 20 para as 23 fermentações. Com a utilização deles foram calculados os valores de  $\{[X]e(\mu_{xm})\}$  e  $\{[X]e(\mu_{xm})\}$ .

Com a utilização das equações apresentadas foi possível chegar-se às outras equações a seguir:

. Cálculo da concentração de massa celular em  $T_{(\mu_{xm})}$ :

$$[X]e(t_{\mu_{xm}}) = \frac{a}{2} + d = 0,5a + d \quad (19)$$

. Cálculo do maior valor da primeira derivada:

$$r_{xm} = [X]e(t\mu_{xm}) = \frac{a.c}{4} = 0,25 \text{ a.c.} \quad (20)$$

. Cálculo de  $\mu_x$  em qualquer tempo:

$$\mu_x = \left(1 - \frac{d}{[X]e}\right) \cdot \frac{b.c.e^{-cT}}{1 + b.e^{-cT}} \quad (21)$$

. Cálculo de  $\mu_{xm}$ :

$$\mu_{xm} = \frac{a.c}{2a + 4d} \quad (22)$$

Na Tabela 20 as colunas  $T(\mu_{xm})$ ,  $\mu_{xm}$ ,  $X_e(\mu_{xm})$  e  $X_c(\mu_{xm})$  foram construídas com valores obtidos, respectivamente, pelas equações (18), (22), (19) e (20).

Os valores de  $\mu_{xm}$ , da Tabela 20, são bem próximos dos que estão apresentados na Tabela 21. A diferença é devida à metodologia de cálculo entre eles e os da Tabela 20, foram calculados com o conhecimento de  $T(\mu_{xm})$  e os da Tabela 21 foram em valores de  $T$  pré-definidos e próximos a  $T(\mu_{xm})$ .

#### 4.7.4. *Parâmetros Cinéticos e Outros Resultados Apostos às Tabelas 15, 21 e 22*

##### 4.7.4.1. *Transformação de [P]f (g/l) em [P]f (°G.L.)*

Na Tabela 21 se encontram resultados, dentre outros, das concentrações finais de etanol nas 23 fermentações. Esses valores estão apresentados com duas diferentes unidades: g/l e



TABELA 20 - Valores das Concentrações de Massa Celular Iniciais (Observada, Xoi e Estimada, Xei) e Finais (Observada, Xof e Estimada, Xef); das Constantes d, (a + d), dos Tempos [T( $\mu_{xm}$ )],  $\mu_{xm}$ , Concentrações Celulares Estimadas em t( $\mu_{xm}$ ) e Derivadas Temporais em t ( $\mu_{xm}$ ), nas Fermentações Estudadas. FERM.01 a 23

FERM N.º	Xoi g/l	Xei g/l	d g/l	Xof g/l	Xef g/l	(a+d) g/l	T( $\mu_{xm}$ ) h	$\mu_{xm}$ 1/h	Xc( $\mu_{xm}$ ) g/l	Xe( $\mu_{xm}$ ) g/l.h
1	1,46	1,38221	1,24945	4,00	3,97247	4,04179	5,8342002	0,1352544	2,645120	0,3577640
2	1,35	1,28774	1,09076	4,40	4,37378	4,37147	5,3900053	0,1516128	2,731115	0,4140748
3	1,33	1,26490	1,06944	4,50	4,47165	4,46891	5,6261675	0,1506187	2,769175	0,4170995
4	1,32	1,23711	0,92364	4,50	4,46983	4,48261	5,5503724	0,1362323	2,703125	0,3698749
5	1,32	1,27472	1,45516	4,50	4,50134	4,51871	5,6529129	0,1697267	2,831925	0,4806550
6	1,33	1,32045	1,27543	3,28	3,26983	3,27568	6,7309542	0,1211928	2,275555	0,2757945
7	1,87	1,94209	1,92331	4,99	5,03220	5,04255	5,8840011	0,2189953	3,497920	0,7660301
8	1,50	1,53797	1,50704	4,87	4,90674	4,93269	5,8249420	0,2223468	3,219935	0,7191467
9	1,55	1,54557	1,49992	4,65	4,66831	4,71431	6,5471703	0,1716149	3,107115	0,5332271
10	1,74	1,79125	1,79553	4,13	4,10051	4,08434	5,8063524	0,2157465	2,937925	0,6242807
11	1,36	1,28041	1,28220	3,91	3,79949	5,50249	5,5001051	0,1551067	2,392520	0,3710959
12	1,33	1,30319	1,22637	1,76	1,74537	1,67189	4,6865897	0,0399119	1,489130	0,0594340
13	1,23	1,18948	1,08287	4,26	4,25922	4,44831	6,5745209	0,1522059	2,765940	0,4375722
14	1,23	1,21411	1,14553	4,30	4,34895	4,45014	6,3273955	0,1798538	2,797835	0,5022012
15	1,20	1,15632	1,02193	4,40	4,36735	4,54142	6,2626153	0,1629599	2,781675	0,4533015
16	1,16	1,14196	1,06250	2,57	2,61948	2,82644	7,3155259	0,0966898	1,948470	0,1883972
17	1,21	1,19746	1,15939	3,41	3,41124	3,42329	5,2252447	0,1900929	2,290690	0,4372235
18	1,23	1,22585	1,19023	3,76	3,73207	3,73746	4,9171825	0,2245759	2,464170	0,5533909
19	1,46	1,47068	1,43258	4,30	4,39531	4,42287	6,3913301	0,1800225	2,930725	0,5278315
20	1,49	1,50972	1,50461	3,65	3,71724	3,72946	7,0050924	0,1842979	2,517033	0,4823141
21	1,43	1,46787	1,46278	3,65	3,74243	3,75908	7,1843526	0,1857186	2,610930	0,4878982
22	1,47	1,41363	1,37009	3,07	3,02543	3,06897	6,5021631	0,1071363	2,219530	0,2377922
23	1,46	1,43571	1,37330	4,35	4,33315	4,39508	6,4926882	0,1556078	2,884190	0,4482023

<sup>o</sup>G.L. A transformação de [P]f (g/l) em [P]f (<sup>o</sup>G.L.) é feita pela aplicação da fórmula:

$$[P]f (^oG.L.) = [P]f (g/l) / 7,8934.$$

4.7.4.2. Resultados dos Tempos de Geração ( $T_g$ ), dos Rendimentos: Massa Celular/Substrato ( $Y_{x/s}$ ), Etanol/Substrato ( $Y_{p/s}$ ) e Etanol/Massa Celular ( $Y_{p/x}$ ); das Produtividades: Massa Celular/Substrato ( $P_{xs}$ ), Etanol/Substrato ( $P_{ps}$ ) e Etanol/Massa Celular ( $P_{px}$ ) e das Variações Percentuais de Massa Celular (V.M.C.)

Os resultados relativos a esses valores encontram-se na Tabela 21. Os resultados de  $\mu_{xm}$ ,  $\mu_{sm}$  e  $\mu_{pm}$  já foram discutidos no item 4.7.3.2.

TABELA 21 - Valores do  $T_g$ , das  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  Máximas (Pontuais), de  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ ,  $Y_{p/x}$ ; e das Produtividades: Massa Celular/Substrato, Etanol/Substrato e Etanol/Massa Celular e Variação da Massa Celular nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora

FERM N.º	$T_g$ h	$\mu_{xm}$ 1/h	$\mu_{sm}$ 1/h	$\mu_{pm}$ 1/h	$Y_{x/s}$ $\times 10^2$	$Y_{p/s}$ $\times 10$	$Y_{p/x}$	$P_{xs}$ $\times 10^3$ gc/gs.h	$P_{ps}$ $\times 10^2$ gc/gs.h	$P_{px}$ $\times 10$ gc/gc.h	V.M.C. %
1	4,78	0,145	2,112	1,025	4,61	4,50	9,94	3,84	3,82	8,28	171,23
2	4,13	0,168	2,243	0,963	4,82	4,09	8,49	4,02	3,41	7,08	215,56
3	4,13	0,168	2,123	0,887	5,49	4,20	7,66	4,57	3,50	6,38	227,07
4	4,47	0,155	1,969	0,869	5,14	4,01	7,81	4,28	3,34	6,51	222,73
5	3,75	0,185	2,368	0,994	5,24	3,90	7,44	4,37	3,25	6,20	239,61
6	5,16	0,127	2,664	0,941	3,26	4,03	12,53	2,72	3,40	10,44	137,59
7	3,09	0,224	2,000	0,958	8,26	3,84	4,65	6,83	3,20	3,88	166,84
8	2,86	0,242	2,401	0,988	8,04	3,82	4,75	6,70	3,18	3,96	224,67
9	3,79	0,183	2,672	1,070	6,15	4,11	6,68	5,12	3,42	5,57	200,00
10	3,29	0,211	2,150	0,718	4,61	2,28	4,95	3,94	1,90	4,12	135,63
11	4,25	0,163	2,242	0,844	4,71	3,80	8,01	3,96	3,17	6,68	187,50
12	17,77	0,039	0,972	0,452	2,43	0,31	1,26	2,03	0,25	1,05	32,33
13	4,03	0,170	3,090	1,125	4,39	3,45	7,87	3,66	2,88	6,56	246,34
14	3,50	0,198	2,977	0,827	5,69	4,03	7,09	4,74	3,36	5,91	249,59
15	3,79	0,183	2,395	1,155	5,16	3,92	7,60	4,39	3,27	6,33	266,67
16	6,80	0,102	3,569	0,897	2,85	2,83	9,94	2,37	2,36	8,28	121,55
17	3,52	0,197	2,933	1,078	7,01	4,21	6,00	5,84	3,51	5,00	181,82
18	2,90	0,239	2,750	1,312	8,58	4,03	4,70	7,15	3,36	3,91	205,69
19	3,65	0,190	2,892	1,394	5,90	4,53	7,67	4,92	3,77	6,39	204,79
20	3,73	0,186	2,913	1,329	6,09	4,67	7,67	5,07	3,89	6,39	147,65
21	3,63	0,191	3,356	1,478	5,59	3,84	6,87	4,66	3,20	5,73	160,84
22	6,24	0,111	2,548	1,163	2,97	4,65	15,69	2,47	3,88	13,06	106,80
23	4,20	0,165	2,455	1,143	4,31	4,17	9,67	3,59	3,48	8,06	193,84

Os valores foram obtidos através das fórmulas:

a) Tempo de geração  $T_g$  (h)

$$T_g = \frac{X(\mu\text{xm})}{\dot{X}(\mu\text{xm})} \times \ln 2 = \frac{\ln 2}{\mu\text{xm}}$$

O menor  $T_g$  foi encontrado na fermentação FERM. 8, proveniente de massa de mandioca: 2,86 h.

b) Rendimento massa celular/substrato -  $Y_{X/S}$  (adimensional)

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta[X]}{\Delta[S]}$$

As vezes pode ser expresso em g células/g de ART (ou de glicose). Na FERM.18 se encontra seu maior valor:  $Y_{X/S} = 0,0858$ .

c) Rendimento etanol/substrato -  $Y_{P/S}$  (adimensional)

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta[P]}{\Delta[S]}$$

As vezes pode vir acompanhado da expressão g etanol/g de substrato.

O melhor  $Y_{P/S}$  ocorreu na FERM.20, com valor de 0,467 g etanol/g de ART.

d) Rendimento etanol/massa celular -  $Y_{P/X}$  (adimensional)

$$Y_{P/X} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} = \frac{\Delta[P]}{\Delta[X]}$$

O maior valor encontrado para  $Y_{P/X}$  foi 15,68 g de etanol/g de células, na FERM.22.

e) Produtividades -  $P_{XS}$ ,  $P_{PS}$  e  $P_{PX}$  ( $h^{-1}$ )

Considerando-se que todas foram calculadas tomando-se por base a décima segunda hora, tem-se:

$$P_{XS} = \frac{\Delta[X]}{\Delta[S]T} = \frac{Y_{X/S}}{12} = 0,083 \cdot Y_{X/S}$$

$$P_{PS} = \frac{\Delta[P]}{\Delta[S]T} = \frac{Y_{P/S}}{12} = 0,083 \cdot Y_{P/S}$$

$$P_{PX} = \frac{\Delta[P]}{\Delta[X]T} = \frac{Y_{P/X}}{12} = 0,083 \cdot Y_{P/X}$$

As produtividades quando comparadas com os rendimentos, ambos considerados no mesmo intervalo de tempo e no mesmo instante, são iguais, a menos de um fator constante; dessa forma, o que foi afirmado para os rendimentos vale para as produtividades que costumam vir acompanhadas da expressão: g de células/g de substrato.h, etc.

f) Variação percentual de massa celular - VMC(%)(adimensional)

$$V.M.C. (\%) = \frac{[X]_f - [X]_i}{[X]_i} \times 100 = \frac{\Delta[X]}{[X]_i} \cdot 100.$$

O maior valor encontrado foi 266,67% na FERM.15, cujo mosto é oriundo de amido cru.

Encontram-se na Tabela 22 os resultados obtidos das grandezas:

g) Percentual de Substrato Utilizado - S.U. (%) (adimensional)

$$S.U. (\%) = \frac{[S]i - [S]f}{[S]i} \cdot 100 = \frac{\Delta[S]}{[S]i} \cdot 100.$$

O maior valor foi 99,84% na FERM.13; mosto oriundo de uma amostra de puba crua.

TABELA 22 - Valores de S.U.(%), [P], E(i), E(r), e(si), e(sc), R(si) e R(sc) nas Fermentações Estudadas, até a Décima Segunda Hora

FERM N.º	S.U. %	[P] g/l	E(i) g/l	E(r) g/l	e(si) %	e(sc) %	R(si) 1/100 kg	R(sc) 1/100 kg
1	84,71	25,58	32,73	27,72	75,93	89,64	49,17	58,05
2	67,57	27,24	45,68	30,87	54,10	80,96	35,03	51,84
3	70,56	24,50	39,83	28,14	58,00	82,21	37,55	53,24
4	77,81	24,35	37,61	29,26	61,05	78,47	39,53	50,81
5	82,74	24,79	37,10	30,70	63,20	76,39	40,93	49,47
6	45,71	24,04	61,46	28,71	37,31	79,87	24,16	51,72
7	95,89	15,30	20,13	19,30	72,12	75,21	45,70	48,70
8	99,67	17,38	21,48	21,41	74,53	74,73	48,26	48,42
9	99,68	20,92	25,85	25,77	80,15	80,40	51,90	52,06
10	99,64	13,26	26,61	26,51	44,46	44,62	28,79	28,89
11	99,74	21,62	27,53	27,46	74,20	74,39	48,05	48,17
12	32,40	1,56	27,87	9,03	1,94	5,98	1,26	3,87
13	99,84	24,70	35,35	35,30	67,43	67,54	43,66	43,74
14	99,83	22,69	27,62	27,57	78,80	78,93	51,03	51,11
15	99,63	25,27	31,82	31,70	76,39	76,68	49,47	49,65
16	99,56	15,19	25,43	25,32	55,09	55,33	35,67	35,83
17	98,96	14,23	16,21	16,04	81,44	82,30	52,74	53,29
18	98,65	13,61	15,28	15,08	77,74	78,79	50,34	51,02
19	99,80	23,70	25,93	25,88	88,38	88,55	57,20	57,34
20	99,78	17,58	18,52	18,48	91,10	91,30	58,99	59,12
21	99,81	16,54	21,06	21,02	75,03	75,23	48,62	48,72
22	99,75	25,47	27,11	27,05	90,76	90,99	58,77	58,92
23	99,59	28,08	33,67	33,53	81,31	81,65	52,65	52,87

h) Etanol a ser produzido em relação ao substrato inicial -  
E(i) (g de etanol/litro de meio)

$$E(i) = [S]i \cdot \frac{92}{180} = 0,511 \cdot [S]i.$$

Neste caso é fácil se verificar que quanto maior for a concentração inicial de substrato, maior deverá ser a concentração de etanol (teórico).

i) Etanol a ser produzido em relação ao substrato consumido -  
E(r) (g/l)

$$E(r) = ([S]i - [S]f) \frac{92}{180} = 0,511 \Delta[S].$$

O maior valor obtido foi 35,30 g/l, na FERM.13. Dá para se verificar que  $[P] < E(r) < E(i)$ .

j) Eficiência Global Teórica - e(si) (adimensional)

$$e(si) = \frac{[P]f - [P]i}{[S]i \cdot \frac{92}{180}} \cdot 100 = \frac{\Delta[P]}{E(i)} \cdot 100.$$

k) Eficiência Global Real - e(sc) (adimensional)

$$e(sc) = \frac{[P]f - [P]i}{([S]i - [S]f) \cdot \frac{92}{180}} \times 100 = \frac{\Delta[P]}{E(r)} \cdot 100.$$

A fermentação mais eficiente foi a FERM.20 que apresentou resultados com valores de  $e(si) = 91,10\%$  e  $e(sc) = 91,30\%$ .

l) Rendimento Global Teórico - R(si) (l de etanol/100 kg de ART)

STUPIELLO et alii (1985) mostram essa grandeza assumindo um máximo valor (teórico) de: 64,75 litros de etanol/100 kg de ART.

Foi utilizado neste trabalho, o valor  $0,78934 \text{ g.cm}^{-3}$ , como sendo a densidade absoluta do etanol a  $20^{\circ}\text{C}$ . Assim:

$$R(\text{si}) = \frac{[P]f - [P]i}{[S]i \cdot 0,78934} \times 100 = 126,69 \cdot \frac{\Delta[P]}{[S]i}$$

Os maiores valores encontrados para R(si) e R(sc) foram, respectivamente, 58,99 e 59,12 l de etanol/100 kg de ART, na FERM.20.

m) Rendimento Global em Relação ao ART Consumido - R(sc) (l de etanol/100 kg de ART)

$$R(\text{s}) = \frac{[P]f - [P]i}{([S]i - [S]f) \cdot 0,78934} \times 100 = 126,69 \cdot \frac{\Delta[P]}{\Delta[S]}$$

Todos os parâmetros cinéticos apresentados os foram até a décima segunda hora. Para se calcular o tempo estimativo para que ocorra o consumo de todo o substrato basta se aplicar a fórmula:

$$T_F = \frac{[S]i \cdot Y_{P/S}}{r_P} = \frac{\Delta T \cdot [S]i \cdot Y_{P/S}}{\Delta[P]}$$

Para o caso de  $\Delta T$  igual a 12 horas, como foi neste trabalho, o tempo final será dado por

$$T_F = \frac{12 [S]_i Y_{P/S}}{\Delta [P]}$$

Na FERM.01, por exemplo é igual a 15,05 h e na FERM.23, 11,71 h.

#### 4.8. *Resumo dos Melhores Resultados Obtidos*

##### 4.8.1. *Nas Sacarificações Até a Sétima Hora*

###### 4.8.1.1. *Com Amostras Gelatinizadas*

Na etapa de sacarificação - rendimento ( $R_s = 0,9704$  g de ART/g de Am), produtividade ( $PSAs = 0,1386$  h<sup>-1</sup>) e eficiência ( $es = 87,34\%$ ) na SAC.40, para amido COPAGRA.

Globalmente - rendimento ( $R_g = 1,0427$  g de ART/g de Am), produtividade ( $PSAi = 0,149$  h<sup>-1</sup>) e eficiência ( $eg = 93,84\%$ ) na SAC.36, para polvilho azedo.

###### 4.8.1.2. *Com Amostras Cruas*

Com amostras cruas:

na etapa de sacarificação - rendimento ( $R_s = 0,7409$  g de ART/g de Am), produtividade ( $PSAs = 0,1058$  h<sup>-1</sup>) e eficiência ( $es = 66,68\%$ ) na SAC.16, para puba;

globalmente - rendimento ( $R_g = 0,751$  g de ART/g de Am), produtividade ( $PSAi = 0,1073$  h<sup>-1</sup>) e eficiência ( $eg = 67,59\%$ ) na SAC.16, para puba.



Esses resultados são extremamente importantes na produção de etanol de mandioca, uma vez que não houve gelatinização da matéria-prima. Não há, portanto, consumo de energia nessa etapa do processo o que poderá tornar o balanço energético da produção de etanol de mandioca menos desvantajoso quando comparado com o balanço energético da produção de etanol de cana-de-açúcar.

#### 4.8.2. Nas Fermentações Alcoólicas, Até a Décima Segunda Hora

Nas fermentações alcoólicas dos mostos provenientes das matérias-primas utilizadas, os melhores resultados dos parâmetros cinéticos estudados foram:

- a) velocidade específica de crescimento máxima ( $\mu_{xm} = 0,242 \text{ h}^{-1}$ ), tempo de geração ( $T_g = 2,86 \text{ h}$ ) na FERM.8; rendimento: massa celular/substrato ( $Y_{X/S} = 0,0858$ ) e produtividade: massa celular/substrato ( $P_{PS} = 0,00715 \text{ h}^{-1}$ ) na FERM.18, para massa de mandioca sem casca;
- b) variação percentual da massa celular (V.M.C. = 266,67%) na FERM.15; velocidade específica de consumo de substrato máxima ( $\mu_{sm} = 3,569 \text{ h}^{-1}$ ) na FERM.16; rendimento: etanol/massa celular ( $Y_{P/X} = 15,68$ ) e produtividade: etanol/massa celular ( $P_{PX} = 1,306 \text{ h}^{-1}$ ) FERM.22, para amido COPAGRA;
- c) percentagem de substrato utilizado (S.U. = 99,84%) na FERM.13; velocidade específica de formação de produto máxima ( $\mu_{pm} = 1,478 \text{ h}^{-1}$ ) na FERM.21; velocidade de formação de produto ( $r_p = 2,34 \text{ g.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) na FERM.23; rendimento:

etanol/substrato ( $Y_{P/S} = 0,46\%$ ), produtividade: etanol/  
substrato ( $P_{PS} = 0,0389 \text{ h}^{-1}$ ), rendimento relativo ao  
substrato consumido ( $R(sc) = 59,12 \text{ l de etanol/100 kg de}$   
ART) e eficiência em relação ao substrato consumido ( $e(sc)$   
 $= 91,30\%$ ) na FERM.20, para puba.

## 5. CONCLUSÕES

1. O processo de pubagem conduz a uma matéria-prima para produção de etanol, que apresenta as seguintes vantagens em relação à massa de mandioca moída com ou sem casca:

- a) dispensa a fase de descascamento e a redução de tamanho (cominuição);
- b) conduz a uma matéria-prima, a puba, com baixo teor de fibras e granulometria adequada. Há maior superfície específica;
- c) pode ser gelatinizada a 85<sup>o</sup>C;
- d) pode ser parcialmente sacarificada crua, com reciclo da fração não sacarificada;
- e) pode ser armazenada por muito tempo: seca, em bolos ou em suspensão, propiciando ciclo de processamento ininterrupto durante todo o ano, inclusive na época das chuvas onde o

acesso ao campo, para colheita da matéria-prima, fica prejudicado;

f) a ação dos microrganismos, de suas enzimas e dos ácidos formados durante a pubagem tornam a puba mais sensível à ação da amiloglicosidase (AMG) do que a massa de mandioca.

2. A formação de ART (em glicose), em função do tempo, nas sacarificações de amido, puba, polvilho azedo e massa de mandioca fica bem descrita pelo modelo matemático:

$$[S] = a \pm bT \pm cT^2 \pm dT^3.$$

3. As variações das concentrações de substrato e de etanol, em função do tempo, nas fermentações alcoólicas testadas, ficaram representadas pela equação:

$$[S] \text{ e } [P] = a \pm bT \pm cT^2 \pm dT^3.$$

4. A variação da concentração de massa celular em função do tempo, nas fermentações alcoólicas estudadas fica muito bem traduzida pelo modelo Logístico-Mendesiano substanciado na equação:

$$[X] = [a/(1 + b.e^{-cT})] + d.$$

5. O fluxograma proposto para a produção de etanol de mandioca-puba está na Figura 15.

6. A produção de etanol de mandioca-puba é tecnicamente viável.

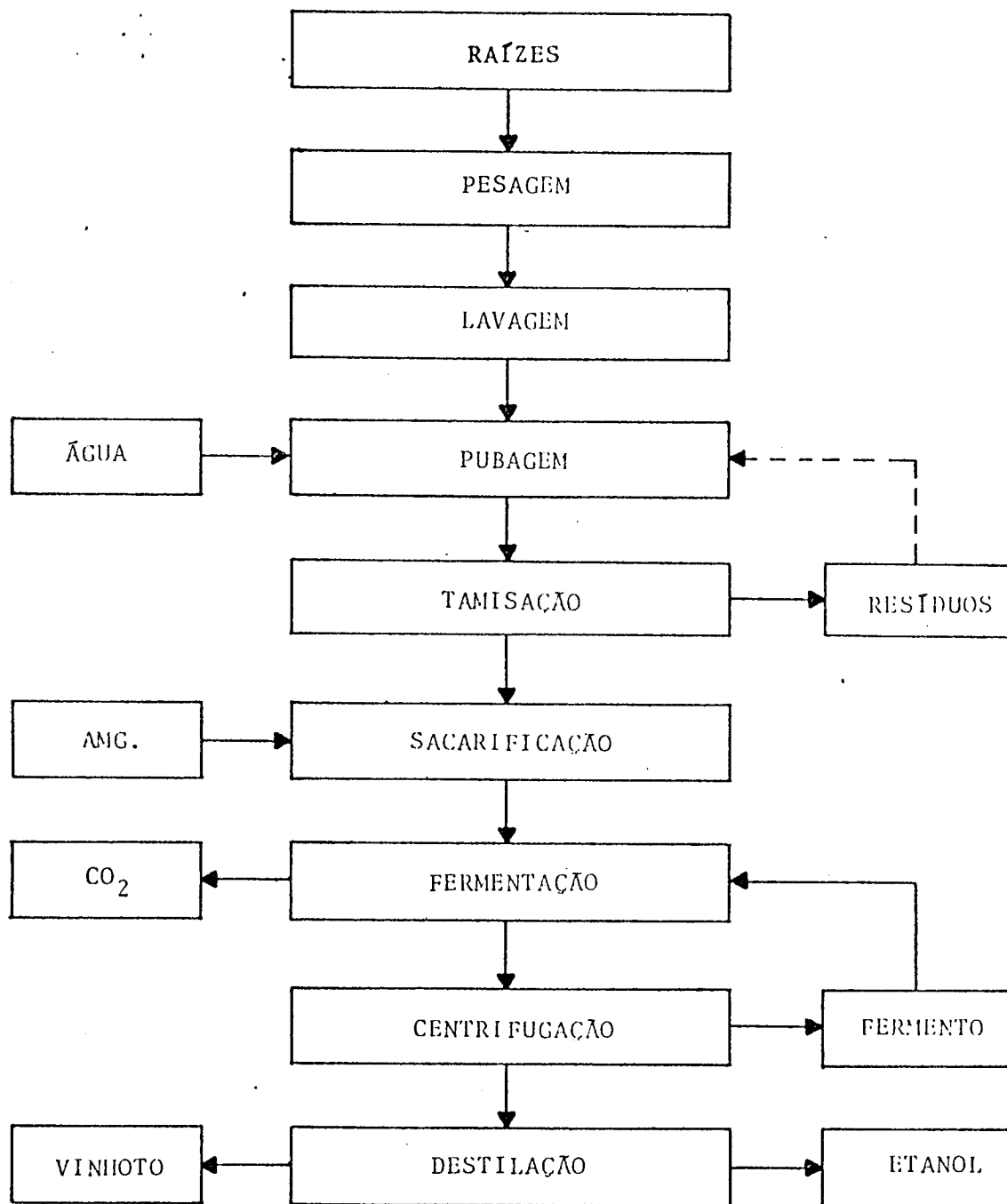


FIGURA 15 - Fluxograma da Produção de Etanol de Mandioca - Pu-  
ba. Hidrólise Enzimática.

## 6. SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES

Aos pesquisadores e estudiosos que desejarem dar continuidade a esta linha de pesquisa, são feitas as seguintes sugestões e recomendações.

### 6.1. *Sugestões*

Na pubagem da mandioca existem muitas variáveis e experimentos a serem estudados, conhecidos e controlados, por exemplo:

- a) aeração, micro-aeração e agitação;
- b) utilização de fermentadores microporosos;
- c) utilização de água corrente durante a pubagem e comparação dos resultados obtidos com os de um sistema em batelada;
- d) isolamento, identificação e melhoramento genético dos microrganismos que participam da pubagem. Estudo das fases e

transformações bioquímicas nas quais cada um deles ou todos eles participam;

- e) utilização da água de pubagem como inóculo em outras posteriores;
- f) utilização de culturas puras nas pubagens com vistas à diminuição do tempo de fermentação da mandioca e ao desenvolvimento de "flavores" e outras características organolépticas e físico-químicas desejáveis;
- g) importância e influência das variedades de mandioca e da idade da matéria-prima no processo e no produto final;
- h) estudo da cinética do processo fermentativo da mandioca para a obtenção de puba, com definição clara e precisa de parâmetros cinéticos;
- i) desenvolvimento e adoção de padrões de identidade e qualidade para a puba destinada à alimentação humana.

Desenvolvimento de modelos matemáticos que traduzam de maneira exata e precisa as variações das concentrações dos ART formados, em função do tempo, nas sacarificações e dos ART consumidos e etanol formado, nas fermentações alcoólicas.

Aprofundamento das pesquisas em relação aos tratamentos necessários à maximização do rendimento, eficiência e produtividade, na sacarificação de amostras cruas de puba.

Estudo da viabilidade econômica da produção de etanol de mandioca-puba, considerando-se o processo proposto neste trabalho e suas possíveis variantes.

## 6.2. Recomendações

Que seja utilizado, em função de sua simplicidade e concisão, o modelo logístico-mendesiano como tradutor matemático das variações de massa celular em função do tempo nas fermentações alcoólicas com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Que seja difundida a utilização de puba como matéria-prima para bolos, cuscuz, biscoitos, mingaus, sequilhos, pães, queijadas e outros produtos culinários típicos da boa "cozinha baiana".



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABOUTBOUL, H. *Estudo cinético da fermentação alcoólica de hidrolisado de farinha de mandioca: modelo matemático para o processo descontínuo*. São Paulo, USP, 1984. 180 p. (Tese M.S.).
2. ABOUTBOUL, H.; SCHMIDELL, W.; BONOMI, A. Modelagem matemática da fermentação alcoólica de hidrolisado de mandioca. *Revista Politécnica*, São Paulo, 4:35-8, [s.d.].
3. AKINRELLE, I.A. Fermentation of cassava. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 15(9):589-94, 1964.
4. ALMEIDA, P.F. *Processamento e caracterização da puba*. Campinas, UNICAMP, 1992. 116 p. (Tese D.S.).
5. ALMEIDA, P.F.; ALMEIDA, R.C.C.; VASCONCELOS, A.S.; MENEZES, T.J.B. *Microbiology of cassava fermentation for puba production*. [s.n.t.]. 1 p.
6. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS - AACC. *Approach methods of the American Association of Cereal Chemists*. 8.ed. St. Paul, Minnesota, ADAC, 1983. v. 1 e 2.
7. AMORIM, H.V.; ZAGO, E.A.; OLIVEIRA, A.J. *Novos métodos analíticos para fermentação alcoólica*. São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1972. 58 p. (Informação técnica científica - SBM, Série: Manuais técnicos científicos).
8. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL - 1991. Rio de Janeiro, FIBGE, 1991. v. 51.
9. ARAÚJO, E.H. *Influência de fatores na velocidade de hidrólise de materiais amiláceos para a produção de etanol*. São Paulo, USP, 1985. 261 p. (Tese D.S.).

10. ARAÚJO FILHO, A.A. *Obtenção de álcool anidro a partir da mandioca: possibilidades no nordeste*. Fortaleza, BNB, 1977. 86 p.
11. ARAÚJO, N. de Q. Hidrólise enzimática da mandioca. *Informativo do INT*, Rio de Janeiro, 8(9):42-52, 1975.
12. ARAÚJO, N.Q. *Problemas da fermentação alcoólica industrial*. Rio de Janeiro, MIC/INT, 1969. 79 p.
13. ASCHENGREEN JÚNIOR, N.H. Microbial enzymes for alcohol production. *Process Biochemistry* 4(8):23-5, ago. 1969.
14. AYALA, H.G. *El alcohol anhidro como carburante*. Tucuman, Estación Experimental Agrícola, v. 2. 12 p. (Circular, 201).
15. AYRES, J.C. Manioc the potential exists for increased use of this tropical plant and its products. *Food Technology* 26(4):128-38, 1972.
16. BANKS, W. & GREENWOOD, C.T. *Starch and its components*. New York, John Wiley & Sons, 1975. 342 p.
17. BANZON, J.; FULMER, L.I.; UNDERKOFER, L.A. Fermentative utilization of cassava in the production of ethanol. *Iowa State Coll Journal Science* 23(2):219-35, 1949.
18. BERTELLI, L.G. Dezesesseis anos de Proálcool. *Stab*, Piracicaba, 11(1):19-20, 1992.
19. BORCHARDT, I.G. & GOMES, A.F. *Tópicos de termometria e termoeleétrica*. São José dos Campos, ITA, CTA, 1971. 57 p.
20. BRANDÃO, D.A. *A cozinha baiana*. São Paulo, Tecnoprint, 1948. 199 p.
21. BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. *Alcool de mandioca: 10.000 l/dia (hidratado): projeto referência*. Brasília, 1980. 122 p.
22. \_\_\_\_\_. *O etanol como combustível*. Brasília, 1975. 94 p.
23. \_\_\_\_\_. *Programa tecnológico industrial de alternativas energéticas de origem vegetal*. Brasília, 1979. 111 p.
24. BUENO, R. *Pro-álcool: rumo ao desastre*. 4.ed. Petrópolis, Vozes, 1984. 70 p.
25. CÂMARA, G.M.S.; GODOY, O.P.; MARCOS FILHO, J.; LIMA, U.A. *Mandioca: produção, pré-processamento e transformações agroindustrial*. São Paulo, Coordenadoria de Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia, 1980. 80 p. (Série Extensão Agroindustrial).

26. CANTÚ, B.C. *Estudo comparativo da produção de álcool etílico a partir de vários amidos empregando processo com ou sem cozimento*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1982. 66 p. (Tese M.S.).
27. CEREDA, M.P. *Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca*. Botucatu, F.C.M.B.B., 1973. 90 p. (Tese D.S.).
28. \_\_\_\_\_. *Produtos fermentados da mandioca*. [s.n.t.].
29. \_\_\_\_\_. *Tecnologia e qualidade do polvilho azedo*. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 13(145):63-8, 1987.
30. CHANG, Y.K. *Efeito da concentração de ácido, umidade e temperatura na hidrólise de amido de mandioca por extrusão termoplástica, visando a produção de álcool*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1987. 183 p. (Tese D.S.).
31. CHIARELLO, M.D. *Sacarificação com amilo-glicosidase de amido de mandioca pré-dextrinizado: uma análise pela metodologia da superfície de resposta*. Londrina, UEL, 1986. 55 p. (Tese M.S.).
32. CIACCO, C.F. *Apostila sobre métodos analíticos na identificação de amido*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1987. 60 p.
33. CIACCO, C.F. & CRUZ, R. *Fabricação de amido e sua utilização*. São Paulo, Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia, 1982. 152 p. (Série Tecnologia Agroindustrial, v. 7).
34. COLLARD, P. & LEVI, S. *A two stage fermentation of cassava*. *Nature* 183(4661):620-1, 1959.
35. CONCEIÇÃO, A.J. *Instrução para o cultivo da mandioca*. In: *Projeto mandioca*. Cruz das Almas, UFBA, Escola de Agronomia, 1979. 23 p. (Série Extensão, v. 1, n. 2).
36. COPERSUCAR. *Fermentação*. Piracicaba, 1987. 434 p.
37. COUTINHO, P.H.A. & SILVA, G.H. *Aprimoramento na tecnologia tradicional de produção de álcool a partir de mandioca*. São Paulo, 1981. 20 p. (1.º Congresso Brasileiro de Alcoolquímica, correspondência pessoal).
38. DJIEN, K.S. *Tapé fermentation*. *Applied Microbiology* 23 (5):976-8, 1972.
39. DRAPER, N.R. & SMITH, H. *Applied regression analysis*. 2.ed. New York, John Wiley, 1981. 709 p.
40. FERREIRA, A.B.H. *Novo dicionário da língua portuguesa*. Rio de Janeiro, Nova Fronteira, 1975. 1517 p.

41. FERREIRA FILHO, J.C.; MONTE, O.; MULLER, A.S.; GRAVATÁ, A.G. (bromelius) - *Manual de mandioca, a mais brasileira das plantas úteis*. São Paulo, Chácaras e Quintais, 1942. 299 p.
42. FRANCO, C.M.L. *Estudo das susceptibilidades do grânulo de amido "in natura" ao ataque enzimático*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1986. 126 p. (Tese M.S.).
43. FUNDAÇÃO DE TECNOLOGIA INDUSTRIAL. *Mini-usinas de álcool de mandioca*. Rio de Janeiro, 1982. 60 p.
44. GIORDANO, R.L.C. *Estudo cinético da hidrólise de amido: inibição pelo produto*. São Paulo, USP, 1987. 203 p. (Tese M.S.).
45. GODOY, J.M. de. *Fecularia e amidonaria*. 2.ed. São Paulo, Chácaras e Quintais, 1940. 286 p. (Série Tecnologia Agrícola).
46. GOLDEMBERG, J. *Energia no Brasil*. São Paulo, ACIESP, 1976. 158 p.
47. GONÇALVES, L.A.G. *Contribuição à determinação estequiométrica de açúcares redutores*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1988. 124 p. (Tese D.S.).
48. GOVEA, V.S. Alcool de mandioca por fermentação contínua. *Revista Latino Americana de Microbiologia* 15:147-50, 1973.
49. GRAMACHO, D.D. Ensaio sobre a utilização de matéria-prima de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na obtenção de "carimã" e "polvilho azedo" - nota prévia. In: PROJETO mandioca. Cruz das Almas, UFBA, Escola de Agronomia, 1975. p. 137-46. (Série Pesquisa, v. 2, n. 1).
50. GRAVATÁ, A.G. As indústrias da mandioca. In: FERREIRA FILHO, J.C.; MONTE, O.; MULLER, A.S. *Manual da mandioca: a mais brasileira das plantas úteis*. São Paulo, Chácaras e Quintais, 1942. parte IV, p. 127-296.
51. \_\_\_\_\_. Mandioca "for ever", carimã e polvilho azedo. *Chácaras e Quintais*, São Paulo, 62(4):440-1, 1940.
52. GREENFIELD, P.F. & BROOKS, R.B. Processing of cassava to produce ethanol effect of raw material preparation. *Starch* 34(6):192-7, 1932.
53. GROSSMANN, M.V.E. *Efeito da extrusão termoplástica na gelatinização do amido de mandioca, visando a produção de álcool*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1986. 114 p. (Tese D.S.).
54. GUTHEIL, N.C. A indústria do álcool de mandioca e suas possibilidades no Rio Grande do Sul. *Revista de Química Industrial* 21(245):19-23, set. 1952.

55. HABERMAN, R. *Mathematical models*. New Jersey, Prentice, 1977. 402 p.
56. HAGEN, H.A. *Continuous cooking of grain for ethanol production*. Bagsvaerd, Novo Industri A/S, 1982. 13 p. (Paper presented at the 5<sup>th</sup> Symposium on Technical Microbiology, Berlin (West), 28-30, September, 1982).
57. HAGEN, H.A. & NIELSEN, B.H. *Ethanol from starch - containing crops - energy saving cooking process*. Bagsvaerd, Novo Industri A/S, 1982. 7 p. (Paper to be presented at the 5<sup>th</sup> Int. Fuel Alc. Symp. in Auckland, N.Z., May, 1982).
58. HOECHST. *Manual de fermentação alcoólica*. São Paulo, [s.d.]. 20 p. (Boletim informativo).
59. JANUZZI, G.M. O consumo de gasolina e álcool automotivo no Brasil: 1960-1985. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 38(11):1789-96, 1986.
60. KONO, T. & ASAI, T. Kinetics of fermentation processes. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, 11(3):293-321, 1969.
61. KREBS, C.J. *Ecologia: análisis experimental de la distribución y abundancia*. 3.ed. Madrid, Ediciones Pirâmide, 1986. 728 p.
62. LE DUY, A. & ZAJIC, J.E. A geometrical approach for differentiation of an experimental function at a point applied to growth and product formation. *Biotechnology and Bioengineering*, New Jersey, 15(4):805-10, jul. 1973. (Communications to the editor).
63. LEITE, R.C.C. *Pró-Alcool a única alternativa para o futuro*. Campinas, UNICAMP, 1987. 86 p.
64. LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA. Rio de Janeiro, 1991. v. 3, n. 10.
65. LIMA, U.A. Industrialização da mandioca. In: CAMARA, G.M.S.; GODOY, O.P.; MARCOS FILHO, J.; LIMA, U.A. *Mandioca - produção, pré-processamento e transformação agroindustrial*. São Paulo, Secretaria da Indústria, comércio, Ciência e Tecnologia, [s.d.]. p. 45-80. (Série Extensão Agroindustrial, 4).
66. \_\_\_\_\_. Produção de etanol. In: LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. *Tecnologia das fermentações*. São Paulo, Edgard Blucher, EDUSP, 1975. v. 1, p. 48-69.
67. LINDEMAN, L.R. & ROCCHICCIOLI, C. Ethanol in Brazil: brief summary of the state of industry in 1977. *Biotechnology and Bioengineering* 21(7):1107-19, jul. 1979.

68. LLAMES, H.P. *Fabricacion del alcohol*. Barcelona, Salvat, 1956. 735 p.
69. LOPES, C.H. *Glossário de termos técnicos para a indústria sucro-alcooleira*. Piracicaba, IAA, 1986. 32 p.
70. LORENZI, J.O. Produção de álcool de mandioca. In: GOLDEMBERG, J. *Energia no Brasil*. São Paulo, Secretaria de Cultura, Ciência e Tecnologia, 1976. p. 101-8. (Publicação ACIESP, 2).
71. LORENZI, J.O. & MONTEIRO, D.A. *A mandioca (Manihot esculenta Crantz) como matéria-prima para produção de etanol no Brasil*. Campinas, IAC, 1980. 80 p. (Boletim Técnico, 67).
72. LOUNG, J.H.T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* 27(3): 280-5, 1985.
73. LUTZEN, N.W. *Enzyme technology in the production of ethanol - recent process development*. Bagsvaerd, Novo Industri A/S, 1980. 7 p. (Paper to be presented at the VI<sup>th</sup> International Fermentation Symposium, 1980).
74. MACIEL, T.J.L. *Análise do setor alcooleiro do Brasil: perspectivas do Proálcool*. Viçosa, UFV, 1991. 83 p. (Tese M.S.).
75. MATION, M.A.F. *Process studies on ethanol production from biomass by thermophilic anaerobic bacteria*. Cambridge, MIT, 1980. 183 p. (Tese M.S.).
76. MELLO, J.C. & URBAN, C. *Produção de etanol a partir da mandioca*. Rio de Janeiro, MIC/STI, 1975. 72 p. (Não publicado).
77. MENDES, A. *Estudo da produção de açúcar, da produção de etanol, e comparação entre dois métodos de análise de caldo em duas variedades de cana-de-açúcar na microrregião de Viçosa, MG*. Viçosa, UFV, 1985. 57 p. (Tese M.S.).
78. MENDES, B.A. & FREITAS, B.M. Crescimento de leveduras em fermentações alcoólicas: uma abordagem matemática. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 13, São Paulo, 1992. *Programa e Resumos...* São Paulo, SBCTA, 1992. p. 321.
79. MENDES, B.A.; MARADINI FILHO, A.M.; SILVA, A.; ALMEIDA, V.D.; SHIMABUKURO, W. Determinação da vida útil e seleção de uma embalagem para "puba". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 5, Viçosa, 1981. *Resumos...*, Viçosa, UFV, SBCTA, 1981. p. 119.

80. \_\_\_\_\_. Obtenção e caracterização de puba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 5, Viçosa, 1981. *Resumos...* Viçosa, UFV, SBCTA, 1981. p. 146.
81. MENDES, B.A.; MORAES, I.O.; MAUGERI FILHO, F. Estudo comparativo entre as propriedades características de puba, polvilho azedo, polvilho doce e mandioca moída, visando aplicações em panificação e produção de etanol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 11, Recife, 1988. *Livro de Resumos...* Recife, SBCTA, 1988. p. 141.
82. \_\_\_\_\_. Hydrolysis and fermentation of puba for ethanol production. In: INTERNATIONAL BIOTECHNOLOGY SYMPOSIUM, 8, Paris, 1988. *Abstract...* Paris, IBS, 1988. p. 295.
83. \_\_\_\_\_. Puba, what is this? In: INTERNATIONAL BIOTECHNOLOGY SYMPOSIUM, 8, Paris, 1988. *Abstract...* Paris, IBS, 1988. p. 219.
84. MENEZES, T.J.B. Caracterização de uma celulase fúngica e sua influência no rendimento de álcool da mandioca. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 9:175-200, 1978.
85. \_\_\_\_\_. *Etanol, o combustível do Brasil*. São Paulo, Ceres, 1980. 233 p.
86. \_\_\_\_\_. Matérias-primas para a produção de álcool etílico. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 31(6):631-7, 1979.
87. \_\_\_\_\_. Produção de álcool motor e perspectivas futuras. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 60:1-12, nov./dez. 1978.
88. \_\_\_\_\_. Saccharification of cassava for ethyl alcohol production. *Process Biochemistry* 13(9):24-6, 1978.
89. MENEZES, T.J.B.; ARAKAKI, T.; LAMO, P.R. de; SALES, A.M. Fungal cellulases as an aid for the saccharification of cassava. *Biotechnology and Bioengineering* 20(4):556-65, 1978.
90. MENEZES, T.T.B. & LAMO, P.R. de. Produção do álcool de mandioca. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 46:37-54, jun. 1976.
91. MENEZES, T.J.B.; LAMO, P.R. de; SALES, A.M.; ARAKAKI, T. Sistemas de hidrólise na produção do álcool etílico da mandioca. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 7:209-15, 1976.
92. MILANESI, A.A.R. *Aspectos cinéticos e operacionais da fermentação alcoólica contínua em fermentador cascata com células livres e imobilizadas*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1987. 150 p. (Tese M.S.).



93. MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3):426-8, mar. 1959.
94. MINIER, M. *Fermentation alcoolique: mise au point d'une nouvelle methode de fermentation extractive*. Toulouse, 1981. 176 p. (Tese D.S.).
95. MISELHORN, K. & DELLWEG, H. Alcohol production from sugar and starch materials. In: COLLOQUE DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, Reims, 1981. *Fermentation alcoolique*. Reims, Societe Française de Microbiologie, 1981. p. 47-69.
96. MUCHNIK, J. & VINCK, D. *La transformation du manioc*. Technologies autochtones. Paris, Presses Universitaires de France, 1984. 172 p. (Techniques Vivantes).
97. NORMAN, B.E. & LUTZEN, N.W. *Process consideration for the production of ethanol from cereals*. Bagsvaerd, Novo Industri A/S, [s.d.]. 15 p.
98. NORMANHA, E.S. & LORENZI, J.O. *Mandioca, secagem de raspas ao sol com vistas à produção de álcool carburante e rações*. Campinas, IAC, 1979. 43 p. (Circular, 102).
99. NOVAES, F.V. Matérias-primas para produção de álcool. In: SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA E ECONOMIA DO ALCÓOL, 1, São Paulo, 1980. *I Seminário...* São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1980. p. 3-7.
100. NOVE anos de Proálcool; um balanço da tentativa brasileira de superação de sua crise energética. *SOPRAL - Informativo em Revista*, São Paulo, (26):23-92, dez. 1984.
101. NOVO enzymes, in the distilling industry. *Starch Conversion*. [s.n.t.]. 21 p.
102. NOVO INDUSTRI A/S. *AMG*. Bagsvaerd, [s.d.]. 2 p. (Novo Enzymes).
103. NAKAMURA, I.M. *Contribuição ao estudo da fécula de mandioca fermentada*. Campinas, UNICAMP, FEA, 1975. 79 p. (Tese M.S.).
104. NAKAMURA, I.M.; MORAES, I.O.; MARTUCCI, E.T. Considerações sobre a tecnologia da fécula de mandioca fermentada: produção, propriedades físico-químicas e aplicações. *Científica*, Jaboticabal, 4(2):196-202, 1976.
105. NAMBA, A.; NISHIZAWA, Y.; TSUCHITA, Y.; NAGAI, S. Kinetic analysis for batch ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Fermentation Technology* 65(3):277-83, 1987.

106. NGABA, P.R. & LEE, J.S. Fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Food Science* 44(5):1570-1, 1979.
107. NIELSEN, B.H. & ROSENDAL. Liquefação a baixa temperatura na produção de etanol a partir do amido. *Petro & Química*, São Paulo, 4(34):44-9, jun. 1981.
108. NOVO INDUSTRI A/S. *Novo enzymes in the production of ethanol from starch containing crops*. Bagsvaerd, 1981. 47 p. (Novo Enzymes Information, 1B-238c-GB).
109. NOVO INDUSTRI A/S *Termamyl*. Bagsvaerd, [s.d.]. 2 p. (Novo Enzymes).
110. O FIM da promessa: o carro a álcool com o novo aumento dos combustíveis que lança mais uma dúvida sobre o futuro do Proálcool. *Veja*, São Paulo, 22(4):84-6, jan. 1989. (Economia & Negócios).
111. O GRANDE desafio; a nova crise do petróleo. *Veja*, São Paulo, 23(33):88-90, ago. 1990.
112. OLIVO, J.E. *Efeito da concentração inicial de microrganismos (S. cerevisiae) e da recirculação de células em parâmetros cinéticos de processos simultâneos de sacarificação e fermentação de meios preparados a partir de farinha de raspa de mandioca*. São Paulo, USP, 1985. 295 p. (Tese M.S.).
113. PARK, Y.K.; BAR, W.H.; PAPINI, R.S. Relação entre intumescimento, gelatinização e suscetibilidade dos amidos de mandioca e de milho a alta-amilase bacteriana. *Revista Brasileira de Tecnologia*, Rio de Janeiro, 2(2): 95-9, 1971.
114. PARK, Y.K. & RIVERA, C.B. Alcohol production from various enzyme-converted starches with or without cooking. *Biotechnology and Bioengineering* 24(2):495-500, 1982.
115. PENIDO FILHO. *O álcool combustível*. São Paulo, Nobel, 1980. 265 p.
116. PEREIRA, A.S.; LORENZI, J.O.; KLATILOVA, E.; PERIM, S.; COSTA, I.R.S.; PENNA, S.; VALLE, T.L.; FRANÇA, J. de P.M. *A mandioca na cozinha brasileira*. Campinas, IAC, 1983. 266 p. (Boletim, 213).
117. PETRÓLEO, álcool e carvão: equilíbrio global de curto prazo. [s.l.], Mobilização Empresarial para o Desenvolvimento Energético, 1979. p. 1-35.
118. PETRÓLEO, maré negra. *Isto é Senhor*, São Paulo, (1099): 39-40, 10 out. 1990.

119. PIELOU, E.C. *An introduction to mathematical ecology*. New York, Interscience, 1969. 286 p.
120. PREGNOLATTO, W. & PREGNOLATTO, N.P. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz; métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3.ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, 533 p.
121. PROALCOOL, o elefante branco: a ressaca do Proálcool. *Isto É Senhor*, São Paulo, (1027):40-3, maio 1989. (Seção Economia).
122. QUEIROZ, M.S. de; RODRIGUES, E.G.C.; ANDRADE, G.R.; SILVA, G.H. da. *Aumento do tempo de operação de uma usina de álcool de cana com a utilização de matéria-prima amilácea*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, 1982. 25 p. (Relatório Interno, Petrobrás).
123. QUEIROZ, M.S. de; RODRIGUES, E.G.C.; SILVA, G.H. da. *Processamento de amiláceos para a produção de etanol, biogás e adubo*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, [s.d.]. 50 p. (Relatório interno, Petrobrás).
124. \_\_\_\_\_. *Utilização da celulase no processamento da mandioca para a obtenção de etanol*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, 1983. 18 p. (Relatório DITER-02/83, Petrobrás).
125. QUEIROZ, M.S. de; SILVA, G.H. da; COUTINHO, P.H.A. *Testes na unidade piloto de cozimento e liquefação contínua*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, 1982. 35 p. (Relatório DITER-01/82, Petrobrás).
126. REVUZ, B. Techniques, modernes em matiere de production d'ethanol por fermentation. In: COLLOQUE DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, Reims, 1981. *Fermentation alcoolique*. Reims, Societe Française de Microbiologie, 1981. p. 7-20.
127. RODRIGUES, E.G.C.; QUEIROZ, M.S. de; SILVA, G.H. da. *Sacarificação contínua de amido de mandioca*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, 1984. 56 p. (Relatório Interno, Petrobrás).
128. SÃO PAULO. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. *Microdestilarias: uma contribuição para implantação de novas unidades*. São Paulo, 1981. 91 p.
129. \_\_\_\_\_. *Razoneamento das áreas para implantação de destilaria de álcool*. São Paulo, 1980. 114 p.

130. SCHMIDELL, W. *Estudo do processo fermentativo contínuo de produção de amilo-glicosidase por Aspergillus niger NRRL 337 - comparação com o processo descontínuo*. São Paulo, USP, 1986. 216 p. (Tese de Livre Docência).
131. SHUEY, W.C. & TIPPLES, K.H. *The amylograph handbook*. [s.l.], AACC, 1980. 37 p.
132. SILVA, G.H. da. *Distribuição granulométrica de pastas de mandioca usadas para a produção de álcool etílico*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, 1979. 9 p. (Relatório DITER-06/79, Petrobrás).
133. SILVA, G.H. da; QUEIROZ, M.S. de; RODRIGUES, E.G.C. *Produção de etanol a partir de mandioca; recuperação de levedura*. Rio de Janeiro, Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Miguez de Mello, [s.d.]. 14 p. (Relatório Interno, Petrobrás).
134. SILVA, J.G. Avaliação do programa nacional do álcool - algumas reflexões. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 38 (2):274-278, 1986.
135. SINCLAIR, C.G. & KRISTIASEN, B. *Fermentation kinetics and modelling*. New York, Taylor & Francis, 1987. 113 p.
136. STUPIELLO, J.P.; SILVA JÚNIOR, J.F.; FERRARI, S.E. Terminologia alcooleira. In: SEMANA DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA "Jayme Rocha de Almeida", 4, Piracicaba, 1985. *Anais...* Piracicaba, ESALQ, STAB, 1985. p. 7-11.
137. TAVARES, F.C.A. & ECHEVERRIGARAY, S. Yeast breeding for fuel production. In: STEWART, G.G.; RUSSELI, I.; KLEIN, R.D.; HIEBSCH, R.R. *Biological research on industrial yeasts*. Flórida, CRC, 1987. v. 1, p. 60-80.
138. TRIBOLI, E.P.R. *Métodos analíticos para o acompanhamento da fermentação alcoólica*. São Caetano do Sul, Instituto Mauá de Tecnologia, 1987. 19 p. (mimeo.).
139. UM SONHO corroído: a dinastia do álcool. *Veja*, São Paulo, (1080):102-10, maio 1989.
140. UEDA, S.; ZENIN, C.T.; MONTEIRO, D.A.; PARK, Y.K. Production of ethanol from raw cassava starch by a nonconventional fermentation method. *Biotechnology and Bioengineering* 23(2):291-9, 1981.
141. VAN DE KAMER, J.H. & VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chemistry* 29(4):239-51, 1952.

142. VERGA, A.; BORGES, A.; BRAVO, C.; CIOLA, R.; SALCEDO, S.; PEREIRA, V. *Controle da produção de álcool por cromatografia em fase gasosa*. São Paulo, Instrumentos Científicos C.G., 1980. 15 p. (Trabalho apresentado no XI Seminário Técnico da STAB - Sociedade dos Técnicos Açucareiros do Brasil, Águas de São Pedro, 1980).
143. VILELA, E.R. & FERREIRA, M.E. Tecnologia de produção e utilização do amido de mandioca. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 13(145):68-92, 1987.
144. WHISTLER, R.L. & PASCHALL, E.F. *Starch: chemistry and technology*. New York, Academic Press, 1965. v. 1, 579 p.
145. \_\_\_\_\_. *Starch chemistry and technology*. New York, Academic Press, 1967. v. 2, 733 p.
146. WILLIAMS, P.C. & FEGOL, K.S.W. Colorimetric determination of damaged starch in flour. *Cereal Chemistry* 47(1):56-62, 1969.

APENDICE

APÊNDICE A

TABELA 1A - Preços, ao Consumidor, de Etanol, Gasolina e Razão Percentual entre Eles, de 1980 (01/01) até 1992 (21/11)

Data	Alcool Cr\$/l	Gasolina Cr\$/l	A/G %
1980			
01/01	11,40	22,60	50,44
01/03	11,40	26,00	43,85
24/04	11,40	28,00	40,71
29/05	18,20	30,00	60,67
20/06	18,20	34,50	52,75
31/07	18,20	38,00	47,89
27/09	24,70	38,00	65,00
03/10	24,70	45,00	54,89
04/12	27,50	51,00	53,92
1981			
04/02	32,00	60,00	53,33
17/04	42,00	66,00	63,64
28/06	48,00	75,00	64,00
18/10	52,00	85,00	61,18
1982			
14/02	64,00	104,00	61,54
23/05	73,00	125,00	58,40
18/07	77,00	132,00	58,33
16/09	84,00	144,00	58,33
29/12	98,00	167,00	58,68

Continua...

TABELA 1A, Cont.

Data	Alcool Cr\$/l	Gasolina Cr\$/l	A/G %
<b>1983</b>			
10/03	123,00	210,00	58,57
09/06	178,00	303,00	58,75
17/08	208,00	353,00	58,92
10/11	262,00	445,00	58,88
<b>1984</b>			
26/01	332,00	564,00	58,87
17/04	396,00	672,00	58,93
22/06	570,00	890,00	64,04
28/08	720,00	1.120,00	64,29
07/11	890,00	1.370,00	64,96
28/12	1.110,00	1.710,00	64,91
<b>1985</b>			
28/02	1.410,00	2.170,00	64,98
20/07	1.600,00	2.470,00	64,78
30/08	1.670,00	2.580,00	64,73
20/09	1.860,00	2.860,00	65,03
17/10	2.030,00	3.130,00	64,86
21/11	2.320,00	3.570,00	64,99
27/12	2.740,00	4.220,00	64,93
<b>1986</b>			
04/02	3.100,00	4.770,00	64,99
28/02	3,10 <sup>1</sup>	4,77 <sup>1</sup>	64,99
25/07	3,96	6,10	64,92
21/11	6,35	9,77	64,99
<b>1987</b>			
27/02	7,35	11,30	65,04
15/04	9,62	14,80	65,00
07/05	12,40	19,00	65,26
09/06	14,90	22,80	65,35
13/06	16,80	25,80	65,12
04/09	18,10	27,70	65,34
08/10	20,40	31,30	65,18
07/11	23,10	35,40	65,25
04/12	27,00	41,40	65,22
<b>1988</b>			
08/01	30,90	47,50	65,05
09/02	36,00	55,30	65,10
15/03	42,00	64,30	65,32
20/04	48,70	74,60	65,28
20/05	60,60	93,20	65,02

Continua...



TABELA 1A, Cont.

Data	Alcool Cr\$/l	Gasolina Cr\$/l	A/B %
<b>1988</b>			
23/06	78,00	113,00	69,03
30/07	92,00	134,00	68,66
23/08	112,00	162,00	69,14
23/09	137,00	198,00	69,19
27/10	161,00	233,00	69,10
01/12	197,00	286,00	68,88
30/12	246,00	357,00	68,91
<b>1989</b>			
14/01	331,00 <sup>2</sup>	441,00 <sup>2</sup>	75,06
01/05	0,36 <sup>3</sup>	0,49 <sup>3</sup>	73,47
10/05	0,41	0,55	74,55
01/06	0,42	0,57	73,68
16/06	0,50	0,66	75,76
30/06	0,55	0,73	75,34
17/07	0,69	0,92	75,00
07/08	0,71	0,95	74,74
16/08	0,93	1,24	75,00
06/09	1,07	1,43	74,83
16/09	1,43	1,91	74,87
04/10	1,57	2,09	75,12
17/10	1,88	2,51	74,90
01/11	2,06	2,75	74,91
21/11	2,84	3,78	75,13
07/12	3,33	4,43	75,17
21/12	4,60	6,12	75,16
<b>1990</b>			
08/01	5,85	7,78	75,19
18/01	9,28	12,40	74,84
02/02	9,74	13,00	74,92
17/02	14,40	19,30	74,61
02/03	18,10 <sup>4</sup>	24,10 <sup>4</sup>	75,10
16/03	28,60 <sup>4</sup>	38,00 <sup>4</sup>	75,26
03/08	31,00	41,30	75,06
14/08	33,60	44,70	75,17
30/08	36,60	48,80	75,00
10/10	43,90	58,50	75,04
08/11	56,10	74,50	75,30
07/12	61,00	81,30	75,03
<b>1991</b>			
08/01	70,80	94,20	75,16
01/02	104,00	138,00	75,36
30/05	113,00	152,00	74,34

Continua...

TABELA 1A, Cont.

Data	Alcool Cr\$/l	Gasolina Cr\$/l	A/G %
1991			
10/07	129,00	172,00	75,00
15,08	148,00	197,00	75,13
10/09	167,00	222,00	75,22
26/09	174,00	232,00	75,00
09/10	206,00	274,00	75,18
01/11	248,00	330,00	75,15
21/11	250,00	330,00	75,76
27/11	293,00	380,00	77,11
10/12	372,00	475,00	78,32
1992			
01/01	408,00	520,00	78,46
07/01	499,00	635,00	78,58
04/02	617,00	785,00	78,60
06/03	748,00	952,00	78,57
03/04	887,00	1.130,00	78,50
05/05	1.060,00	1.350,00	78,52
27/05	1.110,00	1.390,00	79,86
05/06	1.300,00	1.650,00	78,79
17/06	1.340,00	1.700,00	78,82
09/07	1.650,00	2.100,00	78,57
14/07	1.700,00	2.170,00	78,34
04/08	2.100,00	2.670,00	78,65
10/08	2.120,00	2.690,00	78,81
03/09	2.600,00	3.320,00	78,31
07/10	3.300,00	4.170,00	79,14
21/11	3.710,00	4.700,00	78,94

FONTE: Posto Rejane - Viçosa-MG.

- 1 Cruzados/l (Cz\$/l) até 31/04/89.
- 2 Preço com 3% de IVV (Imposto sobre Vendas a Varejo de Combustíveis Líquidos e Gasosos).
- 3 Cruzados novos/l (NCz\$/l) até 15/03/90.
- 4 Cruzeiros/l (Cr\$/l) até a presente data.

TABELA 2A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-13.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	0,65	0,41
2	10	8,82	6,55
3	20	17,08	12,64
4	30	23,76	15,93
5	40	29,16	23,11
6	50	34,49	25,42
7	60	40,81	30,29
8	80	38,69	33,47
9	100	42,90	40,03
10	120	48,04	42,33
11	140	53,57	48,53
12	160	55,02	48,53
13	180	56,99	51,01
14	240	59,49	54,38
15	300	66,48	61,11
16	360	70,29	63,24
17	420	72,01	66,08
18	1380	76,63	78,36
19	1680	76,63	79,69
20	1740	77,29	78,36
21	2880	84,20	95,64
22	3120	83,22	96,08

TABELA 3A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-14.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	0,14	0,28
2	10	0,70	0,40
3	20	4,89	5,22
4	30	10,71	10,08
5	40	19,34	16,82
6	50	25,79	22,31
7	60	30,14	20,63
8	80	35,39	27,44
9	100	45,80	44,63
10	120	47,90	43,39
11	180	56,07	51,54
12	240	69,37	70,14
13	300	65,16	57,39
14	360	69,50	62,88
15	420	54,09	53,13
16	480	63,31	49,41
17	540	68,94	60,21
18	600	70,58	58,44
19	660	73,71	64,87
20	720	74,37	63,98
21	780	75,03	62,21
22	960	76,51	60,44
23	1560	77,66	57,11
24	1620	78,81	69,07
25	1680	80,30	64,64
26	1740	81,45	69,74
27	1800	81,94	73,28
28	1860	81,45	70,85
29	1980	81,45	73,06
30	2100	81,94	72,62

TABELA 4A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-15.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	0,12	0,30
2	10	0,47	0,55
3	20	4,33	4,77
4	30	10,58	11,06
5	40	18,68	16,91
6	50	24,41	20,45
7	60	28,69	25,68
8	80	35,13	31,69
9	100	40,13	36,48
10	120	48,56	42,15
11	180	53,96	47,28
12	240	57,39	51,71
13	300	61,21	56,14
14	360	64,37	61,46
15	420	68,32	62,17
16	480	69,37	66,07
17	540	71,73	62,65
18	600	73,38	63,32
19	660	74,04	64,42
20	720	74,70	66,42
21	780	75,03	66,64
22	960	77,66	66,64
23	1560	80,95	67,75
24	1620	81,12	69,30
25	1680	81,12	69,52
26	1740	81,12	69,74
27	1800	82,77	71,07
28	1860	82,93	71,29
29	1980	82,77	71,29
30	2100	82,77	71,29

TABELA 5A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-16.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	1,06	0,62
2	10	14,28	9,65
3	20	23,29	18,77
4	30	33,89	23,02
5	40	39,69	30,46
6	50	45,09	35,87
7	60	52,51	38,60
8	90	57,65	40,55
9	110	62,79	47,46
10	180	71,48	56,68
11	240	71,41	58,22
12	300	73,05	58,22
13	360	74,86	58,66
14	420	78,16	63,32
15	480	79,31	67,08
16	540	79,80	59,99
17	600	78,81	66,64
18	1440	77,33	65,75
19	1500	80,13	66,64
20	1560	79,97	66,64

TABELA 6A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-17.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	0,98	0,12
2	10	10,66	7,57
3	20	13,65	10,67
4	30	18,88	15,31
5	40	23,88	18,77
6	50	27,37	21,96
7	60	31,46	24,35
8	90	33,68	28,32
9	110	35,65	31,51
10	180	38,55	31,87
11	240	42,43	25,44
12	300	43,09	27,21
13	360	44,24	23,89
14	420	45,39	24,33
15	480	46,55	32,53
16	540	47,70	38,51
17	600	48,52	38,06
18	1440	51,48	39,17
19	1500	52,31	39,62
20	1560	51,98	38,95

TABELA 7A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-1B.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	5,09	0,00
2	10	10,36	0,00
3	20	11,05	0,00
4	30	13,36	0,00
5	40	12,43	0,00
6	50	11,97	0,00
7	60	13,52	0,00
8	80	13,55	0,00
9	100	12,70	0,00
10	120	12,66	0,00
11	180	22,84	0,00
12	250	25,00	0,00
13	360	28,23	0,00
14	420	28,76	0,00
15	480	29,28	0,00
16	540	29,61	0,00
17	600	31,18	0,00
18	1245	35,39	0,00
19	1320	33,94	0,00
20	1440	32,23	0,00



TABELA 8A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-19.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	3,14	2,56
2	10	6,51	6,46
3	20	8,84	8,23
4	30	14,48	10,67
5	40	13,22	12,08
6	50	14,71	14,03
7	60	15,40	14,92
8	80	17,67	16,29
9	100	19,97	18,86
10	120	20,60	19,48
11	140	23,82	20,54
12	180	25,79	21,96
13	250	30,27	26,21
14	300	27,70	24,79
15	360	28,36	26,65
16	420	29,93	28,02
17	480	28,03	26,03
18	540	33,04	30,73
19	600	36,92	34,89
20	1245	37,06	32,23
21	1440	34,82	32,68

TABELA 9A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-20.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	0,57	0,25
2	10	2,02	0,49
3	20	4,43	3,01
4	30	7,05	5,22
5	40	9,01	6,26
6	50	10,69	8,43
7	60	11,81	10,40
8	80	15,07	12,31
9	120	18,72	15,18
10	180	20,64	19,82
11	240	24,46	23,89
12	420	27,88	29,92
13	490	30,25	31,16
14	540	28,94	31,16
15	600	29,07	34,70
16	660	29,07	33,99

TABELA 10A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-21.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	1,64	0,55
2	10	1,50	0,31
3	20	3,65	2,31
4	30	6,59	4,41
5	40	8,80	5,04
6	50	11,32	8,39
7	60	12,93	10,67
8	80	16,32	9,87
9	100	16,78	15,18
10	120	21,65	16,43
11	180	23,27	24,60
12	240	27,75	27,44
13	300	24,85	25,84
14	360	30,78	29,74
15	420	32,36	38,96
16	490	35,13	40,55
17	540	33,55	37,54
18	600	46,46	40,02
19	660	39,47	37,89
20	720	41,98	34,53
21	1680	44,24	34,52
22	1920	47,37	44,71
23	2160	46,87	43,16
24	3060	50,50	44,49
25	3300	52,31	47,59
26	3420	42,76	35,85
27	4500	52,64	46,70

TABELA 11A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-22.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	10,39	0,00
2	10	15,10	8,76
3	20	26,11	31,52
4	30	38,21	46,13
5	40	44,97	50,98
6	50	56,56	61,61
7	60	64,12	70,82
8	80	87,83	92,52
9	100	102,64	104,49
10	120	105,28	109,36
11	180	117,13	118,66
12	300	125,69	131,51
13	390	128,00	131,07
14	420	128,09	132,15
15	960	129,64	122,21
16	1020	131,95	124,86
17	1080	132,61	131,95
18	1140	132,28	135,94
19	1310	132,28	136,38
20	1385	132,61	138,15
21	1440	130,96	131,07
22	1590	133,60	127,96

TABELA 12A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-23.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	102,85	34,96
2	10	103,68	33,63
3	20	117,18	36,51
4	30	111,58	36,29
5	40	112,85	41,83
6	50	108,24	34,05
7	60	112,85	36,71
8	80	118,12	36,71
9	100	108,24	34,49
10	120	129,64	41,58
11	180	117,79	41,14
12	300	105,94	35,38
13	390	100,67	37,59
14	420	100,77	37,71
15	960	98,04	35,82
16	1020	99,02	35,82
17	1080	102,97	40,25
18	1140	95,73	35,82
19	1310	100,67	38,48
20	1385	94,08	38,92
21	1440	103,63	41,58
22	1590	102,85	42,91

TABELA 13A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-24.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	65,15	105,05
2	10	67,62	106,12
3	20	85,40	104,87
4	30	79,59	108,03
5	50	82,89	104,93
6	70	85,19	114,67
7	90	84,53	122,65
8	150	90,13	124,86
9	210	84,53	129,74
10	420	86,37	131,24
11	1080	92,11	135,94
12	1290	92,77	131,95
13	1350	92,44	136,82
14	1470	88,81	140,81
15	1530	91,45	135,94
16	2460	94,87	134,17
17	2580	94,98	136,82
18	2640	94,98	136,82

TABELA 14A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-25.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l <sup>D</sup>	$[S]_S$ g/l <sup>S</sup>
1	0	0,89	0,46
2	10	2,24	1,05
3	20	6,51	2,87
4	30	9,01	14,48
5	50	13,75	17,13
6	70	12,83	21,56
7	90	10,92	19,48
8	150	14,47	26,48
9	210	15,92	27,89
10	420	17,26	31,02
11	1080	21,45	40,83
12	1290	22,50	45,10
13	1350	22,83	43,93
14	1470	22,76	40,21
15	1530	22,43	39,32
16	2460	77,62	132,39
17	2580	74,98	131,07
18	2640	72,02	132,84

TABELA 15A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-26.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	72,35	29,58
2	10	75,97	35,51
3	20	78,28	41,09
4	40	84,53	54,87
5	100	99,02	85,44
6	160	104,95	77,46
7	220	109,23	71,26
8	280	116,80	107,59
9	340	118,12	116,00
10	420	119,44	117,78
11	420	119,82	120,07
12	520	121,74	131,51
13	580	137,88	123,72
14	640	120,75	130,18
15	1260	119,77	131,07

TABELA 16A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-27.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	78,28	14,51
2	10	77,29	19,39
3	20	80,58	26,92
4	40	88,16	45,52
5	100	100,34	66,83
6	160	105,61	84,99
7	220	112,85	97,84
8	280	110,88	107,14
9	340	113,51	120,43
10	400	115,49	123,98
11	420	115,49	123,98
12	520	118,12	123,98
13	580	111,53	122,21
14	640	112,19	124,42
15	1260	112,52	122,65



TABELA 17A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-28.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	68,40	26,52
2	10	63,79	35,38
3	20	65,76	36,71
4	40	70,70	47,78
5	60	74,33	56,64
6	80	74,00	59,30
7	140	75,64	68,16
8	200	80,25	77,02
9	260	86,84	83,66
10	320	90,13	92,97
11	380	82,56	81,45
12	420	84,30	83,47
13	1100	113,84	117,78
14	1220	111,21	117,78

TABELA 18A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-29.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	62,80	25,15
2	10	67,41	39,77
3	20	63,46	43,39
4	40	70,37	49,55
5	60	74,66	61,07
6	80	75,31	64,17
7	140	78,61	65,50
8	200	84,86	80,12
9	260	90,13	84,11
10	320	96,06	97,40
11	380	96,39	104,04
12	420	97,12	105,40
13	1100	109,56	128,41
14	1220	107,91	126,64

TABELA 19A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-30.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	32,72	10,00
2	10	34,36	21,60
3	20	33,37	22,31
4	30	33,21	23,89
5	50	33,04	27,65
6	70	35,51	31,20
7	90	35,84	32,08
8	150	40,29	38,73
9	210	37,82	41,83
10	270	35,84	41,39
11	330	41,61	43,16
12	390	46,38	50,47
13	420	46,47	51,14
14	450	46,55	51,80
15	510	46,55	51,35
16	570	46,05	49,58
17	1320	46,38	49,58

TABELA 20A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-31.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	40,62	11,91
2	10	39,14	17,88
3	20	38,48	18,32
4	30	42,76	19,03
5	50	43,58	19,48
6	70	46,87	26,99
7	90	46,05	25,22
8	150	50,66	27,21
9	210	45,72	37,84
10	270	55,44	35,85
11	330	55,60	51,80
12	390	56,42	51,13
13	420	58,24	51,14
14	450	60,05	51,13
15	510	56,92	53,35
16	570	57,08	51,35
17	1320	56,92	52,24

TABELA 21A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-32.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	4,60	0,87
2	30	29,92	32,14
3	90	63,83	61,51
4	150	86,18	93,52
5	210	79,26	91,13
6	270	80,58	107,14
7	330	88,16	109,36
8	390	89,14	107,14
9	420	90,96	108,48
10	450	92,77	109,80
11	510	87,50	114,23
12	570	89,47	110,24
13	1560	96,39	117,78

TABELA 22A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-33.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	10,16	1,76
2	30	24,48	30,55
3	90	56,26	55,80
4	150	73,67	86,61
5	210	75,31	81,56
6	270	70,05	97,84
7	330	74,98	92,97
8	390	77,29	97,84
9	420	78,28	101,39
10	450	79,26	104,93
11	510	82,23	105,81
12	570	81,24	106,26
13	1560	83,55	113,79

TABELA 23A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-34.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	25,97	10,97
2	20	25,97	13,98
3	40	29,26	7,62
4	60	32,22	20,70
5	120	32,22	23,01
6	180	34,86	28,50
7	240	36,01	28,86
8	300	37,33	33,82
9	360	37,65	34,53
10	420	38,31	35,59
11	480	38,97	37,89
12	600	38,81	40,02
13	1380	40,78	41,44

TABELA 24A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-35.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	5,62	2,00
2	20	14,54	5,96
3	40	21,16	9,42
4	60	22,51	25,13
5	120	26,13	28,86
6	180	29,75	34,88
7	240	32,39	34,35
8	300	33,21	38,42
9	360	36,50	39,13
10	420	32,39	33,99
11	480	33,04	35,77
12	600	33,15	41,61
13	1380	39,63	37,36

TABELA 25A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-36.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	77,95	17,79
2	10	75,97	24,95
3	20	80,58	37,44
4	40	81,90	35,82
5	60	82,89	50,44
6	120	93,09	75,69
7	180	97,70	84,11
8	240	118,78	105,37
9	300	126,02	119,10
10	360	135,24	123,53
11	420	131,29	127,52
12	480	130,96	154,10
13	540	132,28	169,16
14	1320	131,29	164,73

TABELA 26A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-37.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	72,02	24,43
2	10	74,00	29,20
3	20	74,98	33,45
4	40	77,29	47,78
5	60	80,25	52,65
6	120	86,18	77,91
7	180	93,09	87,65
8	240	110,22	98,73
9	300	117,79	93,85
10	360	124,05	118,66
11	420	125,36	117,78
12	480	132,94	119,10
13	540	130,30	121,32
14	1320	130,96	123,09

TABELA 27A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-38.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	33,37	12,38
2	10	35,35	17,52
3	40	37,98	21,95
4	60	40,95	25,67
5	90	40,95	27,44
6	150	49,51	38,07
7	210	50,50	38,42
8	270	50,33	45,69
9	330	47,37	44,45
10	390	48,69	45,16
11	420	50,34	46,05
12	450	51,98	46,93
13	510	50,50	44,10
14	1350	51,29	45,69

TABELA 28A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-39.

Amostra N.o	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	41,45	13,81
2	10	44,24	19,29
3	40	43,58	20,00
4	60	47,53	25,84
5	90	49,67	26,73
6	150	47,53	26,55
7	210	48,52	29,74
8	270	50,17	32,75
9	330	50,17	34,35
10	390	50,50	33,29
11	420	51,08	33,64
12	450	51,65	33,99
13	510	51,98	33,46
14	1350	53,13	37,72

TABELA 29A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-40.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	3,63	4,45
2	10	11,94	22,65
3	20	21,69	22,83
4	40	38,97	39,17
5	60	56,59	53,35
6	120	86,22	62,21
7	180	103,30	98,28
8	240	106,92	98,28
9	300	111,53	105,37
10	370	111,53	114,67
11	420	125,81	118,74
12	430	128,66	119,55
13	480	124,38	124,87
14	1345	136,89	138,60

TABELA 30A - Valores das Concentrações de ART ( $[S]_D$  e  $[S]_S$ ), Segundo o Tempo de Sacarificação e o Número da Amostra. SAC-41.

Amostra N.º	T (min)	$[S]_D$ g/l	$[S]_S$ g/l
1	0	53,95	16,55
2	10	58,40	20,36
3	20	66,96	22,58
4	40	67,74	24,77
5	60	78,10	38,95
6	120	92,44	77,46
7	180	103,63	91,64
8	240	111,86	99,17
9	300	118,45	111,57
10	370	120,42	115,56
11	420	126,74	122,21
11	430	128,00	123,53
12	480	122,40	124,86
13	1345	132,28	139,48

TABELA 31A - Valores das Concentrações de ART Inicial ( $S_{Si}$ ), à Sétima Hora ( $S_{S7}$ ), Final ( $S_{Sf}$ ), das Diferenças entre Elas ( $\Delta S_{S7}$  e  $\Delta S_{Sf}$ ), da Massa de ART Gerada nas Sacarificações até a Sétima Hora (M.S.S.sac), da Massa Total de ART Produzida até a Sétima Hora (M.S.S.7<sup>a</sup>) e da Massa Final de ART (M.S.S.f), nas Sacarificações Estudadas. SAC 13 a 41. Dados Obtidos pelo Somogyi-Nelson

SAC N.º	$S_S$			$\Delta S_S$		M.S.S		
	i	7. <sup>a</sup>	f	7. <sup>a</sup>	f	sac	7. <sup>a</sup>	f
	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g	g	g
13	0,41	66,08	96,08	65,67	95,67	37,55	37,79	54,94
14	0,28	53,13	72,62	52,25	72,34	30,47	30,63	41,87
15	0,30	62,17	71,29	61,87	70,99	20,56	35,84	41,10
16	0,42	63,32	66,64	62,70	66,02	20,12	30,42	32,02
17	0,12	24,33	38,95	24,21	38,83	13,96	14,03	22,46
18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
19	2,56	28,02	32,68	25,46	30,12	12,43	19,68	15,95
20	0,25	29,92	33,99	29,67	33,74	17,38	17,53	19,92
21	0,55	38,96	45,70	38,41	46,15	22,50	22,83	27,36
22	0,00	132,15	127,96	132,15	127,96	75,57	75,57	73,17
23	34,96	37,71	42,91	2,75	7,95	1,57	21,56	24,54
24	105,05	131,24	136,82	26,19	31,77	14,98	75,05	78,24
25	0,46	31,02	132,84	30,56	132,38	17,48	17,74	75,96
26	29,58	120,07	131,07	90,49	101,49	51,75	48,66	74,95
27	14,51	123,98	122,65	109,47	108,14	62,60	70,90	70,14
28	26,52	83,42	117,78	56,95	91,26	32,57	47,70	67,35
29	25,15	105,40	126,64	80,25	101,49	45,89	60,27	72,42
30	10,00	51,14	49,58	41,14	39,58	24,10	29,96	29,05
31	11,91	51,14	52,24	39,23	40,33	22,99	29,96	30,61
32	0,87	108,48	117,78	107,61	116,91	61,54	62,03	67,35
33	1,76	101,39	113,79	99,63	112,03	56,97	57,98	65,07
34	10,97	35,59	41,44	24,62	30,47	14,43	20,85	24,28
35	2,00	33,99	37,36	31,99	35,36	18,74	19,92	21,89
36	17,79	127,52	164,73	109,73	146,94	62,75	72,72	94,20
37	24,43	117,78	123,09	93,25	98,66	53,38	67,35	70,39
38	12,38	46,05	45,69	33,67	33,31	19,73	26,93	26,77
39	13,81	33,64	37,72	19,83	23,91	11,62	19,71	22,10
40	4,45	118,74	138,60	114,29	134,15	65,36	67,90	79,26
41	16,55	122,21	139,48	102,66	122,93	60,42	69,88	79,76



TABELA 32A - Valores das Constantes a, b, c, d e dos Coeficientes de Determinação nas Equações que Representam a Variação da Concentração de ART (pelo Somo-gyi-Nelson) em Função do Tempo, nas Sacarificações Estudadas

Sac. N.	a	$10^2 \cdot b$	$-10^5 \cdot c$	$10^9 \cdot d$	$r^2$ %
13	15,77	18,12	12,81	25,42	92,74
14	13,30	16,16	14,90	41,82	83,62
15	11,87	16,81	14,47	38,00	92,30
16	16,96	23,89	34,87	14,05	89,15
17	13,22	8,39	10,45	39,99	69,85
18	-x-	-x-	-x-	-x-	-x-
19	7,91	9,11	10,92	40,64	93,40
20	0,38	16,00	30,17	209,83	99,54
21	6,97	6,40	2,90	3,77	86,62
22	31,10	53,18	65,60	230,92	85,76
23	36,15	1,26	2,37	11,77	36,04
24	106,93	9,73	7,99	18,06	89,51
25	8,29	9,61	8,90	27,33	97,23
26	35,92	33,10	35,81	123,32	94,76
27	17,94	53,02	80,70	358,91	99,41
28	34,99	26,35	34,51	153,71	96,13
29	37,25	26,22	26,20	88,54	97,36
30	18,46	15,19	22,46	96,52	94,56
31	14,40	13,81	14,89	49,93	96,06
32	11,69	58,65	98,14	416,08	96,39
33	12,83	49,71	79,18	329,92	95,24
34	12,86	9,95	12,06	46,02	98,53
35	5,62	19,78	33,99	154,54	89,09
36	24,33	38,69	27,68	48,76	98,53
37	27,45	43,09	62,88	270,66	98,30
38	14,41	18,93	33,82	159,40	98,49
39	17,04	10,05	17,93	86,09	94,28
40	14,14	55,69	89,87	411,54	98,18
41	12,58	56,40	88,96	401,81	99,00

$[S]_s = a + bT - cT^2 + dT^3$  (modelo cúbico).

TABELA 33A - Valores dos Rendimentos (RsS, RgS); das Produti-  
vidades (PSAsS, PSAiS) e das Eficiências (ess,  
egs); Obtidos até a Sétima Hora nas Sacarifica-  
ções Estudadas SAC-13 a 41, com Resultados pelo  
Somogyi-Nelson

SAC	RsS gS/gAm	RgS gs/gAm	PSAsS gS/gAm.h	PSAiS gS/gAm.h	ess	egs
N.º	x 10 <sup>2</sup>	x 10 <sup>2</sup>	x 10 <sup>2</sup>	x 10 <sup>2</sup>	%	%
13	52,15	52,49	7,45	7,50	45,94	47,24
14	50,78	51,05	7,25	7,29	45,70	45,95
15	34,27	34,27	4,90	4,90	30,84	30,84
16	60,24	60,84	8,61	8,69	54,22	56,76
17	23,27	23,38	3,32	3,34	20,94	21,04
18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
19	41,43	45,60	5,92	6,51	37,29	41,04
20	48,28	48,69	6,90	6,96	43,45	43,82
21	62,50	63,42	9,93	9,06	56,25	57,08
22	104,96	104,96	14,99	14,99	94,46	94,46
23	2,18	29,94	0,31	4,28	1,96	26,95
24	20,81	104,24	2,97	2,97	18,73	93,82
25	24,27	24,64	3,47	3,52	21,84	22,18
26	71,99	95,36	10,29	13,62	64,69	85,82
27	86,94	98,47	12,42	14,07	78,25	89,62
28	45,24	66,25	6,46	9,46	40,72	59,63
29	63,74	83,71	9,11	11,96	57,37	75,34
30	66,94	83,22	9,56	11,89	60,25	74,90
31	63,86	83,22	9,12	11,89	57,47	74,90
32	85,47	86,15	12,21	12,31	76,92	77,54
33	79,13	80,53	11,30	11,50	71,22	72,48
34	40,08	57,92	5,73	8,27	36,07	52,13
35	52,06	55,33	7,44	7,90	46,85	49,80
36	87,15	101,28	12,45	14,47	78,44	91,15
37	74,14	93,54	10,59	13,36	66,73	84,19
38	54,81	74,94	7,83	10,71	49,33	67,45
39	32,20	54,75	4,61	7,82	29,05	49,28
40	90,78	94,31	12,97	13,47	81,70	84,88
41	83,92	97,06	11,99	13,87	75,53	87,35

N.D. não determinado.

TABELA 34A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação O2

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N.º	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,33	1,35	1,29	89,37	88,90	2,53	1,25	-	-	-
2	1	4,26	1,36	1,41	87,40	87,54	2,44	2,23	0,10	1,41	0,82
3	2	4,16	1,60	1,60	84,27	84,97	2,28	3,57	0,13	1,96	0,94
4	3	4,03	1,78	1,85	81,31	81,35	4,55	5,21	0,16	2,21	0,96
5	4	3,89	2,21	2,18	76,39	76,85	6,73	7,12	0,17	2,24	0,93
6	5	3,68	2,61	2,57	71,77	71,62	9,42	9,27	0,16	2,15	0,88
7	6	3,52	3,04	2,98	67,49	65,82	10,25	10,01	0,14	2,02	0,82
8	7	3,35	3,25	3,36	59,60	59,63	14,67	14,11	0,11	1,89	0,77
9	8	3,27	3,69	3,67	51,87	53,20	17,43	16,73	0,08	1,77	0,73
10	9	3,22	3,96	3,91	47,75	46,70	18,22	19,43	0,05	1,66	0,70
11	10	3,19	4,04	4,09	39,92	40,28	23,43	22,17	0,03	1,55	0,67
12	11	3,14	4,21	4,20	33,17	34,11	27,66	24,92	0,02	1,43	0,65
13	12	3,11	4,26	4,28	28,98	28,34	27,24	27,64	0,01	1,29	0,63
14	13	3,09	4,40	4,37	15,17	23,16	33,40	30,29	0,01	1,11	0,59

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 35A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 03

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,04	1,33	1,26	78,02	76,91	1,37	0,54	-	-	-
2	1	3,99	1,36	1,39	73,09	71,50	1,66	1,33	0,10	1,97	0,71
3	2	3,91	1,55	1,56	71,77	71,47	2,03	2,49	0,13	2,12	0,84
4	3	3,80	1,74	1,91	68,81	67,99	3,26	3,94	0,16	2,12	0,89
5	4	3,68	2,12	2,13	61,90	63,82	4,42	5,68	0,17	2,01	0,88
6	5	3,49	2,52	2,51	59,43	59,31	7,51	7,66	0,16	1,86	0,83
7	6	3,32	3,04	2,91	55,98	54,52	10,14	9,84	0,14	1,70	0,77
8	7	3,16	3,28	3,31	47,59	49,43	11,62	12,17	0,11	1,57	0,72
9	8	3,05	3,65	3,65	44,30	44,15	15,44	14,62	0,09	1,47	0,68
10	9	2,99	3,84	3,92	39,04	38,73	17,54	17,15	0,06	1,29	0,65
11	10	2,94	4,13	4,12	35,09	33,27	20,04	19,72	0,04	1,33	0,63
12	11	2,89	4,26	4,26	27,08	27,22	23,89	22,29	0,02	1,27	0,60
13	12	2,86	4,35	4,35	22,97	22,46	24,50	24,82	0,02	1,22	0,58
14	13	2,83	4,50	4,47	6,78	17,25	30,51	27,28	0,01	1,14	0,54

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 36A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação O4

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,02	1,32	1,24	73,58	72,51	1,39	1,72	-	-	-
2	1	3,94	1,33	1,39	68,81	70,73	1,66	1,37	0,12	1,58	0,01
3	2	3,86	1,57	1,59	68,15	68,14	1,93	1,73	0,14	1,86	0,44
4	3	3,76	1,78	1,85	65,34	67,06	2,22	2,72	0,15	1,96	0,69
5	4	3,61	2,16	2,16	60,58	60,89	3,69	4,26	0,16	1,96	0,82
6	5	3,51	2,54	2,50	55,81	56,42	6,92	6,24	0,15	1,88	0,87
7	6	3,39	2,98	2,86	52,69	51,50	9,03	8,57	0,13	1,79	0,87
8	7	3,26	3,16	3,21	42,82	46,23	10,37	11,17	0,11	1,69	0,84
9	8	3,20	3,47	3,53	42,13	40,70	13,60	13,94	0,08	1,60	0,80
10	9	3,14	3,76	3,79	36,13	34,99	16,46	16,79	0,06	1,52	0,75
11	10	3,10	4,08	4,00	31,94	29,21	19,27	19,63	0,04	1,45	0,70
12	11	3,03	4,13	4,17	21,55	23,44	24,35	22,37	0,03	1,38	0,64
13	12	3,00	4,26	4,28	16,33	17,78	30,36	24,91	0,02	1,30	0,56
14	13	2,97	4,50	4,47	2,82	12,31	32,20	27,17	0,01	1,19	0,47

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol (h<sup>-1</sup>), respectivamente.

TABELA 37A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 05

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,03	1,32	1,27	72,59	70,96	1,34	1,73	-	-	-
2	1	3,96	1,32	1,37	65,52	69,33	1,73	1,51	0,09	2,17	0,15
3	2	3,88	1,54	1,52	64,86	65,04	2,41	2,10	0,13	2,36	0,63
4	3	3,79	1,71	1,75	62,89	61,18	3,92	3,38	0,16	2,36	0,90
5	4	3,69	2,12	2,09	56,80	56,79	4,76	5,22	0,19	2,21	0,99
6	5	3,51	2,49	2,52	51,04	50,52	7,81	7,50	0,18	2,00	0,97
7	6	3,36	3,04	3,00	46,77	44,26	9,19	10,09	0,16	1,77	0,90
8	7	3,20	3,47	3,45	42,66	41,24	12,88	12,87	0,12	1,64	0,82
9	8	3,12	3,80	3,82	35,31	35,49	15,50	15,73	0,08	1,53	0,75
10	9	3,06	4,04	4,08	29,06	29,57	19,99	18,52	0,05	1,46	0,67
11	10	3,02	4,26	4,26	23,83	23,54	21,16	21,14	0,03	1,42	0,59
12	11	2,99	4,35	4,37	15,98	17,51	24,11	23,45	0,02	1,38	0,49
13	12	2,97	4,47	4,43	12,53	11,51	24,79	25,34	0,01	1,35	0,37
14	13	2,97	4,50	4,50	1,91	5,62	25,18	26,69	0,01	1,29	0,23

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 38A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 06

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,10	1,33	1,32	120,24	119,56	1,11	0,88	-	-	-
2	1	4,03	1,33	1,36	120,24	120,18	1,64	1,53	0,03	0,02	0,58
3	2	4,03	1,44	1,41	120,24	119,27	2,27	2,44	0,05	0,92	0,73
4	3	4,02	1,47	1,50	114,32	116,73	3,37	3,60	0,07	1,65	0,85
5	4	4,01	1,68	1,64	112,67	113,53	4,75	5,00	0,10	2,16	0,92
6	5	3,98	1,82	1,83	112,02	108,46	6,42	6,61	0,12	2,46	0,94
7	6	3,94	2,08	2,08	110,70	101,96	8,80	8,92	0,13	2,59	0,93
8	7	3,85	2,33	2,35	101,49	94,04	11,69	11,23	0,11	2,62	0,90
9	8	3,83	2,61	2,61	88,66	84,70	12,54	12,67	0,09	2,61	0,88
10	9	3,80	2,84	2,83	86,28	61,65	15,30	15,04	0,07	2,61	0,87
11	10	3,79	3,01	2,99	80,03	44,88	16,92	17,57	0,05	2,62	0,87
12	11	3,76	3,10	3,11	67,69	25,67	19,19	20,24	0,03	2,64	0,88
13	12	3,74	3,16	3,18	64,07	33,06	24,04	23,04	0,02	2,66	0,90
14	13	3,71	3,28	3,27	44,13	16,59	27,35	25,95	0,01	2,64	0,91

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 39A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 07

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,08	1,87	1,95	39,39	40,89	0,78	1,32	-	-	-
2	1	4,06	1,93	1,95	39,23	39,12	1,03	0,53	0,01	1,21	-0,07
3	2	4,05	2,00	2,00	38,08	36,21	1,52	0,96	0,03	1,69	0,47
4	3	4,03	2,16	2,11	32,27	32,41	2,35	2,32	0,09	1,93	0,83
5	4	3,96	2,47	2,35	29,18	27,96	4,23	4,34	0,13	2,00	0,96
6	5	3,91	2,82	2,86	25,30	23,08	6,44	6,74	0,22	1,76	0,87
7	6	3,75	3,44	3,59	16,74	18,01	8,21	9,23	0,21	1,41	0,68
8	7	3,66	4,45	4,28	12,09	12,99	11,17	11,54	0,13	1,15	0,50
9	8	3,53	4,65	4,71	3,34	8,25	14,79	13,39	0,07	0,96	0,32
10	9	3,50	4,99	4,91	2,45	4,02	15,50	14,49	0,03	0,79	0,13
11	10	3,50	4,99	4,99	2,26	0,55	13,11	14,57	0,01	0,61	-0,11
12	11	3,50	4,99	5,02	2,22	-1,75	13,65	13,35	0,00	0,33	-0,39
13	12	3,50	4,99	5,04	1,62	-3,22	15,30	10,55	0,00	0,12	-0,73

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.



TABELA 40A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação OB

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N.º	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,04	1,50	1,54	42,03	42,26	1,37	1,14	-	-	-
2	1	4,04	1,55	1,57	40,22	42,28	1,44	1,24	0,03	0,62	0,32
3	2	4,02	1,64	1,64	41,38	40,43	2,16	2,08	0,07	1,63	0,71
4	3	3,96	1,85	1,80	38,63	37,04	3,18	3,52	0,13	2,25	0,94
5	4	3,89	2,18	2,11	35,06	30,35	4,42	5,42	0,20	2,40	0,99
6	5	3,81	2,57	2,65	28,25	27,03	7,21	7,64	0,24	2,17	0,88
7	6	3,60	3,28	3,35	19,78	21,09	10,33	10,05	0,21	1,81	0,73
8	7	3,53	4,17	4,01	14,36	14,99	11,88	12,49	0,14	1,51	0,60
9	8	3,39	4,35	4,46	3,94	9,06	17,46	14,84	0,09	1,28	0,51
10	9	3,34	4,71	4,70	0,94	3,65	18,54	16,96	0,04	1,07	0,42
11	10	3,33	4,87	4,82	0,93	-0,89	17,54	18,70	0,02	0,83	0,31
12	11	3,33	4,87	4,87	0,76	-4,21	18,09	19,93	0,01	0,54	0,19
13	12	3,33	4,87	4,91	0,14	-6,04	17,38	20,51	0,00	0,19	0,04

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 41A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação O9

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,13	1,55	1,55	50,58	48,31	0,20	0,90	-	-	-
2	1	4,12	1,59	1,58	49,59	50,19	0,41	0,48	0,03	-0,34	0,04
3	2	4,10	1,64	1,65	45,52	49,54	2,10	0,98	0,06	1,08	0,55
4	3	4,08	1,78	1,77	46,00	46,76	2,98	2,24	0,10	2,08	0,90
5	4	4,07	2,04	1,99	42,54	42,29	4,37	4,12	0,14	2,60	1,07
6	5	4,03	2,27	2,34	38,12	36,53	5,89	6,46	0,18	2,67	1,07
7	6	3,94	2,71	2,82	32,20	29,90	8,87	9,09	0,18	2,45	0,97
8	7	3,90	3,62	3,36	27,86	22,82	9,74	11,87	0,16	2,14	0,84
9	8	3,78	3,76	3,83	11,88	15,71	14,77	14,65	0,11	1,82	0,71
10	9	3,67	4,04	4,19	6,03	8,99	18,04	17,27	0,07	1,53	0,60
11	10	3,59	4,40	4,41	1,16	3,07	20,92	19,58	0,04	1,22	0,48
12	11	3,59	4,65	4,54	0,94	-1,64	20,96	21,43	0,02	0,87	0,34
13	12	3,60	4,65	4,67	0,16	-4,70	20,92	22,65	0,01	0,45	0,19

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 42A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 10

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,09	1,74	1,79	52,06	53,31	1,43	0,62	-	-	-
2	1	4,08	1,76	1,80	49,59	50,87	1,57	1,65	0,01	1,58	0,62
3	2	4,05	1,82	1,83	49,22	47,68	2,05	2,84	0,02	1,93	0,69
4	3	4,05	1,96	1,90	45,88	43,87	3,23	4,16	0,06	2,15	0,72
5	4	4,02	2,18	2,08	42,66	39,59	5,09	5,55	0,13	2,15	0,68
6	5	3,98	2,43	2,47	35,82	34,98	6,92	6,97	0,21	1,91	0,58
7	6	3,91	2,93	3,06	28,25	30,17	9,94	8,38	0,21	1,59	0,45
8	7	3,90	3,76	3,59	23,00	25,32	10,26	9,73	0,12	1,34	0,36
9	8	3,83	3,88	3,90	16,06	20,56	11,42	10,97	0,05	1,20	0,30
10	9	3,83	4,04	4,03	13,80	16,03	12,34	12,06	0,02	1,09	0,25
11	10	3,83	4,04	4,07	13,37	11,87	12,46	12,95	0,01	0,96	0,19
12	11	3,82	4,04	4,09	14,10	8,22	12,42	13,60	0,00	0,82	0,13

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 43A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 11

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N.º	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,03	1,36	1,28	53,87	52,18	1,19	1,52	-	-	-
2	1	4,03	1,39	1,38	50,91	52,48	1,44	1,29	0,05	0,38	0,10
3	2	3,99	1,46	1,51	51,15	51,20	1,86	1,69	0,08	1,32	0,45
4	3	3,96	1,62	1,69	47,18	48,56	2,94	2,62	0,12	2,61	0,69
5	4	3,89	1,89	1,93	44,41	44,82	3,98	4,00	0,15	2,18	0,81
6	5	3,81	2,16	2,21	40,02	40,21	5,58	5,73	0,16	2,24	0,84
7	6	3,72	2,61	2,52	35,74	34,97	8,67	7,71	0,14	2,17	0,83
8	7	3,68	3,01	2,82	31,62	29,35	9,15	9,86	0,10	2,03	0,70
9	8	3,61	3,07	3,09	24,35	23,60	11,07	12,07	0,05	1,86	0,72
10	9	3,57	3,22	3,31	19,62	17,94	13,23	14,27	0,04	1,67	0,65
11	10	3,50	3,38	3,48	8,41	12,63	17,92	16,35	0,02	1,46	0,57
12	11	3,47	3,54	3,60	8,13	7,90	10,50	18,23	0,01	1,21	0,48

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 44A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 13

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,14	1,23	1,19	69,17	67,51	0,86	0,87	-	-	-
2	1	4,10	1,23	1,26	63,74	65,18	2,10	2,36	0,07	1,65	1,13
3	2	4,06	1,36	1,37	64,23	63,42	4,10	3,72	0,11	2,49	0,96
4	3	4,00	1,52	1,54	58,64	59,43	5,16	5,02	0,15	2,96	0,84
5	4	3,94	1,76	1,78	52,88	51,27	6,21	6,32	0,16	3,09	0,74
6	5	3,83	2,16	2,11	50,42	48,48	7,44	7,69	0,18	2,97	0,68
7	6	3,76	2,52	2,52	42,73	41,90	9,30	9,21	0,17	2,73	0,64
8	7	3,63	2,95	2,95	35,32	34,82	10,80	10,95	0,15	2,46	0,63
9	8	3,53	3,34	3,36	28,25	27,44	13,46	12,97	0,11	2,22	0,65
10	9	3,46	3,69	3,71	18,96	19,94	15,00	15,35	0,08	2,17	0,69
11	10	3,39	4,00	3,96	11,55	12,51	17,28	18,16	0,05	1,86	0,77
12	11	3,34	4,13	4,14	3,96	5,24	23,00	21,46	0,04	1,69	0,86
13	12	3,35	4,26	4,26	0,11	-1,40	24,70	25,34	0,02	1,52	0,98

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 45A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 14

Am.	T	pH	[X]o	[X]e	[S]o	[S]e	[P]o	[P]e	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N.º	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,16	1,23	1,21	54,03	50,81	0,93	1,46	-	-	-
2	1	4,10	1,23	1,27	47,78	49,02	1,36	2,19	0,06	1,94	0,65
3	2	4,06	1,36	1,37	41,20	45,96	4,10	3,11	0,09	2,66	0,76
4	3	3,99	1,55	1,53	40,37	41,72	5,69	4,27	0,14	2,98	0,82
5	4	3,94	1,80	1,79	36,10	36,93	6,87	5,64	0,18	2,93	0,83
6	5	3,91	2,21	2,16	34,29	31,45	7,37	7,23	0,20	2,63	0,79
7	6	3,71	2,59	2,63	29,16	25,64	8,44	9,04	0,19	2,24	0,73
8	7	3,61	3,10	3,13	22,16	19,55	7,10	11,09	0,15	1,87	0,69
9	8	3,48	3,58	3,57	15,26	14,02	10,30	13,36	0,11	1,56	0,67
10	9	3,40	3,91	3,91	4,61	8,69	19,62	15,86	0,07	1,29	0,67
11	10	3,35	4,21	4,13	0,12	4,00	21,39	18,59	0,04	1,04	0,69
12	11	3,33	4,26	4,27	0,10	0,19	22,27	21,56	0,02	0,77	0,72
13	12	3,35	4,30	4,35	0,09	-2,51	22,69	24,76	0,01	0,47	0,76

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]e = Concentração celular estimada (g/l); [S]o = Concentração de substrato observada (g); [S]e = concentração de substrato estimada (g); [P]o = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 46A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 15

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,08	1,20	1,16	62,26	61,64	0,96	1,73	-	-	-
2	1	4,02	1,23	1,24	59,30	59,25	1,64	1,76	0,07	2,26	0,34
3	2	3,97	1,36	1,37	54,36	56,06	4,03	2,54	0,12	2,24	0,81
4	3	3,91	1,54	1,57	53,05	52,15	4,71	3,95	0,15	2,69	1,07
5	4	3,83	1,83	1,86	49,77	47,61	6,39	5,88	0,18	2,60	1,16
6	5	3,66	2,27	2,23	39,57	42,52	6,80	8,21	0,18	2,40	1,12
7	6	3,52	2,66	2,66	38,37	37,96	9,26	10,82	0,17	2,17	1,02
8	7	3,43	3,16	3,11	33,10	31,02	13,57	13,61	0,14	1,96	0,91
9	8	3,32	3,51	3,52	26,05	24,77	16,54	16,46	0,11	1,81	1,13
10	9	3,24	3,80	3,85	18,22	18,30	19,54	19,26	0,07	1,70	0,71
11	10	3,18	4,08	4,09	8,45	11,69	23,35	21,83	0,05	1,63	0,61
12	11	3,14	4,26	4,26	3,83	5,02	24,47	24,23	0,02	1,57	0,51
13	12	3,14	4,40	4,37	0,23	-1,62	25,27	26,18	0,02	1,51	0,39

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 47A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 16

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,06	1,16	1,14	49,76	49,48	1,18	1,55	-	-	-
2	1	4,04	1,16	1,18	46,62	47,66	1,68	1,66	0,04	1,49	0,26
3	2	4,02	1,23	1,23	46,80	45,92	2,91	2,14	0,05	1,42	0,54
4	3	4,02	1,29	1,31	44,33	44,11	2,96	2,95	0,07	1,44	0,73
5	4	3,94	1,41	1,41	40,71	42,10	4,30	4,04	0,08	1,53	0,85
6	5	3,94	1,57	1,54	41,37	39,74	4,96	5,34	0,09	1,67	0,90
7	6	3,92	1,74	1,71	37,87	36,90	6,12	6,80	0,10	1,83	0,89
8	7	3,92	1,89	1,89	33,19	33,45	7,72	8,36	0,09	2,02	0,85
9	8	3,89	2,02	2,08	26,61	29,23	10,45	9,98	0,09	2,24	0,79
10	9	3,87	2,22	2,25	23,64	24,12	13,07	11,59	0,07	2,49	0,71
11	10	3,84	2,47	2,40	18,71	17,96	11,38	13,13	0,06	2,79	0,62
12	11	3,80	2,57	2,53	13,43	10,63	16,00	14,56	0,05	3,15	0,54
13	12	3,77	2,57	2,62	0,22	1,98	15,19	15,82	0,04	3,57	0,44

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.



TABELA 48A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 17

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,12	1,21	1,20	31,71	30,86	1,03	1,09	-	-	-
2	1	4,09	1,23	1,24	26,36	27,80	1,96	2,19	0,05	2,72	0,99
3	2	4,05	1,35	1,33	23,48	24,17	3,96	3,52	0,09	2,90	1,02
4	3	4,00	1,47	1,50	20,85	20,16	5,26	5,03	0,15	2,93	1,04
5	4	3,92	1,78	1,79	16,68	15,98	6,05	6,63	0,20	2,34	0,90
6	5	3,88	2,25	2,19	13,59	11,04	7,99	8,24	0,16	1,25	0,73
7	6	3,75	2,59	2,62	8,20	7,95	8,10	9,78	0,15	1,41	0,57
8	7	3,73	2,93	2,96	1,94	4,51	11,16	11,84	0,10	1,06	0,44
9	8	3,68	3,22	3,19	0,36	1,73	13,65	12,37	0,05	0,75	0,33
10	9	3,68	3,31	3,31	0,35	-0,18	14,07	13,26	0,03	0,43	0,22
11	10	3,69	3,38	3,37	0,41	-1,03	13,53	13,77	0,01	0,07	0,09
12	11	3,70	3,38	3,40	0,27	-0,59	12,19	13,84	0,01	-0,34	-0,05
13	12	3,70	3,41	3,41	0,33	1,32	14,23	13,38	0,00	-0,80	-0,22

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol (h<sup>-1</sup>), respectivamente.

TABELA 49A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 18

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	4,13	1,23	1,23	29,90	30,44	1,73	1,52	-	-	-
2	1	4,10	1,26	1,27	28,00	27,70	2,52	2,91	0,05	2,48	1,23
3	2	4,08	1,39	1,38	23,64	24,21	5,54	4,61	0,11	2,75	1,31
4	3	4,03	1,60	1,60	22,08	22,48	5,53	6,47	0,18	2,62	1,21
5	4	3,93	1,96	1,98	15,77	15,94	7,80	8,44	0,24	2,18	0,98
6	5	3,83	2,54	2,51	12,81	11,65	10,30	10,35	0,22	1,63	0,74
7	6	3,75	2,98	3,02	6,48	7,58	12,94	12,10	0,15	1,28	0,54
8	7	3,66	3,44	3,38	1,41	4,01	14,27	13,58	0,08	0,97	0,39
9	8	3,65	3,54	3,57	0,44	1,15	14,73	14,67	0,04	0,68	0,24
10	9	3,63	3,65	3,67	0,37	-0,73	15,11	15,26	0,02	0,36	0,08
11	10	3,66	3,69	3,71	0,41	-1,40	14,77	15,23	0,01	-0,01	-0,10
12	11	3,65	3,73	3,72	0,36	-0,61	13,61	14,46	0,00	-0,43	-0,31
13	12	3,62	3,76	3,73	0,40	1,90	13,61	12,85	0,00	-0,92	-0,56

Am. = Amostras; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 50A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 19

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,88	1,46	1,47	50,74	48,89	0,78	1,51	-	-	-
2	1	3,84	1,49	1,50	49,92	50,77	0,95	0,60	0,03	-0,30	-0,14
3	2	3,84	1,57	1,57	47,62	49,95	1,93	1,01	0,06	1,28	0,63
4	3	3,77	1,71	1,69	46,30	46,91	2,98	2,49	0,10	2,36	1,15
5	4	3,71	1,91	1,90	41,37	42,13	4,82	4,80	0,15	2,78	1,39
6	5	3,57	2,25	2,25	37,09	36,09	7,05	7,71	0,19	2,89	1,39
7	6	3,56	2,71	2,73	32,12	29,27	10,02	10,98	0,19	2,59	1,23
8	7	3,43	3,25	3,25	23,40	22,15	13,42	14,36	0,16	2,19	1,04
9	8	3,32	3,69	3,70	16,24	15,21	18,00	17,62	0,11	1,81	0,84
10	9	3,27	4,04	4,02	6,21	8,92	21,77	20,52	0,06	1,44	0,66
11	10	3,24	4,17	4,21	1,74	3,78	23,54	22,81	0,03	1,05	0,46
12	11	3,24	4,35	4,31	0,10	0,24	24,04	24,27	0,02	0,59	0,22
13	12	3,21	4,45	4,37	0,10	-1,20	23,70	24,63	0,01	0,05	-0,06
14	13	3,21	4,30	4,40	0,10	-0,06	24,00	23,69	0,00	0,59	-0,33

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 51A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 20

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,91	1,49	1,51	36,23	36,32	0,71	1,24	-	-	-
2	1	3,88	1,49	1,52	36,56	36,46	0,86	0,53	0,01	0,58	-0,11
3	2	3,88	1,50	1,53	34,34	34,70	1,41	0,85	0,02	1,69	0,51
4	3	3,86	1,57	1,57	32,33	31,42	2,35	2,02	0,04	2,49	0,97
5	4	3,79	1,69	1,66	24,96	27,02	4,07	3,84	0,07	2,91	1,26
6	5	3,78	1,91	1,84	22,10	21,90	5,50	6,12	0,13	2,92	1,33
7	6	3,78	2,16	2,16	19,06	16,43	7,69	8,66	0,19	2,55	1,24
8	7	3,77	2,54	2,61	14,33	11,03	10,45	11,27	0,18	2,01	0,99
9	8	3,71	3,04	3,07	0,09	6,07	14,19	13,75	0,13	1,50	0,77
10	9	3,65	3,47	3,39	0,08	1,96	18,00	15,92	0,07	1,05	0,57
11	10	3,65	3,65	3,58	0,09	-0,92	17,08	17,57	0,04	0,60	0,37
12	11	3,65	3,65	3,66	0,09	-2,17	18,46	18,51	0,02	0,08	0,14
13	12	3,65	3,69	3,70	0,08	-1,40	17,58	18,55	0,01	-0,52	-0,13
14	13	3,65	3,65	3,72	0,08	1,79	17,96	17,49	0,00	-1,22	-0,45

Am. = Anostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol (h<sup>-1</sup>), respectivamente.

TABELA 52A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 21

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,92	1,43	1,47	41,20	39,24	0,73	1,59	-	-	-
2	1	3,89	1,46	1,47	39,56	41,44	1,05	0,66	0,01	-0,53	-0,20
3	2	3,89	1,49	1,49	39,23	40,55	2,05	0,92	0,02	1,11	0,52
4	3	3,86	1,54	1,53	38,24	38,29	2,55	2,14	0,04	2,35	1,06
5	4	3,83	1,62	1,61	33,80	33,94	4,25	4,09	0,07	3,12	1,39
6	5	3,81	1,83	1,73	29,03	28,10	6,17	6,54	0,13	3,36	1,43
7	6	3,81	2,10	2,08	25,13	22,18	7,87	9,27	0,18	3,03	1,34
8	7	3,81	2,47	2,52	18,87	15,77	10,26	12,04	0,19	2,51	1,08
9	8	3,76	2,95	2,99	6,82	9,67	15,77	14,63	0,14	1,93	0,81
10	9	3,72	3,38	3,35	0,13	4,37	18,58	16,80	0,08	1,41	0,57
11	10	3,72	3,65	3,56	0,09	0,33	17,85	18,34	0,04	0,89	0,32
12	11	3,72	3,69	3,67	0,09	-1,81	20,39	19,01	0,02	0,31	0,04
13	12	3,72	3,73	3,72	0,08	-1,69	16,54	18,58	0,01	-0,39	-0,28
14	13	3,72	3,76	3,74	0,08	1,22	17,38	16,83	0,00	-1,20	-0,67

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 53A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 22

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,95	1,47	1,41	53,05	52,31	0,86	1,01	-	-	-
2	1	3,92	1,47	1,44	53,21	53,51	0,93	0,85	0,03	-0,24	0,12
3	2	3,90	1,47	1,50	53,54	53,08	1,59	1,32	0,04	0,79	0,52
4	3	3,87	1,54	1,58	48,61	51,21	2,32	2,36	0,07	1,59	0,82
5	4	3,81	1,61	1,71	49,59	48,11	3,02	3,90	0,09	2,14	1,03
6	5	3,78	1,85	1,88	43,51	43,96	5,67	5,85	0,11	2,45	1,14
7	6	3,75	2,16	2,10	38,12	33,97	8,21	8,15	0,11	2,55	1,17
8	7	3,71	2,44	2,34	32,77	33,32	10,53	10,71	0,10	2,32	1,15
9	8	3,64	2,57	2,56	28,91	27,22	13,92	13,48	0,09	2,45	1,11
10	9	3,60	2,64	2,73	24,39	20,33	16,58	16,36	0,06	2,35	1,07
11	10	3,59	2,76	2,86	17,66	14,42	18,11	19,29	0,02	2,24	1,03
12	11	3,56	2,95	2,94	0,30	6,12	22,81	22,20	0,02	2,10	0,97
13	12	3,53	3,04	2,99	0,13	2,15	25,47	25,00	0,01	1,92	0,91
14	13	3,46	3,07	3,03	0,16	-3,31	27,28	27,63	0,01	1,70	0,83

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.

TABELA 54A - Valores dos Parâmetros Observados e Estimados na Fermentação 23

Am.	T	pH	[X] <sub>o</sub>	[X] <sub>e</sub>	[S] <sub>o</sub>	[S] <sub>e</sub>	[P] <sub>o</sub>	[P] <sub>e</sub>	$\mu_x$	$\mu_s$	$\mu_p$
N. <sup>o</sup>	h		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	1/h	1/h	1/h
1	0	3,82	1,46	1,44	65,88	64,05	0,70	1,38	-	-	-
2	1	3,79	1,47	1,49	64,07	65,41	0,89	0,66	0,04	0,23	-0,15
3	2	3,74	1,57	1,57	61,27	63,29	1,78	0,90	0,07	1,27	0,43
4	3	3,67	1,72	1,71	59,79	60,60	2,48	1,97	0,10	1,97	0,84
5	4	3,58	1,91	1,93	56,17	56,62	3,50	3,74	0,14	2,35	1,07
6	5	3,47	2,22	2,26	50,91	51,56	6,03	6,08	0,16	2,46	1,14
7	6	3,39	2,69	2,66	45,77	45,62	7,51	8,85	0,17	2,37	1,11
8	7	3,26	3,16	3,11	40,92	39,98	12,49	11,93	0,14	2,22	1,03
9	8	3,17	3,51	3,52	34,17	31,85	14,57	15,20	0,11	2,08	0,94
10	9	3,11	3,80	3,94	27,10	24,43	18,35	18,51	0,07	1,96	0,86
11	10	3,07	4,04	4,06	19,10	16,91	22,31	21,74	0,04	1,85	0,78
12	11	3,05	4,21	4,20	0,36	9,49	25,20	24,76	0,03	1,74	0,68
13	12	3,02	4,28	4,28	0,27	2,36	28,08	27,44	0,02	1,61	0,58
14	13	3,01	4,35	4,33	0,22	-4,23	28,85	29,64	0,01	1,46	0,45

Am. = Amostra; T = Tempo (h); [X] = Concentração celular observada (g/l); [X]<sub>e</sub> = Concentração celular estimada (g/l); [S]<sub>o</sub> = Concentração de substrato observada (g); [S]<sub>e</sub> = concentração de substrato estimada (g); [P]<sub>o</sub> = concentração de etanol observada (g/l);  $\mu_x$ ,  $\mu_s$  e  $\mu_p$  = velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de etanol ( $h^{-1}$ ), respectivamente.