

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**USO DO RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA
(CRUEIRA) NA PRODUÇÃO DE ÁLCOOL FINO.**

VITOR JOSÉ MIRANDA DAS NEVES

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura.

BOTUCATU-SP
Agosto - 2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**USO DO RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA
(CRUEIRA) NA PRODUÇÃO DE ÁLCOOL FINO.**

VITOR JOSÉ MIRANDA DAS NEVES

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura.

BOTUCATU-SP
Agosto - 2004

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	VII
SUMMARY.....	IX
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 Cultura da mandioca.....	03
2.2 Aspectos botânicos.....	04
2.3 Desenvolvimento vegetativo.....	04
2.4 Fatores sócio-econômicos.....	05
2.5 Resíduos sólidos.....	06
2.6 Balanço de massa de uma farinheira.....	06
2.7 Fluxograma de processo, produção de farinha de mandioca.....	08
2.8 Fluxograma de processo, farinheira fornecedora do material em estudo crueira..	09
2.9 Foto do processo de separação da farinha e crueira.....	10
2.10 Caracterização físico-química da crueira da mandioca.....	12
2.11 Produção de álcool de amiláceos.....	13
2.12 Foto do hidrolisado de crueira.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Planejamento dos experimentos.....	17
3.2 Análises físico-químicas da crueira.....	18
3.2.1 Teor de umidade pelo método de secagem em estufa.....	18
3.2.2 Teor de umidade pelo método de aquecimento por meio de luz	

infravermelha em balança de umidade.....	18
3.2.3 Determinação do pH da crueira.....	19
3.2.4 Determinação do teor de amido.....	19
3.2.5 Determinação do teor de fibras.....	20
3.2.6 Determinação do teor de cinzas.....	22
3.2.7 Determinação do teor de proteína total.....	22
3.2.8 Determinação de lipídeos.....	23
3.2.9 Teste de hidrólise da crueira por ataque ácido.....	23
3.2.10 teste de hidrólise da crueira por via enzimática.....	25
3.2.11 Fluxograma de processo da hidrólise enzimática.....	26
3.2.12 Preparo do material para fermentação em batelada.	27
3.2.13 Foto do reator utilizado / experimento semi-industrial.....	28
3.2.14 Discriminação isotópica por espectrometria de massa do etanol destilado.	29
3.2.15 Análise cromatográfica por CLAE do hidrolisado de crueira e do etanol...	29
3.2.16 Delineamento experimental.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5. CONCLUSÕES.....	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
7. APÊNDICE.....	52

RESUMO

Os sub-produtos da industrialização da mandioca são partes constituintes da própria planta, gerados em função do processo tecnológico adotado no seu beneficiamento. Tanto a qualidade como a quantidade dos sub-produtos pode variar em função de fatores diversos, como cultivar, idade da planta, tempo após a colheita, tipo e regulagem do equipamento industrial, etc. Considerando-se os principais tipos de processamento de raízes de mandioca no Brasil, como a fabricação de farinha de mandioca e a extração de fécula, os sub-produtos gerados podem ser sólidos ou líquidos. Como sólidos, destaca-se a casca marrom, a entre casca, o descarte, a crueira, a fibra, o bagaço e a varredura. A crueira é constituída por pedaços de raízes e entre casca, separados por peneiras antes do forno, no processamento da farinha de mandioca. Neste trabalho, realizaram-se todas as etapas para a caracterização físico-química da crueira. No aspecto energético, avaliaram-se dois processos para obtenção de hidrolisado a partir de amostras de crueira, para obtenção de álcool fino. Primeiramente utilizou-se a via de hidrólise com ataque ácido, que foi descartada, devido dificuldades de processo e maior custo; e paralelamente, o material foi tratado por hidrólise enzimática em escala laboratorial, bem como em batelada. Para ambos os processos de hidrólise enzimática, determinou-se a eficiência e rendimento econômico para produção de álcool fino, onde verificou-se um rendimento de 65,8%. Uma tonelada de crueira é capaz de produzir aproximadamente 370 litros de álcool fino, visando sua

reciclagem por parte das farinheiras. Concluiu-se que o resíduo cruera pode ser considerado economicamente viável como substrato para produção de álcool fino, e que a eficiência do processo é melhor quando a hidrólise é realizada por ação enzimática.

USE OF THE RESIDUE OF THE CASSAVA FLOUR PRODUCTION (CRUEIRA) IN THE FINE ALCOHOL PRODUCTION. Botucatu, 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Vitor José Miranda das Neves

Adviser: Prof. Dr. Fernando Broetto

SUMMARY

Sub-products of the cassava industrialization are constituent parts of the proper plant, generated in function of the adopted technological process in its improvement. As much the quality as the amount of sub-products can vary in function of diverse factors, as to cultivate, age of the plant, time after the harvest, type and regulation of the industrial equipment, etc. Considering the main types of processing of cassava roots in Brazil, as the cassava flour production and the extration of starch, the sub generated products can be solid or liquid. As solid, it is pointed out brown rind, between rind, the discarding, the crueira, the fiber, the bagasse and varredura. The crueira is constituted by pieces of roots and between rind, separate for bolters before the oven, in the processing of the cassava flour. In

this work, all the stages for the physical-chemistry crueira characterization had been become fulfilled. In the energy aspect, two processes for hidrolisate attainment had been evaluated from samples of crueira, for fine alcohol attainment. First it was used hydrolysis way with acid attack, that was discarded, because of difficulties of process and higher cost; parallel, the material was treated by enzymatic hydrolysis in laboratorial scale, as well as in bath. For both enzymatic hydrolysis processes, it was determined efficiency and economic income for fine alcohol production, where a 65,8% income was verified. A ton of crueira is capable to produce 370 liters of fine alcohol approximately, aiming at its recycling on the part of the cassava flour industry. It was concluded that the crueira residue can be considered economically viable as substratum for fine alcohol production, and the efficiency of the process is better when the hydrolysis is carried through by enzymatic action.

Keywords: Cassava, fine alcohol, enzymatic hydrolysis, sub-products, the crueira.

1. INTRODUÇÃO

A cultura das tuberosas, entre as quais se destaca a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) é feita em nível mundial nos países que se situam próximos à linha do Equador, englobando toda a América Latina, Caribe, África e Ásia. (Cereda, 2002).

Na última década (1990-2000) a América Latina perdeu posição na participação da produção de mandioca no mundo, ocupando a terceira posição com cerca de 20% da produção mundial. Na região, cabe ao Brasil a maior parcela, chegando a 72,7% em 2000 (Cereda, 2002).

O cultivo da mandioca está associado ao Brasil desde o seu descobrimento. Planta-se a cultura em todas as unidades da federação e o produto tem destacada importância na alimentação humana e animal, além de ser utilizado como matéria-prima em inúmeros produtos industriais. Dentre os principais Estados produtores destacam-se: Paraná (18,05%), Bahia (16,40%), Pará (16,27%), Rio Grande do Sul (5,36%) e São Paulo (4,44%), que em conjunto são responsáveis por 60,52% da produção do país (Cereda, 2002).

As regiões Norte e Nordeste destacam-se como principais consumidoras, sendo a produção essencialmente utilizada na dieta alimentar, na forma de farinha. Nas regiões Sul e Sudeste, em que os rendimentos médios são da ordem de 18,7 t /Ha e 17,1 t /Ha, IBGE (2001), respectivamente a maior parte da produção é orientada para a indústria. Em termos sociais, a cultura da mandioca tem um importante papel no Brasil, tanto

para a alimentação humana como para alimentação animal. Quanto na geração de emprego e de renda, notadamente, nas áreas pobres da região nordeste, a mandioca tem grande número de usos correntes e potenciais, classificados segundo o tipo de raiz, em duas grandes categorias: mandioca de mesa e mandioca para a indústria (Cardoso *et al* , 1999; Cereda, 2002).

Como a crueira é um resíduo das farinheiras na produção de farinhas, esta geralmente é descartada na peneiragem. Como produto de descarte, a mesma segue para venda, e será utilizada como ração animal ou mesmo descartada ao solo como adubo orgânico.

A questão energética vem sendo constantemente discutida, com propostas para um elenco de medidas que inclui incentivo ao uso de fontes de energia sustentáveis. As fontes de energia consideradas sustentáveis devem ser ao mesmo tempo renováveis e de menor impacto ambiental. Neste contexto, insere-se entre outros, a produção de álcool a partir de um sub-produto da mandioca, conhecido como crueira.

Este trabalho teve como objetivos avaliar as características da crueira e verificar o seu potencial como substrato pós hidrólise química e/ou enzimática, para produção de etanol.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da mandioca

As plantas tuberosas são típicas de regiões tropicais e incluem aquelas que produzem raízes, tubérculos, etc. A mandioca, inhames, taro, batata-doce, yacon, etc, estão entre as principais representantes das tuberosas. Destaca-se na América Latina, o cultivo da mandioca, com enfoque especial para o Brasil.

Em termos de acúmulo de macromoléculas, as tuberosas são essencialmente calóricas, caracterizando-se como culturas de subsistência para alimentação humana e animal, conforme citado por Cereda (2002). O consumo da mandioca é predominantemente *in natura*. Para fins industriais, destaca-se a farinha e a fécula. A fécula e seus derivados têm destinação principalmente para alimentação humana ou como insumo para outras finalidades industriais, com forte agregação de valor (Cereda, 2002).

Em termos fisiológicos, o uso da água pela cultura, permite sua exploração em regiões onde a estação seca é prolongada, como ocorre no nordeste do Brasil e África. A tolerância a pragas e doenças sob determinadas condições, indica que esta planta tem potencial para sistemas produtivos de mandioca integrados a programas de produção de alimentos. Nas regiões produtoras do Brasil, em especial no nordeste, o uso de agrotóxicos é restritivo ou inexistente, conforme citado por Cardoso e Leal (1999).

2.2 Aspectos botânicos

A mandioca é uma planta classificada na família Euforbiaceae. Apresenta forma herbácea, quando jovem, e sub-lenhosa na fase adulta. O caule principal é ramificado sendo que os ramos apresentam cicatrizes devido às folhas caducas. O caule apresenta ainda gemas axilares na região do nó, sendo utilizado para a reprodução vegetativa, como maniva. Para a multiplicação, Viegas (1976) enfatiza que as ramas colhidas na estação seca geralmente apresentam crescimento rápido.

Viegas (1976) realizou caracterizações anatômicas da raiz e da folha da mandioca cv. IAC 576-70. Os autores observaram que as folhas apresentaram características morfo-anatômicas peculiares, com destaque para a presença de papilas na face abaxial da epiderme. Esta estrutura aumenta a superfície específica, formando uma espécie de coroa ao redor dos estômatos. Esta característica é muito importante para o bom funcionamento dos estômatos, os quais podem permanecer abertos por mais tempo em ambientes adversos.

2.3 Desenvolvimento vegetativo

Ternes (2002) descreveu as principais fases de desenvolvimento vegetativo das plantas de mandioca. Segundo o autor, para completar um ciclo de crescimento, a planta passa por cinco fases fenológicas principais, sendo quatro ativas e uma de repouso vegetativo: brotação da maniva, formação do sistema radicular, desenvolvimento da parte aérea, engrossamento das raízes de reserva e fase de repouso. Ainda segundo Ternes (2002) ao contrário do observado para cereais, ocorre crescimento da parte aérea e das raízes fibrosas de forma paralela, resultando no acúmulo do amido. Nesta fase, aproximadamente aos 28 dias após o plantio, foi possível a detecção de grãos de amido nas raízes fibrosas de mandioca. O espessamento das raízes fibrosas pode ocorrer em torno de seis semanas depois do plantio. Após dois a três meses de cultivo, pode-se distinguir o número de raízes fibrosas hábeis para o acúmulo de amido. Provavelmente, este fator pode ser influenciado pelo aumento das taxas fotossintéticas. O crescimento paralelo que ocorre na parte aérea e o espessamento das raízes fibrosas com amido, é diferente do processo observado em cereais, com constante competição

pelos produtos resultantes da fotossíntese. Se o balanço de assimilação favorecer a parte aérea provavelmente o crescimento da raiz de reserva ficará prejudicado (Ternes, 2002).

A mandioca é uma planta considerada como C₃, em relação a modalidade de fixação de carbono no processo fotossintético (Ducatti, 2004). Esta classificação, pode funcionar como marcador específico de todo o processo de desenvolvimento da planta. Esta característica é muito importante, considerando-se que a mesma pode fornecer rastreabilidade para a espécie, inclusive em relação a seus sub-produtos, através de técnicas isotópicas. Em termos práticos, é possível se rastrear a origem destes materiais pela discriminação isotópica da abundância do carbono (¹³C / ¹²C), em todas as fases de cultivo, industrialização e uso dos produtos advindos da mandioca.

A multiplicação da mandioca é feita por reprodução vegetativa. Pedacos da rama (manivas) são plantados, reproduzindo a planta mãe. Este tipo de reprodução pode ocasionar diminuição na produção em função do envelhecimento precoce do material e pelo aumento da infestação por doenças transmitidas por sucessivas gerações (Takahashi, 1996). Assim, a seleção de manivas, é fator essencial para o aumento da produtividade agrícola, embora o produtor não dê a devida importância a este aspecto (Ternes *et al.*, 1978).

2.4 Fatores sócio-econômicos

A importância sócio-econômica que a mandioca vem exercendo nos últimos anos vem induzindo ao aumento da sua área de cultivo e melhoria na sua produtividade.

A mandioca é uma cultura explorada em todo o território brasileiro, sendo seu uso imediato em forma de farinhas e/ou consumo *in natura*, ou de forma indireta como matéria-prima da raiz tuberosa no processamento agroindustrial. Durante o processamento industrial, são produzidas elevadas quantidades de resíduos sólidos os quais constituem-se em sérios riscos para impacto ambiental (Cereda *et al.*, 1990).

2.5 Resíduos sólidos

Considerando-se os principais tipos de processamento das raízes de mandioca no Brasil, como a fabricação de farinha de mandioca e a extração de fécula, os subprodutos gerados podem ser sólidos ou líquidos. Alguns dos subprodutos sólidos são a casca marrom, a entrecasca, o descarte, a crueira, a fibra, o bagaço e a varredura. Entre os resíduos líquidos cita-se a manipueira. Baseado em diferenças culturais/ambientais, a produção de resíduos sólidos pode representar cerca de 40 % em relação ao volume total. Considerando-se apenas os componentes da parte aérea da planta, estes valores podem representar cerca de 21 % do total de resíduos produzidos (Sangrilo *et. al.* 2002).

Os resíduos oriundos da indústria da mandioca são a princípio, partes constituintes da própria planta, gerados a partir do processo tecnológico adotado. Segundo Cereda (1994) e Leonel (2001), a qualidade e quantidade dos resíduos, variam em função de fatores culturais, bem como do equipamento utilizado, entre outros.

2.6 Balanço de massa de uma farinheira

Bianchi (1998) demonstrou, através de um balanço de massa de uma fábrica de farinha de médio porte, situada no interior do estado de São Paulo, que é possível avaliar os pontos positivos e negativos das etapas de transformação da matéria-prima em farinha. Pelas medições efetuadas, ficou demonstrado que a farinheira para cada tonelada de matéria-prima que entrou no sistema, em peso úmido, gerou aproximadamente 15 kg de resto de pátio; 200 kg de casquinha, 1.200 kg de águas de lavagem; 400 kg de manipueira; 13 kg de crueira; 330 kg de farinha; 1,5 kg de bagacinho; 1 kg de varredura. Demonstrou que em peso seco, para cada tonelada de raiz, foi produzido 730 kg de farinha, com 89 % de amido e 150 kg de casquinha como sendo o principal resíduo formado com 67 % de amido. Segundo Bianchi (1998), varias oportunidades podem ser implementadas visando o aproveitamento desses resíduos, com maiores rentabilidades financeiras para as farinheiras.

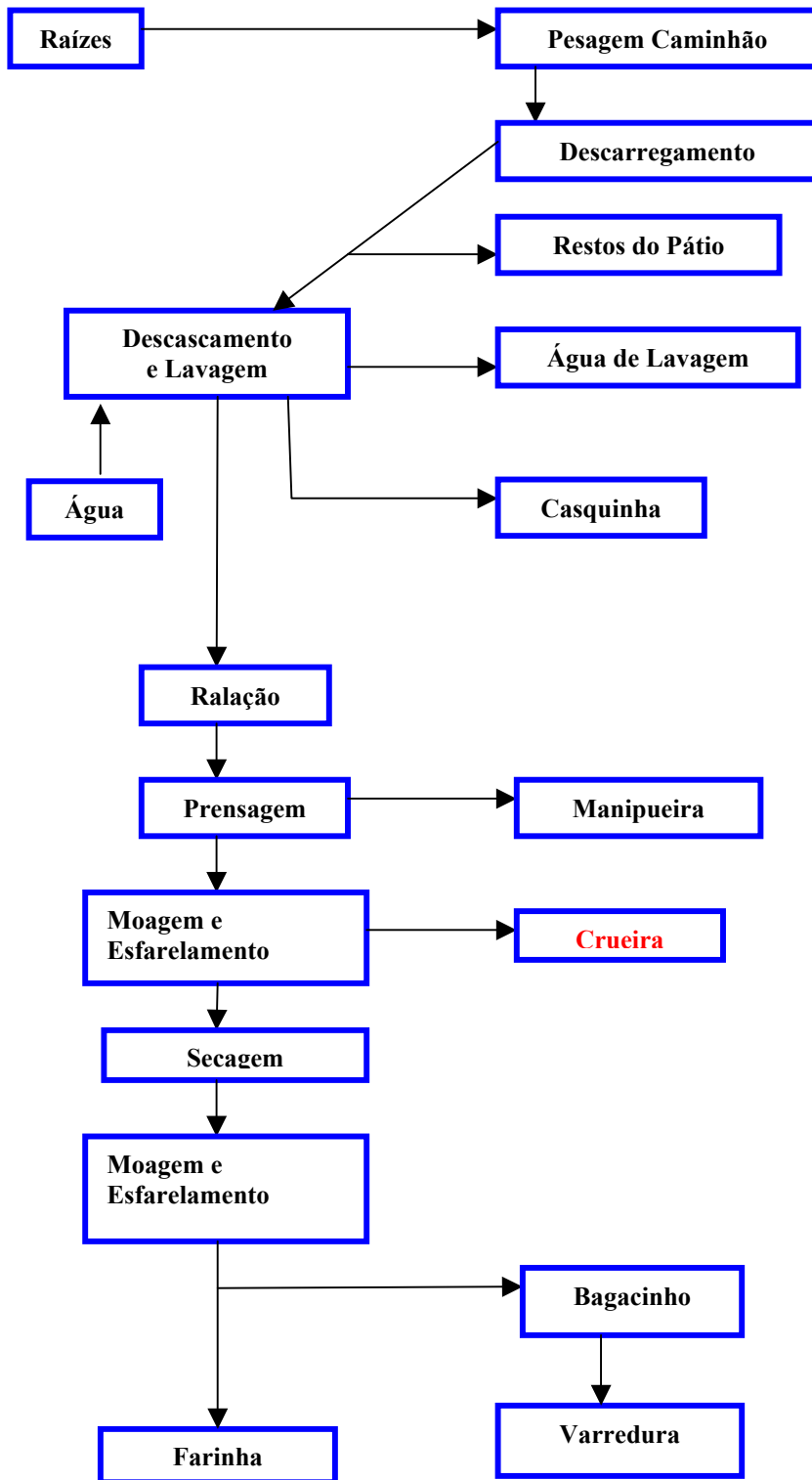
A falta de informações sobre a quantificação e caracterização do material gerado durante o processamento, são fatores restritivos.

Dessa forma, é possível justificar a pesquisa em empresas produtoras de farinha de mandioca, avaliando os processos tecnológicos na melhoria de processos e aproveitamento dos resíduos gerados.

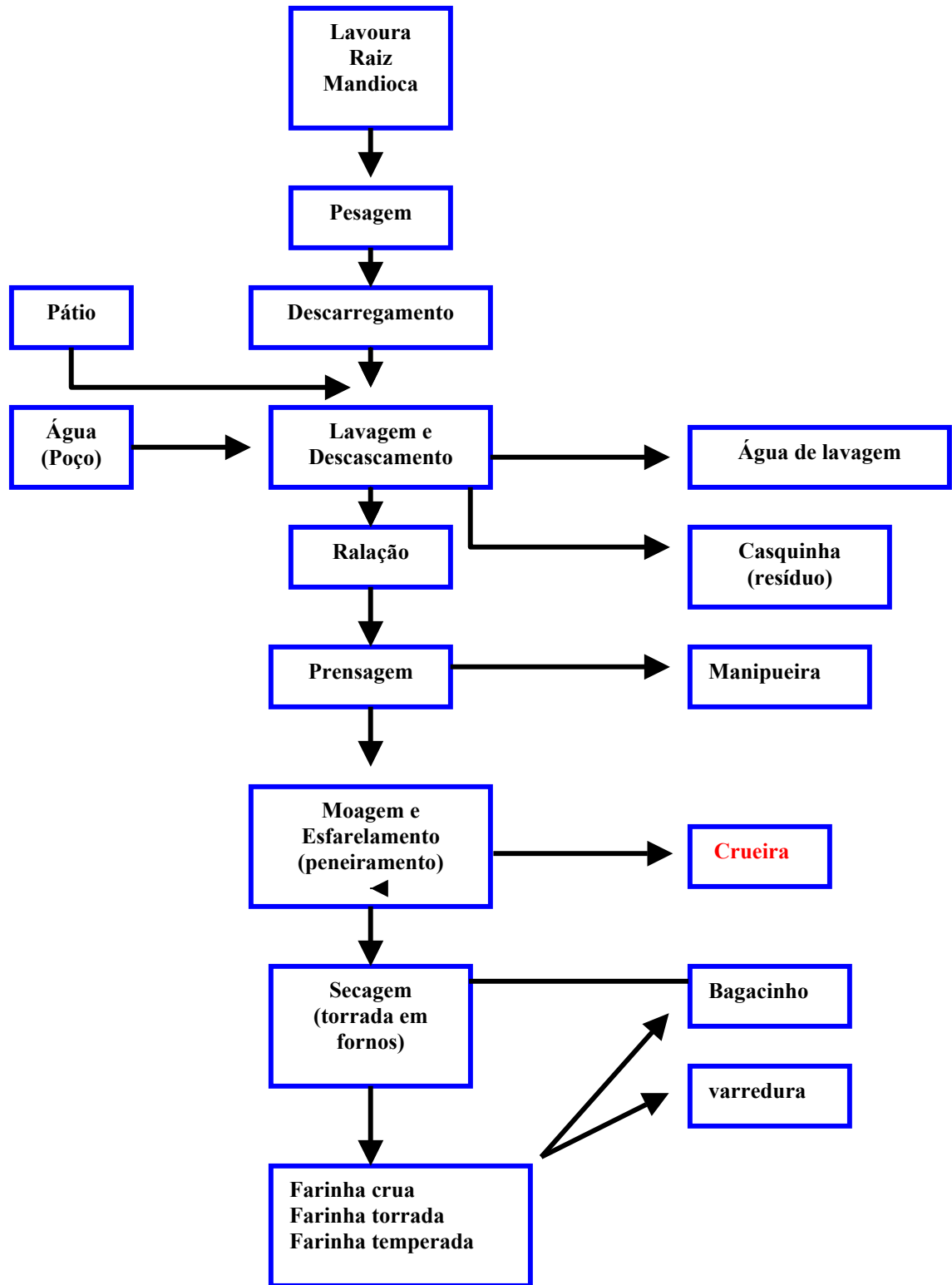
O processamento de farinha de mandioca é composto pelas operações de pesagem, descascamento, lavagem, ralação, prensagem, esfarelamento e secagem.

Segundo Bianchi (1998) o fluxograma abaixo demonstra o processo de produção de farinha, na empresa onde foi desenvolvido o estudo de balanço de massa de uma fábrica de farinha de mandioca.

2.7 Fluxograma de processo, produção de farinha de mandioca.



2.8 Fluxograma de processo, farinhaira fornecedora do material em estudo (crureira).



2.9 Foto do processo de separação da farinha e crueira



Cereda (1996) também caracterizou farelo de mandioca, com 85% de umidade inicial. Encontrou cerca de 75% de amido, 15% de fibras, 1,6 % de cinzas, 2% de proteína, 1% de açúcares e 0,8% de matéria graxa expressos na base seca. Os valores de pH e acidez são bastante variáveis, devido a fermentações naturais do resíduo úmido. Quanto ao farelo seco, Leonel e Cereda (1995) e Cereda (1996) obtiveram resultados bastante semelhantes quanto a composição mineral. A média observada foi de 0,06% de N; 0,02% de P; 0,13% de K; 0,24% de Ca; 0,11 % de Mg; 0,01 % de S; 98 mg Kg⁻¹ de Fe; 4,0 mg Kg⁻¹ de Zn; 1,0 mg Kg⁻¹ de Cu e 10 mg Kg⁻¹ de Bo. Entre outras características, verificou-se que o material é uma excelente fonte de fibras, apresentando em média 29% pelo método de detergente neutro, 14 % por detergente ácido e 7% de fibra dietética, sendo 6% insolúvel e 1 % solúvel (Cereda, 1996). Leonel *et al.*(1998), analisando o farelo de mandioca ao microscópio óptico verificou a presença de células de parênquima que não foram rompidas com a moagem com grânulos de amido além de fibras e fragmentos de casca e entrecasca da mandioca. Observou também, uma quantidade elevada de grânulos de amido livres que não foram retirados com as lavagens nas centrífugas.

O farelo, devido ao seu grande volume gerado na indústria, constitui-se em problema para as mesmas. Uma das raras destinações deste sub-produto, tem sido na alimentação animal. Outras possibilidades que se apresentam, seria o uso do farelo, juntamente com complementos protéicos, na formulação de rações para bovinos (Ospina,1998) e o seu emprego como substrato para produção de etanol (Leonel, 1998; Leonel e Cereda, 1998). Outras alternativas seriam a produção de carvão, enchimento para comprimidos e embalagens biodegradáveis (Castro e Cereda, 1999).

Outro sub-produto, a casca marrom ou periderme da mandioca, gera entre 2 e 5% da massa total das raízes processadas. Este tecido é constituído de uma fina camada celulósica, marrom clara ou escura. As cascas, embora passíveis de tratamento por digestão anaeróbica (Motta, 1985), poderão ser empregadas como adubo ou para alimentação animal.

Segundo Motta (1985) e CERAT (2000; dados não publicados) realizaram inúmeros testes físico-químicos para avaliação de alguns sub-produtos do processamento da mandioca. Entre os resultados, destaca-se que o farelo ou bagaço, são

resíduos sólidos compostos pelo material fibroso de raiz, contendo parte do amido que não foi possível extrair no processamento. Este material é gerado na etapa de separação da fécula e por estar altamente hidratado (75% de umidade), apresenta volume maior que a própria matéria-prima. O farelo é constituído por mais que 70% de amido residual e ao redor de 16% de fibras. O amido residual não é acessível por métodos físicos, mas pode ser mobilizado por enzimas. O elevado teor de amido no farelo sugere uma aparente ineficiência no processo de extração. Na verdade, a raiz de mandioca apresenta cerca de 2% de fibra, em geral expressa como celulose e 30% de amido. Na extração, cerca de 30% do amido residual fica retido em menos que 3 % de fibra, que absorve grandes quantidades de água, o que explica porque praticamente cada tonelada de raiz equivale uma tonelada de farelo úmido.

2.10 Caracterização físico-química da crueira da mandioca.

Durante os processos de industrialização da mandioca, parte do material a ser peneirado fica retido na malha, caracterizando um farinhaço denominado *crueira*. Este material é bastante fibroso e constituído por partes da raiz e entrecasca e geralmente será separado na peneira, antes da etapa de desidratação. A caracterização físico-química da crueira é importante para se elucidar o seu potencial como substrato para a produção de álcool.

Baseado na literatura corrente, observa-se que este material tem despertado pouco interesse em sua caracterização. Comparado a outros resíduos da indústria da mandioca, os dados disponíveis na literatura, refere-se geralmente a caracterizações em resíduos líquidos, como da manipueira ou a resíduos sólidos como nos farelos, bagaço, varreduras, etc. Entretanto, conforme publicado por Cereda (2001), a composição da crueira ou farinhaço, justifica interesse na utilização deste resíduo. Destaca-se a concentração de amido que ainda fica retido no material, em torno de 68 %, muito próximo dos valores observados para a composição do farelo. Como a crueira é geralmente material descartado, conclui-se que o potencial energético do mesmo também ficará perdido. Caracterizações de farelo de mandioca realizadas por Cereda (1996a) estabeleceu que o teor de amido nestes materiais pode ter relação com os cultivares e/ou etapas da colheita.

Melotti (1972) determinou a composição química de alguns subprodutos da indústria da mandioca. Observou por exemplo, que a crueira apresentou a umidade próxima a 9%, proteína bruta na faixa de 3,71% e analisou também alguns minerais importantes como Ca e P.

Em termos nutricionais, a mandioca enquadra-se como rica em carboidratos e pobre em proteínas. Em relação aos subprodutos, tem-se pouca informação, mas, provavelmente seguem esta tendência (Thieman, 1986).

Conforme citado em boletim técnico (Albino *et al.*, 1983), o farinha ou crueira de mandioca foi utilizado como componente de ração de frangos de corte, como fonte de energia metabolizável/proteína, do alimento ingerido pelos frangos. A caracterização da crueira para este fim, indicou valores de proteína bruta em torno de 1,5 %, fibra bruta 16,34 % e energia bruta, Kcal/Kg 3.730, o que qualifica este resíduo como boa fonte para rações.

2.11 Produção de álcool de amiláceos

Segundo determinação da legislação brasileira, considera-se como amido a fração extraída da parte aérea de plantas e fécula, a fração amilácea extraída de raízes, tubérculos e rizomas (Brasil, 1978).

Amido e fécula são polímeros de unidades de glicose, cujas ligação glicosídica é do tipo α (alfa). Estas ligações podem ser facilmente hidrolisadas, quando comparadas com aquelas do tipo β (Beta, encontradas na celulose). Esta peculiaridade facultou ao amido um maior interesse para sua utilização como substrato de processos biossintéticos. Em termos estruturais, o amido é um polímero composto (amilose e amilopectina, sendo esta última forma, ramificada) em concentrações diferentes em função de sua origem botânica. A amilose é de maior predominância, composta de unidades de glicose polimerizadas por ligações glicosídicas α -1,4, de forma linear. A segunda fração, a amilopectina, é um polímero de maior peso molecular, onde as unidades de glicose estão unidas por ligações α -1,4 e α -1,6 em configuração ramificada. A fécula de mandioca é composta de 18% de amilose e 82% de amilopectina, em relação ao total da molécula de amido. (Leonel e Cabello, 1999).

Os processos conhecidos para produção de álcool, incluem ataque ácido e de forma especial, a utilização de enzimas. Quando comparados, tem-se que os ataques ácidos são relativamente menos eficientes que os tratamentos enzimáticos. A eficiência maior das enzimas, pode ser explicada pelo menor tempo para se obter a hidrólise das ligações glicosídicas, além do menor custo final para o processamento.

As enzimas amilolíticas são catalisadoras da hidrólise de ligações dos tipos α -1,4 e α -1,6 encontradas nos polissacarídeos, recebendo a denominação de amilases. Estas enzimas oriundas de plantas, bactérias, fungos e animais e recebem, classificação como α -amilases, β -amilases, amiloglicosidases, pululanases e isoamilases. Cada uma dessas enzimas possui mecanismo diferenciado de catálise, o que resulta em produtos diferentes. As α -amilases, por exemplo, são endo-glicosidases que atuam em regiões internas do polissacarídeo, afastada da extremidade redutora, produzindo inúmeros tipos de oligossacarídeos. Por outro lado, as β -amilases hidrolisam o polissacarídeo na região externa do grupo não-redutor, produzindo cadeias de baixo peso molecular em configuração do tipo beta.

As enzimas α -amilases não são capazes de clivar ligações α -1,4 próximas de ligações α -1,6. Desta forma, sua catálise resulta em cadeias com três a seis unidades de glicose, denominadas dextrina-limite, principalmente as maltotrioses e isomaltoses. As amiloglicosidases são consideradas exoenzimas (Fujii *et al.*, 1988), por atuarem nas extremidades não-redutoras. Assim, não tem ação sobre a estrutura helicoidal da amilose. Outra peculiaridade dessas enzimas, é que elas não são produtoras de dextrinas, pois hidrolisam as ligações do tipo α -1,6 e α -1,4, fornecendo como produto final moléculas de D-glicose. Em processos de degradação de polissacarídeos, geralmente são utilizadas uma endoenzima, a α -amilase, associada a amiloglicosidase. Na hidrólise, espera-se que as primeiras formem moléculas menores de substrato facilitando assim a ação da amiloglicosidase. As pululanases apresentam especificidade para hidrolisar somente ligações α -1,6 podendo atuar em conjunto com as amiloglicosidases, em substratos ricos em amilopectinas (Cabello, 1996).

Para que a hidrólise de uma solução de amido hidratada possa ser completa, esta solução deverá ser composta por apenas moléculas de D-glicose, que é definido como (DE) ou Dextrose Equivalente igual a 100. Portanto quando a hidrólise não é total, esta

solução formada é denominada xarope de glicose, formando assim uma composição de carboidratos variável, que depende seguramente das condições do tratamento a que foi submetida. O (DE) é empregado como medida do grau de hidrólise da suspensão. Os grânulos de amido insolúveis em água, são mantidos unidos por ligações de hidrogênio no meio dos polímeros, amilose e amilopectinas.

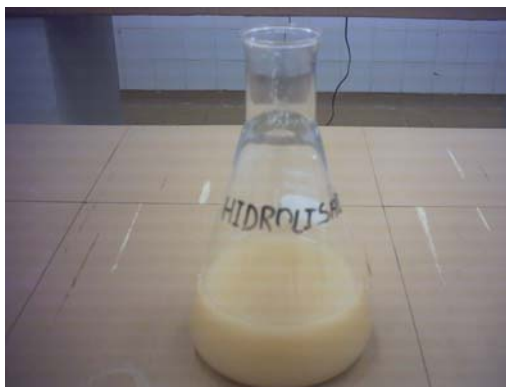
Assim que uma suspensão aquosa de amido é aquecida, as ligações enfraquecidas, permitem que os grânulos possam absorver água. Isto pode acontecer em diferentes faixas de temperatura. Para o amido de trigo, a temperatura de gelatinização é de 58°C; ponto médio a 61°C e final a 64°C. Ao mesmo tempo em que ocorre a quebra das ligações de hidrogênio, ocorre o intumescimento do grânulo que vai liberando cadeias de amilose e amilopectina. Assim, a solubilidade do amido tende a aumentar, com aumento paralelo da viscosidade e transparência das suspensões iniciais. Assim temos o processo de gelatinização. Nestas condições, as enzimas α -amilases aumentam a velocidade de hidrólise, em sistema de ataque múltiplo, cuja formação de complexo entre enzima e substrato, darão origem às primeiras clivagens. Parte da cadeia será liberada e a parte remanescente continuará complexada com a enzima quando várias ligações α -1,4 serão hidrolizadas até a dissociação do sítio da enzima.(Cabello, 1996).

Dentre as enzimas comerciais presentes no mercado brasileiro, temos aquelas comercializadas pela Novozymes. Como características principais, tem-se que a Termamyl 120 L é uma enzima produzida na forma líquida, composta por uma alfa-amilase, sendo termostável. A enzima é produzida por cepa geneticamente modificada do *Bacillus licheniformis*. Titulada com o nome sistemático de 1,4-alfa-D-glucanohidrolase a enzima possui aparência de líquido marrom, de densidade entre 1.20 e 1.25g/mL. Sua atividade declarada é de cerca de 120 KNU/g (KNU, Kilo-NOVO-Alfa-amilase-Unit), sendo que uma unidade, corresponde a quantidade de enzima necessária para hidrolisar 5.26g de amido por hora. A enzima é formada por uma endo-amilase capaz de hidrolisar ligações glicosídicas alfa-1,4 em amilose e amilopectina, em temperaturas na faixa de 93°C, quando o amido será rapidamente degradado em dextrinas solúveis e oligossacarídeos. Para a produção de álcool, esta enzima é normalmente utilizada para liquefação da solução de amido (Novozymes, 2003).

A enzima AMG 300 L, é uma exo-alfa-1,4-D-glucosidase isolada de cepas selecionadas de *Aspergillus niger*. Tecnicamente, é denominada como alfa-1,4-D-

glucano glucohidrolase. A enzima possui uma aparência de líquido marrom, de densidade 1.2g/mL. Sua atividade (Novo amiloglicosidase unit, AGU) é definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 micromol de maltose por minuto. Em condições padronizadas, a faixa de temperatura adequada é de 60°C por 48 h. A enzima hidrolisa as ligações alfa-1,4 e alfa-1,6 no amido, quando unidades de glicose serão removidas da extremidade não redutora da molécula do substrato. A taxa de hidrólise depende do tipo da ligação e do tamanho da cadeia. As ligações alfa-1,4 são hidrolisadas mais rapidamente que as alfa-1,6 sendo que as maltotrioses e maltoses são hidrolisadas em taxas mais baixas que os oligossacarídeos maiores (Novozymes, 2003).

2.12 Foto do hidrolisado de crueira



hidrolisado enzimático

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Planejamento dos experimentos

A *crueira* ou *farinhão* fazem parte do material constituído como sub-produto sólido da indústria da mandioca, constituído de pedaços de raízes e entre casca, separados por peneiras antes do forno, no processamento da farinha .

O material foi recolhido na Industria de Alimentação Monjolinho Ltda, Garça - SP. A *crueira* foi levada a estufa a uma de temperatura de 45°C por um período de 4 horas para secagem. O material foi resfriado e mantido fechado em sacos plásticos selados, em embalagens de 2 Kg em local arejado.

Na primeira etapa (caracterização do material) foram realizados todos os testes físico-químicos, segundo (Pregnoatto,1985).

Parte destes testes foram realizados em colaboração com o CERAT – Centro de Raízes Tropicais da FCA/UNESP-Campus de Botucatu. Na segunda fase, foram realizados as hidrólises (hidrólise ácida e hidrólise enzimática), para obtenção de álcool.

Na terceira fase, foi realizada uma hidrólise enzimática em batelada, com caracterização dos produtos. Com os dados obtidos, foi proposto um estudo de balanço de massas do processo integral.

3.2 Análises físico-químicas da crueira

3.2.1 Teor de umidade pelo método de secagem em estufa

Para esta análise, utilizou-se a determinação a 130° C, conforme método descrito por Pregnoatto (1985).

Pesaram-se 2g da amostra em pesa-filtro de 35 mL de forma baixa, previamente aquecido em estufa a 30°C. O material foi então mantido em estufa a 150° C por 1 hora. Após este período, os recipientes foram resfriados em dessecador com cloreto de cálcio anidro até a temperatura ambiente e pesado em balança analítica. Repetiram-se as operações de aquecimento e resfriamento até peso constante, porém com temperatura de estufa a 130° C.

O teor de umidade foi então determinado segundo a expressão: $100 \times N / P$, onde N = diferença de massa da amostra antes e após a secagem, em gramas ; P = massa da amostra antes da secagem, em gramas. O teor de umidade foi expresso em percentagem (p/p).

3.2.2 Teor de umidade pelo método de aquecimento por meio de luz infravermelha em balança de umidade.

Para esta determinação, as amostras foram analisadas em balança de umidade infravermelho modelo Bell, com quatro casas após a virgula. Nesta balança, a amostra é pesada e posteriormente seca; O teor de umidade é expresso diretamente na balança em % de matéria seca.

3.2.3 Determinação do pH da crueira

Para determinação do pH, pesou-se 10 g de amostra e transferiu-se para Erleynmeyer de 250 mL. Adicionaram-se 100 mL de água (recém fervida) para obtenção de uma suspensão homogênea. Continuou-se agitando, regularmente, por mais 30 minutos. Após repouso de 10 minutos, o sobrenadante foi transferido para outro frasco seco quando efetuou-se a medida do pH (Pregnoatto,1985).

3.2.4 Determinação do teor de amido

Geralmente, a extração de amido vem acompanhada de outros carboidratos como celulose, hemicelulose, pentosanas, glicosídeos e taninos, bem como seus próprios produtos de hidrólise, dextrinas e açúcares. O método escolhido para sua determinação levou em conta as interferências destas substâncias. Os métodos hidrolíticos, em que o amido foi hidrolisado por ácido e enzimaticamente até a glicose, têm aplicação limitada para os produtos que apresentam carboidratos insolúveis em água em pequena proporção e o resultado inclui as pentosanas. Os métodos não hidrolíticos tratam o amido com substâncias capazes de dispersá-lo em um solvente, após serem removido os lipídios e proteínas, e determinam o amido por polarimetria ou gravimetria após remoção do solvente. Estes métodos são os mais indicados para os produtos em que o amido está em maior proporção. Através do método de polarimetria, tomou-se 2 g da amostra em um tubo de centrífuga, onde foi lavado com 2 volumes de 10 mL de éter para se remoção de gorduras. Adicionou-se 10 mL de álcool a 65%. Após centrifugação, foi decantado o material e repetido o procedimento por mais 5 vezes. Em seguida adicionou-se ao resíduo 10 mL de água. Após agitação, foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 250 mL, com o auxílio de 60 mL da solução de cloreto de cálcio e adicionado 2 mL de ácido acético a 0,8%. As amostras foram então aquecidas até ebulição por cerca de 15 min. (evitando carbonização ou formação de espuma). Resfriou-se rapidamente em água, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 100 mL, lavando cuidadosamente o frasco com solução de cloreto de cálcio. Completou-se o volume com

solução de cloreto de cálcio. Filtrou-se 10 mL da solução em papel de filtro Whatman n.º 42, recolheu-se o filtrado e determinou-se o teor de amido por polarimetria, usando um tubo de 1 dm. Aplicou-se a expressão: $A \times 10.000 / 203 \times L \times p = \text{amido por cento p/p}$, onde A é o valor médio de 5 leituras do desvio polarimétrico, 203 é a rotação específica para o amido, L é o comprimento em dm do tubo do polarímetro e P é o n.º de g da amostra usado na determinação (Pregnoatto,1985).

3.2.5 Determinação do teor de fibras

Segundo Pregnoatto (1985) a fibra é um resíduo orgânico obtido em certas condições de extração com éter, depois de tratamento com ácido sulfúrico diluído, hidróxido de sódio diluído, álcool e éter. É constituída em grande parte por celulose, que pode ser acompanhada ou não de lignina e representa o resíduo das substâncias das paredes das células.

A areia e outras substâncias minerais, presas a estes tecidos celulares, não são avaliadas, por não se tratar de tecido orgânico. Os seus valores variam nos diferentes alimentos, desde os cereais em grão (na ordem de 3 a 11%) às farinhas (na ordem de 0,06%). Para as análises foram testados dois métodos distintos. Para a determinação da % de fibra (p/p), pesou-se 2 g da amostra, que foram envolvidas em papel de filtro e amarrada com fio de lã. A extração procedeu-se em aparelho Soxhlet, utilizando-se éter como solvente até a extração total de gorduras. Em seguida, o material foi mantido em estufa para eliminação do excesso de solvente. O resíduo resultante foi transferido para um Erlenmeyer de 750 mL. Adicionou-se 100 mL da solução ácida (500 mL ácido acético glacial, 450 mL de água destilada, 50 mL de ácido nítrico, 20g ácido tetracloracético) e 0,5 g de lã de vidro. O frasco foi então adaptado um refrigerador de refluxo por 40 min. a partir do tempo em que a solução ácida foi adicionada. Agitou-se freqüentemente, a fim de evitar que as gotas secassem nas paredes do frasco. Por fim, filtrou-se a solução a vácuo em cadinho de *Gooch*, preparado com camada de lã de vidro. Lavou-se a lã com água fervente para eliminação da acidez.. Lavou-se finalmente a lã com uma mistura de 20 mL de álcool e 20 mL de éter. A lã foi então seca em

estufa a 105 °C, por 2 horas, sendo então resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada em balança analítica. Repetiram-se as operações de aquecimento e resfriamento até peso constante. Incinerou-se em mufla a 550°C, resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesou-se. Repetiram-se as operações de aquecimento na mufla e resfriamento até peso constante. A diferença em massa é proporcional ao teor de fibras (em % p/p), segundo a expressão: % de fibra (p/p) = 100 x n / p, onde: n= g de fibra e p= g da amostra.

O segundo método utilizado determinou a % de fibra bruta. Para este método, pesou-se aproximadamente 3 g de amostra, onde foram transferidas para um béquer de 500 mL e acrescentou-se 200 mL de uma solução de H₂SO₄ preparado a 1,25% p/v. Deixou-se o material em ebulição por 30 min., procurando manter o volume inicial acrescentando-se água destilada. Após tal tratamento, o material foi filtrado em papel Whatman n° 42, lavado com 500 mL de água quente e transferido para o mesmo béquer de 500 mL. Em seguida adicionou-se 200 mL de uma solução de NaOH 1,25% p/v, o material ficou em ebulição por 30 minutos, em procedimento similar ao da primeira extração. Após esta segunda etapa, filtrou-se o material em papel de filtro qualitativo comum, previamente seco a 100°C e com tara conhecida. Lavou o papel com 500 mL de água quente o qual foi mantido em estufa a 100 °C até peso constante. O papel e o resíduo, após pesagem, foi mantido em mufla em cápsula tarada a 550°C para determinação das cinzas da fibra bruta, conforme a expressão: peso do papel + resíduo - peso do papel x 100 / g da amostra = % fibra bruta; A % de fibra bruta - cinzas = % fibra real.

3.2.6 Determinação do teor de cinzas

Resíduo por incineração ou cinzas é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550°C (Pregnoatto,1985). Nem sempre este resíduo representa toda a substância inorgânica presente na amostra, pois alguns sais podem sofrer redução ou volatilização nesse aquecimento. Geralmente, as cinzas são obtidas por ignição de quantidade conhecida da amostra, entre 1 e 5 g, em cadinho ou cápsula de platina, ou porcelana ou outro material resistente ao calor, mantida em mufla a 550 °C, até eliminação completa do carvão.

Pesou-se 5g da amostra em cápsula de porcelana, já previamente tarada, carbonizou-se a amostra em temperatura baixa e incinerou-se em mufla a 550°C. Resfriado a amostra em dessecador até a temperatura ambiente e conferido seu peso. Repetiu-se as operações de aquecimento e resfriamento até peso constante. Segundo a expressão:
 $100 \times N / P = \text{cinzas por cento p/p}$, onde $N = \text{n.}^\circ \text{ de g de cinzas}$ e $P = \text{n.}^\circ \text{ de g da amostra}$.

3.2.7 Determinação do teor de proteína total

A partir do teor de nitrogênio para determinação do teor de proteínas, utilizou-se o processo de digestão descrito por Kjeldahl, o qual baseia-se na determinação do teor de N, conforme metodologia descrita por Pregnoatto (1985). A concentração de proteína nas amostras foi calculada conforme a expressão: $PB = V \times 0.14 \times 6,25/\text{massa da amostra (g)}$.

3.2.8 Determinação de lipídeos

Para esta determinação, utilizou-se metodologia descrita por Pregnotatto (1985). Pesou-se 3 g da amostra em cartucho de papel de filtro comum ou cartucho especial para determinação de matéria graxa. Acoplou-se o cartucho no conjunto de Soxhlet com balões de tara conhecida. Adicionou-se sobre os cartuchos 200 mL de éter de petróleo e acionou-se o banho-maria do conjunto, o qual ficou em refluxo por 12 horas. Após este período, retirou-se os balões e o excesso de éter foi evaporado em estufa de ar circulante a 100 °C por 2 horas. Após resfriamento em dessecador, pesou-se a amostra e procedeu-se a comparação com o peso inicial, sendo o teor de lipídeos determinado pela expressão:

$(\text{peso do balão com óleo}) - (\text{peso do balão}) \times 100 / \text{massa do material} = \% \text{ de lipídeos.}$

3.2.9 Teste de hidrólise da crueira por ataque ácido : análise do teor de açúcares redutores livres e após hidrólise ácida pelo método de Somogy e Nelson.

Pesou-se 0,2g da amostra de crueira e transferiu-se as amostras para erlenmeyers de 250 mL. Em um outro frasco foi preparado uma amostra em branco, com todos os reagentes, exceto com amostra. Acrescentou-se 30 mL de água destilada e 5 mL de ácido clorídrico P.A.; o material foi levado para autoclave, onde permaneceu por 20 minutos, a 120 atm de pressão para hidrólise. Após o resfriamento dos frascos, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com água destilada. Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida em um balão volumétrico de 100 mL. Utilizando-se NaOH 4N, neutralizou-se a solução para uma faixa de pH entre 7 e 8, completou-se o volume do balão com água destilada. Para a determinação do teor de açúcares redutores, pipetou-se 1,0 mL dessa solução neutralizada e adicionou-se 1,0 mL do reativo de Somogy, ambos em tubos de ensaio. Os tubos foram mantidos em banho Maria fervente por 10 minutos. Após resfriar os tubos, acrescentou-se 1,0 mL de reativo de Nelson, mais 7,0 mL de água destilada. Após homogeneização em agitador vortex, efetuou-se leitura em espectrofotômetro a 535 nm. Para o cálculo da concentração de açúcares, utilizou-se reta padrão de glicose.

Para a determinação do teor de açúcares redutores livres, pesou-se 1,0 g da amostra de crueira, transferiu-se para frascos erlenmeyer de 250 mL; em outro frasco foi preparado uma amostra em branco, com todos os reagentes, exceto com amostra. Acrescentou-se 50 mL de água destilada, e incubou-se em banho-maria aquecido a 65°C por 30 minutos. Após resfriar a amostra, a mesma foi colocada em um balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume com água destilada. Filtrou-se a solução em papel de filtro qualitativo, pipetando-se 1,0 mL do filtrado para tubos de ensaio, adicionando-se 1,0 mL do reativo de Somogy. Os tubos foram incubados em banho-maria fervente por 10 minutos, e após seu resfriamento, acrescentou-se 1,0 mL de reativo de Nelson com mais 7,0 mL de água destilada. Após homogeneização em agitador vortex, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 535 nm. Para obtenção da concentração de açúcares redutores, submeteu-se os resultados de absorvância a uma reta padrão de glicose, conforme descrita anteriormente. A percentagem de açúcares redutores totais(%ART) foi estimada com o auxílio da equação abaixo:

$$\% A.R.T. = \frac{A \cdot K \cdot 100}{\mu\text{g}}$$

onde:

A% = absorvância da amostra, a 535 nm.

K = constante da curva padrão de glicose.

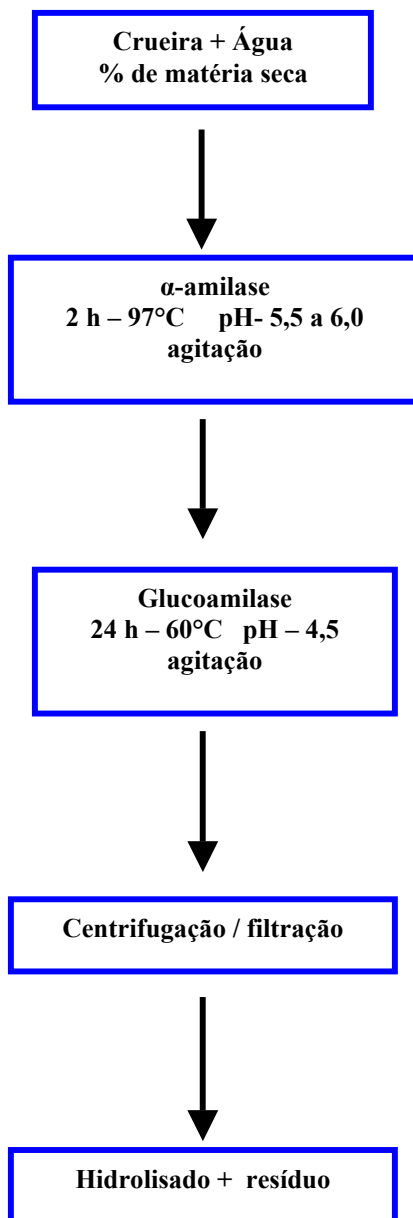
μg = massa da amostra, em microgramas.

3.2.10 Teste de hidrólise da crueira por via enzimática

Foi preparado uma suspensão de crueira com 150g de amostra e completado para 1000g com água destilada p/p, em becker de 1000mL. Em seguida foi corrigido o pH para 6,50 com uso de hidróxido de sódio (NaOH) 1N., para que as enzimas possam atuar com maior eficiência. A primeira enzima utilizada foi a Termamyl 120L (para a liquefação e quebra das ligações α 1-4) 0.3125mL na proporção de uma unidade enzimática para 4g de amido, adicionado 70mg de Cloreto da Cálcio (CaCl_2). Em seguida foi para banho-maria temperatura de 95°C, com agitação periódica por 90 minutos e monitorado a sacarificação com teste de lugol até não apresentar mais a coloração azul).

Após 90 minutos, resfriou-se amostra para 60°C retirando uma amostra para leitura de Brix e ajustando o pH para 4:75 ,sendo adicionado 0.125mL de AMG 300L (quebra das ligações α 1-6) e encubando em *shaker* a 60°C com agitação constante por 2,5 dias e em seguida sendo avaliado o brix. O hidrolisado foi centrifugado a 2000 RPM e filtrado a vácuo obteve-se um volume de hidrolisado e fibra residual. As fibras residuais do hidrolisado foram desidratadas a 50°C, o peso das fibras após desidratar, foram analisadas para verificar a eficiência da hidrólise. O hidrolisado foi avaliado por cromatografia líquida para determinação de quais açúcares foram obtidos na hidrólise e para determinar a concentração do xarope final. Informações fornecidas pelo catalogo do fabricante Novozymes (2003).

3.2.11 Fluxograma de processo da hidrólise enzimática.



3.2.12 Preparo do material (hidrólise de crueira) para fermentação em batelada utilizando-se reator com capacidade de 100 L.

Com o objetivo de se realizar uma fermentação em batelada, misturou-se 4,45 Kg de crueira em 15 L de água destilada. A esta mistura, adicionou-se 7,0 mL de enzima comercial Termamyl 120 L (Novozymes). O material foi hidrolisado por duas horas a uma temperatura de 97°C. Como endo-amilase, a Termamyl 120 L hidrolisa ligações α -1,4 em amilose e amilopeptina. O amido gerado é rapidamente degradado em dextrinas solúveis e oligossacarídeos. Após o tempo estabelecido de duas horas de hidrólise, adicionou-se 20 mL de enzima AMG 300 L. Para melhorar a atividade da enzima, rebaixou-se o pH da solução para 4,5, através da adição de ácido cítrico a 0,1 M, em tampão citrato/fosfato. O material ficou então em hidrólise por 8 horas, a uma temperatura de 60°C. A enzima, hidrolisa as ligações α -1,4 e α -1,6 no amido liquefeito. Durante a hidrolise, unidades de glicose são removidas das extremidade não-redutoras da molécula do substrato. A taxa de hidrólise depende do tipo de ligação assim como do tamanho da cadeia; por exemplo, ligações α -1,4 são hidrolisadas mais rapidamente que ligações α -1,6, e maltotriose e maltose são hidrolisadas a uma taxa mais baixa que os oligossacarídeos maiores. Após decorrido o tempo de hidrólise, foi realizado uma análise de brix para verificar se a hidrólise estava pronta para receber o fermento. Em nossos ensaios, esta medida apresentou um valor de 19°. Para a fermentação utilizou-se 280 g de fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*) totalizando 4% do volume total. Após 48 h de fermentação a uma temperatura de aproximadamente 37°C, o hidrolisado foi destilado em coluna de vidro (Bo-silicato) com 2,20 m de comprimento, com alimentador no meio da coluna e condensador instalado na extremidade superior. A temperatura de trabalho da cabeça foi mantida entre 80 e 82 °C. Após a destilação, obteve-se álcool (etanol) a 88° GL. Após bidestilação, resultou em uma graduação alcoólica de 96°GL.

3.2.13 Foto do reator utilizado no Cerat. / experimento semi-industrial



Reator de aço inox, capacidade de 100 litros, com agitador e aquecimento por vapor, gerado por caldeira.

3.2.14 Discriminação isotópica por espectrometria de massa do etanol destilado

Amostras do etanol obtidas após hidrólise de crueira e destilação, foram diluídas na proporção de 1:2 e acondicionadas em cápsula de estanho. As cápsulas foram inseridas no analisador elementar (Etelementar, modelo EA 1108 CHN, Fisqns – Itália), acoplado ao espectrômetro de massa (modelo delta S Finnign-Mat) para análise da razão isotópica do etanol. O equipamento possui duas colunas: uma de oxidação com temperatura de 1.100°C, outra de redução com temperatura de 650°C, passando por uma coluna de cromatografia a 34°C. A razão isotópica foi determinada pelas concentrações de $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ em relação a um padrão de concentração conhecido para estas duas espécies de carbono ambiental, denominado V-PDB.

3.2.15 Análise cromatográfica por CLAE do hidrolisado de crueira e do etanol.

Para análise do hidrolisado, utilizou-se cromatógrafo HPLC Varian, modelo pró-star 410, equipado com uma coluna de separação para carboidratos do tipo HPX 87-P, a 85°C e fluxo de 0,6 mL / min.; como fase móvel, utilizou-se água destilada, com membrana 0,22 µm, com volume de injeção 20 µm / L. O padrão utilizado foi diluído para um valor equivalente a 1:100 de brix.

Para analisar o etanol, utilizou-se coluna modelo HPX 87 H, aquecida a 50° C e com fluxo de 0,7 mL / min.; Como fase móvel utilizou-se ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0,01 N, com volume de injeção de 20 µL. O padrão etanol foi diluído a 1:100 em água destilada.

3.2.16 Delineamento experimental.

O experimento, foi realizado em uma primeira fase, no laboratório sendo realizadas as análises de bancada. Na fase seguinte foram realizados testes em batelada sendo utilizado os reatores de 100 L. A fase final, foram feitas as destilações seguindo das análises cromatográficas e balanço de massa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A crueira foi processada para sua caracterização físico-química sendo que os diferentes parâmetros foram determinados por etapas. O objetivo principal das análises foi o de conhecer o potencial da crueira como substrato energético.

Primeira etapa, foi realizado a caracterização do material.

Segunda etapa, foram realizados as hidrólises ácidas e as hidrólises enzimáticas.

Terceira etapa, foram realizadas as hidrólises enzimáticas em sistema de batelada, em reatores de 100 litros.

Tabela 4.1: Caracterização da composição da crueira de mandioca, oriunda da farinha Deusa. Valores médios e desvio padrão, composto de 3 repetições.

Parâmetro	Resultados
Umidade inicial (%)	15,5 ± 0,10
Umidade desidratada (%)	5,09 ± 0,18
Amido (%)	81,1 ± 0,18
Fibras (%)	7,39 ± 0,01
Cinzas (%)	0,90 ± 0,02
Proteínas (%)	1,41 ± 0,01
Matéria graxa (%)	0,44 ± 0,01
Açúcares Sol. Totais (%)	2,24 ± 0,05
Açúcares Redutores (%)	1,06
pH	5,40
Acidez (mL NaOH N/100g)	5,48

¹Valores médios e desvio padrão, composto por três repetições.

Os resultados de caracterização de crueira apresentados na Tabela 1, indicam valores próximos aos encontrados por Cereda (2001) e CERAT (2000). Destacam-se os valores elevados encontrados para a percentagem de amido, o que de certa forma vem confirmar os experimentos preliminares. O teor de umidade, proteína e matéria graxa encontrados no material diferem pouco dos valores citados por Cereda (2001), embora os teores de proteína e lipídeos encontrados sejam superiores aos citados na literatura. Considerando-se variações naturais, como cultivar, idade fisiológica, clima, solo, etc, tais alterações são bastante comuns em caracterizações biológicas.

Tabela 4.2: Análise da suspensão inicial de crueira de mandioca e água, utilizado para o processo de hidrolise enzimático.¹

Parâmetro	Resultados
pH	5,14 ± 0,01
Fibras (%)	6,19 ± 0,02
Açúcares redutores (%)	1,70 ± 0,01
Amido (%)	2,82 ± 0,04
Umidade (%)	11,4 ± 0,01

¹Valores médios e desvio padrão, composto por três repetições.

A Tabela 2 resume os resultados obtidos na análise do hidrolisado enzimático da crueira. Os valores obtidos, demonstraram um percentual de amido no material, comparável aos resultados obtidos no CERAT/UNESP e publicados por Cereda (2001). Neste trabalho, os autores encontraram concentrações iniciais de amido da ordem de 68,48%. Assim, em comparação com estes resultados, verificou-se que o resíduo (crueira) produzido pela farinha Deusa concentra um pouco mais de amido. Em sua recuperação, ou seja, pela degradação em açúcares fermentecíveis, seria possível a obtenção de hidrolisados com maior valor de Brix.

Tabela 4.3: A análise de hidrólise ácida (HCl) da crueira de mandioca, oriunda da farinha Deusa.

Parâmetro	Resultados
pH	5,31 ± 0,02
Fibras (%)	7,35 ± 0,19
Açúcares Redutores (%)	1,95 ± 0,17
Amido (%)	3,1 ± 0,09
Umidade (%)	13,48 ± 0,15

¹Valores médios e desvio padrão, composto por três repetições.

Observou-se através deste método, que a eficiência de extração por hidrólise ácida em relação ao método enzimático é menor. Outro fator negativo, é a maior dificuldade para implementação do processo de extração, pelo tempo e custo demandado. Embora o processo seja viável para hidrólise, o presente experimento não teve continuidade em nossos ensaios, considerando-se que o ataque enzimático foi mais eficiente.

Tabela 4.4: Análise do bagaço residual da crueira proveniente da farinha Deusa após hidrólise enzimática¹

Parâmetro	Resultados
Fibras (%)	17,58 ± 0,02
Açúcares Redutores (%)	0,46 ± 0,13
Amido (%)	2,88 ± 0,02
Umidade (%)	79,9 ± 0,04
Umidade do material desidratado (%)	6,45 ± 0,05

¹Valores médios e desvio padrão, composto de 3 repetições.

Observou-se em nossos ensaios (Tabela 4), que após a hidrólise enzimática, o resíduo ainda conservava parte de açúcares redutores que não originaram produtos, além de cerca de 3 % de amido. Segundo Cereda (2001) o amido total encontrado em outros resíduos da indústria, como manipueira de fecularias e manipueira de farinhas, podem variar de 9,42 e 6,12 respectivamente.

Tabela 4.5: Análise de hidrolisado, fermentação e destilação em pequena escala, a partir de amostras de 170 g de crueira¹

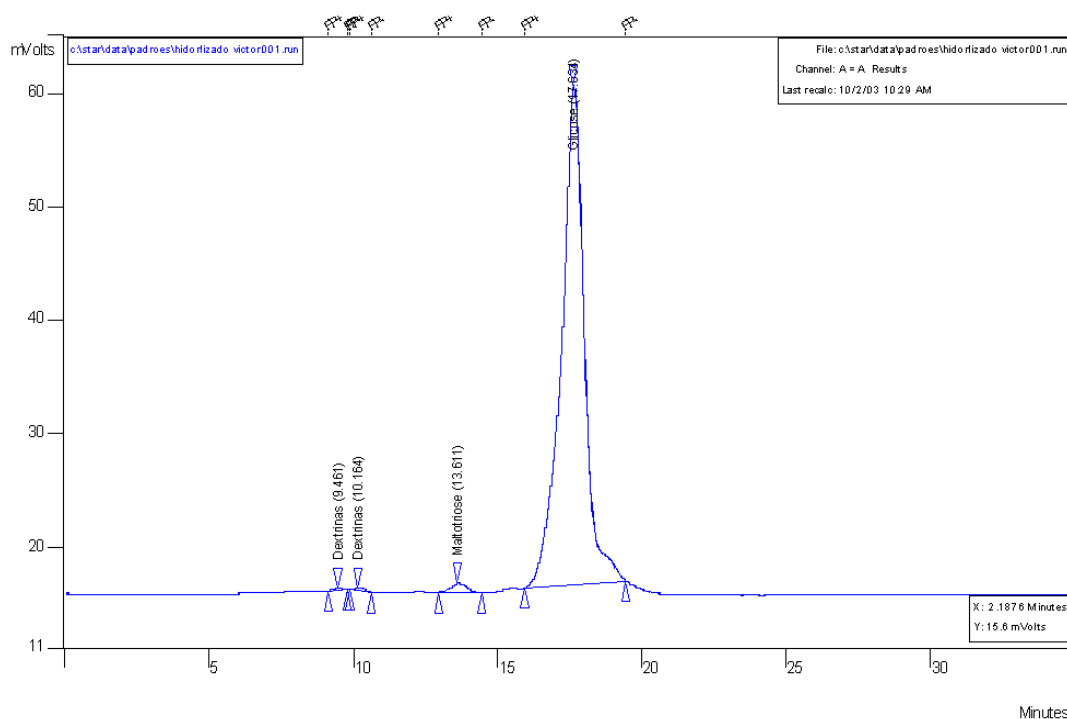
Parâmetro	Resultados
Mosto filtrado (g)	31,1 ± 0,79
Sobra de bagaço (g)	194,3 ± 2,08.
Destilado (mL)	80,0
Destilado (°GL)	95 ± 0,20
Concentração de etanol (%) ²	99.19 ± 0,24

¹Valores médios e desvio padrão, composto de 3 repetições ; ²Análise realizada no CERAT/UNESP.

Observamos neste experimento, que todas as análises seguiram um mesmo padrão de hidrólise, com resultados comparáveis entre si. Pela utilização das enzimas endo-amilases, (Termamyl 120 L e AMG 300 L) verificou-se que o rendimento ficou próximo das especificações da Novozymes, produtora das enzimas, além de confirmar a eficiência destas enzimas. Destaca-se a concentração de etanol obtido, pelo seu alto teor, podendo ser classificado como álcool fino próximo àqueles obtidos de cereais. As análises cromatógráficas a serem apresentadas na sequência, confirmam estas observações. Vários trabalhos, discutem a utilização de resíduos da indústria da mandioca como fontes potenciais para a produção de álcool. Destacam-se as citações de Leonel (1997) ; Leonel (2001), quanto a utilização de enzimas complementares ; Srikanta *et al* (1987) entre outros. Embora trabalhando com farelo, Srikanta obteve eficiência de cerca de 65% no processo quando partiu para fermentação do xarope. Em comparação a hidrólise ácida com a enzimática, nas tabelas 4.3 e 4.4, fica demonstrado que a hidrólise enzimática neste experimento foi mais eficiente que a ácida.

Tabela 4.6: Análise do xarope final obtido por hidrólise enzimática, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala laboratorial.

Parâmetro	Resultados
pH	5,25
Açúcares redutores	121,7 g L ⁻¹
Brix	15°
% de açúcar (CLAE)	97,49 (%) Glicose 1,35 (%) Maltotriose 1,16 (%) Dextrinas



Cromatografia, % de açúcar (CLAE)

97,49 (%) Glicose

1,35 (%) Maltotriose

1,16 (%) Dextrinas

Em hidrólise enzimática realizada em laboratório, obteve-se um xarope para fermentação, onde sua concentração de açúcar fermentecível foi da ordem de 97,49% conforme Tabela 5.

Neste material, o Brix encontrado foi de 15°. Segundo Lima (2001) as concentrações de mostos ideais para serem usados nas fermentações para obtenção de álcool, devem se situar entre 15° e 25° brix. Entretanto, mostos mais diluídos, fermentam mais rapidamente, diminuindo também o processo de incrustação do destilador. Já os mostos com brix mais concentrados, ocasionam maiores perdas em açúcares infermentados, com temperaturas mais altas durante a fermentação.

A análise cromatográfica do xarope por CLAE, revelou uma concentração de açúcares predominantemente na forma de glicose (cerca de 97%), sendo o restante subdividido entre maltoses e dextrinas.

Tabela 4.7: Análise do hidrolisado de crueira realizado em escala semi industrial, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Parâmetro	Resultados
Dextrinas (%)	0,4500
Maltotriose (%)	1,1961
Glicose (%)	98,3539

Observamos que os resultados obtidos para a análise do hidrolisado obtido em batelada, os valores não se diferenciaram muito daqueles obtidos em escala menor, ou na bancada de laboratório (Tabela 4.5). Para ambos os processos, a eficiência de hidrólise enzimática foi bem comparável.

Os carboidratos constituintes do hidrolisado de crueira, mostraram perfil de açúcares característico, onde a glicose foi o açúcar predominante seguida de pequenas percentagens dos demais açúcares analisados.

Os resultados das análises demonstraram que a crueira da mandioca, tem alto potencial energético em função do teor de amido presente, o que a credencia para hidrólise em fermentações para produção de álcool fino. Desta forma, existe viabilidade econômica para seu uso, uma vez que pode-se agregar valor a um resíduo muitas vezes descartado na indústria.

O investimento em uma destilaria de álcool para produção de álcool de crueira, estimá-se através de cálculos do departamento financeiro da farinheira Deusa, em relação a produção mensal de crueira (6,875 t), com uma produção diária de 275 kg. Com produção estimada de álcool produzido de aproximadamente 100 litros diários e 2.500 litros mensais. O custo de implantação na farinheira fica aproximadamente em torno de R\$ 28.000,00.

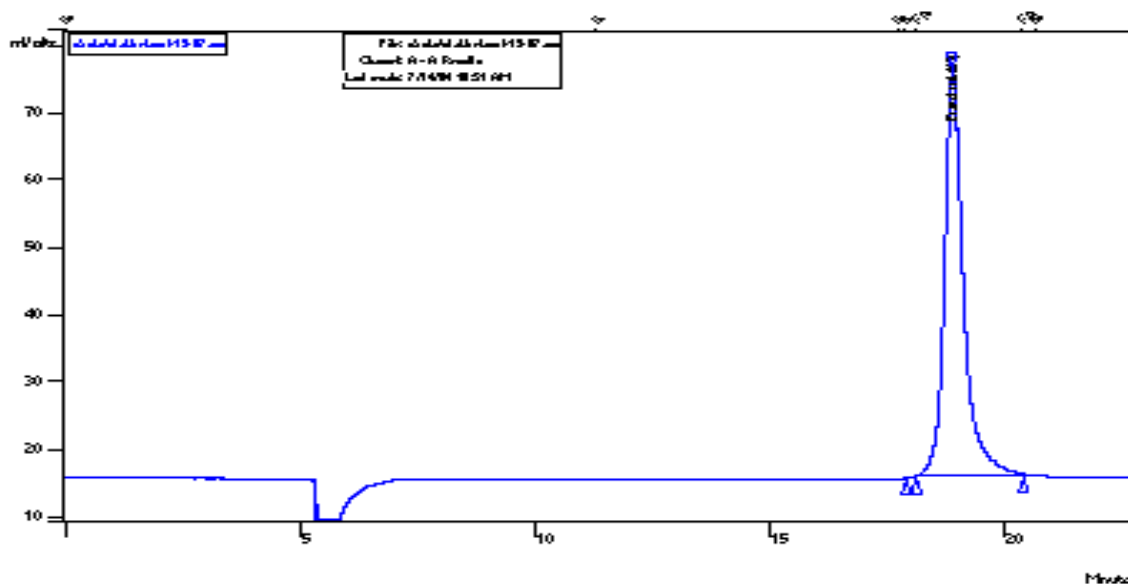
Tabela 4.8: Análise cromatográfica (CLAE) do álcool obtido por destilação do fermentado.

Parâmetro	Resultados
Concentração de etanol (%)	99,47
Outros compostos (%)	0,52

Através de destilação simples em laboratório, foram obtidas amostras de álcool o qual, após análise cromatográfica apresentou concentração de etanol da ordem de 99,47%. Com este grau de pureza, o produto pode ser empregado para produção de bebidas, cosméticos, medicamentos, etc. Segundo Lopes (1986) o álcool etílico não apresenta diferenças quanto a origem da matéria-prima utilizada. Algumas diferenças podem advir de impurezas presentes ao álcool, as quais irão caracterizar cada matéria-prima e também o seu grau de pureza. O etanol, considerado álcool de cereais em função de seu grau de pureza, pode ser considerado um produto de alto valor agregado, diferenciando-se de outros produtos obtidos na indústria da mandioca.

Tabela 4.9: Resultados obtidos da fermentação e destilação em batelada, utilizando o hidrolisado em reatores de 100 L.

Parâmetro	Resultados
Crueira (g)	4.450
Água destilada (L)	18
Brix do hidrolisado	19°
Mosto filtrado (g)	12.000
Sobra de bagaço (g)	7.350
Vinhaça (L)	8,4
% brix da sobra de bagaço	8°
Amido(g) por Kg de bagaço	0,8
Destilado (mL)	1,780
Álcool destilado (°GL)	88°
Álcool bidestilado (°GL)	95°
Etanol (%)	82,20



Cromatografia do etanol diluição 1 / 100 do destilado obtido do hidrolisado realizado em reatores tipo batelada em tanques de 100 litros.

Analisando-se a Tabela 9, observa-se que os resultados obtidos em relação ao percentual de etanol, difere daquele observado em condições de laboratório, com uma eficiência menor no sistema de batelada. Segundo Srikanta *et al.* (1987) o rendimento do processo de produção de etanol a partir de farelo de mandioca com hidrólise ácido-enzima apresentou eficiência da ordem de 65,52 %. Estes valores são muito próximos aos encontrados no presente experimento(65,8 %, com hidrólise exclusivamente feita por via enzimática), como poderá ser verificado no balanço de massas (pagina 45).

Tabela 4.10: Discriminação isotópica por espectrometria de massa do etanol, destilado do hidrolisado de crueira.

Parâmetro	Resultados
Amostra : Etanol (álcool de crueira)	-26,79 ± 0,07

A idéia de se realizar um teste de discriminação isotópica no álcool obtido após hidrólise enzimática da crueira, nasceu da discussão sobre a rastreabilidade de sua composição em esqueletos carbônicos. Observou-se que, pela análise de discriminação de carbono, o etanol produzido via fermentação do hidrolisado de crueira, confirmou sua origem, como componente de uma planta C₃. Outras plantas economicamente importantes, também se incluem na via C₃, como por exemplo o arroz, leguminosas em geral, trigo, cevada, frutas, hortaliças, beterraba, algodão, alfafa, soja e feijão. O resultado encontrado para as amostras de álcool de crueira de mandioca confirmam sua origem em planta C₃, de acordo com tabela publicada por Ducatti (2004).

Via fotossintética	$\delta^{13}\text{C}$	Δ
C ₃	-21 a 35‰	13 a 22‰
C ₄	-10 a -14‰	4 a 8‰

Esta análise facilitará, como referência, o estudo da origem de álcool de cereais, cujas fontes podem ser identificadas, conforme peculiaridades distintas das plantas.

O balanço de massas do processo está resumido nas tabelas abaixo.

A partir de amostras de crueira, determinou-se os teores de umidade, matéria seca e amido. Nestas análises ficou evidenciado que a crueira é um resíduo de descarte ainda rico em amido (80 %). Seu teor de umidade é de cerca de 15 %, com matéria seca na faixa de 84 %.

CRUEIRA

Teor de umidade	15,71%
Matéria seca	84,29%
Amido	79,73%

Para o balanço de massas, aplicou-se um sistema hidrólise em batelada, iniciando-se pela hidratação do material. Após caracterização, o mesmo revelou cerca de 3 g de amido total, sendo que os açúcares totais foram da ordem de 86 g.

CRUEIRA

Gramas de crueira	4.450
Gramas de águas	699,1
Gramas de MS	3.750,9
Gramas de amido	2.989,8
Gramas de fibras	275,5
Gramas de açúcares totais	86,25

Ao final da hidrólise enzimática, obteve-se dois componentes: um xarope com Brix em torno de 19° e um bagaço residual que ainda continha traços de amido. Com o xarope, efetuou-se fermentação, com obtenção de um volume final de 1,78 L de álcool.

HIDRÓLISE

Xarope brix (%)	19°
Fermentação (%)	4%
Volume de álcool (L)	1,78
Bagaço úmido (g)	7.350
Amido (g)	5,8

Para o estudo do rendimento, considerou-se o cálculo de massa de glicose ($C_6 H_{12} O_6$) presente no mosto e no bagaço. Para esta análise, considerou-se as seguintes variáveis: m (mosto + bagaço) = 19350 g; Brix = 19°; m ($C_6 H_{12} O_6$) = **3676,5 g**.

Para o cálculo do volume de etanol teórico, utilizou-se os seguintes valores: Glicose (180 g); [4% de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*)]; $2CO_2(g)$ (88 g) + $2 H_3CCH_2OH$ (92 g). A massa obtida no processo foi na faixa de 3676,5 g, sem do massa do etanol calculada pela expressão:

$$\text{Massa do etanol} = \frac{3676,5 \times 92}{180} = 1879,1 \text{ g}$$

Dividindo-se a massa do etanol pela sua densidade a 20° C (0,7895 g / mL) obtem-se um volume teórico de etanol a 100%, conforme a expressão:

$$V = 1879,1 / 0,7895 = 2380,1 \text{ mL de etanol a 100 \%}$$

Para o cálculo de rendimento, inicialmente, calculou-se o volume de álcool obtido: $(\text{Vol. etanol a } 100 \% = 1.780) \times 0,88 = 1566,4 \text{ mL}$

Em seguida, este resultado foi dividido pelo valor do volume teórico de álcool a 100% de etanol, conforme expressão:

$$\text{Cálculo do Rendimento} = R = [\text{Vol.Obtido} / \text{Vol.Teórico}] \times 100 \% \rightarrow R = [1566,4 / 2380,1] \times 100 = \mathbf{65,8 \%}$$

Após realizar a hidrólise enzimática, fermentação e a destilação utilizando reatores de 100 L na forma de batelada. Com estes resultados, demonstrou-se que o aproveitamento da crueira de mandioca produzida como resíduo das farinheiras pode ser uma excelente alternativa na produção de etanol.

5. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos nos experimentos foi possível concluir:

1- Após caracterização da crueira, concluiu-se que a mesma reúne características físico-químicas bem peculiares em relação ao teor de amido quando comparada a outros resíduos da indústria da mandioca.

2- Após testes com duas modalidades de hidrólise (química e enzimática), concluiu-se que a hidrólise enzimática apresentou melhores resultados em todos os aspectos. Onde se verificou que uma tonelada de crueira, é capaz de produzir aproximadamente 370 litros de álcool fino, tendo um rendimento médio de 65,8 %.

3- Os testes paralelos com o álcool produzido, mostraram se tratar de um produto de alta pureza e rastreabilidade, comprovando-se ser um álcool C₃.

Por fim, de modo geral, concluímos que, as farinheiras podem estabelecer programas de reciclagem da crueira gerada em seus processos industriais, como fonte de energia, com objetivo de produção alternativa de álcool C₃.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, L. F. T; FIALHO, E. T; THIRÉ, M. C. Avaliação química e biológica de alguns alimentos usados em rações para frangos de corte. Comunicado Técnico, Concórdia, v. 56, p. 1-2, maio 1983.

BARREIROS, R. M.; SANSÍGOLO, C. A. **Caracterização de amostras de resíduos de mandioca**. Botucatu: Departamento de tecnologia dos Produtos Agropecuários, Faculdade de Ciências Agrônomicas, 1994. 3p.

BARROS, G. S. C. et al. **A indústria de amido de mandioca**. Piracicaba: ESAQ, CEPEA , EMBRAPA, 2002. 269 p. (Relatório de pesquisa).

CABELLO, C. **Identificação de parâmetros para monitoramento de processo contínuo de hidrólise enzimática, na produção de glicose a partir de fécula de mandioca**. 1995. 208p. Tese (Doutorado) em Agronomia / Energia na agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu.

CARDOSO, C. E. L. **Competitividade e inovação tecnológica na cadeia agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil**. 2003. 188 p. Tese (Doutorado em Ciências), Faculdade Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. In: _____. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 01, p. 13-37.

_____. Resumo da composição média dos diversos sub produtos sólidos de mandioca. In: _____. **Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 1, p. 23.

_____. Características físico-químicas de manipueira de indústria de processamento de mandioca no Estado de São Paulo. In: _____. **Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 1, p. 32.

_____. Valores médios para caracterização de resíduos líquidos da industrialização da mandioca. In: _____. **Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 1, p. 33.

_____. Produção e uso de amido. In: _____. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 1, cap. 2, p. 21-56.

_____. Propriedades gerais do amido. In: _____. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 1, cap. 1, p. 13-20.

CEREDA, M. P. **Resíduos da industrialização da mandioca no Brasil**. São Paulo: Paulicéia, 1994. 174p.

_____. Valorização de subprodutos como forma de reduzir custos de produção. In: _____. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 24, p. 305-320.

DEL BIANCHI, V. L. **Balanço de massa e de energia do processamento de farinha de mandioca em uma empresa de médio porte do Estado de São Paulo**, 1998. 118 p. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. **Método de análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em matéria orgânica e das razões $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos.** Na. Acad. Brasil. Cienc., 51(2), p. 275-286, Botucatu, 1979.

FUJII, M. HOMMA, T; TANIGUCHI, M. Synergism of α – amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. **Biotechnol. Bioeng.**, v. 32, p. 910 – 915, 1988.

LEONEL, Magali. O farelo, subprodutos da extração de fécula de mandioca. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 15, p. 211-216.

LEONEL, Magali. **Uso de enzimas complementares na produção de etanol a partir de farelo de mandioca.** 1998. 118 p. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C; AMORIM, H.V. Produção de etanol. In _____. **Biotecnologia industrial, processos fermentativos e enzimáticos.** São Paulo: 2001. v. 3, cap. 01, p. 01-43.

LOPES, C. H. **Glossário de termos técnicos para a indústria sucro-alcooleira.** Piracicaba: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1986. 32p.

_____. Uso dos subprodutos da industrialização da mandioca na alimentação animal. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 18, p. 229-239.

_____. Uso dos subprodutos da industrialização da mandioca na alimentação animal. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Hidrólise enzimática do farelo de mandioca: glicose e álcool.** São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 22, p. 286-288.

MELOTTI, L. Contribuição para o estudo da composição química e valor nutritivo dos resíduos da industrialização da mandioca, *Manihot utilíssima*, POHL, no Estado de São Paulo. **Bol. Ind. Anim.**, São Paulo, v.7, p. 339-374, 1972.

MOTTA, L. C. **Utilização de resíduos de industrialização de farinha de mandioca em digestão anaeróbia**. 1985. 119f. Dissertação (Mestrado)–Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista de Botucatu, Botucatu, 1985.

NOVOZYMES. **Catálogo de enzimas**, 2003. Paraná, PR, 2003. 24 p.

OSPINA, M. T. **Análise de projeto de investimento aplicadp aos processos de secagem e enriquecimento protéico do farelo gerado nas fecularias de mandioca**.1998. 130f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura)–Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista de Botucatu, Botucatu, 1998.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: O Instituto, 1985. 533p.

RODRIGUES, A. A; CAMPOS, O. F. Resíduos industriais da raiz da mandioca na alimentação de bovinos. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, cap. 19, p. 240-258.

SAMPAIO, A. O.; FERREIRA FILHO, J.; ALMEIDA, P. A. Cultivo consorciado de mandioca para alimentação animal. **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 13, n. 1, p. 89-98, 1994.

SANGRILO, E. et al. Quantificação e caracterização dos resíduos agrícolas da mandioca do Paraná. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Agricultura: tuberosas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 2, cap. 19, p. 413-434.

SILVA, M. N.; CEREDA, M. P.; FIORINI, R. A. Multiplicação rápida de mandioca. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Agricultura: tuberosas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. V. 2, cap. 9, p. 187-197.

SRIKANTA, S. et al. Novel Technique for saccharification of cassava fibrous waste for alcohol production. **Starch Starke**, v. 39, n. 7, p. 37-234, 1987.

TERNES, Murito. Fisiologia da planta. In: CEREDA, Marney Pascoli (Coord.). **Agricultura: tuberosas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 2, cap. 4, p. 66-82.

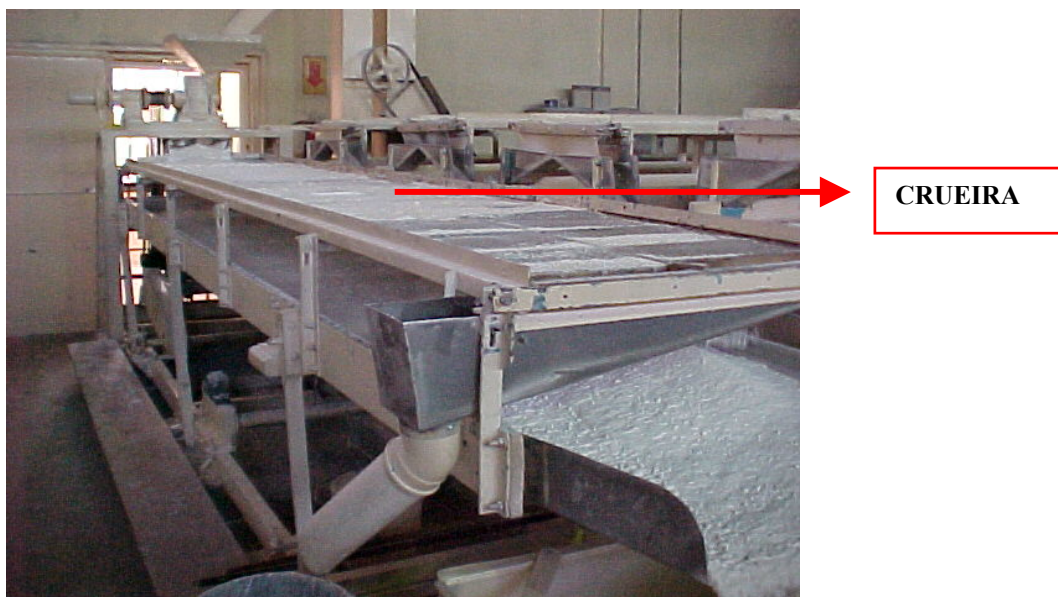
THIEMANN, J. E. Produção de enzimas por fermentação semi-sólidas com especial referência às celuloses In: SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E BIOMASSA, 3, 1987, Maringá. **Anais...**Maringá: 1987. p. 107-131.

VIÉGAS, A. P. Estudos sobre a mandioca. Campinas: Instituto Agronômico do Estado de São Paulo/BRASCAN Nordeste, 1976. p. 189-214.

7. APÊNDICES



7.1 Matéria-prima (mandioca), utilizada nas farinheiras.



7.2 Processo de obtenção do resíduo crueira.



7.3 hidrolisado / destilação



7.4 Destilação do hidrolisado de crueira