

DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
BIB425 – Práticas em Recursos Econômicos Vegetais

OBTENÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE FONTES AMILÁCEAS

1. PREPARO DA GOMA DE AMIDO

- Cozinhar 1 Kg de batata doce (previamente descascada) em água acidulada (pH = 4,5-5,0) durante 2 h.
- Esfriar à temperatura ambiente e bater o material cozido em liquidificador.
- Adicionar água até obter-se uma densidade entre 1,06 e 1,08.
- Medir 1.000 mL da solução coloidal final.

2. SACARIFICAÇÃO

Sacarificação por meio de ácidos minerais

- Adicionar a 1.000 mL da goma de amido 108 mL de HCl concentrado (37%), para se obter uma solução final a 1,3 N.
- Deixar sob refluxo por 1,5 h, atentando para que a *goma de amido na parte inferior do balão não esteja em repouso*, o que provoca caramelização e até carbonização do material.

3. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

- Acertar o pH da solução sacarificada para 5,5-6,0 com o acréscimo de hidróxido de amônio ou ácido acético concentrados.
- Acrescentar 100 mL de tampão fosfato pH 6,0.
- Homogeneizar cerca de 15 g de levedura (fermento para pão) em água e acrescentar ao hidrolisado. Deixar em fermentação durante pelo menos 24 h com aeração ou agitação constante.

4. DESTILAÇÃO

- Transferir o fermentado para um balão de destilação. Destilar o álcool obtido, recolhendo-o em proveta de 500 mL.
- Monitorar o processo, através da medida do grau alcoólico. Calcular a quantidade de álcool obtida, através da fórmula:

$$\text{quantidade de álcool obtida (g)} = \frac{\text{graus GL} \times 100}{\text{volume (mL)}}$$

- Manter a destilação até que não haja acréscimo sensível da quantidade de álcool obtida.

DOSAGENS A SEREM REALIZADAS DURANTE O PROCESSO

Determinação de açúcares totais (com a goma de amido)

Método do fenol-sulfúrico

Procedimento

- a) Em tubos de ensaio de 30 ml, colocar 0,40 ml, 0,50 ml, 0,60 ml, 0,70 ml, 0,80 ml, 0,90 ml e 1,00 ml de solução de glicose a 100 µg/ml. Acrescentar a cada tubo, respectivamente, 1,60 ml, 1,50 ml, 1,40 ml, 1,30 ml, 1,20 ml, 1,10 ml e 1,00 ml de água destilada. Pipetar 2 ml de água destilada para o tubo correspondente ao branco.
- b) Adicionar 0,5 ml de solução de fenol a 5% a cada tubo.
- c) Através de bureta, acrescentar a cada tubo 5 ml de H₂SO₄ concentrado.
- d) Agitar os tubos e deixá-los em repouso por 10 min.
- e) Transferir 5 ml (medidos em proveta) da goma de amido para um proveta de 100 ml. Completar o volume com água destilada e agitar. Pipetar 1 ml para uma proveta de 50 ml, completar o volume com água destilada e agitar.
- f) Transferir 0,5 ml dessa proveta para um tubo de ensaio de 30 ml. Acrescentar 1,5 ml de água destilada.
- h) Aplicar a esse tubo todos os procedimentos correspondentes ao itens **b a d**.
- i) Comparar a intensidade da coloração do tubo correspondente à amostra com as dos tubos de referência, ou seja, os que contêm glicose em quantidade conhecida. Verificar com qual tubo, ou em que intervalo, coincide a intensidade da coloração da amostra.
- j) Calcular a quantidade (em gramas) de açúcares totais no volume original de 1.000 ml da goma de amido através da seguinte fórmula:

$$\text{açúcares totais (g)} = \frac{m \times 100 \times 100 \times 200}{10^6}$$

$m = \mu\text{g}$ de açúcares presentes em 0,5 ml da solução do item f.

Determinação de açúcares redutores (com o produto da sacarificação)

Método de Somogyi

- a) Preparar 10 ml de uma mistura dos reagentes I e II da seguinte maneira: 4 partes da solução I e 1 parte da solução II.
- b) Em tubos de ensaio de 30 ml, colocar 0,10 ml, 0,20 ml, 0,30 ml, 0,40 ml, 0,50 ml, 0,60 ml, 0,70 ml e 0,80 ml de solução de glicose a 100 µg/ml. Acrescentar a cada tubo, respectivamente, 0,90 ml, 0,80 ml, 0,70 ml, 0,60 ml, 0,50 ml, 0,40 ml, 0,30 ml e 0,20 ml de água destilada. Pipetar 1 ml de água destilada para o tubo correspondente ao branco.
- c) Acrescentar a cada tubo 1 ml da solução preparada no item **a** e agitar por alguns segundos.
- d) Levar a um banho-maria fervente por 10 min e em seguida resfriar em água à temperatura ambiente.

- e) Pipetar para cada tubo 2 ml do reagente III.
- f) Agitar vigorosamente até que se desprendam gases da solução (ou até que não se observe espuma no tubo).
- g) Acrescentar aos tubos 5 ml de água destilada. Homogeneizar.
- h) Tomar 5 ml da amostra (amido hidrolisado) em proveta de 100 ml. Colocar 4 gotas de fenolftaleína. Neutralizar com NaOH 4N, completar o volume com água destilada e agitar.
- i) Transferir 1 ml dessa solução para uma proveta de 100 ml e completar o volume com água destilada. Agitar.
- j) Transferir 1 ml da solução para um tubo de ensaio.
- k) Proceder com esse tubo de modo idêntico ao que foi executado nos itens **c a g**.
- l) Comparar a intensidade da coloração do tubo correspondente à amostra com as dos tubos de referência, ou seja, os que contêm glicose em quantidade conhecida. Verificar com qual tubo, ou em que intervalo, coincide a intensidade da coloração da amostra.
- m) Calcular a quantidade (em gramas) de açúcares redutores no volume original de 1.000 ml do hidrolisado da goma de amido através da fórmula:

$$\text{açúcares redutores (g) (sacar. leite de malte)} = \frac{m \times 100 \times 100 \times 200 \times 1,15}{10^6}$$

ou

$$\text{açúcares redutores (g) (sacar. ácida)} = \frac{m \times 100 \times 100 \times 200 \times 1,108}{10^6}$$

m = quantidade (μg) de açúcares redutores em 1 ml da solução do item j.