

Produção de álcool a partir de cultivares de batata nas seleções especial e refugio
Alcohol production from potato cultivars in special and refuge selections
Producción de alcohol a partir de cultivares de patata en selecciones especiales y de refugio

Recebido: 23/10/2019 | Revisado: 25/10/2019 | Aceito: 05/11/2019 | Publicado: 07/11/2019

Taís Adeil Muller

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6175-3952>

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

E-mail: tais_adeil@hotmail.com

Juliano Tadeu Vilela de Resende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5226-7813>

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

E-mail: jvresende@uel.br

Wilma Aparecida Spinosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9532-0135>

Universidade Estadual de Londrina, Brasil

E-mail: wilma.spinosa@uel.br

Edson Perez Guerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0082-4267>

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

E-mail: epguerra@unicentro.br

Leonel Vinicius Constantino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6254-8328>

Universidade Estadual de Londrina, Brasil

E-mail: leonel@uel.br

Resumo

Um terço de todo alimento produzido é desperdiçado no mundo em forma de refugio, somente no ano de 2018 foram mais de 129 milhões de toneladas de batata desperdiçadas. Uma forma de evitar tal desperdício é reaproveita-los na geração de etanol. O objetivo deste trabalho foi produzir etanol das cultivares Divina Ágata e Orquestra nas seleções especial e refugio. Para isso, foi realizado um estudo exploratório, experimental de natureza quali-quantitativa, onde a

batata foi processada na forma de farinha, realizado delineamento fatorial 2x2 com variação na concentração de leveduras e no tempo de fermentação, hidrólise enzimática com as enzimas α -amilase e amiloglucosidase e fermentação nas condições de temperatura ideais para cada levedura. O mosto foi destilado, detectada a presença do álcool, o teor alcoólico e a identificação qualitativa do álcool. O álcool encontrado foi o etanol com o maior teor alcoólico nas amostras fermentadas pela levedura *S. pastorianus*, na concentração de 6 g L⁻¹ e tempo de 3 dias de fermentação com rendimento de 5,69% álcool (v/v). Por meio do resultado obtido, sugere-se que a utilização das batatas refugadas, pode ser uma alternativa viável para a produção de etanol e, utilizando a levedura *S. pastorianus*, o rendimento alcoólico é mais rentável, o que diminui o desperdício das batatas não comercializadas.

Palavras-chave: Álcool; Amiloglucosidase; Fermentação; *Solanum tuberosum*; α -amilase.

Abstract

One third of all food produced is wasted in the world in the form of refuse, in 2018 alone more than 129 million tons of potatoes were wasted. One way to avoid such waste is to reuse them in ethanol generation. The objective of this work was to produce ethanol from the cultivars Divina Ágata and Orchestra in the special and refuse selections. For this, an exploratory, quali-quantitative experimental study was carried out, where the potato was processed in the form of flour, a 2x2 factorial design with variation in yeast concentration and fermentation time, enzymatic hydrolysis with α -amylase and amyloglucosidase enzymes and fermentation at the ideal temperature conditions for each yeast. The must was distilled, the presence of alcohol, the alcohol content and the qualitative identification of the alcohol detected. The alcohol found was the ethanol with the highest alcohol content in the samples fermented by yeast *S. pastorianus*, at a concentration of 6 g L⁻¹ and time of 3 days of fermentation with yield of 5.69% alcohol (v/v). From the obtained result, it is suggested that the use of refuse potatoes may be a viable alternative for the production of ethanol and, using *S. pastorianus* yeast, the alcoholic yield is more profitable, which reduces the waste of unmarketed potatoes.

Keywords: Alcohol; Amyloglucosidase; Fermentation; *Solanum tuberosum*; α -amylase.

Resumén

Un tercio de todos los alimentos producidos se desperdicia en el mundo en forma de basura, solo en 2018 se desperdiciaron más de 129 millones de toneladas de papas. Una forma de evitar tales desperdicios es reutilizarlos en la generación de etanol. El objetivo de este trabajo

fue producir etanol a partir de los cultivares Divina Ágata y Orchestra en las selecciones especiales y de rechazo. Para esto, se realizó un estudio experimental exploratório cuali-cuanti, donde la papa se procesó en forma de harina, un diseño factorial 2x2 con variación en la concentración de levadura y el tiempo de fermentación, hidrólisis enzimática con enzimas α -amilasa y amiloglucosidasa y fermentación a las condiciones de temperatura ideales para cada levadura. El mosto fue destilado, la presencia de alcohol, el contenido de alcohol y la identificación cualitativa del alcohol detectado. El alcohol encontrado fue el etanol con el mayor contenido de alcohol en las muestras fermentadas por levadura *S. pastorianus*, a una concentración de 6 g L⁻¹ y tiempo de 3 días de fermentación con rendimiento de 5,69% de alcohol (v/v). A partir del resultado obtenido, se sugiere que el uso de papas desguazadas puede ser una alternativa viable para la producción de etanol y, al usar levadura *S. pastorianus*, el rendimiento alcohólico es más rentable, lo que reduce el desperdicio de papas no comercializadas.

Palabras clave: Alcohol; Amiloglucosidasa; Fermentación; *Solanum tuberosum*; α -amilasa.

1. Introdução

A incerteza da disponibilidade de recursos fósseis no futuro, aliando-se as tensões geopolíticas nas regiões produtoras de petróleo, a crescente demanda por combustíveis e a constante preocupação com o meio ambiente e sustentabilidade provocaram uma crescente demanda global por biocombustível como uma estratégia para reduzir as emissões de gases de efeito estufa (Fernandes et al., 2014).

Conforme Suarez et al. (2007), uma forma de prevenir essa suposta escassez de petróleo é a substituição de seus derivados por matérias-primas tidas como renováveis, para a produção de combustíveis, como exemplo, o álcool, que pode ser produzido a partir de diferentes biomassas. Nesse sentido, a utilização da biomassa nesses processos pode abranger um papel de destaque, uma vez que ela é de natureza renovável, e apresenta ampla disponibilidade, biodegradabilidade e baixo custo.

As matérias-primas utilizadas na produção de etanol estão divididas em: sacaríneas, amiláceas, celulósicas. Entre os produtos chamados sacarídeos, citam-se: cana-de-açúcar, sorgo sacarino (colmo), beterraba, sucos de frutas, em geral, entre outros. Com relação aos amiláceos, mencionam-se a mandioca, a batata-doce, os cereais de um modo geral, o sorgo (grãos), a batata e o babaçu (mesocarpo), dentro da categoria das matérias-primas celulósicas, destaca-se: eucalipto, marmeleiro, serragem, bagaço de cana, pericarpo de babaçu, casca de

arroz, entre outros (Macedo, 1993). Além disso, pode-se produzir etanol de terceira geração a partir de algas.

Destaca-se a cana-de-açúcar que, apesar de ter o rendimento alcoólico em $L t^{-1}$ menor que as demais (cana-de-açúcar $90 L t^{-1}$, milho $460 L t^{-1}$ e a beterraba-açucareira $110 L t^{-1}$), ganha em produtividade, produzindo mais de 60 a $120 t ha^{-1}$ enquanto o milho produz em torno de 15 a $20 t ha^{-1}$ e a beterraba-açucareira $46 t ha^{-1}$. Entretanto, existem muitos trabalhos com outros vegetais com potencial alcoólico sendo divulgados nos últimos anos, como exemplos: etanol de mandioca, batata-doce, uva, arroz, entre outras culturas.

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (2017), um terço de todos os alimentos que são produzidos no mundo são perdidos ou desperdiçados, isso representa 1,3 bilhão de toneladas por ano. A tabela 1 apresenta a quantidade de batata desperdiçada no mundo em 2018.

Tabela 1 - Total de produção e desperdício de todas as cultivares de batatas produzidas

	Mundo	Brasil	Paraná
Produção	388 milhões toneladas	3,68 milhões toneladas	803 mil toneladas
Desperdício	129 milhões toneladas	1,22 milhões toneladas	267 mil toneladas

Fonte: FAO (2017), IBGE (2018).

Esses números são relativamente altos, e muitas vezes descartados de forma inadequada, gerando danos ao meio ambiente. A Comissão de Meio Ambiente e Desenvolvimento (projeto de lei 3408/2015) proíbe o descarte em áreas públicas ou privadas, o enterramento dos tubérculos causa doenças no solo, prejudicando os próximos cultivos, e a sua incineração causa poluição, além de ambos também serem crimes ambientais. Por essa razão, buscou-se pesquisar técnicas para reaproveitar os tubérculos rejeitados para serem comercializados ou que apresentam algum tipo de doença.

Diante de tais informações, o objetivo desta pesquisa foi a produção de álcool combustível a partir de batata, pois exige menos beneficiamentos do que grãos e não entra na competição entre combustíveis versus alimentos como o milho, trigo, beterraba e a cana-de-açúcar, pois podem ser utilizadas no processo batatas danificadas, impróprias para consumo (Khan et al., 2012).

2. Metodologia

O trabalho trata de um estudo exploratório, experimental de natureza quali-quantitativa. Esse estudo indica que, os dados são gerados por meio de análises e a pesquisa é conduzida por um agente ativo, ou seja, que define o objeto de estudo, seleção de variáveis, as formas de controle e observa os resultados produzidos (Gil, 2002).

Para a interpretação dos resultados os métodos qualitativos e quantitativos, não se excluem e podem ser importantes se complementando e permitindo um melhor entendimento dos fenômenos em estudo” (Yin, 2015).

As cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) utilizadas foram Divina Ágata e Divina Orquestra nas seleções especial e refugo, de cultivo comercial da safra 2017, do município de Guarapuava, PR. Os tubérculos de batatas foram conduzidos ao laboratório de olericultura da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, onde foram preparados e processados para determinação das propriedades físico-químicas como: sólidos solúveis, massa seca, teor de água, açúcares redutores, amido e quanto ao rendimento de álcool.

Os tubérculos foram identificados, selecionados, lavados, pesados e fracionados em fatias. A análise do teor de sólidos solúveis, foi realizada em refratômetro digital marca Hanna Instruments HI 96801. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em estufa de secagem com circulação forçada de ar, cuja secagem foi realizada à 65 °C por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram pesadas novamente para se obter o teor de massa seca e teor de água. Por fim as amostras foram trituradas em moinho de facas tipo Wiley, transformadas em farinha de batata e peneiradas na granulometria de 35 mesh.

Para açúcares redutores e amido realizou-se o método de Somogyi, de 1945 que foi modificada por Nelson, em 1950.

A hidrólise do amido de batata foi realizada pelo método proposto por Menezes et al, (2014). Em vidraria erlenmeyer de 125 mL, acrescentou-se uma proporção em base seca de 0,1502 g/g (polpa/água). Na primeira etapa, o pH foi ajustado para faixa ótima da enzima α -amilase, entre 6,0 e 6,5 e mantida em banho-maria a 90 °C por 1h para a completa gelatinização da farinha de batata. Após esse período, a enzima α -amilase foi adicionada na proporção de 7,5 mL Kg⁻¹ de massa seca e mantida sob essa temperatura por 2 h. Em seguida, na segunda etapa, o pH foi ajustado para condições ótimas da enzima amiloglicosidase, entre 4,0 e 4,5 e resfriado para 60 °C, adicionou-se a enzima na proporção de 6,5 mL Kg⁻¹ de massa seca que foi mantida por mais 11,04 horas sem agitação, totalizando 14 horas de hidrólise. Ao final do processo, o hidrolisado foi filtrado manualmente em tecido organza. Porém em produção para escala industrial pode-se centrifugar as amostras para

otimizar o processo.

No processo fermentativo o mosto foi autoclavado durante 15 minutos, à temperatura de 121 °C e 1 atm, para eliminação de microrganismos, após duas leveduras comerciais deram início ao processo fermentativo *Saccharomyces cerevisiae*, da marca Nottingham® Danstar e *Saccharomyces pastorianus*, da marca Diamond. Cada ensaio foi realizado em duplicata, exceto os ensaios dos pontos centrais, os quais foram realizados em triplicata. Duas variáveis foram utilizadas no processo fermentativo para cada levedura, a primeira foi a concentração das leveduras, onde se utilizou a concentração indicada pelo fabricante, o dobro e o triplo dessa concentração; (2, 4 e 6 g L⁻¹) para *S. pastorianus* à temperatura ideal para essa levedura de 25 °C e (5, 10 e 15 g L⁻¹) para *S. cerevisiae*, à temperatura ideal para essa levedura de 32 °C. Em ambos os tratamentos foram realizadas fermentação estática em B.O.D., a segunda variável foi o tempo (3, 5 e 7 dias) para ambas as leveduras.

Foi utilizado o delineamento experimental fatorial 2x2 com três pontos centrais. Na Tabela 2 pode-se visualizar o planejamento fatorial completo com os valores de níveis codificados e reais, concentração e tempo (dias), utilizados nos diferentes níveis para *S. cerevisiae* e *S. pastorianus*.

Tabela 2 - Planejamento fatorial completo 2x2 com três pontos centrais para as leveduras *S. pastorianus* e *S. cerevisiae*

Ensaio	Variáveis		
	Concentração <i>S. p</i>	Concentração <i>S. c</i>	Tempo
1	+1 (6)	+1 (15)	+1 (7)
2	+1 (6)	+1 (15)	-1 (3)
3	-1 (2)	-1 (5)	+1 (7)
4	-1 (2)	-1 (5)	-1 (3)
5 (C)	0 (5)	0 (10)	0 (5)
6 (C)	0 (5)	0 (10)	0 (5)
7 (C)	0 (5)	0 (10)	0 (5)

Fonte: Muller, T. A. (2018)

*A concentração da levedura *S. pastorianus* e *S. cerevisiae* está em g L⁻¹

O planejamento fatorial é utilizado para reduzir o número de ensaios realizados, diminuindo assim, os custos por utilizar menos reagentes e equipamentos e tempo de execução da pesquisa.

O processo de destilação foi realizado de acordo com o método proposto por Lopes (2013), com temperatura aproximada de 75 °C em sistema de micro destilador de álcool. E para identificar a presença de álcool nas amostras, foram realizadas medidas de espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF), com pastilhas de 100 mg de brometo de potássio, KBr 100% e 2 gotas de amostra, em um espectrofotômetro de feixe duplo na faixa espectral de 4000cm⁻¹ a 400cm⁻¹, disponível no grupo de pesquisas em eletroquímica (GPEL) da Universidade Estadual do Centro-Oeste.

Para as análises de densidade foi utilizado um picnômetro Eraspec, calibrado conforme a especificação do fabricante seguindo as normas de determinação da Agência Nacional de Petróleo – ANP. As análises foram realizadas pela Central de Análises de Combustíveis – Novatec Unicentro.

A determinação do teor alcoólico das amostras foi realizada por meio da norma NBR 13920 (ABNT, 1997). Onde, construiu-se uma curva padrão de absorbância, em função de concentrações previamente conhecidas de etanol e a leitura realizada em espectrofotômetro UV-Vis, em cubetas de quartzo de 1 cm³, em comprimento de onda de 600 nm, os resultados foram apresentados em miligrama (mg) de álcool.

As amostras foram enviadas para o Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR em Curitiba – Paraná, para as análises qualitativas de cor, aspecto e determinação do álcool presente contido nas amostras destiladas.

Os resultados, obtidos no presente estudo, foram obtidos em duplicata ou triplicata e submetidos a Análise de Variância (ANOVA), por meio do programa SISVAR, reportados na forma de média e desvio padrão. As médias foram submetidas ao teste de Tukey (p<0,05). Para os gráficos de superfície e resposta e diagramas de Pareto utilizou-se o software STATISTICA 7.0 (STATSOFT SOUTH AMERICA, Michigan, USA).

3. Resultados e discussão

O maior teor de sólidos solúveis foi encontrado na cultivar Divina Orquestra nas duas seleções com 4,40 °Brix seguida da seleção especial Divina Ágata com 4,20 °Brix e o menor teor de sólidos solúveis foi encontrado na seleção refugio do cultivar Divina Ágata com 3,93 °Brix. Fernandes et al. (2010) apresentaram valor de 4,32 °Brix para Divina Ágata, valor superior ao descrito nesse trabalho. O teor de sólidos solúveis está relacionado,

principalmente, aos açúcares (glicose) presentes no tubérculo de batata, sendo os principais componentes fermentescíveis obtidos com a hidrólise do amido.

Por meio da secagem em estufa da matéria-prima, obteve-se o teor de massa seca e teor de água da batata. Os resultados foram maiores na cultivar Divina Orquestra nas seleções especial e refugo, com 13,80 e 13,88% respectivamente e menores na cultivar Divina Ágata nas duas seleções sem diferença estatística. Fernandes et al. (2010) obteve teor de massa seca para Divina Ágata de 14,10%. A composição da massa seca pode variar de acordo com a cultivar, condições de cultivo e grau de maturidade dos tubérculos (PASTORINI et al., 2003). No entanto, considerando a finalidade para obtenção de álcool, infere-se que maiores valores, proporcionarão maiores rendimentos de álcool após o processamento.

Foram obtidas algumas diferenças significativas entre as cultivares para açúcares e amido nas seleções especial e refugo. O teor de açúcares redutores variou entre 0,221 a 0,336%. Evangelista et al. (2011) encontraram 0,47% de açúcar redutor para Divina Ágata isso representa o dobro do que foi encontrado no trabalho. O teor de amido observado nas cultivares analisadas variou de 12,89 a 17,81%. Braun et al. (2010), ao avaliar teor de amido da cultivar Ágata, encontrou 11,31%, valor menor ao obtido no presente trabalho. Essas diferenças nos resultados provavelmente são decorrentes das práticas culturais realizadas na condução da cultura, como adubação potássica, que altera os teores de sólidos solúveis, açúcares redutores e amido nos tubérculos (Quadros et al., 2009), ou fatores como cultivar, época do ano para o plantio e temperatura de armazenamento (Kumar et al., 2004). Os resultados físico-químicos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Médias de parâmetros físico-químicos; sólidos solúveis em batata *in natura*, percentual de massa seca, de água, produtividade de farinha de batata em kg t⁻¹ batata *in natura*, açúcar redutor e amido na farinha das cultivares de batata. 2018

Cultivar	SS	MS (%)	TA (%)	AR	AM
Especial Ágata	4,20 ^b	11,70 ^b	88,30 ^a	0,221 ^c	17,81 ^a
Refugo Ágata	3,93 ^c	11,61 ^b	88,39 ^a	0,290 ^b	17,32 ^a
Especial Orquestra	4,40 ^a	13,80 ^a	86,20 ^b	0,336 ^a	15,34 ^{ab}
Refugo Orquestra	4,40 ^a	13,88 ^a	86,12 ^b	0,304 ^b	12,89 ^b
Média	4,23	2,74	87,25	0,287	15,84
CV Total (%)	0,22	1,08	0,24	2,13	6,96

Fonte: Muller, T. A. (2018)

SS=sólidos solúveis (°Brix); MS=massa seca (%); TA=teor de água (%); AR=açúcar redutor (%); AM=amido (%). Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Dessa forma, os resultados para essas características nos cultivares estão dentro do padrão comparados aos resultados de outros autores.

O álcool descrito nesse trabalho se trata do álcool bruto, que possui graduação alcoólica de 50-94% de álcool, produzido a partir da extração do álcool contido no mosto fermentado. E a realização da hidrólise enzimática com as leveduras α -amilase e amiloglicosidase contribuíram para o aumento do teor alcoólico pois aumentaram os níveis de açúcares redutores contidos na amostra.

O teor alcoólico obtido por absorvância em espectrofotômetro mostrou diferenças nos resultados das amostras fermentadas com as duas leveduras. A levedura mais conhecida em produção alcoólica é a *S. cerevisiae*, porém, este trabalho mostra que a eficiência da levedura *S. pastorianus* foi maior nos sete tratamentos realizados pelo delineamento fatorial. O maior resultado encontrado foi na cultivar Divina Ágata na seleção refugo com 5,69% de álcool, apresentado na Tabelas 4.

Tabela 4 - Delineamento fatorial para estudo da formação de álcool obtido por hidrólise enzimática de batata para *Saccharomyces pastorianus*.

Níveis Cod		Níveis Reais						
Lev. g	Tempo (dias)	Lev. g	Tempo (dias)	E. A.	R. A.	E. O.	R. O.	
1	+1	+ 1	6,00	7,00	5,24 ^a	5,30 ^a	4,97 ^a	5,30 ^a
2	+1	- 1	6,00	3,00	5,17 ^{ab}	5,69 ^a	5,17 ^a	4,98 ^{ab}
3	- 1	+ 1	2,00	7,00	1,68 ^d	3,04 ^b	2,87 ^a	2,74 ^c
4	- 1	- 1	2,00	3,00	2,66 ^{cd}	2,54 ^b	2,81 ^a	2,44 ^c
5	0	0	4,00	5,00	3,44 ^c	3,33 ^b	3,81 ^a	3,42 ^{bc}
6	0	0	4,00	5,00	3,53 ^{bc}	3,31 ^b	3,87 ^a	4,00 ^{abc}
7	0	0	4,00	5,00	3,25 ^{cd}	3,31 ^b	3,31 ^a	3,82 ^{abc}
MÉDIA				3,57	3,79	3,83	3,81	
CV %				11,71	8,86	19,73	10,93	

Fonte: Muller, T. A. (2018)

Nota: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão (n=2). Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p < 0,05$). Faixa estudada: Concentração de levedura: 0,6 a 0,2; tempo: 3 a 7 dias; teor alcoólico expresso em % de álcool. E. A. = Especial Ágata. R. A. = Refugio Ágata. E. O. = Especial Orquestra. R. O. = Refugio Orquestra.

Em análises laboratoriais a *S. pastorianus* apresentou melhor teor alcoólico com menor tempo de fermentação e menor concentração de levedura que a *S. cerevisiae*. Segundo Chi & Ameborg (2000) isso pode ter ocorrido pois, as leveduras *Saccharomyces* adaptam-se de formas diferentes quanto a produção de etanol, sendo estas adaptações relacionadas as mudanças na frequência de indução de mutantes e no conteúdo lipídico da célula. Outro fator positivo na utilização desta levedura está ligada ao gênero *Saccharomyces*, por possuir alta tolerância a concentração de etanol durante o processo fermentativo (Pina, et al., 2004).

Para *S. cerevisiae* o melhor resultado encontra-se na Divina Orquestra na seleção especial com 4,90% de álcool (Tabela 5). Porém sem diferença estatística comparada ao mesmo tratamento. Ou seja, não importa a variedade e nem a classificação das batatas, todas produzem etanol. Isso possibilita uma usina de álcool de batata receber matéria prima diversificada, ocasionando possivelmente um aumento na quantidade de batatas a serem utilizadas e conseqüentemente aumentaria o rendimento.

Tabela 5 - Delineamento fatorial para estudo da formação de álcool obtido por hidrólise enzimática de batata para *Saccharomyces cerevisiae*.

Níveis Cód	Níveis Reais							
	Lev. g	Tempo (dias)	Lev. g	Tempo (dias)	E. A.	R. A.	E. O.	R. O.
1	+1	+1	15,00	7,00	4,53 ^a	4,46 ^a	4,90 ^a	4,46 ^{ab}
2	+1	-1	15,00	3,00	4,47 ^a	4,53 ^a	4,45 ^{ab}	4,59 ^a
3	-1	+1	5,00	7,00	2,71 ^c	2,95 ^{bc}	2,01 ^e	2,22 ^{bc}
4	-1	-1	5,00	3,00	2,73 ^c	2,59 ^c	2,44 ^{de}	2,04 ^c
5	0	0	10,00	5,00	3,24 ^{bc}	3,17 ^{bc}	3,27 ^{cd}	3,46 ^{abc}
6	0	0	10,00	5,00	3,75 ^{ab}	3,42 ^{bc}	3,79 ^{bc}	3,96 ^{abc}
7	0	0	10,00	5,00	3,48 ^{bc}	3,57 ^{ab}	3,80 ^{bc}	3,62 ^{abc}

Média	3,56	3,53	3,52	3,48
CV %	6,01	6,88	7,77	16,64

Fonte: Muller, T. A. (2018)

Nota: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão (n=2). Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p < 0,05$). Faixa estudada: Concentração de levedura: 0,6 a 0,2; tempo: 3 a 7 dias; teor alcoólico expresso em % de álcool. E. A. = Especial Ágata. R. A. = Refugio Ágata. E. O. = Especial Orquestra. R. O. = Refugio Orquestra.

Os tratamentos um (1) e dois (2) foram os mais produtivos estatisticamente para ambas as leveduras. Os resultados estão próximos ao encontrado por Tasíc et al. (2009), utilizando ácido clorídrico para hidrolisar amido de batata, quando obtiveram concentração de etanol de 4,2 % (v/v). Menezes, (2015) realizou hidrólise enzimática e obteve 4,35% (v/v) de álcool a partir da cultivar Divina Ágata.

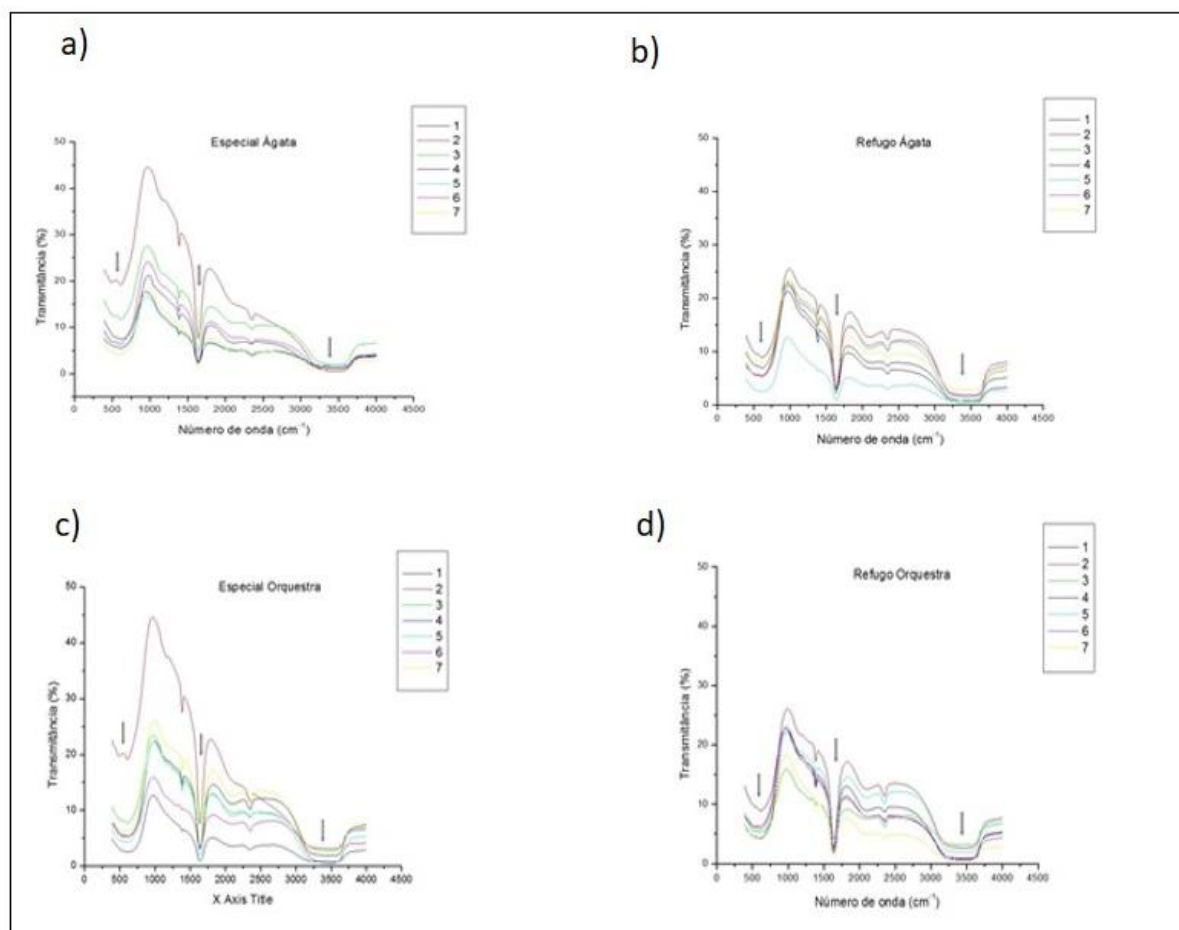
Para detectar a presença do álcool nas amostras foi realizada a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), e com base nos dados de espectroscopia foi possível reconhecer os sinais dos números de onda, ou seja, aos números de ciclos em cm, referentes aos distintos grupos funcionais de compostos alcoólicos. Houve variância na linha de transmitância, mas o comportamento das linhas de ondas foram similares em todas cultivares e para ambos os tratamentos. As bandas que caracterizam os álcoois estão na faixa de absorção entre 3200 – 3700 cm^{-1} oriunda do movimento de estiramento da ligação O-H em ligação hidrogênio intermolecular. Os álcoois também estão representados na ligação C-O entre 1000 e 1280 cm^{-1} .

As bandas observadas foram entre (3590-3217 cm^{-1}) referente ao estiramento da ligação O-H, o aumento da concentração do álcool faz com que o sinal na região de 3200-3700 cm^{-1} apresente-se como uma banda larga e intensa (Silverstein; Webster & Kiemle, 2007). Na faixa de absorção entre (1630-1580 cm^{-1}) ocorre as ligações R₂C=O em carbonilas. E em valores abaixo de 600 cm^{-1} , que identificam uma grupamento O-H livre.

O KBr utilizado na produção das pastilhas é higroscópico, sendo de fácil absorção de umidade e que possa reagir com água atmosférica ou com CO₂ durante o preparo da pastilha, ocasionando uma banda de 3300 cm^{-1} que se trata do estiramento de OH de água presente em KBr. Essa banda está ligada a banda em 1640 cm^{-1} ocorrendo uma deformação angular de OH. (Barbosa, 2007).

A Figura 1 apresenta as duas cultivares nas duas seleções com o número de ondas para os sete tratamentos realizados utilizando a levedura *S. cerevisiae*.

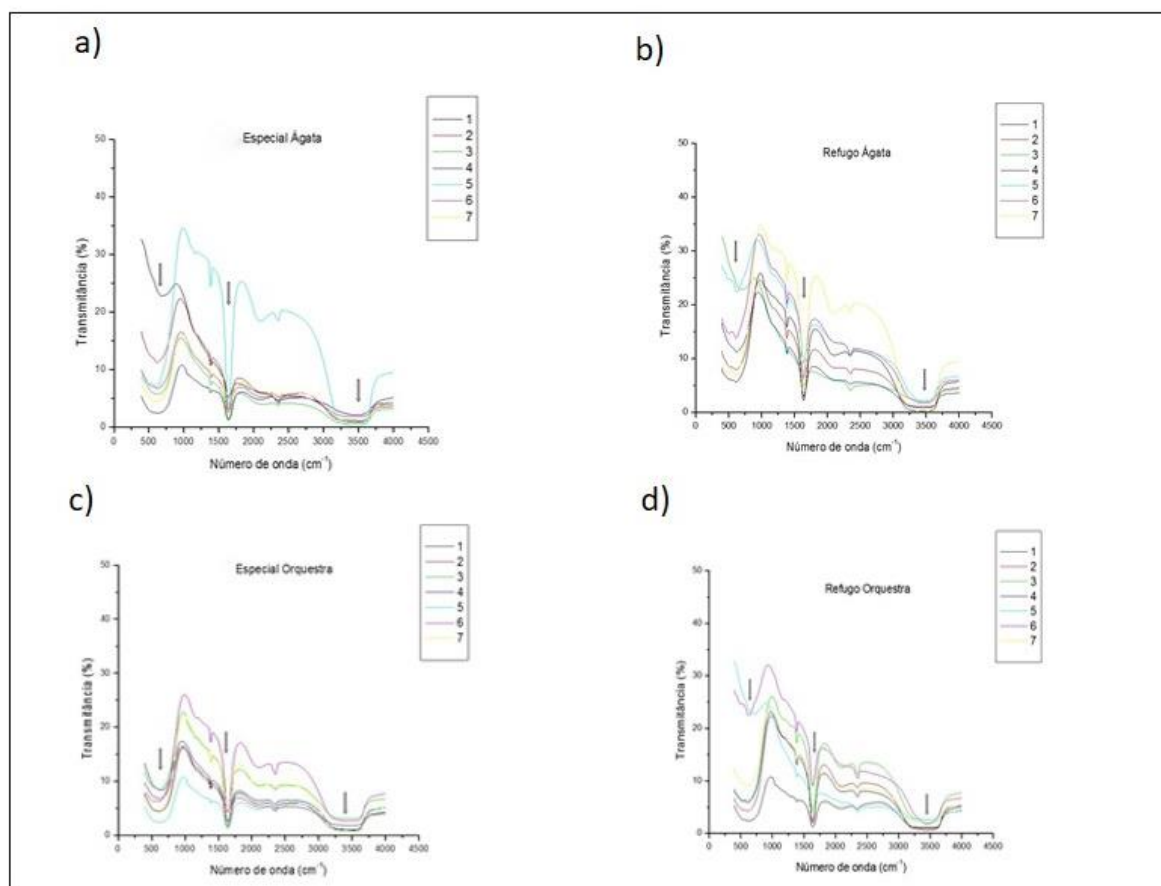
Figura 1 - Espectro de infravermelho de álcool de farinha de batata para cultivar Divina Ágata e Divina Orquestra na seleção especial e refugio fermentadas com a levedura *S. cerevisiae*



Fonte: Muller, T. A. (2018)

A Figura 2 apresenta as duas cultivares nas duas seleções para os sete tratamentos utilizando a levedura *S. pastorianus*.

Figura 2 - Espectro de infravermelho de álcool de farinha de batata Divina Ágata e Divina Orquestra na seleção especial e refugio fermentadas com a levedura *S. pastorianus*



Fonte: Muller, T. A. (2018)

Ambas as figuras mostram as principais bandas de absorção, podemos observar que todas evidenciaram álcool.

Os valores de densidade foram próximos para ambos os processos fermentativos. Para as amostras fermentadas com a levedura *S. pastorianus*, o valor médio foi de 0,9695 e para as amostras fermentadas com a levedura *S. cerevisiae*, a média foi de 0,9846 a 20 °C. Arruda, (2006) encontrou valor de 0,9999 para clones de batatas. Na literatura, o valor de densidade de álcool etílico a 20 °C é de 0,7893 e a densidade da água é de 0,997.

Durante o processo fermentativo a densidade da amostra diminui de acordo com as fases de fermentação, a medida com que os açúcares são consumidos a densidade tende a diminuir e se esse valor apresentar irregularidades indica problemas de fermentação. Uma vez que, o valor elevado correspondente a densidade indica um elevado teor de açúcares nas amostras.

Nas análises qualitativas para o álcool foram identificadas: cor incolor e aspecto límpido e isento de impurezas, conforme exigências da Agência Nacional de Petróleo (ANP)

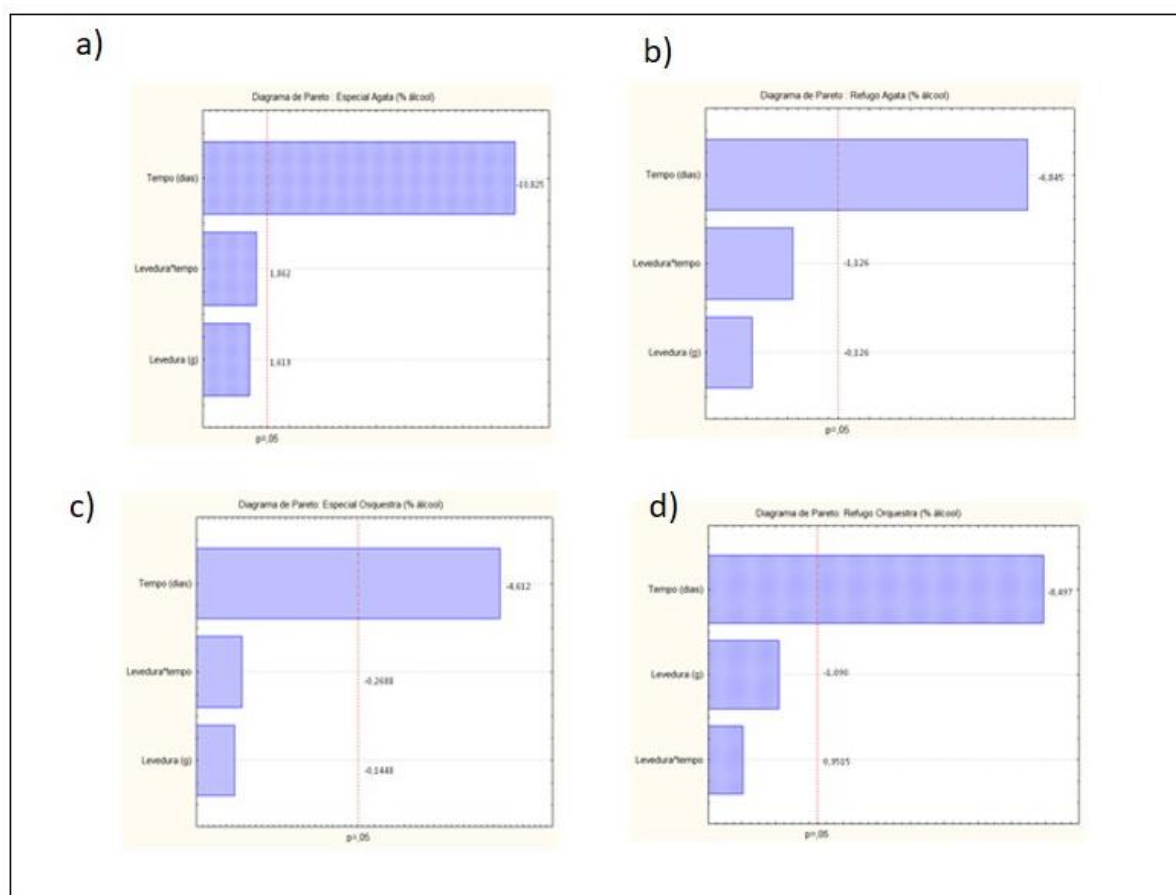
e detectada apenas a presença de etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ou $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), em todas as amostras destiladas de batata. Bringhenti & Cabello (2005) também observaram a ausência de álcoois superiores, metanol (CH_3OH), glicerol e ácidos orgânicos em análises realizadas no álcool de resíduo amiláceo.

Sendo desse modo, para estas características o produto na sua forma pura (álcool anidro) apto para a comercialização de álcool combustível pela (ANP), e podendo ser misturado à gasolina e no diesel. Ou ainda, utilizado como matéria-prima pelas indústrias para produção de tintas, solventes, aerossóis, cosméticos, aromatizantes, produtos de limpeza, remédios, vacinas e na culinária utilizado em bebidas e alimentos.

A Correlação de Pearson foi aplicada aos resultados obtidos na determinação do teor alcoólico, e verificou-se uma correlação que variou de 0,70 a 0,93, ou seja, uma correlação positiva forte tempo/levedura entre os valores dos teores alcoólicos obtidos (Tabelas 4 e 5), apresentando regressão significativa em nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$).

Para as amostras fermentadas com a levedura *S. pastorianus* apenas o tempo se mostrou significativo. Contudo, para as amostras fermentadas com a levedura *S. cerevisiae* a concentração de levedura foi significativa. Nos Diagramas de Pareto (Figura 3), obtidos por meio da fermentação com a levedura *S. pastorianus* observa-se que o coeficiente linear do tempo teve um efeito negativo, porém foi significativo ($p < 0,05$) para produção de álcool em todos os tratamentos.

Figura 3 - Diagramas de Pareto dos efeitos em função de tempo e concentração de levedura para teor alcoólico a partir da farinha de batata Divina Ágata e Divina Orquestra nas seleções especial e refugo fermentada com a levedura *S. pastorianus*.

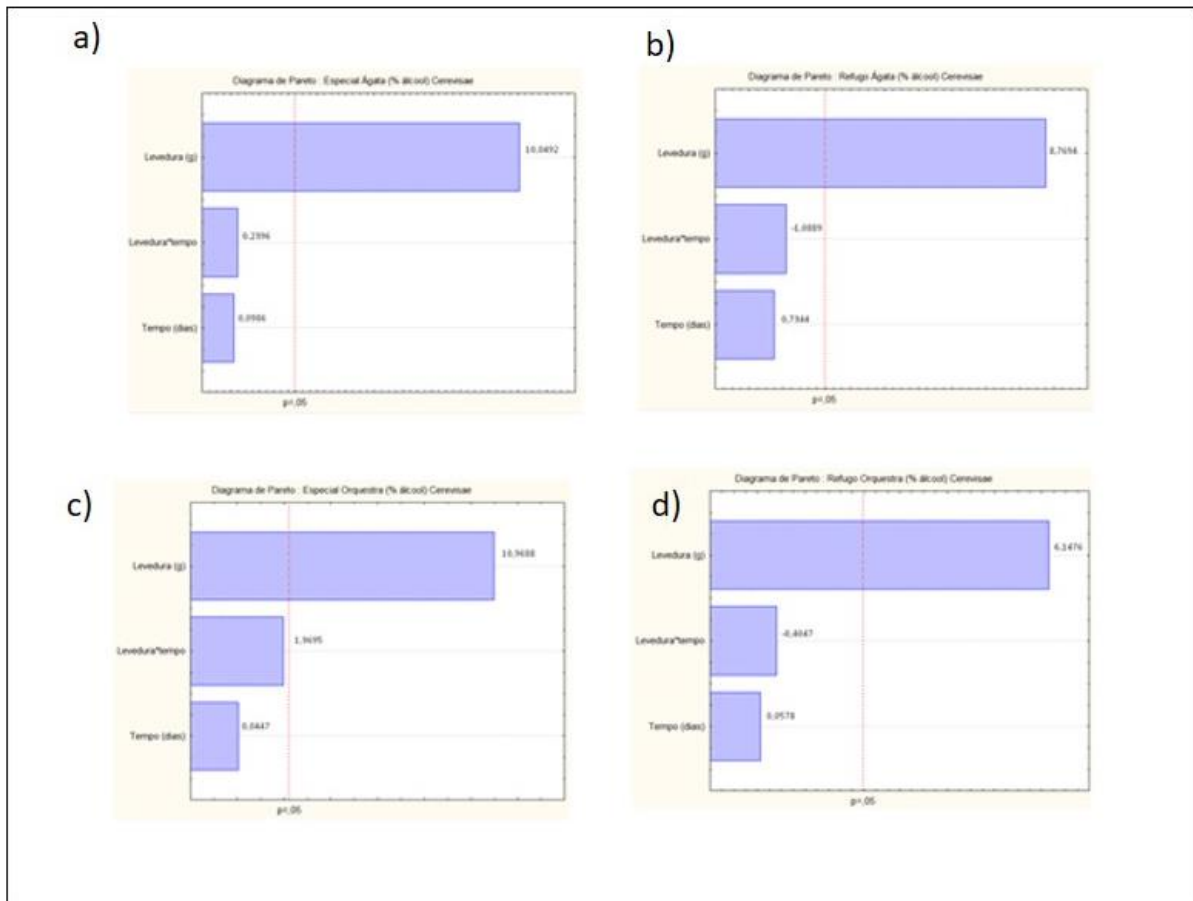


Fonte: Muller, T. A. (2018)

Assim, deixar a amostra fermentar por mais tempo possivelmente não terá uma maior produção alcoólica, pois já ultrapassou o limite de produção da levedura. Nos Diagramas de Pareto para o teor alcoólico produzido pela *S. pastorianus* a concentração de levedura teve uma interação negativa e não foi significativa ($p < 0,05$). Já a interação de tempo/levedura foi positiva, porém não significativa para esse trabalho.

Nos Diagramas de Pareto (Figura 4), obtidos mediante fermentação com a levedura *S. cerevisiae* observou-se que o coeficiente linear do tempo não foi significativo ($p < 0,05$) com efeito positivo, para Divina Ágata e Divina Orquestra nas duas seleções para produção de álcool em todos os tratamentos.

Figura 4 - Diagramas de Pareto dos efeitos em função de tempo e concentração de levedura para teor alcoólico a partir da farinha de batata Divina Ágata e Divina Orquestra na seleção especial e refúgio fermentada com a levedura *S. cerevisiae*.



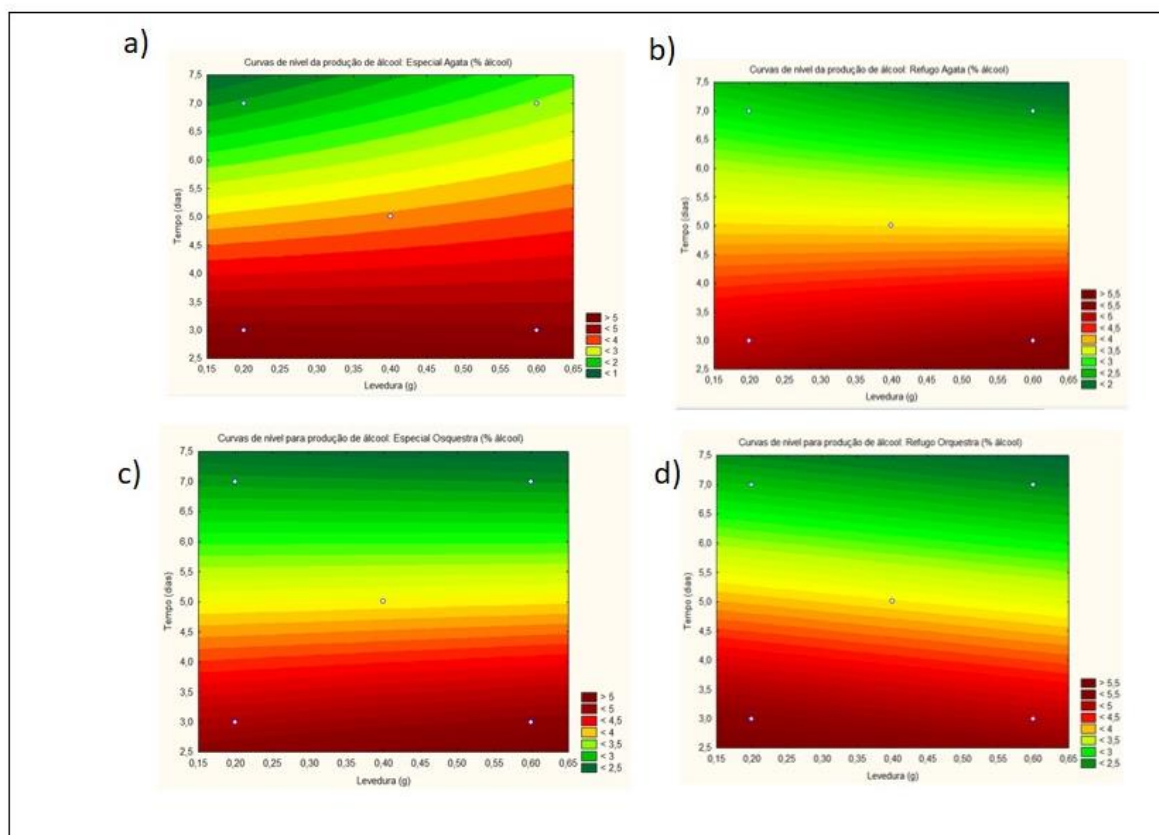
Fonte: Muller, T. A. (2018)

A concentração de levedura teve um efeito significativa e positiva, isso significa que, aumentar a concentração de levedura no processo fermentativo poderá influenciar na produção de álcool. Já a interação de tempo/levedura foi negativa para Divina Ágata (refúgio), Divina Orquestra (refúgio), positiva para Divina Ágata (especial), Divina Orquestra (refúgio), porém não significativa para esse trabalho.

Nas Figuras 5 e 6 pode-se observar que os melhores teores alcoólicos para efeitos da proporção tempo e concentração de levedura sobre a fermentação alcoólica para *S. cerevisiae* e *S. pastorianus* são representados pelas regiões de cores vermelhas. As leveduras apresentaram comportamentos opostos durante o processo de fermentação.

Para as amostras fermentadas com a levedura *S. pastorianus* o tempo foi significativo e a concentração de leveduras não foi significativa, como mostra a Figura 5.

Figura 5 - Curvas de nível da produção de álcool em função de tempo e concentração de levedura para teor alcoólico a partir da farinha de batata Divina Ágata e Divina Orquestra na seleção fermentadas com a levedura *S. pastorianus*

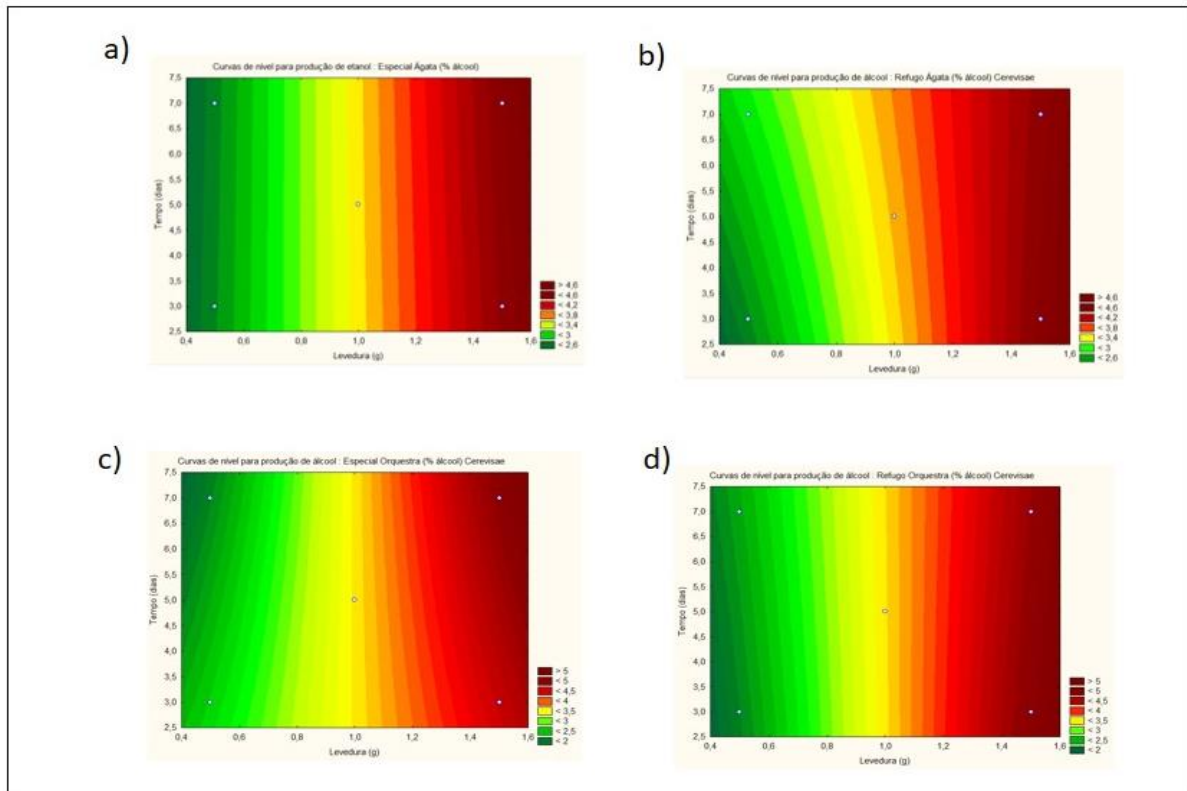


Fonte: Muller, T. A. (2018)

Todas as amostras obtiveram melhor resultado com o menor tempo, independente da concentração de levedura. As amostras com a maior eficiência do processo de fermentação está apresentada na região de menor tempo (eixo Y) em ambos os processos fermentativos.

Já para as amostras fermentadas com a levedura *S. cerevisiae* o tempo não foi significativo e sim a concentração de leveduras, sendo o aumento na concentração de levedura o que influenciou na produção de álcool, independentemente do tempo utilizado para fermentação, identificadas na Figura 6.

Figura 6 - Curvas de nível da produção em função de tempo e concentração de levedura para teor alcoólico a partir da farinha de batata Divina Ágata nas seleções especial e refúgio; e Divina Orquestra nas seleções especial e refúgio fermentada com a levedura *S. cerevisiae*



Fonte: Muller, T. A. (2018)

As amostras com maior eficiência do processo de fermentação está na região de maior concentração de levedura em todos os processos fermentativos. Sendo a variação do tempo (eixo Y) não significativa para a fermentação.

Esses resultados demonstram grande expectativa de produção de álcool a partir de refugos dessas cultivares e do aproveitamento do excedente da produção. Por isso, sugere-se que a utilização das batatas refugadas e o excedente de produção podem ser uma alternativa viável para a produção.

4. Considerações finais

A seleção especial e refugo dos tubérculos de batata não está relacionada ao rendimento de álcool. Por isso, sugere-se que a utilização das batatas refugadas e o excedente de produção podem ser uma alternativa viável para a produção de álcool, diminuindo o desperdício das batatas não comercializadas, estimulando, dessa forma, o reaproveitamento e a minimização do impacto ambiental contribuindo com a qualidade de vida da comunidade e geração de novos empregos.

Referências

Associação Nacional de Normas Técnicas (1997). *NBR 13920*. ABNT.

Arruda, E.R.A. (2006). *Aproveitamento da batata (Solanum tuberosum) para a produção de álcool*. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Barbosa, L.C.A. (2007). *Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos*. Viçosa: UFV.

Braun, H., Fontes, P.C.R., Finger, F.L., Busato, C. & Cecon, P.R. (2010). Carboidratos e Matéria Seca de Cultivares de Batata Influenciada por doses de Nitrogênio. *Ciências Agrotécnicas*, 34(2):285-293.

Bringhenti, L. & Cabello, C. (2005). Qualidade do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. *Energia e Agricultura*, 20(4):36-42.

Chi, Z. & Ameborg, N. (2000). *Saccharomyces cerevisiae* strains with different degrees of ethanol tolerance exhibit different adaptive responses to produced ethanol. *Journal of industrial Microbiology & Biotechnology*, 24:75-78.

Comissão de Meio Ambiente e Desenvolvimento (Projeto de Lei 3408/2015). Disponível em: <https://www.camara.leg.br/propostas-legislativas/2024818>. Acesso em 19 de setembro de 2019.

Evangelista, R.M., Nardin, I., Fernandes, A.M. & Soratto, R.P. (2011). Qualidade nutricional e esverdeamento pós-colheita de tubérculos de cultivares de batata. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(8):953-960.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT – Statistics Database (2017). Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 26 de setembro de 2019.

Fernandes, A.M., Soratto, R.P., Evangelista, R.M. & Nardin, I. (2010). Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno. *Horticultura Brasileira*, 28(3):299-304.

Fernandes, G., Braga, T.G., Fischer, J., Parrela, R.A.C., Resende, M.M. & Cardoso, V.L. (2014). Evaluation of potential ethanol production and nutrients for four varieties of sweet sorghum during maturation. *Renew Energy*, v. 71, n. 1, p. 518-524.

Gil, A.C. *Métodos e técnicas de pesquisa social*. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2006.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasil / Paraná (2018). Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/pesquisa/14/10193>. Acesso em: 26 de setembro de 2019.

Khan, R.A., Nawaz, A., Ahmed, M., Khan, M.R., Azam, F.D., Ullah, S., Sadullah, F., Ahmad, A., Shah, M.S. & Khan, N. (2012). Production of bioethanol through enzymatic hydrolysis of potato. *African Journal of Biotechnology*, 11(25):6739-6743.

Kumar, D., Singh, B.P. & Kumar, P. (2004). An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Annals of Applied Biology*, 145(3):247-256.

Lopes, A.C. (2013). *Produção de álcool de batata-doce em função do meio fermentativo*. Dissertação de mestrado em Bioenergia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO. 83 p.

Macedo, L.C.H. *Etanol etílico: da cachaça ao cereal*. São Paulo: Ícone, 1993

Menezes, A.G.T., Menezes, E.G.T. & Alves, J.G.L.F. (2015). Otimização do processo de hidrólise do amido de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar ágata, utilizando enzimas amilolíticas. In: *Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ 2014 [Blucher Chemical Engineering Proceedings, 1(2):1341-1348*.

Nelson, N. (1944). A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 153:375-380.

Pastorini, L.H., Bacarin, M.A., Trevizol, F.C., Bervaldo, C.M.P. & Fernandes, H.S. (2003). Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 21(4):660-665.

PETROBRAS. (2018). Etanol. Disponível em: <http://www.br.com.br/pc/produtos-e-servicos/para-seu-veiculo/etanol>. Acesso em: 26 de maio de 2019.

Pina, C., Santos, C., Couto, J.A. & Hogg, T. (2004). Ethanol tolerance of five non-*Saccharomyces* wine yeasts in comparison with a strain of *Saccharomyces cerevisiae*-influence of different culture conditions. *Food Microbiol*, 21(4):439-447.

Quadros, D.A., Jung, M.C., Ferreira, S.M.R. & Freitas, R.J.S. (2009). Composição química de tubérculos de batata para processamento, cultivados sob diferentes doses e fontes de potássio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29:316-323.

Silverstein, R.M., Webster, F.X. & Kiemle, D.J. (2007). *Espectrometria de ressonância magnética de hidrogênio*. p. 123-197. In: Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: 7.ed., LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A.

Somogy, M.A. (1952). Um novo reagente para determinação de açúcar. *J. Biol. Chem.* p. 61-68.

Suárez, B.V., Pando, R.B., González, A.G. & Querol, A.S. (2007). A molecular genetic study of natural strains of *Saccharomyces* isolated from Asturian cider fermentations. *Journal of Applied Microbiology*, v.103, p. 778-786.

Tasić, M.B., Konstantinovic, B.V., Lazic, M.L. & Veljkovic, V.B. (2009). The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, 43(15): 208-211.

Yin, R.K. (2015). *O Estudo de caso*. Porto Alegre: Bookman.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Taís Adeil Muller – 38,00 %

Juliano Tadeu Vilela de Resende – 35,00 %

Wilma Aparecida Spinosa – 15,00 %

Edson Perez Guerra – 6,00 %

Leonel Vinicius Constantino – 6,00 %