



UNIVERSIDADE DE UBERABA

PRÓ REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E EXTENSÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
MESTRADO PROFISSIONAL

EVANDRO CARLOS DE ASSIS

**ANÁLISE DA FERMENTAÇÃO ASSOCIADA À DETERMINAÇÃO DOS
AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS E DOS SUBPRODUTOS**

UBERABA – MG
2021



EVANDRO CARLOS DE ASSIS

ANÁLISE DA FERMENTAÇÃO ASSOCIADA À DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS E DOS SUBPRODUTOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE).

Orientador: Profa. Dra. Ana Cláudia Chesca

UBERABA – MG
2021

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

Assis, Evandro Carlos de.
A76a Análise da fermentação associada à determinação dos açúcares
redutores totais e dos subprodutos / Evandro Carlos de Assis. –
Uberaba, 2021.
45 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de
Mestrado em Engenharia Química, concentração: Desenvolvimento
de Processos Químicos Agroindustriais.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Chesca.

1. Etanol. 2. Fermentação. 3. Engenharia Química. I. Chesca, Ana
Claudia. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em
Engenharia Química. III. Título.

CDD 660.28449

EVANDRO CARLOS DE ASSIS

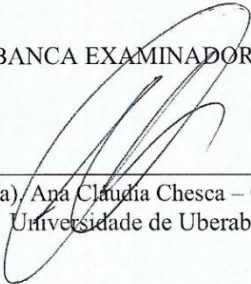
**ANÁLISE DA FERMENTAÇÃO ASSOCIADA A DETERMINAÇÃO DOS
AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS E DOS SUBPRODUTOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE).

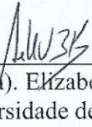
Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Agroindustriais

Aprovado em: 15/06 /2021


BANCA EXAMINADORA:



Prof(a). Dr(a) Ana Cláudia Chesca – Orientador(a)
Universidade de Uberaba



Prof(a). Dr(a) Elizabeth Uber Bucek
Universidade de Uberaba



Prof(a). Dr(a). Mário Sergio da Luz
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

“Deus está dentro de você e ao seu redor e não em castelos de pedra ou mansões de madeira. Levante uma pedra e encontrará Deus. Quebre um pedaço de madeira e Ele estará ali. Quem souber o significado dessas palavras jamais conhecerá a morte”.

O Mestre Jesus Cristo

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação...

À Deus Pai, todo poderoso que me tem me sustentado até aqui.

Aos meus pais Adão (*in memoriam*) e Tereza.

Á minha esposa Camila pelo amor, carinho e apoio em todos estes anos.

Ao meu grande amigo Luciano Rangel, e a seus pais, Roberto e Fátima, pela acolhida durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Acredito que nunca iremos realizar um trabalho sozinho, sempre terá contribuição, seja com ideias, conselhos ou alguma forma de incentivo. Para realizar esse trabalho contei com o apoio de muitas pessoas e tenho alegria de agradecer a todos:

À Deus por me oferecer tantas oportunidades, pelo amor, pelas inúmeras bênçãos recebidas durante toda minha vida.

Agradeço ao meu pai, Adão (*in memoriam*), minha mãe, Tereza, pela boa educação e moral que me ensinaram e que são o alicerce de tudo e pelo apoio constante em todas etapas da minha vida.

À minha esposa, Camila, pelo incentivo e compreensão pelos dias que estive fora de casa, pelo trabalho e pelo estudo ao invés de estar com ela.

A professora e orientadora Ana Cláudia Chesca, por acreditar em mim e me apoiar neste projeto. Agradeço ainda pela orientação dedicada, disponibilidade com que me ajudou durante a elaboração do trabalho, além dos conhecimentos passados nas aulas ao longo do curso.

À professora Elizabeth, por ter me auxiliado ao longo do programa com suas contribuições.

Ao meu amigo Luciano Rangel, seus pais, pelo acolhimento em sua casa durante o período.

À Tereos por contribuir na minha formação profissional e por apoiar iniciativas de parceria universidade-indústria.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

À UNIUBE - Universidade de Uberaba pelo suporte dado ao desenvolvimento dessa dissertação.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O Brasil foi pioneiro na utilização do etanol em grande escala, isso se deve ao PROETANOL (Programa Nacional do Etanol) implantado pelo governo federal no ano 1975. Mesmo que o programa tenha perdido força com decorrer dos anos, a assinatura do protocolo de Kyoto e a criação dos automóveis denominados *Flex Fuel* (motores que trabalham a combustão com e/ou gasolina), fomentaram interesse internacional novamente nos biocombustíveis (aqueles obtidos através de biomassas). O Brasil tem como matéria prima para produção de etanol a cana-de-açúcar, que se destaca das fontes de biomassas de países concorrentes, por seu alto teor de açúcares e produtividade, bem como por sua versatilidade de produção de açúcar e etanol, deixando o país em uma posição extremamente competitiva no mercado internacional. A transformação dos açúcares extraídos da cana-de-açúcar em etanol ocorre devido ao processo de fermentação, onde o caldo recebe uma quantidade de fermento (levedura) que por reação metabólica converterão a sacarose em glicose e frutose e por fim transformando-as em etanol e dióxido de carbono. A emissão de carbono durante todo o processo produtivo do etanol e açúcar é compensada pela absorção do mesmo durante o plantio da cana-de-açúcar sendo a sua cultura benéfica ao meio ambiente. Se considerarmos que durante um processo de fermentação 100% dos açúcares se converteriam em etanol pela ação da levedura, estabeleceríamos uma relação estequiométrica que 100 quilogramas de sacarose, frutose e ou glicose produz 51,11 litros de etanol no entanto tal relação não ocorre na prática devido às reações paralelas realizadas pela levedura que objetivam sua manutenção no meio açucarado. O cálculo do rendimento fermentativo, relação entre açúcares alimentados ao processo e etanol produzido, é de grande importância para avaliação do processo fermentativo e a possível ocorrência de distorções, que geram perdas para a produção.

Palavras-chave: Etanol. Fermentação. Rendimento fermentativo, ART.

ABSTRACT

Brazil was a pioneer in the use of ethanol on a large scale, this is due to the PROETANOL (National Alcohol Program) implemented by the federal government in 1975. Even though the program has lost strength over the years, the signing of the Kyoto protocol and the creation of cars called Flex Fuel (engines that work with combustion and/or gasoline), have fostered international interest again in biofuels (those obtained through biomass). Brazil's raw material for producing sugarcane ethanol stands out from competing countries for its high sugar content and productivity, as well as for its versatility in sugar and alcohol production, leaving the country in an extremely competitive position in the international market.. The transformation of sugars extracted from sugarcane into alcohol occurs due to the fermentation process, where the juice receives an amount of yeast that by metabolic reaction will convert sucrose into glucose and fructose and finally transforming them into ethanol and carbon dioxide. The emission of carbon during the entire production process of ethanol and sugar is compensated by the absorption of the same during the planting of sugar cane and its culture is beneficial to the environment. If we consider that during a fermentation process 100% of the sugars would be converted into ethanol by the action of yeast, we would establish a stoichiometric ratio that 100 kilograms of sucrose, fructose and/or glucose produced 51.11 liters of alcohol, however such ratio does not occur in practice due to the parallel reactions performed by the yeast that aim to maintain it in the sugar environment. The calculation of the fermentative yield, relation between sugars fed to the process and ethanol produced, is of great importance to evaluate the fermentation process and the possible occurrence of distortions, which generate losses for production. There are currently two methods of calculating the same: the yield by by-products and the yield by flow meters. This work aimed to demonstrate these calculations.

Keywords: Ethanol. Fermentation. Fermentative yield.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Cana-de-açúcar	18
Figura 2 - Fluxograma do processo industrial.	22
Figura 3 - Sequência de reações enzimáticas pela fermentação alcoólica de carboidratos endógenos (glicogênio e trealose) ou exógenos (sacarose e maltose), conduzida por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
Gráfico 1 - Histograma dados safra 19/20	38
Gráfico 2 - Histograma cálculo balanço massa ART% (dados safra 19/20).	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da cana-de-açúcar.	19
Tabela 2 – Resumo dados mensais safras 2018 – 2020, comparando os métodos de cálculo de eficiência fermentativa.	39

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ART: AÇÚCAR REDUTOR TOTAL

KAC: PRODUÇÃO DE ÁCIDOS

KL:

VHP: *VERY HIGHT POLARIZATION*

PROETANOL: (Programa Nacional do Etanol)

POL: Porcentagem aparente de sacarose %

BRIX: Porcentagem de sólidos solúveis presentes na amostra %

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Evolução da produção de etanol no Brasil.....	15
2.2	Matéria prima - cana-de-açúcar	17
2.3	Processo de produção de etanol da cana-de-açúcar	21
2.4	Processo fermentativo	24
2.4.1	Processo em batelada.....	24
2.4.2	Processo em batelada alimentada.....	25
2.4.3	Processo contínuo.....	25
2.4.4	Bioquímica do processo fermentativo.....	26
2.5	Rendimento fermentativo	31
2.6	Relação estequiométrica	34
3	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1	Preparo do mosto	36
3.2	Preparo do fermento	36
3.3	Fermentação	37
3.4	Centrifugação	37
3.5	Destilação	37
4	RESULTADOS	44
4.1	Cálculo do rendimento fermentativo método dos subprodutos	44
4.2	Cálculo rendimento fermentativo pelo método balanço de massa ART% ..	44
4.2.1	Determinação do etanol produzido na fermentação (EPF).....	43
4.2.2	Determinação da massa de ART enviado para a fermentação (<i>MaARTFe</i>).....	43
4.2.3	Determinação do rendimento fermentativo (<i>EFFe</i>).....	43
5	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIA	48

1 INTRODUÇÃO

Os biocombustíveis, termo utilizado para descrever combustíveis produzidos a partir de materiais vegetais não fossilizados, são muito bem-vindos, pois são fontes alternativas e renováveis de energia e apresentam baixos índices poluentes. Esses biocombustíveis podem ser utilizados para locomoção de veículos quanto para a geração de energia.

Existem vários tipos de biocombustíveis produzidos a partir de uma gama de diferentes espécies vegetais: como a cana-de-açúcar, o milho, a mamona, entre outras matérias-primas. Esses demonstram serem os melhores opositores aos combustíveis derivados do petróleo, em função da produtividade, podendo ser produzido em qualquer localidade do globo e possuindo uma grande variedade de matéria-prima.

O Brasil tem-se mostrado e tem o seu reconhecimento, como o maior e mais eficiente produtor de biocombustíveis do mundo - a partir da cana-de-açúcar, principalmente. Isso se deve a iniciativa pioneira de se investir em um sistema industrial moderno de produção de etanol e no melhoramento agrônômico das cultivares de cana. Outro fator de sucesso é o fato de o Brasil usar, pioneiramente, a levedura no processo fermentativo. Esse processo iniciou-se ainda em meados de 1930, no nordeste brasileiro e hoje o país possui novas tecnologias de fermentação para produzir bioetanol economicamente viável a partir de cana-de-açúcar com um sistema industrial muito bem adaptado as diferentes regiões brasileiras.

A agroindústria sucroalcooleira nacional, diferentemente do que ocorre nos demais países, opera numa conjuntura positiva e sustentável. O segmento industrial brasileiro produz o etanol ecologicamente correto, que não afeta a camada de ozônio e é obtido a partir de fonte renovável. O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo grande importância para o agronegócio brasileiro.

Nos últimos anos, o governo tem voltado seu olhar para a produção de etanol com pequenos incentivos e a competitividade do preço do etanol, alavancaram os investimentos em projetos no setor sucroenergético. Porém, os impactos da crise ainda continuam e a busca por uma melhor eficiência nos processos industriais surge como uma grande preocupação em um mercado que está cada vez mais competitivo e que leva as empresas a buscar um diferencial de redução de seus custos operacionais e melhoria dos processos industriais.

Considerando a importância do processo de fermentação na produção de etanol, é necessária a proposição de um modelo matemático para controle e análise da fermentação do

caldo da cana-de-açúcar ou do mel final. Sabe-se que devido às necessidades metabólicas da levedura, empregada no processo fermentativo, não é possível que 100% do ART presente no caldo seja convertido em etanol, pois é observado que nas usinas o teor de açúcares convertido em etanol é próximo a 90%. Neste contexto a relevância do presente trabalho será auxiliar na escolha do método de avaliação do rendimento fermentativo, de acordo com a realidade estrutural da indústria de açúcar e etanol, e objetivo desta em simplificar o processo de análise e aumentar a confiabilidade e segurança dos dados em análise e o resultado obtido.

Expõem-se no decorrer da dissertação, os métodos de cálculo pelos subprodutos e o método de balanço de massa de ART e etanol produzido, especificando os dados a serem coletados para o emprego do método, pontos de relevância de ambos e a importância da segurança dos dados e amostras avaliados, e da confiabilidade do método empregado para avaliação do rendimento da fermentação, portanto este trabalho tem como um dos objetivos avaliar, dentro dos modelos já desenvolvidos, aquele que melhor descreve a cinética de uma usina em operação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Evolução da produção de etanol no Brasil

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) começou a ser explorada no Brasil-colônia, a partir do século XVI. O plantio da cultura tinha como objetivo, a produção do açúcar para exportação, a ocupação e colonização do território brasileiro. Esses engenhos evoluíram e muitos se transformaram em usinas.

Segundo Townsend (2000) a cana-de-açúcar tem sua origem, pela teoria mais aceita, na Polinésia, com sua propagação feita pelos árabes. A cultura se adaptou muito bem nas Américas, por ser típica de climas tropicais e subtropicais. A cultura é perene, podendo produzir por um período médio de quatro a seis anos e sua implantação e manejo é relativamente fácil.

Hoje a produção de cana-de-açúcar se concentra nas regiões Centro-Sul e Nordeste do Brasil, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor e que tem maior área plantada da cultura. As indústrias de cana-de-açúcar visam o lucro, tentando minimizar as perdas no processo e aumentar a quantidade de cana produzida por área, isto é, aumentar sua produtividade (SILVA; SILVA, 2012).

A principal fonte de matéria-prima empregada na produção de etanol brasileira é a cana-de-açúcar. Para Nigam e Singh (2011) a cana-de-açúcar se destaca das demais fontes de biocombustíveis utilizadas pelo restante do mundo, por sua elevada concentração de açúcares contidos em seus colmos, e sua grande disponibilidade de produção no país a um custo reduzido, por ser uma cultura de cultivo já bastante difundida e antiga.

Para Botero *et al.* (2006), o etanol é a fonte de energia alternativa mais promissora para ser utilizado como combustível ou ainda misturado com a gasolina, e o Brasil assumiu uma posição vantajosa se comparado aos demais países quanto ao estudo e uso do etanol como combustível em grande escala.

Andrade (2007) expõe ainda que os custos da fabricação do etanol no Brasil, a partir da cana de açúcar são menores que a metade dos custos nos Estados Unidos, o qual utiliza milho como matéria-prima. Estudos ainda preveem que o desenvolvimento de novas técnicas de produção e controle poderão reduzir ainda mais os custos de produção colocando o país em uma posição de liderança quanto à produção e comercialização internacional.

De acordo com Macedo (2003), o estudo da produção do etanol brasileiro e de seus processos industriais evidenciou que o balanço entre a quantidade de CO₂ assimilada durante a cultura da cana-de-açúcar, e a produzida pelos processos agroindustriais e a queima do biocombustível, é benéfica para redução mundial dos gases de efeito estufa e concluiu-se que a cultura de cana-de-açúcar remove CO₂ da atmosfera. Além de que o uso do etanol reduz a necessidade da produção de gasolina, diminuindo por consequente a emissão de gases, e outros subprodutos contaminantes que resultantes da extração e queima de matéria fóssil.

A indústria do açúcar e do álcool controla satisfatoriamente os impactos ambientais. Seus principais efluentes, a vinhaça, a torta de filtro e as cinzas das caldeiras, são usados como fertilizantes nas plantações de cana. Os processos empregados geralmente são fáceis de serem mantidos limpos: as temperaturas não são muito altas, as emissões não são tóxicas, não há emissões de produtos químicos e os exaustores das caldeiras não liberam enxofre (MACEDO; CORTEZ, 2005).

A produção de etanol apresenta inúmeras vantagens: ganhos ambientais, redução de custos, preservação do meio ambiente, sustentabilidade, substituição de combustíveis fósseis, grandes impactantes do meio em que vivemos por biocombustíveis que utilizam fontes limpas (renováveis) para obtenção de energia (BERMANN, 2008).

Para Pacheco (2011) o etanol é uma alternativa para diminuir problemas ambientais e energéticos no mundo em razão da escassez e alta dos preços dos combustíveis fósseis e da poluição por eles causada. O Brasil encontra-se em uma posição destacada no que se refere à produção de etanol, por apresentar vantagens na tecnologia de produção, liderança na agricultura de energia e mercado de biocombustíveis sem ampliar a área desmatada ou reduzir a área destinada à produção de alimentos. Além disso, a matriz energética brasileira já é um exemplo de sustentabilidade, pois o Brasil utiliza 46,8% dessas fontes.

O Brasil conta atualmente com aproximadamente 400 unidades industriais processadoras de cana-de-açúcar; destas, a grande maioria tem capacidade para produzir açúcar e álcool. As unidades produtoras somente de álcool somam em torno de uma dezena de unidades. Essa tendência de produzir açúcar em conjunto com o álcool deverá continuar, pois significa melhor aproveitamento industrial. As usinas produzem a energia elétrica necessária para seu consumo, e já existem três dezenas de usinas que produzem excedentes de energia que comercializam com as concessionárias públicas de distribuição de eletricidade. Presume-se que esse tipo de indústria continue a melhorar o seu balanço energético para, cada vez mais, dispor

de excedentes e assim produzir os três tipos de produtos: o açúcar, o álcool e a energia elétrica (LOPES, *et al.* 2011).

Segundo a CONAB (2020), as unidades industriais de cana-de-açúcar no Brasil foram bastante afetadas pela pandemia e em decorrência do clima mais seco observado ao longo da safra 2020/21. Adicionalmente, o segmento foi impactado pela forte redução nos preços internacionais do petróleo, que prejudicaram conjuntamente a gasolina e o etanol. Contrariando o que ocorreu na temporada 2019/20, quando a safra foi marcada por um recorde na produção de biocombustíveis, observa-se nesta temporada uma forte inversão com a redução na demanda por combustíveis, contrapondo às favoráveis condições de mercado para o açúcar em razão do apertado quadro de suprimento mundial. Dessa forma, a produção de etanol total, proveniente da cana-de-açúcar e do milho, neste terceiro levantamento apresentará redução de 7,9% em relação à safra passada, saindo de 35,7 bilhões de litros no exercício passado para 32,9 bilhões, nesta. Desse total, 10,5 bilhões de litros correspondem à produção do etanol anidro e 22,4 bilhões do etanol hidratado.

2.2 Matéria prima - cana-de-açúcar

No Brasil, a cana de açúcar constitui a principal matéria prima para a obtenção do etanol carburante. De acordo com Lima, *et al.* 2019 a cana de açúcar está entre as culturas agrícolas mais antigas e mais exploradas no Brasil, sendo o país o maior produtor mundial da planta, de açúcar e de etanol. Na composição da cana de açúcar destaca-se cerca de 80% de água e aproximadamente 20% de sólidos totais, principalmente açúcares sacarose (17%), glicose (0,4%) e frutose (0,2%), além das cinzas (LIMA, *et al.* 2019). O cultivo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma das monoculturas mais empregadas por países de regiões tropicais e subtropicais, isso porque sua exploração tem um importante recurso na produção de açúcar e etanol, contribuindo para o mercado interno e externo, e a geração de riquezas. A cultura da cana-de-açúcar no Brasil data desde o período da colonização, inserida pelos portugueses a planta originária do sudeste asiático encontrou nas regiões do Centro-sul e Norte-nordeste brasileiro condições climáticas ideais para o cultivo (SANTOS 2008).

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à ordem *Graminales* e família *Poaceae*, onde se encontram também o milho, sorgo, arroz e muitas outras gramíneas. Esta família tem como característica a forma da inflorescência, o crescimento do caule em colmos e as folhas com lâminas de sílica em suas bordas e bainha aberta (Figura 1). Sua parte subterrânea é

formada por raízes e rizomas (caules subterrâneos, espessos e ricos em reserva nutritiva, providos de nós e entrenós e que crescem horizontalmente).

O colmo é o caule das gramíneas. É caracterizado por nós bem marcados e entrenós distintos e fica acima do solo. O colmo é responsável pela sustentação das folhas e das panículas e seu porte pode ser ereto, semiereto ou decumbente, dependendo da idade da planta. O colmo a parte da cana-de-açúcar de interesse a indústria sucroalcooleira, pois é composto por fibras, água e açúcares.

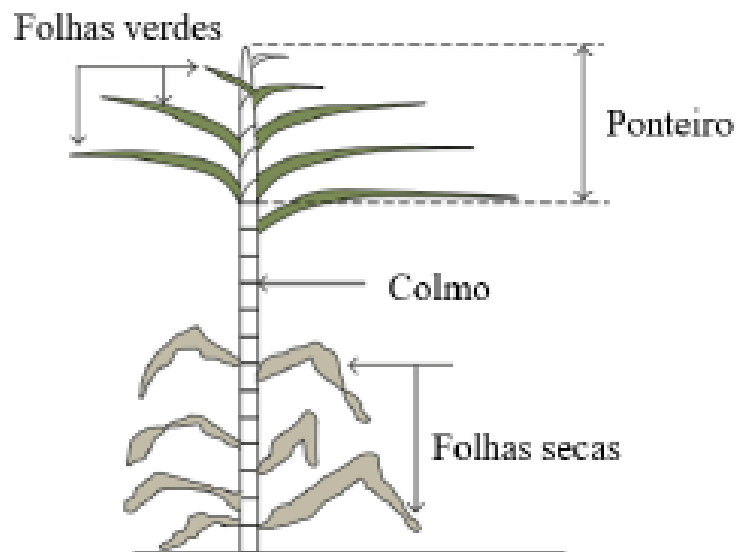


Figura 1 – Cana de açúcar

Fonte: CANILHA *et al.*, 2012.

A cana-de-açúcar, uma cultura semi perene, apresenta 04 estádios distintos de crescimento e é no último estágio (estádio 04), chamada também de fase de maturação, que ocorre o intenso acúmulo de sacarose no colmo. Neste estágio é que se determina a qualidade de matéria-prima dos colmos industrializáveis. A colheita da cana irá acontecer no momento que os colmos industrializáveis estiverem de acordo com as análises em campo e laboratório, ou seja, em máxima maturação.

Para a indústria sucroalcooleira a parte fibrosa do colmo da cana-de-açúcar é importante e interfere na extração do caldo. Colmos com valores superiores a porcentagem ideal, tornarão o processo para a extração do caldo dificultoso, sendo necessário maior embebição do bagaço, influenciando a moagem e o consumo energético, porém porcentagens de fibras abaixo do ideal afetarão a produção de energia térmica resultante da queima do tecido fibroso, exigindo o consumo de outros combustíveis para alimentação da fábrica.

A Tabela 1 a seguir expressa a composição química da cana-de-açúcar.

Tabela 1 - Composição química da cana-de-açúcar. **Variedades de cana Tereos**

Componente	Varição na cana
Umidade	69 - 72 %
Brix	15 - 20 %
Sacarose (pol)	13 - 18 %
Açúcares Redutores	0,2 - 1,0 %
Fibras	11 - 13 %
N	200 - 600 mg/kg
P – P2O5	60 - 300 mg/kg
Ca – CaO	1200 - 2500 mg/kg
Mg – MgO	44 - 200 mg/kg
S – SO3	120 - 300 mg/kg
Gomas e Pectinas	150 - 250 mg/kg
Ceras e Gorduras	150 - 350 mg/kg
Amido	50 - 600 mg/kg
Ácidos Orgânicos	200 - 550 mg/kg

Fonte: UMERABA, 2010

Após a moagem da cana, o caldo extraído, que é definido como uma solução diluída e impura de sacarose possui composição variável, de acordo com a origem da cana-de-açúcar, geralmente é definido como 80% água e 20% Brix (sólidos solúveis, podendo ser caracterizados como açúcares e não açúcares orgânicos e ou inorgânico). Os sólidos solúveis (Brix) são agrupados em açúcares (18%) e não açúcares orgânicos (1%) e inorgânicos (1%). Os açúcares são representados principalmente pela sacarose (17%), glicose e frutose (1%). Os não açúcares orgânicos são constituídos de substâncias nitrogenadas (proteínas e aminoácidos), gorduras, ceras, ácidos (málico, succínico, aconítico e outros) e pigmentos (clorofila, sacaretina e antocianina). Os não açúcares inorgânicos, representados pelas cinzas, têm como componentes principais: sílica, potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, ferro, cloro, alumínio, enxofre e outros (AURELHO CANHA, 2009).

Segundo Vieira (2012) tão importante quanto à produção de cana por hectare, é a qualidade da matéria prima, medida pelo teor de sacarose contida na planta e que determina o potencial de produção de açúcar por tonelada de cana. A sacarose presente na cana é o componente mais importante na fabricação do açúcar, enquanto os não açúcares inorgânicos,

em doses ideais, são os componentes benéficos para o processo de fermentação realizado pelas leveduras na conversão do ART (Açúcares Redutores Totais) em etanol. A pureza da cana pode ser expressa pela Equação 1 a seguir.

$$Pureza = \frac{Pol}{Brix} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Pol: Porcentagem de sacarose presente na amostra %

Brix: Quantidade de sólidos solúveis presentes na amostra %

Para a produção de açúcar e álcool, os principais parâmetros são os listados a seguir:

Açúcares redutores na cana [%]: Índice do teor de açúcares redutores, glicose e frutose, na composição total da cana-de-açúcar, em percentagem mássica.

Polarização da cana (POL) [%]: É o principal parâmetro para medição da qualidade da cana-de-açúcar para a indústria sucroalcooleira. Representa o índice do teor de sacarose na composição total da cana-de-açúcar, em percentagem mássica. A sacarose é a principal matéria prima para a produção de açúcar e álcool, e, portanto, quanto maior a polarização da cana, maior será o potencial de produção de uma usina.

O teor de açúcares redutores (glicose e frutose) e a polarização da cana determinam a quantidade de açúcar redutor total (ART) da cana, que é, de fato, a quantidade de açúcar total presente na cana (FERNANDES, 2003).

Segundo Fernandes (2003), a Equação 2 abaixo, é utilizada para se obter a quantidade de ART da cana, em %. Os cálculos relativos à produção de açúcar e álcool são todos baseados no fluxo de massa de ART ao longo da cadeia de produção, ou seja, do balanço de ART.

$$ART \text{ da Cana } [\%] = \text{Açúcares Redutores} + \frac{Pol}{0,95} \quad (\text{Equação 2})$$

Segundo Castañeda Ayarza (2007), um hectare de cana é capaz de produzir mais de 100 toneladas de biomassa a cada ano, superando em duas vezes o rendimento agrícola de outras culturas comerciais. Quando utilizada como matéria-prima energética, um hectare de cana pode contribuir com o equivalente a 10 toneladas de petróleo.

2.3 Processo de produção de etanol da cana-de-açúcar

A produção de etanol no Brasil tem como principal matéria prima a cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.), uma gramínea rica em sacarose, que através de um processo fermentativo pela ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, tem seu dissacarídeo transformado em etanol (C_2H_6O) e gás carbônico (CO_2) (LIMA, *et al.* 2019).

A eficiência e viabilidade econômica deste processo biotecnológico são alcançadas a partir de três parâmetros fundamentais: a eficiência na extração da matéria prima açucarada, ou seja, do caldo de cana, a eficiência do micro-organismo na transformação da matéria prima em produto e um sistema industrial apropriado, com equipamentos e condições que favoreçam a ação do micro-organismo (ANDRADE, 2007; MILANEZ *et al.*, 2012).

O etanol (CH_3CH_2OH), também chamado álcool etílico - na linguagem popular, simplesmente álcool - é uma substância orgânica obtida da fermentação de açúcares, hidratação do etileno ou redução a acetaldeído¹², encontrado em bebidas como cerveja, vinho e aguardente, bem como na indústria de perfumaria. No Brasil, tal substância é também muito utilizada como combustível de motores de explosão, constituindo assim um mercado em ascensão para um combustível obtido de maneira renovável e para o estabelecimento de uma indústria de química de base sustentada na utilização de biomassa de origem agrícola e renovável (ÚNICA, 2008).

Na produção do etanol, no entanto, é necessário diferenciar o etanol anidro (álcool etílico anidro) do etanol hidratado (álcool etílico hidratado). O álcool hidratado – é uma mistura hidroalcoólica com teor alcoólico mínimo de 92,6° (INPM) composto por álcool etílico ou etanol. O álcool hidratado é usado na indústria farmacêutica, alcoolquímica e de bebidas, no combustível para veículos e em produtos para limpeza. O etanol é também usado como matéria-prima para a produção de vinagre e ácido acético e para a síntese de cloral e iodofórmio (NOVA CANA, 2021).

O fluxograma descrito na Figura 2, representa a cadeia produtiva básica que se segue na maioria das usinas sucroalcooleiras para a produção de etanol e obtenção do ART.

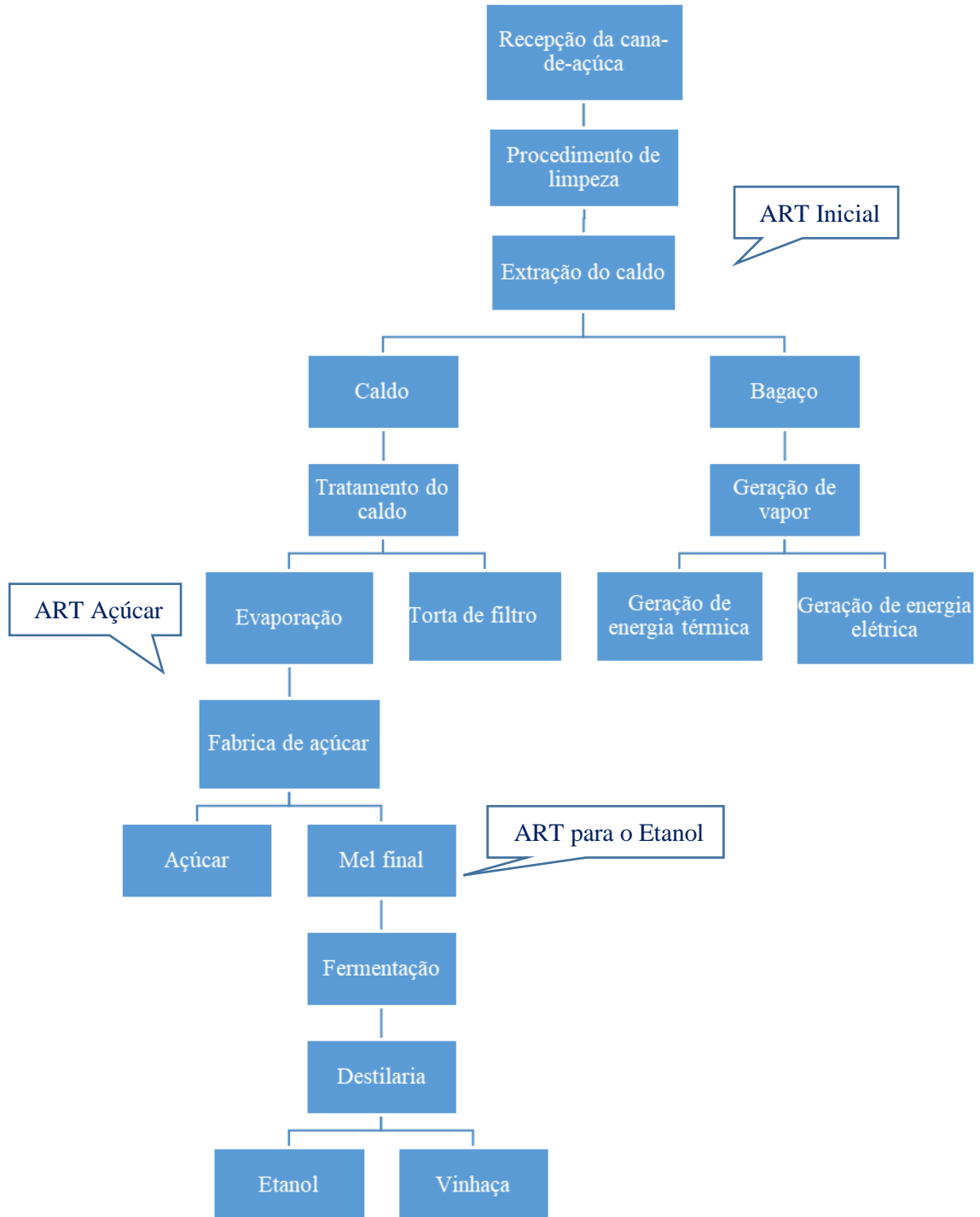


Figura 2 - Fluxograma do processo industrial.

Fonte: Aurelho Canha, 2009.

O processo industrial para a produção do etanol de cana-de-açúcar contempla as seguintes etapas (NOVA CANA, 2021).

Lavagem: A cana de açúcar, chegando às usinas em sua forma pura, é colocada em uma esteira rolante. Lá, ela é submetida a uma lavagem que retira sua poeira, areia, terra e outros tipos de impurezas. Na sequência, a cana é picada e passa por um eletroímã, que retira materiais metálicos do produto.

Moagem: Nesse processo, a cana é moída por rolos trituradores, produzindo um líquido chamado melado. Cerca de 70% do produto original viram esse caldo, enquanto os 30% da parte sólida se transforma em bagaço. Do melado, continua-se o processo de fabricação do etanol, enquanto o bagaço pode ser utilizado à geração de energia na usina.

Eliminação de impurezas: Para eliminar os resíduos presentes no melado (restos de bagaço, areia etc.), o líquido passa por uma peneira. Em seguida, ele segue a um tanque para repousar, fazendo com que as impurezas se depositem ao fundo – processo chamado decantação. Depois de decantar, o melado puro é extraído e recebe o nome de caldo clarificado. O último processo de extração de impurezas é a esterilização, em que o caldo é aquecido para eliminar os microorganismos presentes.

Fermentação: Após estar completamente puro, o caldo é levado a dornas (tanques) no qual é misturado e eles um fermento com leveduras, sendo mais comum a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Esses microrganismos se alimentam do açúcar presente no caldo. Nesse processo, as leveduras quebram as moléculas de glicose, produzindo etanol e gás carbônico. O processo de fermentação dura diversas horas, e como resultado produz o vinho, chamado também de vinho fermentado, que possui leveduras, açúcar não fermentado e cerca de 10% de etanol. Conforme Chieppe Junior (2012), a levedura apresenta inúmeras reações enzimáticas em seu metabolismo celular e diversos fatores físicos, químicos e biológicos podem interferir negativamente na eficiência fermentativa, ou seja, em sua capacidade de converter os açúcares do mosto em etanol. Assim, o estudo de fatores como a temperatura, pH, presença de nutrientes e inibidores, concentração de leveduras, contaminações microbianas entre outros são fundamentais na busca pela melhoria do rendimento alcoólico na prática industrial.

Destilação: Estando o etanol misturado ao vinho fermentado, o próximo passo é separá-lo da mistura. Nesse processo, o líquido é colocado em colunas de destilação, nas quais ele é aquecido até se evaporar. Na evaporação, seguida da condensação (transformação em líquido), é separado o vinho do etanol. Com isso, fica pronto o álcool hidratado, usado como etanol combustível, com grau alcoólico em cerca de 96%.

Desidratação: Com o álcool hidratado preparado, basta retirar o restante de água contido nele para se fazer o álcool anidro. Essa é a etapa da desidratação, no qual podem ser utilizadas diversas técnicas. Uma delas é a desidratação, em que um solvente colocado ao álcool hidratado se mistura apenas com a água, com os dois sendo evaporados juntos. Outros sistemas, chamados peneiração molecular e pé vaporização, utilizam tipos especiais de peneiras que retêm apenas as moléculas da água. Após ser desidratado, surge o álcool anidro, com graduação alcoólica em cerca de 99,5%, utilizado misturado à gasolina como combustível.

Armazenamento: Nesta etapa, o etanol anidro e hidratado é armazenado em enormes tanques, até serem levados por caminhões que transportam até as distribuidoras.

2.4 Processo fermentativo

Por se tratar de uma etapa fundamental na produção do etanol, influenciando o seu rendimento, o processo fermentativo será descrito com detalhes.

Um reator biológico pode ser operado de forma descontínua, semi contínua, descontínua alimentada ou contínua, todos podendo trabalhar com ou sem recirculação celular conforme afirmam Schimidell e Facciotti (2001). Para os processos fermentativos, fala-se em processo em batelada (descontínuo), processo contínuo e processos em batelada alimentada.

2.4.1 Processo em batelada

Segundo Schimidell e Facciotti (2001), no que se refere à manutenção e assepsia, o processo descontínuo é considerado o mais seguro, pois, ao final de cada batelada, o reator deve ser esterilizado juntamente com um novo meio de cultura, recebendo um novo inóculo que deve ser submetido a todos os controles necessários para assegurar a presença única do microrganismo responsável pelo processo. Além do menor risco de contaminação, este processo apresenta grande flexibilidade de operação pela possibilidade de utilização dos fermentadores para a fabricação de diferentes produtos e por permitir uma melhor condição de controle com relação à estabilidade genética do microrganismo (CARVALHO; SATO, 2001).

Carvalho e Sato (2001) afirmam que a fermentação em batelada leva a baixos rendimentos e produtividades quando o substrato adicionado de uma só vez, no início da fermentação, exerce efeitos de inibição, repressão ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam. Assim, o processo batelada é sempre utilizado como base para as

comparações de eficiências atingidas com relação aos outros processos, mas a sua baixa eficiência estimula o surgimento de formas alternativas (SCHIMIDELL; FACCIOTTI, 2001).

2.4.2 Processo em batelada alimentada

Os processos em batelada alimentada são eficientes e versáteis na grande maioria dos processos fermentativos, inclusive nos de fermentação alcoólica. Em tais processos, especialmente naqueles com altas densidades celulares, a produtividade é alta devido ao grande número de células viáveis no meio em fermentação. A batelada alimentada permite o controle da concentração de açúcar minimizando os efeitos de inibição pelo substrato e permitindo a sua adição em momentos propícios durante a fermentação (McNEIL; HARVEY, 1990).

Tais processos possibilitam uma vazão de alimentação constante ou variável com o tempo e a adição de mosto de forma contínua ou intermitente. Devido à flexibilidade de utilização de diferentes vazões de alimentação dos reatores com meio nutriente, nos processos batelada alimentada é possível controlar a concentração de substrato no fermentador, de modo que, por exemplo, o metabolismo microbiano seja deslocado para uma determinada via metabólica, levando ao acúmulo de um produto específico (CARVALHO; SATO, 2001). É possível também que se trabalhe com altas concentrações de substrato tendo-se um acréscimo em produtividade do etanol e uma diminuição do volume do reator e da quantidade de vinhaça produzida (IMPE VAN *et al.*, 1994; QUEINNEC; DAHHOU, 1994).

2.4.3 Processo contínuo

O processo contínuo caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua do meio de cultura a uma determinada vazão, sendo o volume de reação mantido constante pela retirada contínua do caldo de fermentação (FACCIOTTI, 2001).

A fermentação contínua é um processo que requer maior conhecimento do comportamento do microrganismo no meio em que ele atua. Fatores como pH, temperatura, concentração de substrato, etanol e biomassa, dentre outros, influenciam na produtividade do sistema exigindo maior controle do processo (ATALA *et al.*, 2000). Tal processo pode ser mais vantajoso que o de batelada alimentada, pois inclui otimização das condições de processo para uma maior produtividade, período longo de produtividade contínua, maior produtividade volumétrica, redução dos custos laboratoriais uma vez alcançado o estado desejado e redução

do tempo de limpeza e sanitização das dornas. A maior desvantagem é que as fermentações contínuas são mais suscetíveis à contaminação bacteriana por longos prazos de exposição (CYSEWSKI; WILKIE, 1978).

2.4.4 Bioquímica do processo fermentativo

No processo fermentativo as leveduras são os microrganismos mais importantes na obtenção do álcool por via fermentativa. Bactérias, entre as quais a *Zymomonas mobilis*, são tidas como capazes de produzir etanol, mas, economicamente, as leveduras ainda são os agentes largamente utilizados. A levedura da fermentação alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae* que se apresenta, normalmente, na forma unicelular com 2 a 8 micrômetros de diâmetro (LIMA, *et al.* 2019). A fermentação alcoólica é, portanto, um processo biológico conduzido pela levedura, normalmente *Saccharomyces cerevisiae*, cuja fisiologia e bioquímica tem sido negligenciada em favor de uma visão físico-química e mecânica do processo. Porém, trata-se de um organismo vivo, com múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria da fermentação em resposta a alterações no meio, com grande impacto no rendimento do processo (BASSO, 2004).

O meio de cultura, além do carbono, hidrogênio e oxigênio deve, igualmente, fornecer nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em quantidades diminutas (LIMA, *et al.* 2019).

Durante o processo fermentativo para a produção do etanol se as células das leveduras não tiverem as suas necessidades nutricionais atendidas corretamente, a eficiência da transformação do açúcar em álcool será prejudicada.

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são microrganismos de alta eficiência fermentativa. Este fato tem permitido a seleção de cepas industriais com características adquiridas que as tornam produtores superiores de etanol mais tolerantes aos produtos da fermentação. Estudos relacionados com a melhoria das características da levedura ou com o processo de produção de etanol têm sido apresentados na literatura com o objetivo de aumentar o rendimento e a produtividade dos processos fermentativos. Estes estudos incluem a utilização de novas cepas de microrganismos, mudanças na composição e concentração de nutrientes do meio de cultura e reciclagem de resíduos (AMORIM, 2005).

Diversos fatores físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) e microbiológicos (espécie, linhagem e

concentração da levedura, contaminação bacteriana), afetam o rendimento da fermentação e a eficiência da conversão de açúcar em etanol (LIMA, *et al.* 2019).

Durante a fermentação, a levedura pode estar exposta a vários fatores estressantes. Dentre esses fatores, os mais frequentemente mencionados são os altos teores alcoólicos, a temperatura elevada, a acidez do meio (inclusive no tratamento ácido que ocorre na assepsia do leite de levedura), a presença de sulfito, a contaminação bacteriana e, mais raramente documentada, a contaminação com leveduras não *Saccharomyces* (BASSO, 2004).

É comum que fatores estressantes atinjam em maior grau a viabilidade celular em comparação à produção etanoica. Entretanto, se as fermentações usassem reciclo das células, como numa situação industrial, o impacto sobre o rendimento etanoico poderia ser mais acentuado, já que sua viabilidade é bastante afetada em poucos ciclos (DORTA, 2006).

As temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26 a 35°C, mas, não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38°C. À medida que a temperatura aumenta, a contaminação bacteriana é favorecida e a levedura fica mais sensível à toxidez do etanol (LIMA *et al.*, 2001).

O rendimento alcoólico é maior em temperaturas mais baixas (15 a 20°C), porém apresentam uma demora para a obtenção da produção máxima. Quando a temperatura do biorreator é de 25°C a 31°C a taxa inicial de fermentação é maior, mas em temperaturas maiores que 35°C decresce a viabilidade celular (TORIJA *et al.*, 2003).

Diferentes temperaturas afetam de forma distinta a atividade metabólica e o crescimento das leveduras. Isso pode ser atribuído não somente à genética das diferentes cepas, mas também à composição do meio de crescimento e a outros parâmetros como pH, agentes químicos, desidratação osmótica, estado nutricional e fase de crescimento (MONACO, 2007).

As linhagens industriais de *S. cerevisiae* são normalmente resistentes a alta temperatura, mas este fator interfere na viabilidade celular quando em sinergia com a presença de etanol ou meio com baixo pH (MONACO, 2007; SILVA-FILHO *et. al* 2005).

A maioria dos componentes celulares, como proteínas e membrana plasmática, é drasticamente afetada quando as células são expostas a altas temperaturas (BENEY; GERVAIS, 2001). Os danos térmicos para as células de leveduras resultam do rompimento das ligações de hidrogênio e das interações hidrofóbicas, promovendo desnaturação das proteínas e ácidos nucléicos e assim, apesar de existirem meios fisiológicos para regulação da temperatura interna da levedura, um aumento do estresse celular acontece, promovendo rápido declínio da viabilidade do microrganismo (WALKER, 1994).

As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo adequada entre 4 e 5. Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5 e no processo com reutilização da levedura, é realizado tratamento com ácido sulfúrico em pH de 2,0 a 3,2, durante uma a duas horas, visando à redução da carga microbiana. Desta forma, a fermentação alcoólica se inicia com valores de pH baixos, finalizando com valores de 3,5 a 4,0 (LIMA *et al.*, 2001). Segundo afirma Lima *et al.* (2001) as fermentações conduzidas em meios mais ácidos resultam em maiores rendimentos em etanol, pelo fato de se restringir o crescimento do fermento, com a conseqüente redução da produção de glicerol e de contaminação bacteriana. Entretanto, fermentações alcoólicas se desenvolvem bem em níveis mais elevados de pH como em melaços (pH 5,8 a 5,9). Já os caldos de cana fermentam sem correção de acidez, em pH natural que varia de 5,2 a 6,8.

O processo fermentativo, ocorrendo na faixa mais elevada de pH nas indústrias, acaba beneficiando a integridade fisiológica da levedura em fermentações com altas concentrações de SO₂, sacarose e etanol (JONES *et al.* 1981).

A tolerância à acidez é uma característica importante para as leveduras industriais (LIMA *et al.*, 2001), mesmo assim, a utilização de linhagens de *S. cerevisiae* resistentes ao estresse ácido é uma característica importante para a indústria de álcool combustível (MONACO, 2007). Valores muito baixos de pH, além de ocasionarem perda de nutrientes como nitrogênio e potássio, segundo Gomes (1988), aumentam a sensibilidade ao etanol, aos ácidos orgânicos e ao SO₂.

Dorta (2006), no estudo de fatores sinérgicos entre sulfito, ácido láctico, pH e etanol na fermentação alcoólica da levedura, após a análise de todos os parâmetros estressantes, verificou que o mais baixo valor de pH (pH = 3,6) foi o que mais interferiu no metabolismo das linhagens estudadas. Verificou, também que o pH 4,5 mostrou ser suficiente para minimizar os efeitos danosos do sulfito e etanol sobre a célula.

No pH 4,5 a ação deletéria do sulfito é minimizada pelo fato deste se apresentar em sua forma menos tóxica. O bissulfito de sódio (NaHSO₃) em pH 4,5 está predominantemente na forma de bissulfito (HSO₃⁻), não sendo a forma mais tóxica para a levedura quanto à de SO₂. O pH mais elevado ocasiona menor entrada no interior das células de ácidos orgânicos, SO₂ e um menor efeito tóxico associado à presença do etanol (CARTWRIGHT *et al.*, 1989).

O sulfito é um dos componentes do melaço que pode afetar o desenvolvimento da fermentação alcoólica. Desde 1990, o uso de melaço na formulação dos mostos para fermentação alcoólica tem crescido bastante e conseqüentemente a concentração de sulfito no

mesmo. O sulfito é normalmente utilizado no processo de clarificação do açúcar e está presente em altas concentrações no melaço da cana-de-açúcar, contribuindo para a diminuição do rendimento alcoólico e viabilidade das células das leveduras (DORTA, 2006).

A sulfitação consiste em um método de tratamento do caldo de cana-de-açúcar de uso generalizado no Brasil e nos países produtores de açúcar branco de consumo direto. Esse método foi introduzido a partir do século XVIII, com o objetivo de remover impurezas que conferem cor e turbidez ao caldo, sendo o dióxido de enxofre o principal reagente utilizado (MAFRA, 2004).

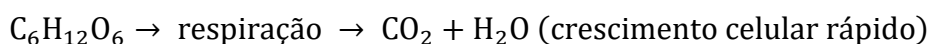
Estudos da toxidez do sulfito, tanto em laboratório, como a partir de informações coletadas na indústria, mostraram que a sua presença no meio de fermentação (em até cerca de 100 ppm), traz mais benefícios (redução da contaminação bacteriana) do que efeitos tóxicos à levedura (BASSO, 2004). O sulfito de sódio no processo industrial, é incorporado ao melaço de cana na faixa de 200 a 700 mg/L (OLIVA-NETO; YOKOYA, 1991) formando algumas vezes mostos com até 300 mg/L de SO₂, especialmente quando envolve a presença de caldo sulfitado da fábrica de açúcar.

O enxofre na forma de sulfito, quando está acima do nível ideal (principalmente no caso de uso do melaço como matéria-prima), aumenta a produção de glicerol e inibe o desenvolvimento das leveduras que, com o passar do tempo, passam a apresentar certa adaptação a tal situação (AMORIM, 2005).

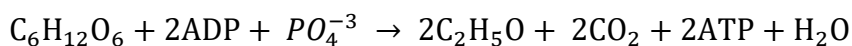
A transformação do açúcar em etanol e CO₂, envolve 12 reações em sequência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica, conforme apresentado na Figura 1. Tal aparato enzimático está confinado no citoplasma celular, sendo, portanto, nessa região da célula que a fermentação alcoólica se processa (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Segundo Lima e Marcondes (2002), a simplificação se dá em três etapas:

1 – Via aeróbia



2 – Via anaeróbia



Entre as matérias açucaradas, costuma-se distinguir as diretamente fermentescíveis e as não diretamente fermentescíveis. As primeiras são as que contêm monossacarídeos e se limitam aos sucos de frutas. As não diretamente fermentescíveis são as que contêm dissacarídeos, que fermentam após uma hidrólise, à qual se dá o nome de inversão, e que realiza naturalmente por ação da invertase, enzima produzida pelo agente de fermentação. A sacarose é a representante mais importante dos componentes da cana-de-açúcar e dos melaços (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

O objetivo da levedura, ao metabolizar por via anaeróbica o açúcar, é gerar uma forma de energia (ATP, adenosina trifosfato) que será empregada na realização dos diversos trabalhos fisiológicos (absorção, excreção e outros) e biossínteses, necessárias à manutenção da vida, crescimento e multiplicação, para perpetuar a espécie. O etanol e o CO₂ resultantes se constituem, tão somente, de produtos de excreção, sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose. Entretanto, o etanol, bem como outros produtos de excreção (como o glicerol e ácidos orgânicos) podem ser oxidados metabolicamente, gerando mais ATP e biomassa, mas apenas em condições de aerobiose (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

2.5 Rendimento fermentativo

No processo de fabricação do etanol, o cálculo e acompanhamento do rendimento fermentativo é um parâmetro de fundamental importância para a indústria sucroalcooleira. Este parâmetro indica a porcentagem efetiva de ART (açúcares redutores totais) convertidos em etanol. Este parâmetro baliza o processo fermentativo indicando o sucesso da fermentação ou a necessidade de correções e melhorias dele. A atenção e o acompanhamento do rendimento fermentativo refletirão na garantia do lucro esperado ou gastos e perdas para a unidade industrial. É, portanto, essencial à confiabilidade e exatidão do resultado de rendimento fermentativo e a confiabilidade de sua medição e cálculo.

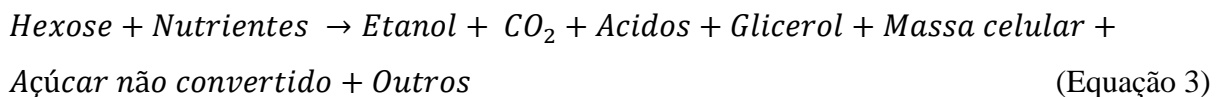
O cálculo do rendimento fermentativo, denominado balanço de massa, é realizado através do uso dos medidores de vazão e o emprego das fórmulas de cálculos, os quais determina-se a massa de ART presente no mosto enviado as dornas e o volume de etanol produzido durante fermentação e posteriormente calcula-se o índice do rendimento fermentativo.

Sabe-se que muitas usinas operam sem a instalação de medidores de vazão em suas plantas industriais, em função do custo elevado, sendo assim utilizam método alternativo que

proporciona a estimativa do rendimento fermentativo através dos subprodutos, admitindo a não mensuração do volume de etanol produzido em sua fórmula. Este cálculo foi desenvolvido por dedução da relação estequiométrica do processo fermentativo, considerando os demais produtos formados durante a ação metabólica da levedura sobre o ART, tornando possível estimar o valor do rendimento fermentativo e desconsiderando o volume de etanol produzido durante a fermentação.

Este método tornou-se amplamente empregado nas usinas sucroalcooleiras, pois representa a redução dos custos de instalações e manutenção de medidores de vazão para o balanço de massa, sendo o método mais utilizado até hoje nas unidades industriais.

A Equação 3 abaixo representa a obtenção de etanol e seus subprodutos, a partir de hexoses mais nutrientes.



A Equação 4 abaixo expressa o rendimento da obtenção do etanol.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Etanol} \times 100}{(\text{hexose} \times 0,511)} \quad (\text{Equação 4})$$

Deduções foram realizadas de modo a obter-se a fórmula de cálculo do rendimento fermentativo por subprodutos, descrita abaixo na Equação 5.

$$\text{Rendimento} = \frac{100}{(0,511 \times (2 + \text{KAC} + \text{KG} + \text{KL} + \text{KA}))} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

KAC - ácido produzido / kg de etanol produzido (Kg/Kg)

KG - Kg de glicerol produzido/ kg de etanol produzido

KL - Kg de massa celular produzida/ kg de etanol produzido

KA - Kg de ART não convertido/ kg de etanol produzido (açúcares infermentescíveis)

É considerado pelo método dos subprodutos que o vazamento de carbono durante o processo fermentativo se restringe a produção de CO₂, glicerol, massa celular e ácido orgânico,

desconsiderando outras rotas de vazamento (ANDRIETTA *et al.*, 2006). Um exemplo é acetaldeído, metabólito intermediário da fermentação alcoólica, que em reação desencadeada pela enzima etanol desidrogenase, é transformado em etanol, sendo tal reação reversível, caso a levedura, ao expelir o etanol do interior de suas células for incapaz de impedir o seu retorno para o interior da membrana citoplasmática ocorrerá uma grande perda de ART. A concentração de acetaldeído é definida pela constante de equilíbrio das reações reversíveis, pois quanto maior a concentração de produto, maior é a concentração de reagente. Assim é necessário o controle do fluxo de etanol e de sua concentração no vinho levedado para que não ocorra a perda de acetaldeído aprisionado dentro da membrana citoplasmática para equilíbrio interno e externo das concentrações de reagente e produto. Outro problema é observado no método durante a determinação da massa de ácido produzido, em que se desconsidera a produção de outros tipos de ácidos e leva-se em conta apenas a acidez sulfúrica. Na determinação da massa celular produzida também pode ocorrer desvios devido à taxa de produção, crescimento e morte das células da levedura, resultando em um valor de massa celular produzida inferior ao real, gerando variações no valor final do rendimento fermentativo. Explicando assim o porquê de valores de rendimento fermentativo obtidos pelo método balanço de massa geralmente são menores ao rendimento fermentativo resultante do método de cálculo pelos subprodutos.

Tais fatores e variantes expõem a importância da determinação do rendimento fermentativo por um método exato, que não recorra a aproximações e que relacione o produto que se deseja à matéria consumida.

Considerando a importância do processo de fermentação na produção de etanol, é necessária a proposição de um modelo matemático para controle e análise da fermentação do caldo da cana-de-açúcar ou do mel final. Sabe-se que devido às necessidades metabólicas da levedura, empregada no processo fermentativo, não é possível que 100% do ART presente no caldo seja convertido em etanol, onde é observado que nas usinas o teor de açúcares convertido em etanol é próximo a 90%.

Neste contexto a relevância do presente trabalho será auxiliar na escolha do método de avaliação do rendimento fermentativo, de acordo com a realidade estrutural da indústria de açúcar e etanol, e objetivo desta em simplificar o processo de análise e aumentar a confiabilidade e segurança dos dados em análise e o resultado obtido.

2.6 Relação estequiométrica

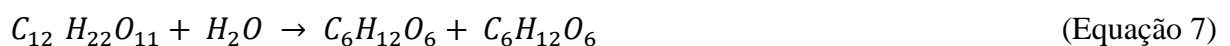
Durante a fermentação alcoólica o mosto sofre uma sequência de reações químicas, devido à ação metabólica da levedura. Lima *et. al* (2001) expõe que durante esta fase ocorrem dentro do citoplasma celular da levedura 12 reações enzimáticas em sequência ordenada, essas enzimas sofrem ações de diversos fatores como nutrientes, minerais, vitaminas, inibidores, pH, temperatura e outros, que podem favorecer ou não o desempenho das leveduras.

Por se tratar de um microrganismo aeróbio facultativo, a levedura age tanto em ambientes aeróbios, transformando glicose em dióxido de carbono e água, quanto anaeróbios convertendo parte da glicose em etanol e dióxido de carbono, a fim de obter adenosina trifosfato (ATP) necessárias para atividade metabólica. Segundo Lima *et.al* (2001) o substrato para a alimentação da levedura pode ser externo como a sacarose, glicose e frutose presentes no mosto, como podem ser parte de sua própria massa como a trealose e glicogênio.

O processo de conversão, promovido pelo metabolismo da levedura, pode ser resumido conforme Equação 6 a seguir:



A sacarose presente no mosto é hidrolisada por ação da enzima invertase gerando uma molécula de glicose e uma de frutose, representada pela Equação 7.



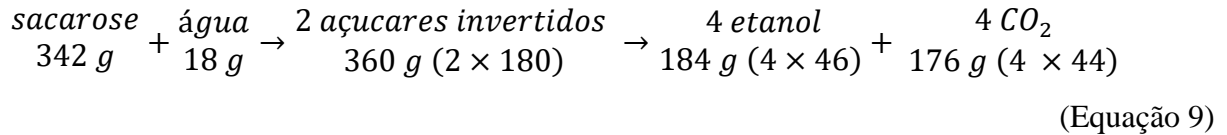
A Equação 8 mostra que a partir das moléculas de frutose e glicose a levedura, devido à atividade metabólica, produz etanol e dióxido de carbono, isso em condições de anaerobiose:



De acordo com Aurélio Canha (2009), o rendimento estequiométrico ou teórico é descrito como o volume de etanol (litros) a ser produzido com eficiência de 100% por quilograma de ART, ou seja, admitindo-se que todas as moléculas de açúcar transformam-se em etanol, admitindo ainda segundo ele que 342 gramas de sacarose produzem 360 gramas de

açúcares redutores totais (ART), que por sua vez produzem 184 gramas de etanol, ou seja, [cada 100 gramas de sacarose correspondem a $\frac{100 \times 2 \times 46}{180} = 51,11$ litros de etanol.

Como se observa na Equação 9 abaixo:



Apesar do valor do rendimento estequiométrico ser de 0,5111 gramas de etanol produzido por grama de glicose consumida, durante o processo de conversão enzimática e transformação da sacarose em etanol outras reações paralelas ocorrem consumindo parte dos açúcares, impossibilitando que 100% do ART seja convertido em etanol, tais reações são necessárias para a sintetização do etanol e segurança do processo fermentativo como o glicerol importante para a manutenção do crescimento da levedura e o ácido succínico que possui ação antibacteriana, mas a produção desses subprodutos significa uma redução de açúcares por isso observa-se nas indústrias um rendimento fermentativo da ordem de 90% do rendimento estequiométrico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta metodologia foi baseada em Aurelho Canha (2009), cujo objetivo é comparar os métodos analíticos que calculam os dois tipos de rendimento fermentativo.

3.1 Preparo do mosto

Mosto é o temo utilizado para definir o líquido açucarado que foi submetido a fermentação. Foi preparado e as correções necessárias para proporcionar o processo fermentativo foram realizadas. Ocorreu uma diluição para corrigir a concentração dos açúcares redutores totais no mesmo. O caldo foi submetido a um tratamento térmico a 105°C, com o objetivo de descontaminação e para a desnaturação das proteínas. Após este tratamento o caldo foi resfriado a 30°C, pois o desempenho das leveduras no processo fermentativo é melhor nesta faixa de temperatura.

Durante o processo fermentativo ocorreu o controle dos níveis de acidez e do pH, visando favorecer o desempenho das leveduras e evitar contaminações indesejadas. Esta correção foi realizada com ácido sulfúrico, o qual, além de ter ação bactericida, reduz a viscosidade do levedo, desnaturando suas proteínas.

3.2 Preparo do fermento

Para que ocorra o processo fermentativo, o mosto foi inoculado com as leveduras promovendo a conversão de açúcares redutores totais em etanol e dióxido de carbono. Essa quantidade inicial de levedura, adicionada no mosto, recebe diversas nomenclaturas: fermento starter, inóculo inicial ou pé de cuba. Neste processo utilizou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levedura apresenta características específicas como: velocidade de fermentação, tolerância alcoólica, resistência, estabilidade e alto rendimento. Na escolha do fermento, a velocidade no processo de conversão de açúcar em etanol é sempre visada, pois a velocidade de fermentação é a correlação de quantidade de ART convertido em um espaço de tempo, e afeta muito além da produtividade significando ao processo redução de custos e do risco de contaminação. Esta levedura apresenta tolerância a índices mais elevados de etanol o que significa a obtenção de vinhos de maior teor alcoólico e influencia diretamente no

rendimento fermentativo. Esta linhagem de levedura apresenta alto rendimento, que é a relação de ART consumido e etanol produzido.

3.3 Fermentação

Uma vez o mosto inoculado, iniciou-se o processo de fermentação consumindo os açúcares redutores totais e os convertendo essencialmente em etanol e dióxido de carbono. Ao fim do processo o mosto levedado, passa a ser chamado vinho bruto.

3.4 Centrifugação

Durante esta etapa o vinho bruto foi separado em leite de leveduras (creme), material rico em leveduras ativas, e vinho, substância rica em etanol. O creme foi destinado a tratamento e posterior reaproveitamento em um próximo processo fermentativo. O vinho foi bombeado para o tanque de contenção, onde foi contido até passar pela etapa da destilação.

3.5 Destilação

Iniciou-se a destilação provocando a depuração do vinho, ou seja, a eliminação parcial de impurezas como aldeídos e ésteres. Foi realizada na coluna A1 ou coluna de depuração, resultando no vinho depurado e no etanol bruto, mistura hidro alcoólica impura de ordem 88,0° INPM (porcentagem de etanol em peso a 20°C). O vinho depurado seguiu então para a coluna A, denominada coluna de esgotamento onde foi submetido a uma nova destilação, resultando em dois produtos: a flegma, principal produto da destilação, que apresentou uma variação entre 45,0 e 50,0°GL (porcentagem de etanol em volume a 15 C) e a vinhaça, resíduo aquoso da destilação do vinho.

Em seguida a flegma foi submetida a outro processo de destilação, denominado de retificação, este complexo processo é realizado em uma coluna retificadora – B/B1 - para proporcionar a pureza e concentração desejada. Com o processo de retificação obteve-se o etanol retificado (etanol hidratado), mistura hidro alcoólica de alta pureza. Outras três frações foram obtidas: a flegmaça, resíduo aquoso da flegma, o óleo fúsel, impurezas da flegma e o etanol bruto.

Com a finalização de todo o processo de destilação foi obtido o etanol hidratado e etanol anidro, ambos foram destinados para os tanques de estocagem.

O gráfico de eficiência da fermentação, com base em cálculo que considera a formação de subprodutos:

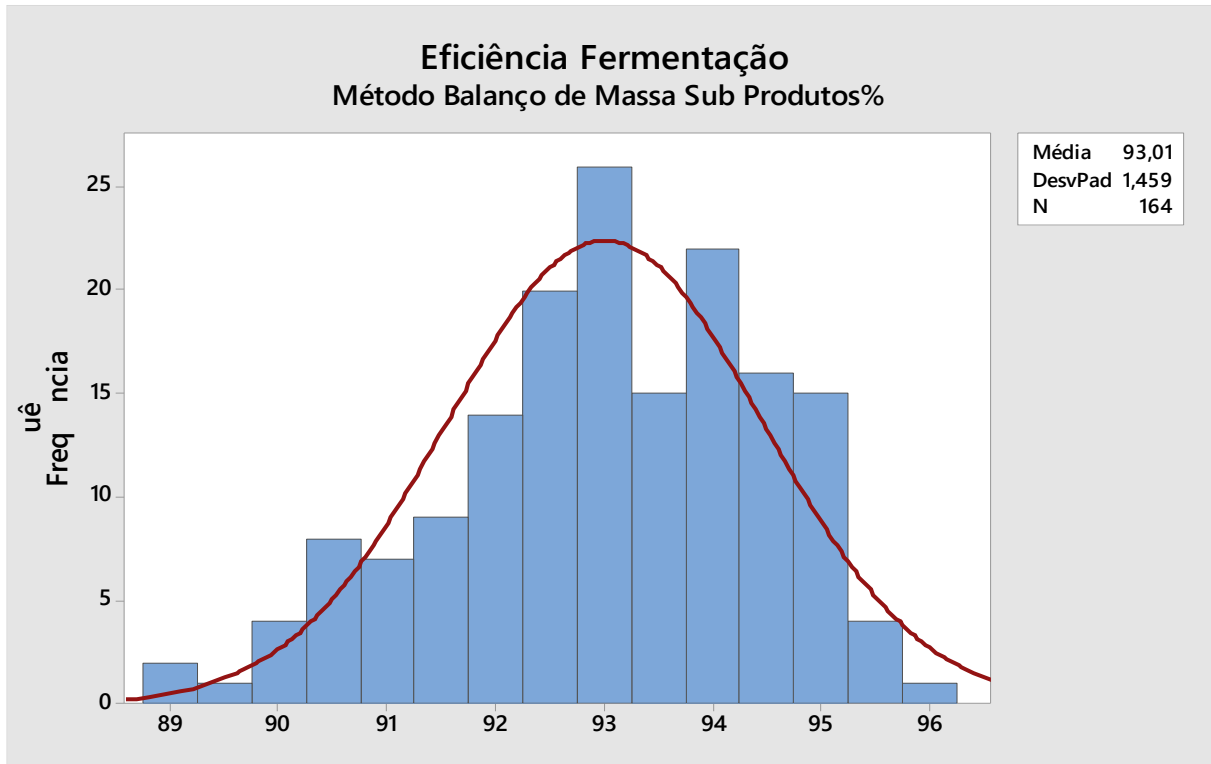
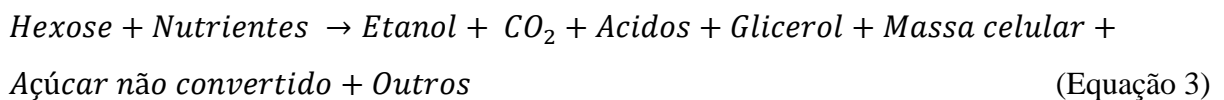


Figura 1 - Histograma dados safra 19/20

Fonte: Própria, 2021

O cálculo do rendimento fermentativo pelo método subprodutos se deu pelo emprego da relação expressa nas Equações 3 e 4 e o uso da Equação 5, que demonstra o rendimento.



$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Etanol} \times 100}{(\text{hexose} \times 0,511)} \quad (\text{Equação 4})$$

$$\text{Rendimento} = \frac{100}{(0,511 \times (2 + KAC + KG + KL + KA))} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

KAC - kg de ácido produzido / kg de etanol produzido

KG - Kg de glicerol produzido/ kg de etanol produzido

KL - Kg de massa celular produzida/ kg de etanol produzido

KA - Kg de ART não convertido/ kg de etanol produzido

Todos os parâmetros de subprodutos podem ser obtidos sem que seja necessário determinar as vazões desses subprodutos através da análise do etanol e do subproduto, exceto pelo valor de KAC. Onde são expressos nas Equações de 10 a 12.

KL – Massa celular produzida

$$KL = \frac{\% F_{volante} \times 0,33}{\text{°}GL_{VT} \times 0,7893} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde:

$\% F_{volante}$ – Porcentagem de fermento no vinho

$\text{°}GL_{VT}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do vinho turbinado

KA – ART não convertido

$$KA = \frac{ARRT}{\text{°}GL_{VT} \times 0,7893} \quad (\text{Equação 11})$$

Onde:

$ARRT$ – Teor de açúcares redutores residuais totais

$\text{°}GL_{VT}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do vinho turbinado

KG – Glicerol produzido

$$KA = \frac{Glicerol}{\text{°}GL_{VT} \times 0,7893} \quad (\text{Equação 12})$$

Onde:

$Glicerol$ – Teor de glicerol produzido em % m/v

$\text{°}GL_{VT}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do vinho turbinado

KAC – Ácido produzido

Pode ser obtido através de três métodos:

❖ Método 1: Balanço de massa produção de ácidos

$$KAC = \left\{ \frac{\left[Acidez_{Dorna} - \left(\frac{\%F_{Dorna}}{\%F_{Pé}} \right) \times Acidez_{Pé} \right] - \left[\left(1 - \frac{\%F_{Dorna}}{\%F_{Pé}} \right) \times Acidez_{Mosto} \right]}{\left[\frac{°GL_{Dorna}}{100} - \left(\frac{\%F_{Dorna}}{\%F_{Pé}} \right) \times \frac{°GL_{Pé}}{100} \right] \times 789,3} \right\} \times 1,837$$

(Equação 13)

Onde:

$Acidez_{Dorna}$ – Ácidos totais na dorna em $g_{H_2SO_4}/L$

$Acidez_{Mosto}$ – Ácidos totais no mosto em $g_{H_2SO_4}/L$

$Acidez_{Pé}$ – Ácidos totais no pé-de-cuba em $g_{H_2SO_4}/L$

$\%F_{Dorna}$ – Fermento na dorna (%)

$\%F_{Pé}$ – Fermento no pé-de-cuba (%)

$°GL_{Dorna}$ – Etanol da dorna (% v/v)

$°GL_{Pé}$ – Porcentagem de etanol do pé de cuba (% v/v)

❖ Método 2: Balanço volumétrico

$$KAC = \left[\frac{(V_{Dorna} \times Acidez_{Dorna}) - (V_{Pé} \times Acidez_{Pé}) - (V_{Mosto} \times Acidez_{Mosto})}{\left((V_{Dorna} \times \frac{°GL_{Dorna}}{100}) - (V_{Pé} \times \frac{°GL_{Pé}}{100}) \right) \times 789,3} \right] \times 1,837$$

(Equação 14)

Onde:

$Acidez_{Dorna}$ – Quantidade de ácidos totais na dorna em $g_{H_2SO_4}/L$

$Acidez_{Mosto}$ – Quantidade de ácidos totais no mosto em $g_{H_2SO_4}/L$

$Acidez_{Pé}$ – Quantidade de ácidos totais no pé-de-cuba em $g_{H_2SO_4}/L$

$°GL_{Dorna}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) da dorna

$°GL_{Pé}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do pé de cuba.

V_{Dorna} – Volume da dorna

V_{Mosto} – Volume de mosto utilizado

$V_{Pé}$ – Volume do pé-de-cuba

❖ Método 3: Balanço global

$$KAC = \left(\frac{(V_{VT} \times Acidez_{VT}) - (V_{Mosto} \times Acidez_{Mosto}) - (V_{H_2SO_4} \times 1,84)}{V_{VT} \times °GL_{VT} \times 789,3} \right) \times 1,837$$

(Equação 15)

Onde:

$Acidez_{Mosto}$ – Quantidade de ácidos totais no mosto em $g_{H_2SO_4}/L$

$Acidez_{VT}$ – Quantidade de ácidos totais no vinho turbinado em $g_{H_2SO_4}/L$

$°GL_{VT}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do vinho turbinado

$V_{H_2SO_4}$ – Volume de ácido sulfúrico

V_{Mosto} – Volume de mosto utilizado

V_{VT} – Volume de vinho turbinado

O volume de vinho turbinado e volume de mosto podem ser estimados de acordo com as equações abaixo:

$$V_{VT} \left(\frac{m^3}{h} \right) = \frac{\text{Produção de álcool } 100\% \left(\frac{m^3}{dia} \right)}{°GL_{VT} \times Rend_{dest}(\%) \times 24}$$

(Equação 16)

$$V_{Mosto} = V_{VT} - V_{H_2O \text{ diluição leite}}$$

(Equação 17)

$$V_{H_2O \text{ diluição leite}} \left(\frac{m^3}{h} \right) = V_{VT} \times \left(\frac{\%F_{Dorna} - \%F_{VT}}{\%F_{Leite} - \%F_{Dorna}} \times \frac{\%F_{Leite} - \%F_{Pé}}{\%F_{Pé}} \right)$$

(Equação 18)

Onde:

$V_{H_2O\text{diluição\ leite}}$ – Volume de água para diluição do leite de levedura que sai da centrifuga

$\%F_{Dorna}$ – Porcentagem de fermento na dorna

$\%F_{Leite}$ – Porcentagem de levedura no leite de levedura na saída da centrifuga

$\%F_{Pé}$ – Porcentagem de fermento no pé-de-cuba

$^{\circ}GL_{VT}$ – Porcentagem de etanol (vol/vol) do vinho turbinado

V_{Mosto} – Volume de mosto utilizado

V_{VT} – Volume de vinho turbinado

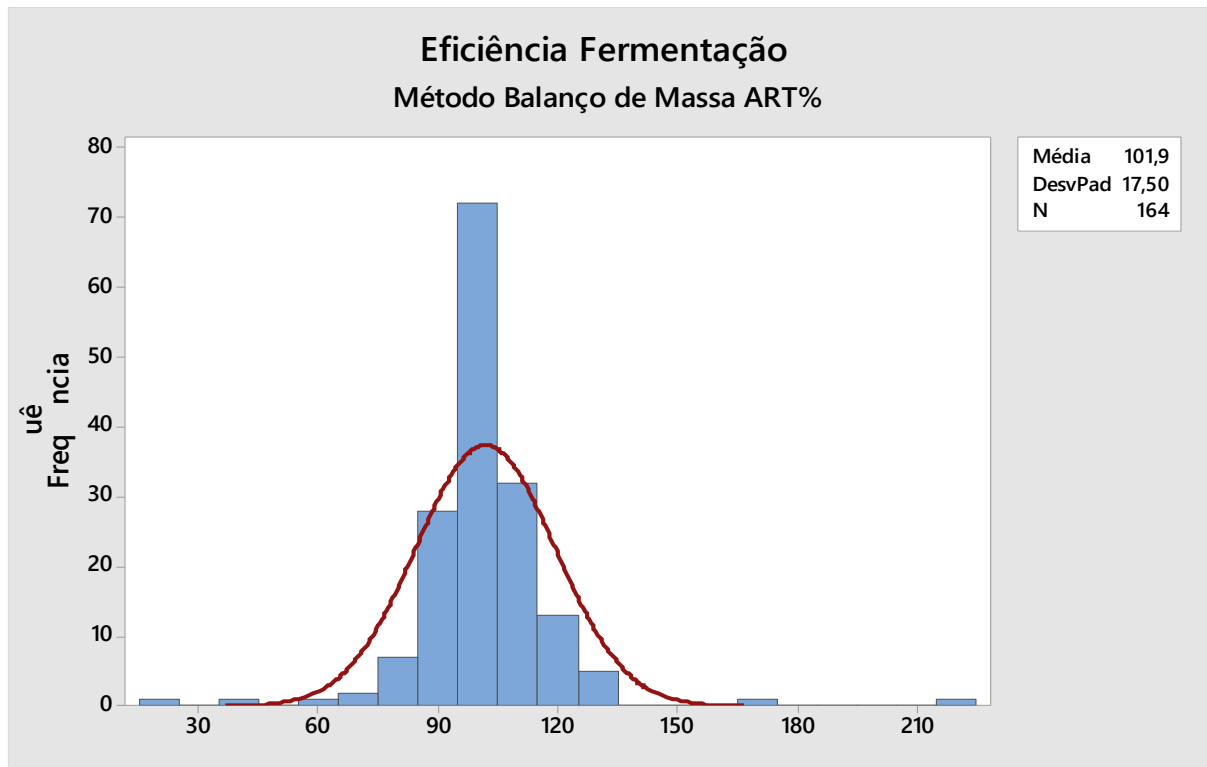


Figura 2 - Histograma cálculo balanço massa ART% (dados safra 19/20).

Fonte: Própria, 2021

Nota-se que a dispersão dos dados é maior, em função das variações de medições e determinação do ART e etanol do material em processo.

A seguir encontram-se as fórmulas utilizadas no cálculo do rendimento fermentativo balanço de massa ART%:

3.5.1 Etanol produzido na fermentação (EPF)

$$EPF = \left(\frac{PR_{100} \times 100}{RD} \right) \pm V_{PC} \quad (\text{Equação 19})$$

Onde:

PR_{100} – Produção diária de etanol a 100% (m³)

RD - Rendimento da destilaria (%)

V_{PC} – Variação de etanol em processo na fermentação (Hoje – ontem) (m³)

3.5.2 Determinação da massa de ART enviado para a fermentação ($Ma_{ART_{Fe}}$)

$$Ma_{ART_{FE}} = \left(VO_{Mosto} \times \left(\frac{ART_{Mosto}}{100} \right) \times D_{Mosto} \right) \quad (\text{Equação 20})$$

Onde:

VO_{Mosto} – Volume de mosto acumulado em 24 horas (m³)

D_{Mosto} – Densidade do mosto em (ton/m³)

ART_{Mosto} – Concentração de ART no mosto (%p/p)

3.5.3 Determinação do rendimento fermentativo (EF_{Fe})

$$EF_{Fe} = \frac{EPF \times 100}{(Ma_{ART_{Fe}} \times 0,6475)} \quad (\text{Equação 21})$$

Onde:

EPF - Etanol produzido na fermentação (m³)

$Ma_{ART_{Fe}}$ – Massa de ART enviado para a fermentação (ton)

Os dados descritos na Tabela 2 e Gráfico 3, abaixo, mostram os resultados reais das 3 últimas safras, comparando os métodos de cálculo de eficiência fermentativa. Vemos que a

metodologia referenciada balanço de massa ART%, representa o valor real de ART convertido em etanol, ou seja, indica ao gestor responsável o quão assertivo está o sistema controle e quantificação dos dados, sejam eles analíticos ou volumétricos / mássicos.

Tabela 2 – Resumo dados mensais safras 2018 – 2020, comparando os métodos de cálculo de eficiência fermentativa.

Balanço	Meses					
	Abril	Maió	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
Massa ART% 2018	104,62	97,41	98,63	104,93	96,38	123,34
Sub Produtos 2018	92,58	92,34	92,52	93,85	93,85	95,27
Massa ART% 2019	108,91	99,53	96,95	102,42	104,79	97,48
Sub Produtos 2019	92,21	92,14	92,13	93,88	93,82	93,97
Massa ART% 2020	109,72	104,20	112,57	108,72	105,54	110,57
Sub Produtos 2020	93,86	93,75	93,66	92,61	91,61	87,21

Fonte: (Própria, 2020)

4 RESULTADOS

4.1 Cálculo do rendimento fermentativo método dos subprodutos

O cálculo do rendimento fermentativo pelo método dos subprodutos baseia-se na somatória de todos os subprodutos formados durante o processo de fermentação do mosto pela ação metabólica da levedura, essas reações paralelas têm como objetivo a manutenção da levedura, no entanto isso promove perdas de ART já que açúcares serão consumidos com outra finalidade não sendo convertidos ao final do processo em etanol. O método de cálculo por meios dos subprodutos utiliza a soma desses subprodutos para determinar o rendimento fermentativo, através da relação estequiométrica, onde justifica-se o ART não convertido em etanol. (ANDRIETTA *et al*, 2006).

4.2 Rendimento fermentativo pelo método balanço de massa ART%

Segundo Andrietta *et al*. (2006), o método de cálculo proposto através do balanço de massa de ART, leva em consideração a massa de ART alimentada ao processo fermentativo e

o relaciona diretamente com a massa ou volume de etanol produzido, tendo como foco, um direto comparativo entre matéria prima e o produto de interesse final. Mesmo sendo o método mais adequado para uma análise objetiva do rendimento fermentativo, existem alguns problemas enfrentados para a implantação e manutenção diária do cálculo fermentativo por meio do balanço de massa. Em alguns casos são observadas oscilações nos valores coletados sendo os mais recorrentes: erro na determinação dos volumes de mosto, vinho e fermento.

Geralmente nos processos operando em batelada alimentada, o balanço de massa para obtenção do rendimento fermentativo utiliza as medições das dornas e cubas para determinar os volumes de vinho, mosto e fermento tratado que por sua vez são utilizados na determinação de etanol produzido, com relação ao ART inserido no processo. Nos processos operando de forma contínua, o cálculo de rendimento fermentativo por balanço de massa de ART, não pode ser realizado sem a utilização de medidores de vazão.

No intuito de diminuir as oscilações do rendimento fermentativo, através do uso deste método, foi proposto uma forma de cálculo cujo número de variáveis utilizadas na determinação é a menor possível. Neste método, utiliza-se o valor de etanol produzido fornecido pelo controle de produção, cuja medida é confiável. Com isto, não é necessário à determinação do volume de vinho e fermento tratado e nem mesmo as análises de etanol nestes produtos para a determinação do volume de etanol produzido na fermentação, que depende somente do volume de etanol produzido, etanol perdido na vinhaça e variação de etanol em processo.

Para a obtenção da massa de ART alimentada ao processo deve-se determinar o volume de mosto utilizando-se um medidor de vazão volumétrico e a concentração de ART% no mosto, o que deve ser analisado através de cromatografia líquida, conferindo assim, maior exatidão. Vazões constantes de mosto, com um controle adequado do valor de Brix auxiliam na diminuição de erros na quantificação da massa de ART alimentado ao processo. Para uma melhor representatividade das amostras, um amostrador ponderado pela vazão deve ser instalado na linha de mosto, permitindo assim, colher amostras por lotes de volume constante e proporcionais de mosto alimentado.

Outra vantagem desta forma de cálculo está no fato de que a mesma pode ser utilizada para obter o rendimento fermentativo tanto de processos operando de forma contínua como batelada alimentada, facilitando assim a comparação entre o desempenho dos dois tipos de processo. Em resumo, na determinação deste rendimento os seguintes cuidados devem ser tomados:

a) Os medidores de vazão devem ser aferidos e instalados de forma correta. Além disto, deve-se atentar para a forma de aquisição dos dados acumulados, de modo a evitar erros nesta totalização, o que comprometeria o resultado.

b) As amostras do mosto, vinho e levedo devem ser coletadas de modo prudente, instalando os coletores de amostra vinculados aos medidores de vazão, com refrigeração adequada, a fim de auferir amostras representativas, de modo a se obter um resultado confiável.

c) As análises de ART devem ser realizadas em amostras compostas e com frequência mínima definida, de forma a garantir a confiabilidade dos dados e resultados.

Nota-se que no método ART% o valor de eficiência é sempre maior no decorrer de toda a safra. Isso denota que há problemas de medidas e/ou análises do processo fermentativo, uma vez que a eficiência de fermentação admitida como real, permeia o *range* de 88 a 91%, com base na produção e manutenção celular. Já no sistema de cálculo por sub produtos, vemos uma constância nos valores de eficiência, pois como já descrito acima, o método considera como “eficiência”, todos os produtos secundários, produzidos na rota metabólica, durante a fermentação, trazendo o equilíbrio aos valores de eficiência.

No entanto o método subprodutos, desconsidera uma grande fuga de carbono no processo fermentativo, principalmente os ácidos orgânicos, pois o balanço de produção de ácidos, considera acidez total como sendo sulfúrica. Outra fuga considerável de perda de ART através deste método de cálculo de eficiência está na reação de transformação de acetaldeído em etanol, através da catálise da enzima álcool desidrogenase, reação essa que é reversível. Este método ainda leva a interpretação errônea do rendimento real, uma vez que em fermentações, cujas condições são agressivas ao inóculo (levedura), a produção de células é muito aquém de uma fermentação que opera nos padrões adequados. Essa distorção, produz resultados de eficiência fermentativa maiores em fermentações mal operadas.

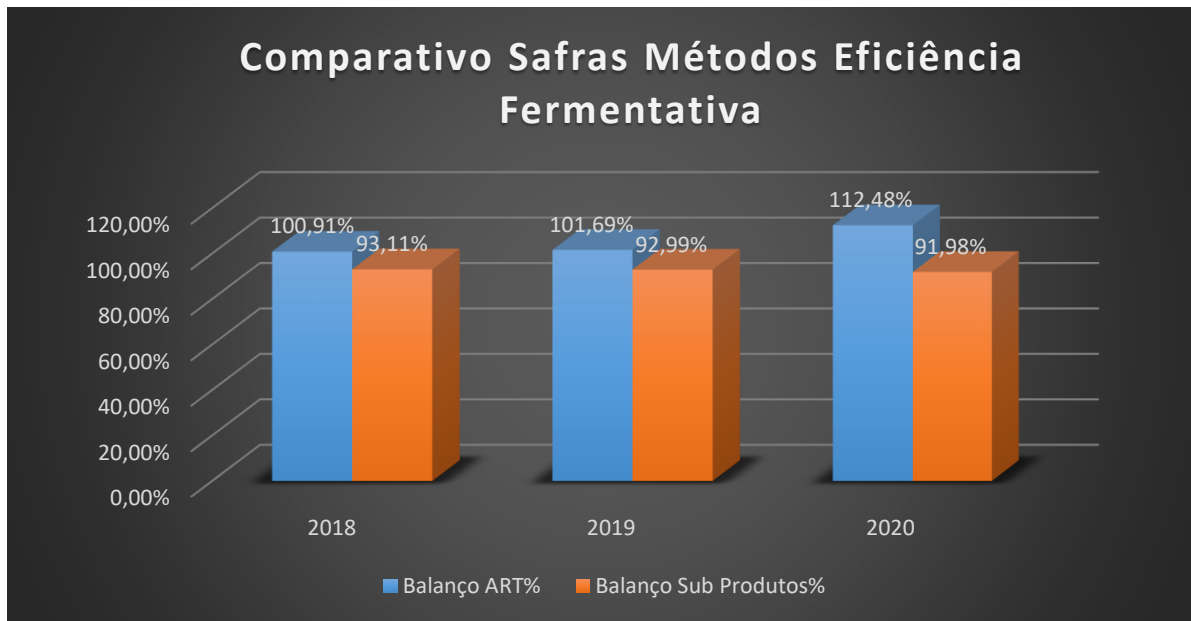


Figura 3 – Comparativo Métodos ART e Sub Produtos (dados safras 18, 19 e 20).

Fonte: Própria, 2021.

O cálculo do rendimento fermentativo através do método de balanço de massa ART% é direto, pois considera a massa ou volume de etanol obtido e a massa de ART inserida no processo, volume de levedo e volumes de material em processo nas dornas (reatores). O uso dos medidores de vazões é necessário em cada etapa e propiciam não só uma análise focada na produção de etanol, mas também informação rápida e assertiva. Assim, tem-se a relação direta do produto (etanol), o qual é o foco no processo fermentativo.

5 CONCLUSÃO

O cálculo do rendimento fermentativo, é a ferramenta de avaliação do processo de transformação de ART em etanol, permitindo a observação do desempenho das leveduras no mosto, no qual seu resultado pode indicar a necessidade do aprimoramento do processo fermentativo por parte das usinas produtoras, ou a correta manutenção dele.

Quanto a implementação dos métodos de cálculo, o modelo do subprodutos foi concebido inicialmente para qualificar as fermentações contínuas, isso na década de 80, por possuir maior agilidade e menor custo devido estar relacionado apenas a análises laboratoriais, sem a necessidade de medir o sub produto gerado, sendo considerado apenas os resultados

analíticos. O método de subprodutos também foi concebido para cálculo de eficiência de fermentação do tipo contínuo, servindo apenas como referência, não sendo útil para determinar perdas neste processo.

O modelo por balanço de ART pode ser considerado mais simples quanto à formulação matemática, porém, sua implementação exige estudo do projeto industrial para instalação de medidores de vazão com maior precisão, o que gera custos, porém, esse modelo consegue maior assertividade na quantificação das perdas de ART no processo fermentativo, pois estas perdas na fermentação, estão relacionados diretamente aos índices de eficiência industrial global da unidade produtora.

Outra vantagem do método ART, é que a forma de cálculo utiliza baixo número de variáveis, comparando o resultado teórico obtido com o etanol real produzido, número este que é facilmente obtido através de medições precisas da produção horária, variável esta que é comum aos dois métodos. A razão matemática de ambos os números, gera o rendimento fermentativo real, tendo como base a o etanol produzido.

REFERÊNCIAS

AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 448p, 2005.

ANDRADE, Rafael Ramos de. **Procedimento para o desenvolvimento de um modelo matemático robusto para o processo de fermentação alcoólica**. 2007. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

ANDRIETTA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S. Bioetanol – Brasil, 30 anos na vanguarda. **Revista Multi Ciência**, Campinas, out. 2006.

ATALA, D. I. P.; COSTA, A. C.; MACIEL FILHO, R.; MAUGERI FILHO, F. **Fermentação alcoólica com alta densidade celular: Modelagem cinética e convalidação de parâmetros**. Trabalho apresentado no XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, São Paulo, 2000.

AURELHO CANHA, Marco. **Rendimento de fermentação na indústria sucroalcooleira**. 2009. 49 f. Monografia (Especialização em Cadeia Produtiva Sucroalcooleira) – Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, 2009.

BASSO, L. C. **Fisiologia e ecologia da fermentação alcoólica**. Trabalho apresentado no I Workshop Tecnológico sobre Produção de Etanol, Piracicaba, 2004.

BERMANN, C. Crise ambiental e as energias renováveis. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 60, n. 3, pág. 20-29, setembro de 2008. Disponível em <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252008000300010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 abril de 2021.

BENEY, L., GERVAIS, P. Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 57, n. 1-2, p. 34-42, 2001.

BOTERO, A. M.; GARHYAN, P.; ELNASHAIE, S. S. E. H. Non-linear characteristics of a membrane fermentor for ethanol production and their implications. **Nonlinear Analysis: Real World Applications**. 2006. v. 7, p 432-457.

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; MILESSI, T. S. S.; ANTUNES, F. A. F.; FREITAS, W. L. C. F.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, S. S. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysate, enzymatic saccharification and ethanol fermentation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v. 2012, p. 1-15, 2012.

CARTWRIGHT, C. P.; ROSE, A. H.; CALDERBANK, J.; KEENAN, M. H. J. Solute Transport. In: **The Yeasts**. London: Academic Press. v. 3, p. 5-56, 1989.

CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação descontínua alimentada. In: SCHMIDELL, W. *et al.* (Coord.). **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgar Blücher, v. 2, p. 205-222, 2001.

CASTAÑEDA AYARZA, Juan Arturo. 2007. 83 f. **Alternativa para aumentar a produção mundial do etanol anidro combustível no curto prazo: o potencial dos méis da cana**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CHIEPPE JÚNIOR, J. B. **Tecnologia e fabricação do álcool**: Rede e-Tec Brasil. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

CYSEWSKI, G.R.; WILKIE, C.W. Process design and economic studies of fermentation methods for the production of ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 20, p.1421-1430, 1978.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento safra brasileira: cana-de açúcar**. Safra 2019/20. v. 7.n. 3. Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-62. 2020.

DORTA, C. **Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M-26)**. 2006. 144 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.

FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação contínua. In: Schmidell *et al.* (Coord.). **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgar Blücher, v. 2, p.223-246, 2001.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. 2. ed. Piracicaba: EME, 2003.

GOMES, E. **Efeito do tratamento ácido da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação alcoólica**. 1988. 206 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. 1988.

IMPE VAN, J. F.; NICOLAY, B. M.; VANROLLEGHM, P. A.; SPRIET, J. A.; MOOR, B. D.; VANDEWALLE, J. Optimal control of the penicillin G. fed-batch fermentation: an analysis of the model of Heijnen *et al.* **Optimal Control Appl. & Methods**. p. 13-34, 1994.

JONES, R. P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P. F. Alcohol fermentation by yeasts: The effect of environmental and other variables. **Process Biochemistry**. v. 16, p.42-49, 1981.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. **Álcool carburante: uma estratégia brasileira**. Curitiba: Editora UFPR, 2002. 248p.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. de. In: LIMA, U. A (Coord.). **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p.1-43.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL. **Biotecnologia industrial**. 2 ed. São Paulo: Edgar Blücher, 2019.

LOPES, C. H.; GABRIEL, A. V. M. D.; BORGES, M. T. M. R. **Produção de etanol a partir da cana-de-açúcar**. São Carlos. 2011

MACEDO, I. **Estado da arte e tendências das tecnologias para energia**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos Ciência, Tecnologia e Inovação. 2003.

MACEDO, I.; CORTEZ, L. A. B. O processamento industrial da canase: açúcar no Brasil. In: ROSILLO-CALLE, F. (Org.). **Uso da biomassa para produção de energia na indústria Brasileira**. Campinas: Editora Unicamp, 2005. p.247-268.

MAFRA, P. H. **Sulfitação do caldo de cana-de-açúcar e aspectos ambientais decorrentes**. 2004. 159 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2004.

McNEIL, B.; HARVEY, L. M. **Fermentation: a practical approach**. 1st ed. IRL PRESS at Oxford University Press, 1990.

MILANEZ, A. Y.; NYKO, D.; GARCIA, J. L. F.; REIS, B. L. S. F. S. **O déficit de produção de etanol no Brasil entre 2012 e 2015: determinantes, consequências e sugestões de política**. BNDES Setorial, 2012.

MONACO, M. A. S. L. **Efeito protetor do magnésio no choque térmico e estresse pelo etanol em leveduras *Saccharomyces cerevisiae***. 2007. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 37, p. 52-68. 2011.

NOVA CANA. **Etanol**. [Desenvolvido por Nova cana]. 2021. Disponibiliza informações sobre a produção do etanol. Disponível em: <[OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. Susceptibility of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria from the alcohol industry to several antimicrobial compounds. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 32, p. 10-14, 2001.](https://www.novacana.com/etanol/fabricacao#:~:text=Processo%20de%20fermenta%C3%A7%C3%A3o,colocada%20em%20uma%20esteira%20rolante.&text=Do%20melado%2C%20continua%2Dse%20o,gera%C3%A7%C3%A3o%20de%20energia%20na%20usina.>>. Acesso em: 12 abr. 2021.</p>
</div>
<div data-bbox=)

PACHECO, T. F. **Produção de etanol: primeira ou segunda geração?** Disponível em: <[QUEINNEC, I.; DAHHOU, B. Optimization and control of a fedbatch fermentation process. **Optimal Control Application Methods**. n. 15, v. 3, p. 175–191, 1994.](http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2011/producao-de-etanol-primeira-ou-segunda-geracao#>>. Acesso em: 30 set. 2020.</p>
</div>
<div data-bbox=)

SANTOS, A. M. d. **Estudo da influência da complementação de nutrientes no mosto sobre o processo de fermentação alcoólica em batelada**. 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

SCHMIDELL, W.; FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e processos fermentativos. In: LIMA, U. A. (org.). **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 2001. p.179-192.

SILVA, J. P. N.; SILVA, M. R. N. **Noções da cultura da cana-de-açúcar**. 2012. Disponível em: <[>. Acesso em: 21 nov. 2020.](http://estudio01.proj.ufsm.br/cadernos/ifgo/tecnico_acucar_alcool/nocoos_cultura_cana_acucar.pdf)

SILVA-FILHO, E. A.; SANTOS, S. K. B.; RESENTE, A.; M., MORAIS, J. O. F.; MORAIS JR, M. A.; SIMÕES D. A. Yeast population dynamics of industrial fuelethanol fermentation process assessed by PCR-fingerprinting. **Antonie Van Leeuwenhoek**. n. 88, v. 1, p. 13, 2005.

TORIJA, M. J.; ROZES, N.; POBLET, M.; GUILLAMON, J.M.; MAS, A. Effects of Fermentation Temperature on the Strain Population of *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, n. 80, p. 47-53, 2003.

TOWNSEND, C. R. **Recomendações técnicas para o cultivo da cana-de-açúcar forrageira em Rondônia**. Embrapa. Rondônia, nº21, nov./2000.

UMERABA, T. Microfiltração de caldo de cana: caracterização do caldo permeado e retentado. 2010.106 f. Dissertação (Mestrado Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

UNICA. **Etanol uma atitude inteligente**. 2008. Disponível em:<file:///C:/Users/Vanessa/Downloads/56801f3ecac4c41ab7a8c54305635fbe%20(5).pdf. Acesso em: 03 jan. 2021.

VIEIRA, D. A. P. FERNANDES, N. C. A. Q. **Microbiologia aplicada**. Inhumas: IFG. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

WALKER, G. M. The roles of magnesium in biotechnology. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 14, n. 4, p. 311-354, 1994.