

UTILIZAÇÃO DO BACTERICIDA ULTRANOL® NA OTIMIZAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA

Bruno Leandro Rodrigues de Souza¹; Guilherme de Sousa²; Mauro Luiz Begnini³

^{1,2} Universidade de Uberaba

bruno.leandro@bpbungebio.com.br

Resumo

Para o estudo apresentado foi tratada a implementação de um produto que não fazia parte da fermentação alcoólica em uma unidade de uma usina sucroenergética. A fermentação alcoólica consiste em transformar os açúcares presentes no caldo de cana (o processo em questão trabalha com a matéria prima cana-de-açúcar), em etanol por meio da adição de leveduras do gênero *Saccharomyces Cerevisiae*. Este produto é denominado Ultranol®, e possui função biocida quando implementado na fermentação. Vale ressaltar que foram feitas comparações para as safras anuais de 21/22 e 22/23, com o objetivo de se quantificar o consumo de produtos químicos no ano que não se utilizou o produto (21/22) e comparar com o ano em que foi utilizado o Ultranol®. Para fins de implantação foram realizados estudos que embasassem a utilização do Ultranol® no processo, estudos estes que consistiram em experimentos e cálculos que contemplassem viabilidade, bastonetes e rendimento fermentativo. Analisados tais parâmetros, foram notados aumentos na viabilidade e rendimento fermentativo e um decréscimo na população de bastonetes (organismos unicelulares do tipo gram negativas). Com esses parâmetros quantificados e avaliados foi possível determinar a eficácia de implantar um produto diferente em um processo que já possuía um ritmo de operação estabelecido (não foram feitas mudanças significativas no processo além da aplicação do biocida).

Palavras-chave: Produção. Etanol. Fermentação. Ultranol®.

1 Introdução

O etanol é um produto de interesse comercial que é amplamente utilizado pela sociedade. Ele pode ser utilizado como matéria prima para diversas finalidades, bem como a confecção de produtos de limpeza, solventes, pinturas, combustíveis, entre outros. Por ser um produto de alto valor agregado, sua produção precisa possuir o menor custo possível para que se possa alcançar um retorno monetário que seja superior ao valor empregado inicialmente, e assim obter lucro para as empresas produtoras. Um dos grandes desafios na fabricação de etanol é o controle das infecções

no processo fermentativo, visto que para ocorrer a fermentação são utilizadas leveduras, que por sua vez são seres vivos e estão sujeitas a processos infecciosos causados por fatores externos, o que nas dornas de fermentação é denominado de floculação (K.M. LUDWIG, 2001).

Para o presente estudo será utilizada a levedura do gênero *Saccharomyces Cerevisiae*, que é um organismo unicelular pertencente ao reino dos fungos, ela é utilizada na produção de etanol a partir do caldo da cana-de-açúcar. Para tal, a levedura precisa consumir o açúcar (sacarose) presente no caldo e transformar em gás carbônico, ATP (energia) e etanol. Caso haja um processo infeccioso no processo fermentativo, é provável que ocorram os seguintes cenários: floculação, redução da viabilidade do processo, aumento do tempo fermentativo, excreção de produtos tóxicos, entre outros (LOPES, MARIO LUCIO, 2017).

Os processos fermentativos a partir do caldo de cana são propícios a desenvolverem contaminações, visto que são ricos em materiais orgânicos e inorgânicos, presença de água, pH e temperaturas favoráveis (CHERUBIN, 2003). Dito isso, é preciso que se encontrem formas de combater as infecções causadas ao longo do processo fermentativo, sempre visando maior rendimento e menor consumo de produtos com alto valor agregado (ácido e antibióticos).

Para que haja uma redução no custo dos produtos químicos de forma geral, o estudo se baseia na aplicação do biocida denominado Ultranol® que por sua vez irá reduzir o índice de infecções no decorrer do processo fermentativo, o que acarreta na diminuição do consumo de ácidos e antibióticos, e favorecer a produção de etanol.

No que diz respeito ao combate de infecções, a aplicação de ácido sulfúrico não pode ser completamente descartada com a utilização do biocida, visto que, o ácido não somente controla as infecções nos processos fermentativos, mas também corrige o pH (o valor de pH ideal na fermentação alcoólica com a levedura *Saccharomyces Cerevisiae*, varia de 2,3 a 2,5) (REIS, ET AL, 2017). Quanto aos antibióticos, eles têm a finalidade de tratar a infecções na levedura, isso ocorre em razão da levedura ser considerada um ser vivo, e pode ser acometida de processos infecciosos. No entanto, a utilização de antibióticos também não será extinta em virtude da utilização do

biocida, já que processos infecciosos ainda podem ocorrer ao longo do processo.

Portanto, o estudo tem como objetivo principal, a substituição dos custos relacionados ao consumo de materiais como ácidos e antibióticos, visto que, uma utilização do biocida Ultranol[®], pode reduzir o consumo de produtos utilizados para tratar infecções nas dornas de fermentação, o tornando uma alternativa interessante, já que o biocida pode acarretar em um ganho de produtividade por ser uma medida preventiva de combate a infecções.

2 Materiais e Métodos

Para os materiais foram utilizados o NIRS DS25000[™] e o Microscópio Bioval L1000.

Quanto ao NIRS este tem como função realizar a análise dos materiais e fornecer os resultados de forma semiautomática.

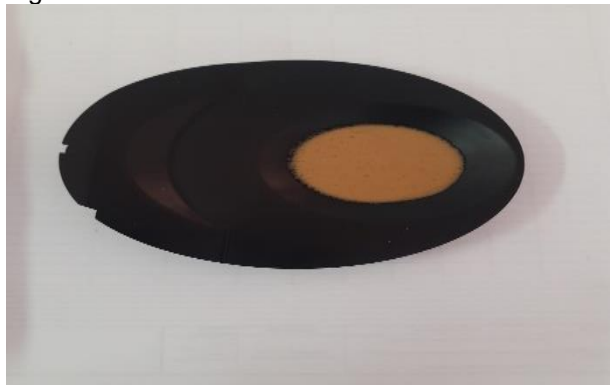
Figura 1: NIRS



Fonte: Autor

Ele realiza as análises de maneira que precisa de um operador (analista de laboratório), para realizar a coleta do material a ser analisado, e com isso inserir a amostra desejada na janela ótica, que pode ser visualizada na Figura 2 a seguir.

Figura 2: Janela ótica do NIRS



Fonte: Autor

Para amostragem em questão foi utilizado vinho bruto (caldo com levedura), sendo assim o

procedimento no equipamento NIRS envolve os seguintes preparativos.

- Cubeta: Slurry Cup + 0,5mm Gold Reflector
- Preparo da Amostra: Amostra de dorna será lida no NIR com dois diferentes preparos. Primeiro com homogeneização para primeira leitura e centrifugação para segunda leitura.
- Temperatura de Amostra: Temperatura Ambiente! (25+5°C)
- Precauções: Atentar à temperatura da amostra, pois pode vir quente do processo. Analisar simultaneamente com o método de referência evitando demasiado tempo de espera pois a amostra pode ainda estar em processo de fermentação alterando assim os parâmetros.

Com isso são feitos os seguintes procedimentos.

1. Homogeneizar amostra para primeira leitura.
2. Inserir amostra cobrindo a janela ótica e com volume suficiente para preencher o espaço entre o gold reflector e a janela da slurry cup.

Figura 3: Inserção de amostra no NIRS



Fonte: Autor

3. Inserir gold reflector com cuidado e observar se não permaneceu bolhas no caminho ótico.
4. Inserir a cubeta no equipamento com o RFID alinhado conforme imagem 03 e fechar a tampa do equipamento. Não demorar a inserir pois o levedo pode decantar na amostra homogeneizada (vide imagem abaixo).
5. Realizar 2 leituras identificando a amostra com o mesmo número seguido de A e B, e posteriormente inserir o mesmo valor de referência nas duas leituras.

Tratando a respeito da técnica de microscopia para contagem de bastonetes, é necessário seguir as seguintes etapas para se trabalhar com o modelo de microscópio de bancada Bioval L1000.

Figura 4: Microscópio modelo Bioval L1000.



Fonte: Autor

1. Coletar a amostra e diluir com água ultra - pura, ou deionizada se necessário;
2. Homogeneizar bem a amostra e transferir uma alíquota de (3 - 5 mL) para um tubo de ensaio; se a amostra apresentar muitas impurezas, filtrá-la antes com algodão;
3. Adicionar uma pequena quantidade de papaína na amostra de vinho bruto, em seguida homogeneizar em agitador de tubos e deixar em repouso por 5 min;
4. Posteriormente transferir 1,0 mL da amostra para outro tubo de ensaio com rosca contendo 1,0 mL de solução Azul Nilo + Azul de Metileno e homogeneizar em agitador de tubos;
5. Transferir com uma pipeta de 0,1 mL (1/1000) 0,003 mL ou com microseringa 3 µL da amostra corada para uma lâmina de vidro, cobrindo-a com uma lamínula (22x22) ou 0,004mL para lamínulas de 24 x 24mm, acrescentar uma gota de óleo de imersão e levar ao microscópio em objetiva de 100 x;
6. Contar os Bastonetes não corados presentes em 50 campos para vinho e 70 campos para caldos; Os campos devem ser uniformemente distribuídos na área da lamínula;

Vale lembrar que este microrganismo aparecerá em formato de um bastão, conhecido por bastonete. Os bastonetes vivos apresentarão uma coloração verde bem clara, característico por não absorver corante; e os bastonetes mortos apresentarão com uma coloração azul.

Para realizar os cálculos de população de bastonetes foi preciso trabalhar a Equação 1.

$$\text{População de Bastonetes (MI)} = \frac{N^{\circ} \text{ Bastontes}}{N^{\circ} \text{ de campos contados} \times 15406,2 \times 333,33 \times D} \quad (1)$$

O descritivo dos dados acima é: 15406,2 equivale ao fator do microscópio; 333,33 é o fator da lamínula (22x22), D é a diluição.

Quanto aos cálculos de viabilidade é preciso trabalhar a Equação 2.

$$\% \text{Células vivas} = \frac{\text{Total de células vivas}}{\text{Total de células vivas} + \text{Mortas}} \times 100 \quad (2)$$

E o rendimento da fermentação foi calculado em função do álcool produzido em relação aos açúcares consumidos, conforme mostra a Equação 3.

$$\text{Rendimento da fermentação} = \frac{\text{Álcool produzido}}{\text{Açúcares consumidos}} \times 100 \quad (3)$$

3 Resultados

Para utilizar o Ultranol® em um processo fermentativo, antes foram feitos testes em escala laboratorial, para que fossem quantificadas as escalas que seriam utilizadas industrialmente. Com isso foram feitos testes de bancada com um biocida genérico (Branco), para que assim se pudesse confrontar os resultados obtidos com o Ultranol®.

Os gráficos a seguir, nas figuras 05, 06, 07 são comparativos entre as safras de 21/22 – 22/23 (teste de bancada). Para chegar aos resultados demonstrados foram feitos os cálculos a seguir.

Cálculo de células vivas para safra de 21/22.

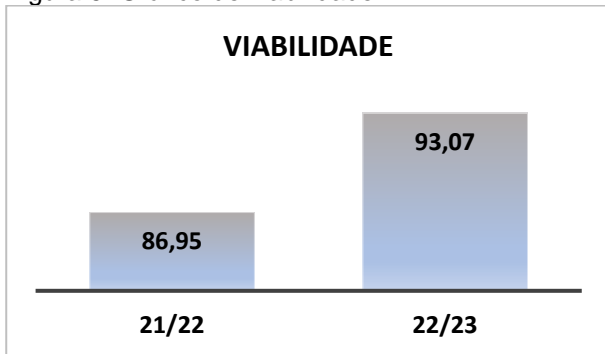
$$\% \text{Células vivas} = \frac{440}{440+66} \times 100 = 86,95 \%$$

Cálculo de células vivas para safra de 22/23.

$$\% \text{Células vivas} = \frac{497}{497+37} \times 100 = 93,07 \%$$

O Gráfico da Figura 5 demonstra as diferenças de viabilidade:

Figura 5: Gráfico de viabilidade



Fonte: Autor

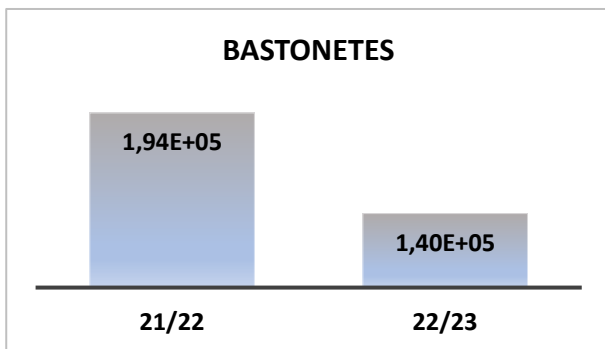
Cálculo de população de bastonetes para safra de 21/22.

$$\text{População de Bastonetes (ML)} = \frac{9,96 * 10^{14}}{50 * 15406,2 * 333,33 * 20} = 1,94 * 10^5$$

Cálculo de população de bastonetes para safra de 22/23.

$$\text{População de Bastonetes (ML)} = \frac{7,18 * 10^{14}}{50 * 15406,2 * 333,33 * 20} = 1,40 * 10^5$$

Figura 6: Gráfico de contagem dos Bastonetes



Fonte: Autor

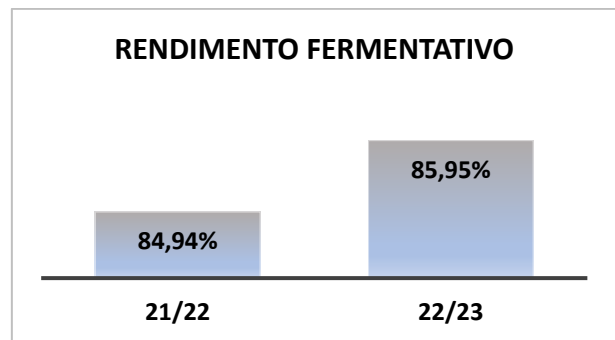
Cálculo para rendimento fermentativo safra 21/22.

$$\text{Rendimento da fermentação} = \frac{247.846.950,61}{291.893.711,70} * 100 = 84,94\%$$

Cálculo para rendimento fermentativo safra 22/23.

$$\text{Rendimento da fermentação} = \frac{270.266.022,45}{314.445.634,03} * 100 = 85,95\%$$

Figura 7: Gráfico de rendimento fermentativo



Fonte: Autor

Para exemplificar os dados coletados foram feitos levantamentos de custos que levam em consideração os anos safra de 2021/2022 e 2022/2023. Com isso foi possível fazer um comparativo entre os anos. A primeira tabela apresenta os valores do ano safra 21/22 e conta com os produtos de interesse que foram analisados (ácido e antibiótico). Para que se possa gerar um estudo comparativo em valores, foi adicionada a coluna que está localizada mais a direita, e que conta com os valores de 22/22, o que gera uma fácil visualização de como os valores se alteraram ao decorrer do tempo. Isso nos mostra que o valor do ácido sulfúrico teve uma alteração percentual de 213% em relação ao seu valor e o antibiótico de 10%, conforme Tabela 1 a seguir.

Tabela 1: Comparativo de valores entre as safras 21/22 e 22/23.

Safra 21/22 - (01/04/21 à 26/08/21)			
Levantamento de produtos	Valores 21/22	Valores 22/23	Unidade
Consumo de ácido sulfúrico	491.830	491.830	Kg
Valor ácido sulfúrico	1,11	2,34	R\$ / Kg
Total	R\$ 545.931,00	1.150,88	R\$
Consumo de antibiótico	420	420	kg
Valor antibiótico	470,00	517,00	R\$
Total	197.400	217.140	R\$
Valor total geral	743.331,00	1.368.022,00	R\$
Viabilidade 21/22	86,90		%
Bastonetes 21/22	1,94E+05		Un
Rendimento fermentativo	84,94		%

Fonte: Autor

Em contraposição para que se diminua o consumo de ácido sulfúrico é preciso que se adicione o Ultranol (que tem seu custo em R\$ 9,47 Kg). No comparativo entre os valores totais é possível notar uma redução de R\$ de 2830,00 (valor comparado safra de 21/22 – valores de

22/23, com a safra de 22/23 – com Ultranol), no entanto é perceptível um ganho de rendimento de 1,01%, conforme pode ser visualizado na tabela 02 a seguir.

Tabela 2: Descritivo da aplicação de Ultranol.

Safra 22/23 - (01/04/22 à 26/08/22)		
Variável	Valor	Unidade
Consumo de ácido sulfúrico	308.780	Kg
Valor ácido sulfúrico	2,34	R\$/Kg
Valor gasto 22/23	802.828	R\$
Consumo de antibiótico 21/22	150	Kg
Valor antibiótico 21/22	517	R\$
Valor gasto 21/22	77.550	R\$
Consumo de ultranol	51.200	Kg
Valor do ultranol	9,47	R\$
Valor gasto 22/23	484.864	R\$
Valor total gasto 22/23	1.365.192,00	R\$
Viabilidade 22/23	93,07	%
Bastonetes 22/23	1,40E+05	Un
Rendimento fermentativo	85,95	%

Fonte: Autor

4 Discussão

Uma vez realizados os testes de bancada, foi possível obter dados que mostrassem a eficácia de prosseguir com os estudos, visto que, se obtiveram valores de viabilidade e rendimento maiores em 22/23 que em 21/22 e uma contagem de bastonetes menor em 22/23 em relação a 21/22.

Para que houvesse a possibilidade de se trabalhar com o biocida Ultranol de forma viável, foram coletados os dados e analisados sobre o ponto de vista que visa retorno monetário para a empresa em que foi aplicado o produto, conforme pode ser visualizado na Tabela 03 a seguir.

Tabela 3: Comparativo de rendimento.

Legenda: L/Tc - litro por tonelada de cana; Ton – tonelada.

Comparativo de rendimentos - Etanol		
Variável	Valor	Unidade
Quantidade de etanol 21/22	79,69	L/Tc
Quantidade de etanol 22/23	82,48	L/Tc
Cana processada 21/22	3.110.138,67	Ton
Cana processada 22/23	3.276.746,15	Ton
Valor do litro (indústria)	1,90	R\$
Quantidade produzida 21/22	247.846.950,61	Lt
Quantidade produzida 22/23	270.266.022,45	Lt
Diferença de valores 21/22 x 22/23	42.596.236,50	R\$

Fonte: Autor

O comparativo de rendimento foi embasado na seguinte premissa, os valores de quantidade de etanol para as safras 21/22 e 22/23 foram levantados de acordo com os dados praticados nas safras (multiplicação do valor da cana processada pela quantidade de etanol produzido ao final da safra), em litros por tonelada de cana. Com isso foi possível chegar nas quantidades produzidas para as safras analisadas, e assim com todos os valores quantificados, foi possível obter a diferença de valores entre os anos (com o valor do litro de etanol para indústria em R\$ 1,90 para os dois anos em questão). Isso gerou uma diferença em ganho de capital em R\$ 42.596.236,50 de um ano safra para outro.

É importante ressaltar que não houveram mudanças no processo que interferissem na quantidade produzida descrita, além da adição de Ultranol no processo fermentativo, sendo este o responsável pelo ganho de produção.

5 Conclusão

Por meio dos estudos realizados foi possível concluir que, a adição de Ultranol® ao processo fermentativo conseguiu aumentar o rendimento fermentativo em aproximadamente 1 ponto.

Vale destacar que mesmo que os valores praticados para as safras de 21/22 e 22/23 tenham ficado próximos (R\$1.368.022 e R\$1.365.192 respectivamente), e com a safra 22/23 apresentando um valor ligeiramente menor, um quesito importante a ser valorizado é o ganho em rendimento de uma safra a outra, que foi calculado em R\$ 42.596.236,50 (diferença calculada na tabela 03).

Portanto, foi possível demonstrar quantitativamente que a utilização do biocida Ultranol® em um processo fermentativo a base de cana-de-açúcar, pode contribuir para o aumento da lucratividade em um ano safra.

5 Referências

ALTERTHUM, F.; MELO Cruz, M.R.; RIBEIRO Vairo, M.L.; GAMBASSI, D.M. **Efeitos dos microrganismos contaminantes da fermentação alcoólica nas micro destilarias**. STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos, v.3, n.1. Out. 1984.

AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J. **Infecção na fermentação: como evitá-la**. Açúcar e Álcool, v.5, p.12-18, 1982

AQUARONE, E.; ZANCANARO Júnior, O. In: AQUARONE, E., LIMA, U.A., BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. 243p.

CAETANO, Alessandra Carolina Gonçalves. **Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais.** 2011. 11 f. Ciência & Tecnologia: Fatec-Jb, Jaboticabal, Jaboticabal, 2011.

CHERUBIN, Rudimar Antonio, **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica.** 2003. 137 f. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

K.M, Ludwig, **Quantificação da floculação de saccharomyces cerevisiae por bactérias contaminantes da fermentação alcoólica.** 2001. 6 f. Instituto de Biociências, Unesp, Campinas, 2001.

LOPES, Mario Lucio. **Fermentando com alta eficiência.** Piracicaba: Fermentec, 2017.

REIS, Vanda Renata. **Controle de micro-organismos contaminantes da produção de etanol combustível através de tratamento combinado de baixo ph, adição de etanol e metabissulfito de potássio.** 2017. 21 f. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.