



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



**Elenice Mendes Silva Gomes**

**INFLUÊNCIA DAS CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES NOS MOSTOS  
SOBRE O DESEMPENHO DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA  
CONDUZIDA EM BATELADA ALIMENTADA COM VAZÃO  
VARIÁVEL DE ALIMENTAÇÃO**

**Maceió**

**Julho de 2011**

ELENICE MENDES SILVA GOMES

INFLUÊNCIA DAS CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES NOS MOSTOS SOBRE O  
DESEMPENHO DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA CONDUZIDA EM BATELADA  
ALIMENTADA COM VAZÃO VARIÁVEL DE ALIMENTAÇÃO

Dissertação Submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. João Nunes de Vasconcelos

Maceió

Julho de 2011

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico Bibliotecária**  
**Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto**

- G633i Gomes, Elenice Mendes Silva.  
Influência das concentrações de açúcares nos mostos sobre o desempenho da fermentação etanólica conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação / Elenice Mendes Silva Gomes, 2011.  
120 f.: il.
- Bibliografia: p. 102-109  
Inclui apêndice
- Orientador: João Nunes de Vasconcelos.  
Dissertação (mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal
1. Cana-de-açúcar. 2. *Saccharomyces cerevisiae*. 3. Etanol – Fermentação.  
4. Batelada alimentada. 5. Etanol – Produção. I. Título.

CDU: 663.5

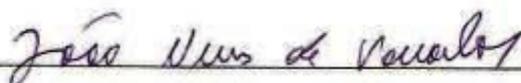
Elenice Mendes Silva Gomes

**INFLUÊNCIA DAS CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES NOS  
MOSTOS SOBRE O DESEMPENHO DA FERMENTAÇÃO  
ETANÓLICA CONDUZIDA EM BATELADA ALIMENTADA COM  
VAZÃO VARIÁVEL DE ALIMENTAÇÃO**

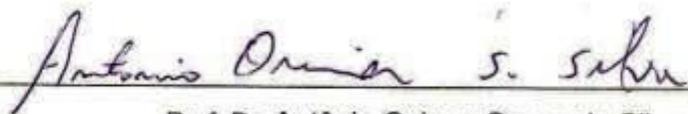
Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Alagoas, como requisito para a  
obtenção do Título de Mestre em Engenharia  
Química

Aprovada em: Maceió, 28 de Julho de 2011.

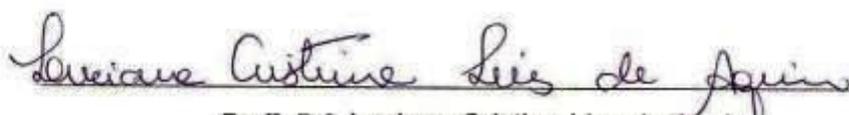
**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. João Nunes de Vasconcelos  
(PPGEQ/UFAL – Orientador)



Prof. Dr. Antônio Osimar Sousa da Silva  
(PPGEQ/UFAL)



Profª. Drª. Luciana Cristina Lins de Aquino  
(UFS – Membro Externo)

## DEDICATÓRIA

*A minha família, por ter me ensinado tudo que sou,  
me apoiando, me incentivando e por todo amor e carinho que recebi em todos os  
momentos da minha vida, em especial minha mãe, meu exemplo por toda a vida.*

*Ao grande amor da minha vida, meu noivo Juliano, que sempre esteve ao meu lado em todos  
os momentos, me fazendo muito feliz.*

*Com muito carinho, dedico este trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a vida.

Ao Prof. João Nunes de Vasconcelos, por ter me orientado neste trabalho;

A FAPEAL e a CAPES pelo auxílio financeiro;

A Usina Caeté, pela oportunidade de realização das determinações do teor alcoólico;

Ao Senhor Joaquim Gomes Neto, pela gentileza de ceder à cana-de-açúcar, para realização dos experimentos deste trabalho;

Aos meus amigos da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPEP-UFAL), Prof. Josealdo Tonholo, Sandra Nunes, Neide Almeida, Fátima Gomes e Marinês Silveira, pelo incentivo e por sempre acreditarem em mim;

Aos meus amigos do Laboratório de Derivados de Cana-de-Açúcar (LDCA), Daniel Fernandes, Amaury Calheiros, Tatiane Lima, Gerlan Nazário, Karlly Oliveira e José Quitério, pela colaboração, aprendizagem e pelos momentos de amizade e alegrias durante todo esse tempo;

A minha mãe, minhas tias e minha irmã, por todo amor, carinho e apoio em todas as fases da minha vida;

A minha vida Juliano, o melhor noivo do mundo, pelo amor em todos os momentos;

A minha amiga Letícia, por sempre estar ao meu lado, nas horas que sempre precisei, com seus conselhos e carinho;

Ao amigo Fabiano Quirino, por ter me ajudado com o abstract deste trabalho;

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

*“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles”.*

*Augusto Cury*

## RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a influência das concentrações de açúcares nos mostos, sobre o desempenho da fermentação etanólica conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação, para a definição das melhores concentrações de ART nos mostos (de caldo, de melaço e misto) que conduzam a melhores eficiências de fermentação e produtividade em etanol. Na preparação do mosto misto foram utilizadas as seguintes proporções (20% melaço + 80% caldo, 40% melaço + 60% caldo, 50% melaço + 50% caldo, 60% melaço + 40% caldo, 80% melaço + 20% caldo). O perfil de alimentação foi decrescente, variando-se a vazão de 0,75 a 0,25 L.h<sup>-1</sup>, com tempo de enchimento do fermentador de 3 horas para todos os ensaios, variando-se de 30 em 30 minutos a vazão de alimentação de mosto, em fermentador de 4L de volume de trabalho (3 litros de mosto e 1 litro de inoculo), avaliando-se diferentes concentrações de ART nos 3 tipos de mosto estudados. Foram avaliados parâmetros de desempenho, como eficiências fermentativa e de processo e produtividade em etanol. Nos mostos foram quantificados pH, acidez sulfúrica, Brix e ART. No meio fermentado (vinho), pH, acidez, Açúcares Residuais e teor de etanol e quantidade de células. O perfil cinético foi definido, quantificando-se as concentrações de células, substrato e etanol (em intervalos de 1 hora). Os valores indicados neste estudo, como ponto de partida para utilização industrial, são Brix de 16 a 18 (ART 114,25 a 125,86 g/L), de 14 a 18 °Brix (ART de 112,90 a 141,24 g/L) e próximo de 16 °Brix (ART de 113,68 g/L a 123,30), respectivamente para mostos de melaço, caldo e misto (caldo + melaço). As eficiências de fermentação foram: 77,17 a 90,30%, para mosto de caldo, 74,4 a 86,51% para mosto misto e 61,84 a 84,06 para mosto de melaço. As produtividades obtidas foram 6,85 a 8,21g/L.h, para mosto de caldo, 5,90 a 7,77g/L.h para mosto misto e 4,04 a 6,72g/L.h para mosto d melaço. Estas faixas recomendadas servem para subsidiar, como ponto de partida, a condução da fermentação etanólica industrial conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação, visto que as condições de condução dos ensaios, assim como as matérias-primas utilizadas na preparação dos mostos, foram semelhantes às utilizadas industrialmente.

**Palavras – Chaves:** Cana-de-açúcar. *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentação Etanólica. Batelada Alimentada. Eficiência Fermentativa. Produtividade em Etanol.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of concentrations of sugars in the must, on the performance of ethanol fermentation conducted in fed batch with variable flow of power to define the best concentrations of ART in the must (juice, molasses and mixed) that lead to improved efficiencies and productivity in ethanol fermentation. In the preparation of mash mix were used the following proportions (20% molasses + 80% broth, 40% molasses + 60% broth, 50% molasses + 50% broth, 60% molasses + 40% broth, 80% molasses + 20% broth). The profile power was declining, varying the flow rate from 0.75 to 0.25 Lh<sup>-1</sup>, with time filling the fermenter 3 hours for all tests, ranging from 30 to 30 minutes to feed flow wort in fermenter 4L workload (3 liters of wine and 1 liter of inoculum), evaluating different concentrations of ART in three types of wine studied. We evaluated performance parameters such as fermentation and process efficiencies and productivity in ethanol. Musts were quantified in pH, sulfuric acid, Brix and ART. In the middle fermented (wine), pH, acidity, residual sugar and ethanol content and quantity of cells. The kinetic profile was defined by quantifying the concentrations of cells, substrate and ethanol (in 1 hour). The figures in this study as a starting point for industrial use are 16 to 18 Brix (ART 114.25 to 125.86 g / L), 16 to 18 ° Brix (ART 127.70 to 141.24 g / L) and around 16 ° Brix (ART 113.68 g / L to 123.30), respectively, for juice of molasses, juice and mix (juice + molasses). The fermentation efficiencies were 77.17 to 90.30% for grape juice, from 74.4 to 86.51% for wine and mixed wine from 61.84 to 84.06 for molasses. Yields were obtained from 6.85 to 8.21 g / Lh for wine broth, 5.90 to 7.77 g / Lh for wine mixed and 4.04 to 6.72 g / Lh for grape molasses. These tracks serve to subsidize recommended as a starting point, the conduct of industrial ethanol fermentation conducted in fed batch with variable flow supply, since the conditions for conducting the tests, as well as the raw materials used in the preparation of musts were similar to those used industrially.

**Keywords:** Sugar cane. *Saccharomyces cerevisiae*. Ethanolic fermentation. Fed Batch. Fermentation efficiency. Ethanol Productivity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aurícula, bainha (esquerda) e colmo (direita) da cana-de-açúcar.....	19
Figura 2 - Corte transversal de uma levedur.....	25
Figura 3 - Corte transversal de uma levedura e seus constituintes.....	25
Figura 4 - Representação esquemática do mecanismo de conversão do substrato em produto durante o processo fermentativo .....	29
Figura 5 - Via Glicolítica .....	30
Figura 6 - Modo de operação do processo descontínuo alimentado .....	41
Figura 7 - Massa celular (Mx) e concentração celular (x) em função do tempo para um processo descontínuo alimentado.....	43
Figura 8 – Melaço.....	47
Figura 9 - Colmos de Cana-de-Açúcar .....	47
Figura 10 - Curva de calibração da bomba dosadora utilizada nos ensaios.....	48
Figura 11 - Perfil de enchimento utilizado nos ensaios experimentados.....	49
Figura 12a - Esquema do arranjo experimental da fermentação etanólica.....	50
Figura 12b - Foto do arranjo experimental da fermentação etanólica.....	50
Figura 13 - Potenciômetro utilizado na determinação do pH.....	52
Figura 14 - Determinação do Brix dos meios em fermentação e fermentado.....	52
Figura 15 - Equipamento utilizado para determinação dos ART– REDUTEC.....	53
Figura 16 - Microdestilador de etanol.....	54
Figura 17 - Densímetro digital.....	54
Figura 18 - Câmara de Neubauer.....	55
Figura 19 - Resultado do parâmetro inicial (Brix do mosto) para a faixa de 12 a 30°Brix, e os respectivos valores dos ART.....	62
Figura 20 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 12g/100g.....	64
Figura 21 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 14g/100g.....	64

Figura 22 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 16g/100g.....	65
Figura 23 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 18g/100g.....	65
Figura 24 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 20g/100g.....	66
Figura 25 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 22g/100g.....	66
Figura 26 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 24g/100g.....	67
Figura 27 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 26g/100g.....	67
Figura 28 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 28g/100g.....	68
Figura 29 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melaço de Brix 30g/100g.....	68
Figura 30 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto de melaço.....	70
Figura 31 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 12g/100g.....	71
Figura 32 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 14g/100g.....	72
Figura 33 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 16g/100g.....	72
Figura 34 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 18g/100g.....	73
Figura 35 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 20g/100g.....	73
Figura 36 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto de caldo de cana-de-açúcar.....	75
Figura 37 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo de Brix 12g/100g.....	77
Figura 38 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo de Brix 16g/100g.....	77

Figura 39 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melação + 80% caldo de Brix 20g/100g.....	78
Figura 40 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 20% melação + 80% caldo.....	78
Figura 41 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melação + 60%caldo de Brix 12g/100g.....	79
Figura 42 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melação + 60% caldo de Brix 16g/100g.....	79
Figura 43 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melação + 60% caldo de Brix 20 g/100g.....	80
Figura 44 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 40% de melação +60% de caldo.....	80
Figura 45 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melação + 50% caldo de Brix 12g/100g.....	81
Figura 46 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melação + 50% caldo de Brix 16g/100g.....	81
Figura 47 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melação + 50% caldo de Brix 20 g/100g.....	82
Figura 48 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de (50% de melação + 50% de caldo de cana).....	82
Figura 49 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melação + 40% caldo-de-cana de Brix 12g/100g.....	83
Figura 50 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melação + 40% caldo-de-cana de Brix 16g/100g.....	83
Figura 51 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melação + 40% caldo-de-cana de Brix 20g/100g.....	84
Figura 52 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 60% de melação + 40% de caldo-de-cana.....	84
Figura 53 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melação + 20% caldo-de-cana de Brix 12g/100g.....	85

Figura 54 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melação + 20% caldo-de-cana de Brix 16g/100g.....	85
Figura 55 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melação + 20% caldo-de-cana de Brix 20g/100g.....	86
Figura 56 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 80% de melação + 20% de caldo-de-cana.....	86
Figura 57 - pH do mosto e do vinho de ensaios com melação.....	92
Figura 58 - Acidez Sulfúrica no mosto e vinho para os ensaios realizados com mosto de melação.....	93
Figura 59 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com caldo de cana.....	93
Figura 60 - Acidez Sulfúrica no mosto e vinho para os ensaios realizados com mosto de caldo de cana.....	94
Figura 61 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (20% melação + 80% caldo).....	94
Figura 62 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (20% melação + 80% caldo).....	95
Figura 63 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (40% melação + 60% caldo).....	95
Figura 64 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (40% melação + 60% caldo).....	96
Figura 65 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (50% melação + 50% caldo).....	96
Figura 66 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (50% melação + 50% caldo).....	97
Figura 67 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (60% melação + 40% caldo).....	97
Figura 68 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (60% melação + 40% caldo).....	98
Figura 69 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (80% melação + 20% caldo).....	98
Figura 70 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (80% melação + 20% caldo).....	99

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da cana-de-açúcar e respectivo caldo, em g/100 g (% peso/peso), para fins tecnológicos.....	21
Tabela 2 - Elementos minerais presentes nos mostos.....	27
Tabela 3 - Concentração de nutrientes minerais no mosto .....	32
Tabela 4 - Proporções melaço:caldo na preparação do mosto misto.....	51
Tabela 5 - Caracterização do microrganismo utilizado nos ensaios experimentais.....	59
Tabela 6 - Caracterização do caldo de cana-de-açúcar e do melaço utilizados nos ensaios experimentais. ....	60
Tabela 7 - Concentração de açúcares no mosto (Brix e ART), no vinho (ARTresidual) e percentual de produção de etanol nos finais da fase de enchimento do fermentador.....	61
Tabela 8 - Resumo geral dos ART do mosto, ART residuais, produtividade e eficiência e fatores de conversão.....	87
Tabela 9 - Açúcares Redutores Totais metabolizados e produção de etanol até o final da fase de enchimento para os 3 tipos de mosto utilizados neste estudo .....	90

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
2.1 CANA-DE-AÇÚCAR.....	19
2.1.1 Considerações Gerais.....	19
2.1.2 Composição Química.....	20
2.1.3 Melaço.....	21
2.2 PRODUÇÃO DE ETANOL.....	- 22
2.3 FERMENTAÇÃO ETANÓLICA.....	23
2.3.1 Breve Histórico.....	23
2.3.2 Matérias-Primas utilizadas em Fermentação Etanólica.....	24
2.3.3 Microrganismos Agentes da Fermentação Etanólica.....	24
2.3.4 Preparo do mosto.....	28
2.3.5 Bioquímica da Fermentação Etanólica.....	28
2.3.6 Fatores Físicos, Químicos e Microbiológicos que Afetam o Desempenho da Fermentação Etanólica.....	31
2.3.6.1 Fatores Químicos.....	31
2.3.6.2 Fatores Físicos.....	34
2.3.6.3 Fatores Microbiológicos.....	35
2.3.7 Controle na Fermentação Etanólica Industrial.....	36
2.3.8 Fases da Fermentação Etanólica .....	38
2.4 FORMAS DE CONDUÇÃO DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA-.....	39
2.4.1 Processo Descontínuo.....	39
2.4.2 Fermentação Descontínua Alimentada (Batelada Alimentada).....	41
2.4.3 Processo Contínuo.....	43

<b>3 OBJETIVOS</b> .....	46
3.1 OBJETIVO GERAL.....	46
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	46
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	47
4.1 PREPARO DA AMOSTRA.....	47
4.1.1 Microrganismo.....	47
4.1.2 Matéria-prima.....	47
4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	48
4.2.1 Preparo do Inóculo.....	48
4.2.2 Perfil de Enchimento do Fermentador.....	49
4.2.3 Cinética da Fermentação Etanólica.....	51
4.2.4 Preparo do Mosto.....	51
4.3 METODOLOGIA ANALÍTICA.....	52
4.3.1 Determinação do pH.....	52
4.3.2 Determinação de Sólidos Solúveis.....	52
4.3.3 Determinação dos Açúcares Redutores Totais – ART.....	53
4.3.4 Densidade.....	53
4.3.5 Determinação do Teor de Etanol.....	54
4.3.6 Acidez Sulfúrica.....	55
4.3.7 Contagem de Células e Viabilidade Celular.....	55
4.4 PARÂMETROS DA FERMENTAÇÃO.....	56
4.4.1 Eficiência da fermentação.....	56
4.4.2 Eficiência do processo Fermentativo.....	56
4.4.3 Produtividade em Etanol.....	57
4.4.4 Determinação dos Fatores de Conversão.....	58

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	59
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MICRORGANISMO.....	59
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	60
5.2.1 Caracterização do Melaço e Caldo de Cana.....	60
5.3 FASE DE ENCHIMENTO DO FERMENTADOR.....	60
5.4 FERMENTAÇÕES COM MOSTO DE MELAÇO.....	62
5.5 FERMENTAÇÕES COM MOSTO DE CALDO DE CANA-DE- AÇÚCAR.....	71
5.6 FERMENTAÇÕES COM MOSTO MISTO.....	75
5.5.1 Mosto com 20% de Melaço + 80% Caldo.....	77
5.5.2 Mosto com 40% de Melaço + 60% Caldo.....	79
5.5.3 Mosto com 50% de Melaço + 50% Caldo.....	81
5.5.4 Mosto com 60% de Melaço + 40% Caldo.....	83
5.5.5. Mosto com 80% de Melaço + 20% Caldo.....	85
5.7 FATORES DE CONVERSÃO $Y_{X/S}$ (g/g), $Y_{P/S}$ (g/g) e $Y_{P/X}$ (g/g).....	88
5.8 AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS METABOLIZADOS PARA TODOS OS TIPOS DE MOSTO.....	89
5.9 pH e ACIDEZ ENCONTRADAS PARA TODOS OS TIPOS DE MOSTO.....	91
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	100
<b>7 SUGESTÕES</b> .....	102
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	103
<b>APÊNDICE</b> .....	108

---

## 1 INTRODUÇÃO

A importância sócio-econômica da exploração da cultura canavieira em solos brasileiros é reconhecida desde os tempos do Brasil colônia. Atualmente, além dos aspectos sócio-econômicos, essa cultura tem sua importância reconhecida também nas áreas econômica e ambiental, tendo o etanol como uma fonte renovável de energia menos poluente, que integra parte da matriz energética nacional e está sendo um dos produtos mais importantes do mercado internacional (ROS, 2004).

O Brasil posiciona-se no cenário internacional, atualmente, como o maior produtor e exportador mundial de açúcar de cana e o maior produtor e consumidor de álcool automotivo, sendo também o único país a introduzir, em larga escala, o álcool como combustível alternativo ao petróleo (SAITO, 2000; SILVA, 2006; SOUZA, 2006).

A produção de etanol carburante no Brasil é feita exclusivamente por fermentação, com mostos de caldo de cana ou melaço, ou ainda, por misturas destes dois componentes. Alguns macronutrientes e/ou micronutrientes também são adicionados ao mosto, a fim de complementar as deficiências do meio, quanto a certos elementos indispensáveis às leveduras para máxima transformação dos açúcares em etanol. O microrganismo agente da fermentação mais utilizado é um fungo leveduriforme, *Saccharomyces cerevisiae*. (SILVA, 2006)

A concentração de açúcares nos mostos deve respeitar a fisiologia do microrganismo agente da fermentação, ou seja, deve ser tal que não provoque problemas de inibição do seu metabolismo, seja por excesso de substrato ou por elevadas concentrações de produto obtido (LIMA *et al.*, 2001; AMORIM, 1977; MCELROY, 1988; MAIORELLA, 1983; BROWN; VASCONCELOS, 1987, 2010).

Sabendo-se que os Açúcares Redutores Totais (ART) e o etanol, em determinadas concentrações, exercem efeito de inibição sobre o metabolismo das leveduras e que o efeito deles é sinérgico, o controle da adição de açúcares é de fundamental importância, não só para controlar ou mesmo minimizar efeitos inibitórios, mas, também, para aumentar a eficiência fermentativa e a produtividade (VASCONCELOS, 1987). A concentração de açúcares pode afetar tanto o crescimento das leveduras quanto a produção de etanol. Também promove estresse osmótico na levedura, podendo ocasionar inibição do metabolismo. Mesmo que não houvesse este efeito, haveria produção de maior quantidade de etanol, que exerceria inibição do metabolismo da levedura.

## *Introdução*

---

No caso da fermentação etanólica, cujo objetivo é a produção de etanol, o efeito repressivo da frutose e da glicose sobre a cadeia respiratória é benéfico (ANGELIS, 1987; NOVAES, 1982).

Mosto com baixa concentração de açúcares favorece o crescimento celular, requer mais mão-de-obra, conduz a fermentações mais rápidas, aumenta o consumo de vapor e água na destilação, exige maior volume de fermentadores (dornas) e as infecções são mais fáceis. Em geral, conduz a menor produtividade em etanol. Entretanto, mostos com elevadas concentrações de açúcares conduzem a fermentações incompletas, com formação de subprodutos indesejáveis, com maiores tempos de fermentação, perdas de açúcares podendo reduzir consideravelmente a eficiência da fermentação, além de favorecem aumento de incrustações nas colunas de destilação (VASCONCELOS, 2010).

Concentrações adequadas de açúcares aumentam a velocidade de fermentação e a produtividade (maior produção de etanol com a mesma capacidade volumétrica instalada e na unidade de tempo), melhorando o desempenho do processo fermentativo, pois possibilita menor crescimento celular e menor formação de glicerol, para a mesma quantidade de glicose/frutose metabolizada (MUTTON; MUTTON, 2005; VASCONCELOS, 2010).

Desta forma, este estudo teve como objetivo, avaliar as concentrações de ART nos mostos (de caldo, de melão e misto) e sua influência sobre o desempenho da fermentação etanólica em batelada alimentada com vazão variável de alimentação.

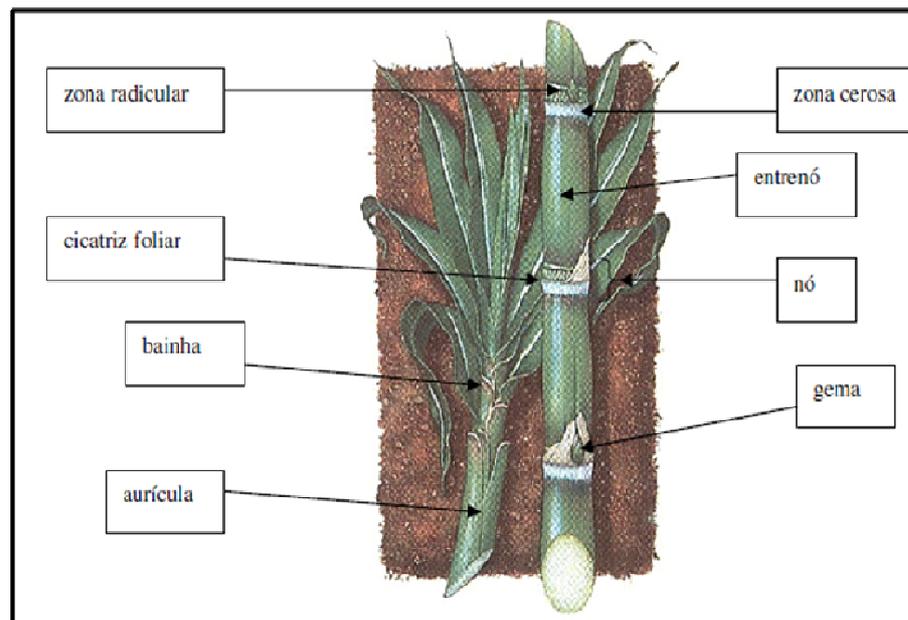
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CANA-DE-AÇÚCAR

#### 2.1.1 Considerações Gerais

A cana-de-açúcar é uma planta originária da Ásia Meridional, pertencente à família das gramíneas, que pode atingir vários metros de altura. Os colmos ou caules são espessos e repletos de caldo açucarado e as flores, mínimas, congregam-se em enormes pendões terminais, de coloração cinzento-prateada (NÓBREGA, 2009) (Figura 1).

Figura 1 - Aurícula, bainha (esquerda) e colmo (direita) da cana-de-açúcar.



Fonte: Nóbrega, 2009

Em termos botânicos, a cana-de-açúcar está assim classificada: Reino - Vegetal; Divisão - Embryophitasiphonogama; Subdivisão - Angiosperma; Classe - Monocotyledoneae; Ordem - Glumiflorae; Família - Poaceae (gramineae); Tribo - Paniceae; Sub-tribo - Saccharae; Gênero - *Saccharum* (PMGCA, 2003).

Atualmente, são conhecidas e catalogadas 32 espécies de cana-de-açúcar. Todas as variedades de cana, cultivadas hoje em todo mundo para fins industriais, são híbridas, envolvendo duas ou mais espécies diferentes. Por isso, hoje, o nome científico da cana - de-açúcar é *Saccharum spp* (PPMGCA, 2003).

De acordo com Gomes (2003), em termos morfológicos, os colmos da cana-de-açúcar assumem formas cilíndricas e são constituídos principalmente por nós e entrenós. Sua parte mais mole (conhecida como entrenó, internódio, gomo ou meritalo) é onde se acumula a maior parte do seu principal açúcar, a sacarose. Os nós, geralmente mais duros, contêm baixa concentração de sacarose e possuem importantes características para identificação das variedades, tais como: cicatriz foliar, gemas, região radicular e região cerosa ou glauca. Na extremidade superior dos colmos ainda estão presentes a aurícula e a bainha (NÓBREGA, 2009).

Segundo Nóbrega (2009), a cana-de-açúcar, cultivada em quase todos os Estados do Brasil, é uma matéria-prima de grande flexibilidade. Da cana se aproveita absolutamente tudo: bagaço, méis, tortas e resíduos da colheita. Do bagaço, obtém-se um hidrolisado usado na alimentação animal, diversos tipos de papéis, fármacos e produtos como o furfural, de alta reatividade, para a síntese de compostos orgânicos, com grande número de aplicações na indústria química e farmacêutica. Do melaço pode ser obtido ácido cítrico, ácido láctico, glutamato monossódico, além de leveduras. Do etanol, podem ser fabricados polietileno, estireno, cetona, acetaldeído, poliestireno, ácido acético, éter, acetona e grande número de produtos que são obtidos a partir do petróleo. A vinhaça (vinhoto), diluída, é utilizada como fertilizante na cultura da cana-de-açúcar, em operação denominada de fertirrigação. Existem, ainda, outros derivados, destacando-se dextrana, xantana, sorbitol, glicerol, cera refinada de torta, antifúngicos etc.

### 2.1.2 Composição Química

A composição química da cana (Tabela1) varia nas diferentes regiões açucareiras, nas diferentes localidades de uma mesma região e nos distintos anos na mesma localidade, por influência de variedade, idade, sanidade, tratos culturais, climas, solos, temperatura, umidade, precipitação pluvial, adubação e outros, o que não permite citar números que representem uma composição química universal.

## *Revisão Bibliográfica*

De acordo com Nóbrega (2009), a sacarose é o componente que mais interessa à elaboração do açúcar, do etanol e da cachaça, onde quanto mais elevada for a sua percentagem, mais elevado será o rendimento agroindustrial nestes produtos.

A maior riqueza em sacarose é alcançada com a plena maturação, motivo esse pelo qual é importante para os bons resultados da transformação desta matéria-prima em etanol, saber quando está totalmente madura.

Tabela 1 - Composição da cana-de-açúcar e respectivo caldo, em g/100 g (% peso/peso), para fins tecnológicos.

<b>Componente</b>	<b>Percentual</b>	<b>Subcomponente</b>	<b>Percentual</b>
Fibra	8,0 a 14,0		8,0 a 14,0
Caldo	86,0 a 92,0	Água	75,0 a 82,0
		Sólidos em solução (°Brix)	18,0 a 25,0
Açúcares nos sólidos em solução do caldo	15,5 a 23,5	Sacarose	14,5 a 23,5
		Dextrose (glicose)	0,3 a 1,1
		Levulose (frutose)	0,0 a 0,7
Não- açúcares nos sólidos em solução do caldo	1,5 a 2,5	Matérias nitrogenadas, aminoácidos, sais minerais, substâncias pécicas, gomas, mucilagens, ácidos livres, matérias corantes, gorduras e ceras.	1,5 a 2,5

Fonte: Nóbrega, 2009

### 2.1.3 Melaço

Denomina-se melaço o resíduo da fabricação de açúcar que não é mais centrifugado para a separação da sacarose. Eles se originam nas usinas de açúcar, pela centrifugação das massas cozidas para a separação dos cristais de açúcar. Sua composição pode variar, dependendo do tipo de açúcar a ser produzido (LIMA *et al.*, 2001). O melaço apresenta densidade em torno de 1,5 g/L e, apesar de ser rico em açúcares, apresenta escassez em nutrientes.

## 2.2 PRODUÇÃO DE ETANOL

O etanol atualmente é mais utilizado como combustível em veículos automotores em todo o mundo. Na mistura com a gasolina, para a geração de hidrogênio, ou mesmo na utilização direta como combustível. É composto de extrema importância e possui papel considerável na matriz energética mundial, principalmente nos tempos atuais, devido à crescente conscientização sobre os impactos ambientais causados pelos combustíveis fósseis SIQUEIRA (1993).

No Brasil, produzia-se etanol desde o início do século, mas devido à crise do petróleo no início da década de 70, o governo investiu na produção de etanol, implantando o Proálcool (Programa Nacional de Álcool), em 1975. Com isso, o Brasil tornou-se o primeiro país do mundo a desenvolver um programa alternativo de combustíveis em larga escala para substituição da gasolina. Segundo Siqueira (1993), além das razões pelas quais o programa foi criado, destaca-se os seguintes fatores:

- Trata-se de energia renovável e combustível menos poluente;
- Utiliza tecnologia 100% nacional;
- Emprega mão-de-obra direta, com fixação do homem no meio rural;
- É um programa de conteúdo estratégico pelo seu caráter nacionalístico e pela sua dispersão territorial.

Quando o Proálcool foi implantado, segundo Zarpelon; Andrietta (1992), todas as novas destilarias foram montadas baseadas no processo Melle-Boinot (batelada-alimentada com reciclo de células), que se mostrou muito conveniente e satisfatório em relação a operação e eficiência de conversão de açúcares a etanol. Mas visando a redução dos custos de produção e o aumento da produtividade, a fermentação etanólica continua mostrou ser um processo bastante atrativo.

O processo fermentativo conduzido atualmente utilizado pela maioria das usinas é um processo industrial integrado, devido à produção conjunta do açúcar. Além disto, parte da matéria prima, o bagaço, é utilizada para geração de energia elétrica necessária para o próprio processamento e em muitas plantas há excedente de energia que é comercializado com as distribuidoras de energia locais. O aproveitamento da palha da cana para geração de energia também já é uma realidade (ZARPELON; ANDRIETTA, 1992).

A produção de etanol por processos fermentativos é de grande importância econômica no Brasil devido à localização geográfica do país, tipo de solo e à grande variedade de matéria-prima disponível. Vale lembrar ainda que o cultivo de cana é possível em quase todo o território nacional por todo o ano (BASSO *et al.*, 2001).

Alguns melhoramentos têm sido realizados ultimamente visando aumentar a produtividade de etanol, como a utilização de um sistema contínuo de fermentação com extração do produto do meio fermentativo a vácuo, e conseqüentemente reduzindo a inibição pelo etanol, resultando em melhor desempenho que em processos industriais convencionais. Além disso, o desenvolvimento de estratégias de controle eficientes tem reduzido custos de produção e impactos ambientais por possibilitar a manutenção do processo em condições definidas como ótimas (COSTA *et al.*, 2002).

## 2.3 FERMENTAÇÃO ETANÓLICA

### 2.3.1 Breve Histórico

A fermentação tem sido realizada como arte durante muitos séculos, pois historiadores acreditam que há 10.000 anos a.C. já se elaborava vinho. Pesquisas feitas por Oliveira (2006) apontam alguns registros de que arqueologistas, na Turquia, na Síria, no Líbano e na Jordânia, encontraram acúmulo de sementes de uva da Idade da Pedra (Período Neolítico B), cerca de 8.000 a.C, fato este que mostrou aceitação de evidências ou pelo menos probabilidade da existência de elaboração de vinhos.

A fermentação etanólica é conhecida desde os tempos mais remotos. Porém a natureza microbiológica da fermentação, como um processo anaeróbio, só foi descoberta por Pasteur, em 1863. A partir daí muitas pesquisas foram desenvolvidas a fim de elucidar e formular as reações enzimáticas acontecidas no interior dos microrganismos responsáveis pela transformação do açúcar (glicose) em etanol e gás carbônico pelas leveduras (OLIVEIRA, 2006).

### 2.3.2 Matérias-Primas Utilizadas em Fermentação Etanólica

Podem-se distinguir as matérias açucaradas utilizadas para o desenvolvimento da fermentação etanólica, em dois tipos: as diretamente fermentescíveis e as não diretamente fermentescíveis. As primeiras referem-se às que contêm monossacarídeos e se encontram nos sucos de frutas. As não diretamente fermentescíveis são as que contêm dissacarídeos, que são fermentadas após sofrer o processo de hidrólise, realizada naturalmente por ação da invertase, enzima produzida pelas leveduras, agentes da fermentação etanólica (VASCONCELOS, 2010).

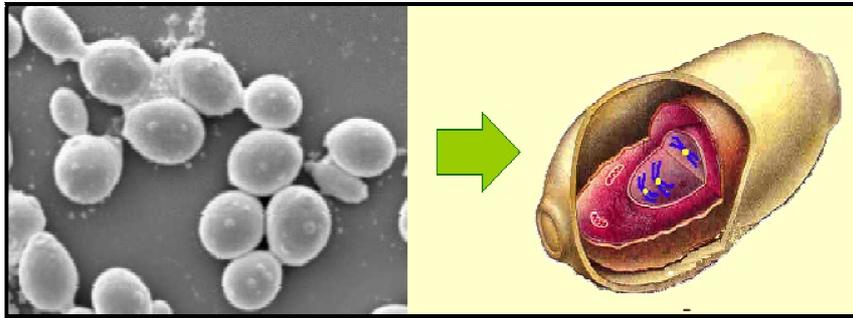
No Brasil, as matérias-primas utilizadas para a produção de etanol são a cana-de-açúcar e o melaço, subproduto da fabricação do açúcar, tendo a sacarose como representante principal de seus componentes (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Segundo Phisalaphong (2005), a concentração inicial de açúcares em fermentações tem efeito na ativação ou repressão do metabolismo celular. O mesmo autor ainda estudou a influência desta nos parâmetros como a velocidade máxima de crescimento microbiano. O desempenho da fermentação varia com diferentes condições de cultivo, como temperatura, pressão, pH do meio, oxigênio presente, substrato, espécie do microrganismo, linhagem, presença de contaminação e outros. Devido a estes fatores, observam-se distintas eficiências da conversão de açúcar em etanol (BASSO *et al.*, 2001).

### 2.3.3 Microrganismos Agentes da Fermentação Etanólica

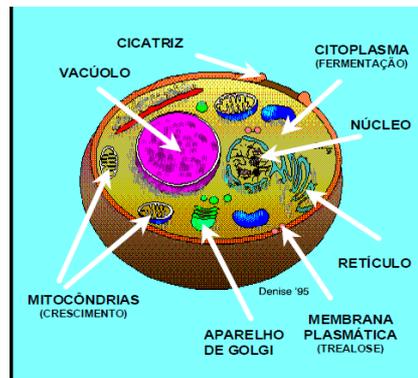
As leveduras são fungos pertencentes às classes dos Ascomycetos, Basidiomicetos ou Deuteromicetos. Ao contrário dos bolores, as leveduras são normalmente unicelulares, apresentando células de forma oval, elíptica ou arredondada. Possuem parede celular rígida, membrana citoplasmática e as organelas normalmente encontradas nas células superiores, tais como núcleo, mitocôndria, retículo endoplasmático, etc (PACHECO; SGARBIERI, 2002). O esquema de um corte transversal de uma célula de levedura pode ser observado nas Figuras 2 e 3.

Figura 2 - Corte Transversal de uma levedura.



Fonte: [www.anatpat.unicamp.br](http://www.anatpat.unicamp.br)

Figura 3 - Corte transversal de uma levedura e seus constituintes.



Fonte: [www.anatpat.unicamp.br](http://www.anatpat.unicamp.br)

Segundo Pacheco; Sgarbieri (2002), as leveduras são fungos unicelulares, possuindo aproximadamente 5 a 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, formadas por membrana plasmática, espaço periplasmático e parede celular, constituída principalmente por polissacarídeos e pequenas quantidades de peptídeos, apresentando uma estrutura semi-rígida e permeável. As leveduras encontram-se entre os microrganismos economicamente viáveis para a produção de etanol.

As leveduras são microrganismos mesófilos e requerem temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol, numa faixa de 32 a 35°C. O aumento da temperatura no meio fermentativo favorece a contaminação bacteriana e a toxidez da levedura pelo etanol (LIMA, *et al.*, 2001). A levedura é um microrganismo aeróbio facultativo, ou seja, na presença de oxigênio, a mesma transforma glicose em biomassa,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Em anaerobiose, a maior parte da glicose é convertida em etanol e  $\text{CO}_2$ , sempre com o objetivo de obter ATP (adenosina trifosfato) para realização de suas atividades metabólicas.

## *Revisão Bibliográfica*

---

Os carboidratos considerados substratos para a fermentação, tanto podem ser endógenos (constituintes da levedura, como glicogênio e trealose) ou exógenos, como a sacarose, glicose, frutose e outros, que devem ser fornecidos ao microrganismo (BASSO *et al.*, 2001).

De acordo com Pacheco; Sgarbieri (2002), geralmente as leveduras crescem e possuem alto poder de eficiência na produção de etanol em valores de pH de 3,5–6,0 a temperaturas de 28-35 °C. Entretanto, com a taxa inicial de produção de etanol irá ocorrer aumento na temperatura (40°C), o que ocasiona decréscimo da produtividade global no processo de fermentação. Decréscimo este que está associado aos efeitos que a levedura sofre pela formação do produto, uma vez que esta é bastante susceptível a inibições pelo etanol. Concentrações de etanol no meio em fermentação de 1–2 % (p/v) são suficientes para retardar o crescimento das leveduras, e em concentrações próximas de 10 % (p/v) de etanol, a taxa decréscimo se torna quase nula.

A maioria das unidades produtoras de etanol, tradicionalmente iniciava a safra usando toneladas de levedura oriunda da indústria de panificação até meados dos anos 90. Essa estratégia permite partida rápida e mais segura, minimizando possíveis problemas relativos a acidentes fermentativos. A partir do início dos anos 90, foi constatado que as leveduras utilizadas como inóculo são completamente substituídas por leveduras nativas ainda no início da safra (ANDRIETTA *et al.*, 2006). Ficou comprovado, ainda, que a única levedura que tem a capacidade de permanecer no processo é aquela isolada da mesma unidade em safras anteriores (BASSO *et al.*, 1993).

Segundo Clark (1996), as leveduras, são os microrganismos que produzem etanol apresentando, assim, bom crescimento e alta tolerância ao produto, além de alcançarem excelentes rendimentos nas fermentações. A inibição ao crescimento microbiano ocorre para a maioria das leveduras a 110 g/L de etanol, porém uma espécie denominada de *Saccharomyces sake* tolera concentrações de até 160 g/L de etanol. Os volumes de inóculo mais utilizados industrialmente estão em torno de 20 a 30% do volume do fermentador. As produtividades dos processos em batelada estão em torno de 1,9 g etanol/L.h, porém a variante Melle-Boinot alcança valores bem mais altos, aproximadamente 6,0 g etanol/L.h, realizando reciclo de células de até 80 % da levedura, tendo como um dos resultados principais a redução do tempo de fermentação.

## *Revisão Bibliográfica*

Devido à importância biotecnológica da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na produção de alimentos e bebidas alcoólicas em todo o mundo e na produção de combustível renovável no Brasil, este microrganismo tornou-se o mais estudado e, portanto, seu metabolismo é o mais conhecido, sendo o microrganismo mais amplamente utilizado no processo de fermentação alcoólica (SHULER; KARGI, 2002).

Para o desempenho de um processo fermentativo eficiente na produção de etanol, Lima *et al.* (2001) ressaltam a necessidade da presença de alguns elementos minerais no mosto, por estes serem componentes necessários ao seu metabolismo (Tabela 2).

Tabela 2 - Elementos minerais presentes nos mostos.

<b>Nutriente Mineral</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
P	62 - 560
K ++	700 - 800
Ca ++	120
Mg ++	70 - 200
Na ++	200
Co ++	3,5
Zn ++	0,5 - 10
Cu ++	7
Mn ++	10 - 33
Fe ++	0,2

Fonte: Lima *et al.* (2001)

Para aplicação industrial, espera-se que os microrganismos apresentem as seguintes características gerais (SCHMIDELL, 2001):

- Apresentar elevada eficiência na conversão do substrato em produto;
- Permitir o acúmulo do produto no meio, de forma a se ter elevada concentração do produto no meio fermentado (vinho);
- Não produzir substâncias incompatíveis com o produto;
- Apresentar constância quanto ao comportamento fisiológico;
- Não ser patogênico;
- Não exigir condições de processo muito complexas;
- Não exigir meios de cultura dispendiosos;
- Permitir a rápida liberação de produto para o meio.

#### 2.3.4 Preparo do Mosto

Mosto pode ser denominado como um líquido açucarado pronto para ser fermentado. Existem três tipos de mosto, utilizados para produção de etanol: de caldo, de melaço e misto (melaço mais caldo) (VASCONCELOS, 2010).

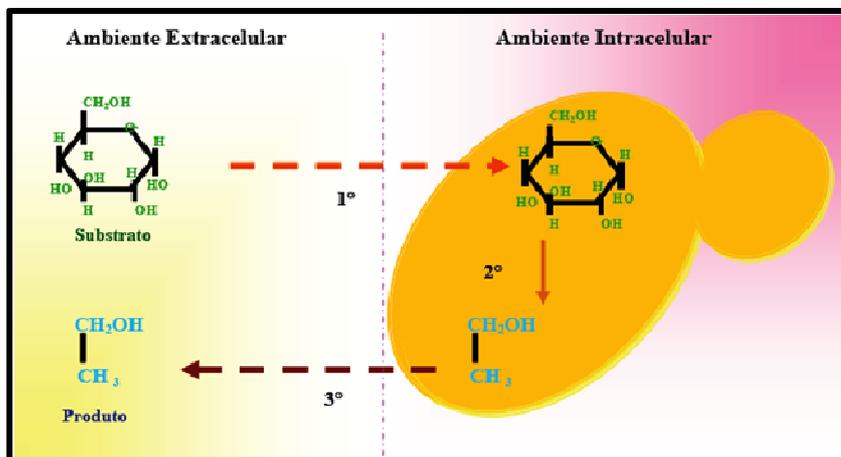
Segundo Vasconcelos (2010), o controle na preparação dos mostos é necessário pelos seguintes fatores:

- Mostos com baixas concentrações de açúcares conduzem a fermentações mais rápidas, porém com menor teor alcoólico no meio fermentado (vinho); favorecem o crescimento celular; aumentam o consumo de vapor e água; e ainda proporcionam maior volume de dornas; são menores os problemas de limpeza; requerem maior volume de água para a diluição, acarretando assim maior volume de dornas; exigem maior capacidade de dornas, maior volume dos aparelhos de destilação e consomem maior vapor no processo de destilação, bem como produzem maior volume de vinhaça.
- Mostos muito concentrados conduzem a fermentações incompletas, demoradas, com perdas de açúcares, que favorecem incrustações nos aparelhos de destilação, tendo como consequência queda de eficiência de destilação.

#### 2.3.5 Bioquímica da Fermentação Etanólica

Segundo Oliveira (2006), a fermentação pode ser resumida em três passos dinâmicos, onde o 1º representa o transporte do substrato para o interior da célula, que ocorre por difusão facilitada, o 2º compreende as reações bioquímicas, responsáveis pela transformação do substrato em produto e o 3º e último passo, a excreção do produto para o meio, conforme pode ser visualizado na Figura 4.

Figura 4 - Representação esquemática do mecanismo de conversão do substrato em produto durante o processo fermentativo.



Fonte: Oliveira, 2006.

Para produzir etanol por via fermentativa, deve-se passar por fases distintas, desde o preparo do meio até a destilação. Segundo Basso *et al.* (2001), a formação de etanol ocorre em 12 reações em seqüência, sendo que cada reação é catalisada por uma enzima (Figura 5). Estas estão no citoplasma celular, sendo, portanto, nessa região da célula que a fermentação etanólica se processa. As enzimas glicolíticas são influenciadas por fatores como sais minerais, vitaminas, inibidores, substâncias do próprio metabolismo, pH, temperatura e outros. Alguns desses tendem a inibir e outros a estimular a ação enzimática, afetando assim o desempenho dos processos fermentativos (BASSO, *et al.*, 2001).

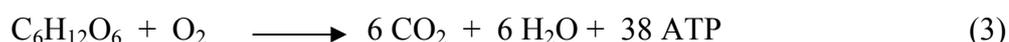
A levedura hidrolisa a molécula de sacarose pela ação da enzima invertase, gerando uma molécula de glicose e uma molécula de frutose:



A partir das moléculas de 6 carbonos obtidas, a levedura inicia seu metabolismo de acordo com as condições do meio, produzindo etanol e  $\text{CO}_2$  em condições de anaerobiose:



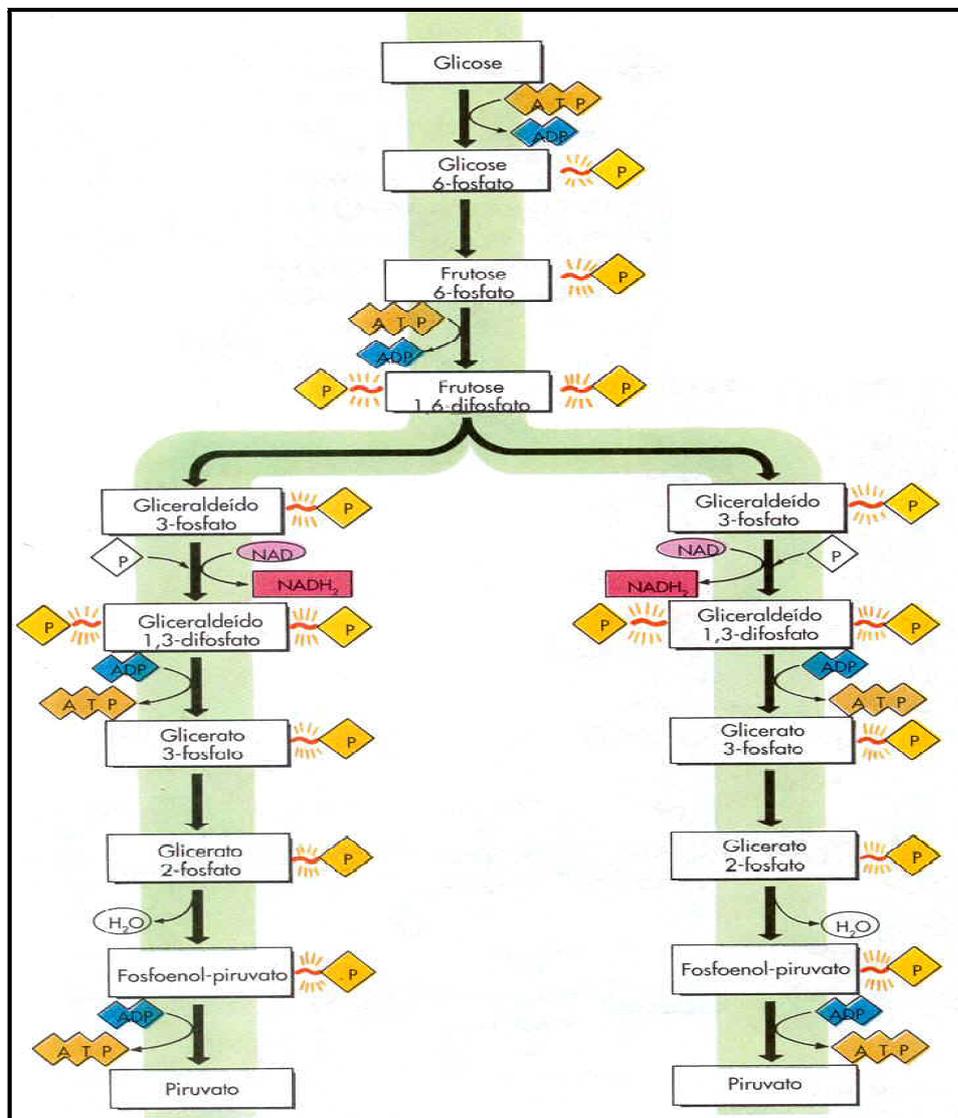
Na presença de oxigênio ocorre a respiração:



*Revisão Bibliográfica*

Estequiometricamente, o rendimento do processo fermentativo é 0,511g de etanol/g de hexose, porém ocorrem, juntamente com a fermentação etanólica, reações secundárias, resultando na redução do rendimento teórico. Quando se trabalha com substratos (mosto) complexos, em processos industriais, notadamente na presença de corpos estranhos ao meio (fibras, gomas, leveduras selvagens, etc), observa-se a geração de novos subprodutos e o rendimento industrial é reduzido para até 90% (LIMA; MARCONDES, 2002, LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Figura 5 - Via Glicolítica.



Fonte: <http://www.prof2000.pt/users/ruicabral/glicolise.jpg>

## 2.3.6 Fatores Físicos, Químicos e Microbiológicos que Afetam o Desempenho da Fermentação Etanólica

### 2.3.6.1 Fatores Químicos

#### a) pH

As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo adequada entre 4 e 5. Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5, com boa capacidade tamponante, especialmente os preparados com melaço (LIMA *et. al.* 2001).

No processo de fermentação com reutilização da levedura, faz-se seu tratamento com ácido sulfúrico em pH de 2,0 a 3,2, durante aproximadamente uma hora, visando a redução da carga microbiana. A fermentação etanólica se inicia com valores de pH baixos, finalizando com valores de 3,5 a 4,0. Fermentações conduzidas em meios mais ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pelo fato de restringir o crescimento do fermento, com a consequente redução da produção de glicerol, ao mesmo tempo em que reduz a contaminação bacteriana. Entretanto, fermentações etanólicas desenvolvem-se bem em níveis mais elevados, em substratos de alto poder tampão, como os melaços, em pH 5,8/5,9. Os caldos de cana fermentam sem correção de acidez, em pH natural que varia de 5,2 a 6,8 (LIMA, 2001).

#### b) Nutrição Mineral e Orgânica

Os nutrientes também têm papel importante na obtenção de um bom rendimento industrial para fermentação etanólica. O caldo de cana, por sua natureza, possui sais minerais. Entretanto suas quantidades variam em função do solo, clima e período do ano. Desta forma, torna-se necessária a suplementação adequada de alguns elementos para obtenção de uma fermentação satisfatória.

O fósforo é um suplemento essencial, pois favorece a ação das leveduras e aumenta eficiência e produtividade do processo fermentativo. Outro elemento importante no metabolismo da levedura é o nitrogênio. A forma como esse nutriente se encontra disponível influencia na melhor absorção do mesmo pela levedura, onde a forma mais favorável ao seu aproveitamento é a amoniacal (VASCONCELOS, 1987).

## *Revisão Bibliográfica*

Na ausência desta forma, a levedura procura outras fontes, como aminoácidos, que influenciam na formação de subprodutos como álcoois isoamílico, amílico, propílico entre outros. Os nutrientes metálicos também apresentam grande importância no processo fermentativo, uma vez que são responsáveis pelo bom desempenho das reações enzimáticas (VASCONCELOS, 1987). A Tabela 3 apresenta as concentrações dos principais minerais para uma boa fermentação etanólica. Tais nutrientes podem já estar presentes no mosto, sendo desnecessárias adições. Entretanto, podem ocorrer teores inadequados e deficiência de alguns e concentrações excessivas de outros.

Tabela 3 - Concentração de nutrientes minerais no mosto.

<b>Nutriente Mineral</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>Nutriente Mineral</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	40 – 5900	<b>Co<sup>++</sup></b>	3,5
<b>P</b>	62 – 560	<b>Zn<sup>++</sup></b>	0,5 – 10
<b>K<sup>+</sup></b>	700- 800	<b>Cu<sup>++</sup></b>	7
<b>Ca<sup>++</sup></b>	120	<b>Mn<sup>++</sup></b>	10 – 80
<b>Mg<sup>++</sup></b>	70 – 200	<b>Fe<sup>++</sup></b>	0,2
<b>SO<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	7 – 280		
<b>Na<sup>+</sup></b>	200		

Fonte: (Lima *et al*, 2001)

### c) Concentração de etanol

O processo fermentativo pode ser inibido não só pelos seus próprios produtos, como o etanol, como por diferentes substâncias que podem estar presentes nos mostos.

Como já foi citado anteriormente, com relação ao efeito inibitório do metabolismo das leveduras, quanto as taxas de etanol produzidas e presentes no meio em fermentação, a inibição do crescimento microbiano ocorre para a maioria das leveduras a 110 g/L de etanol, porém as *Saccharomyces sake* toleram concentrações de até 160 g/L de etanol. Entretanto, o etanol parece não ter um efeito único, provocando modificações nas propriedades da membrana lipídica e nos sistemas de transporte de soluto e agindo sobre algumas enzimas (STECKELBERG, 2001).

---

d) Concentração de Açúcares

O controle da adição de açúcares é de fundamental importância no desempenho da fermentação etanólica, visto que os açúcares redutores totais (ART) e o etanol, em determinadas concentrações, exercem efeito de inibição sobre o metabolismo das leveduras.

Segundo Vasconcelos (2010), a adoção de um perfil de alimentação adequado reduz o tempo de fermentação e aumenta a eficiência fermentativa, não exigindo, necessariamente, investimentos e modificações na engenharia do processo. A concentração de açúcares pode afetar tanto o crescimento das leveduras quanto a produção de etanol. Se o objetivo for a produção de biomassa, é conveniente que o processo seja conduzido com baixas concentrações de açúcares e aeração, para se evitar que, mesmo em presença de oxigênio, a respiração seja reprimida em concentrações elevadas de açúcares.

Concentrações elevadas de açúcares podem ocasionar elevadas concentrações de etanol no meio fermentado (vinho) ou fermentações incompletas, com formação de subprodutos indesejáveis, podendo reduzir consideravelmente a eficiência da fermentação, enquanto concentrações adequadas de açúcares aumentam a velocidade de fermentação e a produtividade, melhorando o desempenho do processo fermentativo, pois possibilitam menor crescimento celular e menor formação de glicerol, para a mesma quantidade de glicose/frutose metabolizada (VASCONCELOS, 2010).

e) Antissépticos

No Brasil não é usual esterilizarem-se os mostos nas destilarias de etanol. Quando se faz a clarificação do caldo, por aquecimento, há redução dos microrganismos, mas não é uma esterilização, pois, após a clarificação, o meio é resfriado e colocado em dornas sem os cuidados necessários para manter um ambiente livre de microrganismos. Para controlar o problema das contaminações, aconselha-se o uso de antissépticos, capazes de criar ambiente favorável ao desenvolvimento das leveduras e desfavorável a outros microrganismos (LIMA, *et al.*, 2001).

## f) Antibióticos

Pela mesma razão por que se empregam os antissépticos, usam-se antibióticos nas fermentações industriais para produção de etanol.

A penicilina é um bom inibidor de contaminações, com o emprego de 500 a 1.000 U.I. por litro de mosto, observando-se apreciável aumento do rendimento em etanol nos mostos tratados. A escolha do antibiótico depende de seu custo no tratamento (LIMA, *et al.* 2001).

## 2.3.6.2 Fatores Físicos

## a) Temperatura

Segundo Borzane *et al.*(2001), baixas temperaturas permitem obter alto rendimento em etanol, não somente pela fermentação mais completa, mas também por minimizar a perda por evaporação.

Em contrapartida, fermentações realizadas a altas temperaturas estão mais sujeitas a contaminação microbiana e a evaporação do etanol. A temperatura ótima de produção de etanol decresce quando se acumulam altas concentrações desse produto no reator, o que leva à necessidade de controle da mesma em processos industriais, e resfriamento das dornas de fermentação conforme o etanol é formado (STECKELBERG, 2001). A temperatura é um fator que também irá afetar a velocidade da reação, a natureza e quantidade de compostos secundários formados. A temperatura ótima para o bom desempenho das leveduras e conseqüente rendimento das fermentações é na faixa de 26 a 35°C.

Segundo Jimenez; Van Uden (1985), citados por (ATALA, 2000), a tolerância do etanol pela *S. cerevisiae* diminui quando o valor da temperatura é aumentado. Em uma faixa de 12 a 28° C, a tolerância é constante, porém acima de 28°C, ela decresce.

#### b) Agitação

Segundo Vasconcelos (2010), a agitação mecânica proporciona ao processo fermentativo uma série de benefícios como: menor gradiente de temperatura; impedimento da formação de “fundos nas dornas de fermentação”; menor tempo de fermentação; maior produtividade em etanol; maiores eficiências fermentativas e de processo; amostragem representativa; e maior viabilidade celular.

#### 2.3.6.3 Fatores Microbiológicos

##### a) Concentração do Inóculo

Maiores concentrações de levedura na dorna permitem fermentações mais rápidas, com maior produtividade e com maior controle sobre as bactérias contaminantes, além de restringir o crescimento da própria levedura independente do processo fermentativo adotado (VASCONCELOS, 2010). Por outro lado, elevado teor de levedura exige energia de manutenção maior, isto é, maior consumo de açúcar para manter as células vivas. Como consequência, resulta em maior competição pelos nutrientes do meio (minerais e vitaminas), diminuindo a viabilidade do fermento.

Dependendo das condições do processo, da concentração de nitrogênio amoniacal no mosto e da taxa de recirculação do fermento, são atingidas concentrações excessivas de levedura. A utilização de ácido benzóico mostra-se capaz de reduzir o crescimento excessivo da levedura, ao mesmo tempo em que diminui a formação de glicerol e aumenta o rendimento da fermentação (LIMA, *et al.*, 2001).

##### b) Contaminação Bacteriana

A contaminação bacteriana influencia de forma negativa a fermentação alcoólica, uma vez que as bactérias competem com a levedura pelo mesmo substrato e geram subprodutos que são inibidores do crescimento da levedura. As instalações de usinas geralmente não são projetadas para trabalhar com culturas puras, entretanto infecções crônicas devem ser eliminadas, pois afetam o rendimento da produção de etanol (LIMA, *et al.*, 2001).

Sabe-se que as bactérias lácticas são os principais contaminantes do processo de fermentação etanólica. Concentrações de ácidos lácticos e acéticos são medidas periodicamente para controle dos níveis de infecção.

Testes com culturas puras de *S. cerevisiae* em presença de ácidos láctico e acético demonstram que as mesmas se estressam e produzem menos etanol e biomassa. Ainda, a contaminação bacteriana ocorre em diferentes tipos de substrato, como os provenientes do milho, do trigo e da cana-de-açúcar, entre outros. Vários agentes químicos e bioquímicos têm sido testados para combater estas bactérias, como peróxido de hidrogênio, metabissulfito de potássio e antibióticos, como a penicilina (SKINNER, 2004).

### 2.3.7 Controle na Fermentação Etanólica Industrial

A fermentação alcoólica industrial é um processo que, algumas vezes, se processa em condições adversas. Canas cortadas há muitos dias, secas, infeccionadas com diversos tipos de microrganismos, mostos com impurezas minerais e orgânicas, são fatos comuns nestas condições de matéria-prima. As contaminações apresentam-se com frequência, prejudicando o rendimento econômico. Esse inconveniente, que no final termina se tornando um grande problema para as destilarias, conduzem a quedas de rendimento e produtividade em etanol. Portanto, o controle das fermentações deve ser feito com o máximo critério possível, destacando-se os discutidos a seguir.

#### a) Tempo de Fermentação

De acordo com Vasconcelos (2010), o tempo de fermentação na indústria sucroalcooleira, é de seis a nove horas, quando a fermentação é conduzida em batelada. Sendo contínua, o tempo de residência pode ser estimado entre oito e dez horas. Tempos elevados podem indicar contaminações, baixas viabilidades das leveduras, baixas concentrações de leveduras no meio em fermentação, excesso de açúcares no mosto, entre outros fatores.

b) Odor de fermentação

O aroma das fermentações puras é penetrante, ativo, e tende para odor de frutas maduras. Cheiro ácido, a ranço, ácido sulfídrico e outros, indicam irregularidade (LIMA, 2001).

c) Aspecto de espuma

Embora varie com a natureza do mosto, temperatura e a estirpe da levedura, a espuma apresenta-se com aspecto típico e característico, nas mesmas condições de fermentação. Alterações nessas características indicam irregularidade (LIMA, 2001).

d) Acidez

Desde o começo até o final da fermentação há um acréscimo na acidez titulável. Quando a acidez final for maior que o dobro da inicial é sinal de má fermentação (LIMA, 2001).

e) Açúcares Residuais

As concentrações de açúcares residuais no final da fermentação devem ser as menores possíveis. Segundo Vasconcelos (2010), vinhos provenientes de mostos de melaço apresentam açúcares residuais bastantes superiores aos de mosto de caldo. Os de mosto mistos apresentam valores intermediários.

f) Eficiência da Fermentação

É o parâmetro que indica a eficiência de conversão dos açúcares em etanol e pode ser calculado considerando-se os açúcares adicionado (eficiência do processo) ou os efetivamente consumidos (eficiência da fermentação) (VASCONCELOS, 2010).

## g) Produtividade

Segundo Vasconcelos (2010), a produtividade representa a quantidade de etanol produzida, na unidade de tempo e na unidade de volume. Este parâmetro, juntamente com a eficiência de fermentação, é um bom indicativo de desempenho da fermentação etanólica, principalmente quando se faz o isolamento e seleção de leveduras.

## h) Concentração de Açúcares

Este é parâmetro dos controles mais importantes da fermentação etanólica. Segundo Vasconcelos (2010), quando o processo é por batelada, o controle é feito a intervalos de uma hora, do início ao final da fermentação, pela medida do Brix. Os valores devem indicar uma curva característica para as condições operacionais do processo fermentativo. Há aumento do Brix durante a fase de enchimento do fermentador, dependendo do perfil de enchimento. Ao fim desta fase, o decréscimo assume perfil hiperbólico decrescente. Se o perfil de consumo de açúcares, realizado pela curva de Brix, fugir do padrão, pode haver desequilíbrio entre a adição e o consumo de açúcares pelas leveduras.

### 2.3.8 Fases da Fermentação Etanólica

A fermentação etanólica pode ser dividida em etapas distintas: Fase preliminar, Fase principal ou tumultuosa e Fase complementar. Na fase preliminar ocorre grande multiplicação celular, pequena elevação de temperatura e pequeno desprendimento de CO<sub>2</sub>. Nesta etapa garante-se a produção de grande quantidade de células (BASSO *et al.*,2001).

Na segunda fase, tumultuosa, acontece o desprendimento de dióxido de carbono de forma intensa, devido ao grande número de células presentes no meio que desdobram os açúcares fermentescíveis do mosto em etanol, sendo a fase de maior tempo de duração. A temperatura eleva-se rapidamente, a densidade do mosto reduz-se e aumenta-se a porcentagem de etanol e a acidez. A elevação da temperatura deve ser corrigida com um sistema de refrigeração. Na fase complementar observa-se a diminuição da intensidade do desprendimento do dióxido de carbono, até encerramento da fermentação (BASSO *et al.*,2001).

## 2.4 FORMAS DE CONDUÇÃO DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA

Segundo Schmidell; Facciotti (2001), a condução de uma fermentação pode ser feita de diversas formas. O reator biológico, local onde irá acontecer o processo, poderá ser operado na forma contínua, semi-contínua, descontínua alimentada (batelada alimentada) e, em todas as formas de condução citadas pode haver recirculação de fermento. Na produção industrial de etanol em grande escala, os processos fermentativos se classificam em processos em batelada e contínuos, sendo que a denominação batelada na prática industrial da produção de etanol se refere à batelada alimentada.

Ao nível industrial, os biorreatores, também denominados de dornas, que são reatores de aço carbono e mantidos a temperatura entre 33 e 35°C, por meio de trocadores de calor de placas, até o final do processo, quando a concentração de etanol se situa entre 7 e 12° GL. Nas dornas fechadas, é usual a presença de um sistema de lavagem do gás de saída para recuperação do etanol evaporado (as perdas por evaporação correspondem a 1,5% de todo etanol gerado). No início da fermentação é utilizada alta concentração celular ( $10^6$  a  $10^7$  células/mL) e ao fim da fermentação a concentração celular atinge valores 10 a 100 vezes maiores que o inicial (concentração final de 10 células/mL) (DUARTE; LOURENÇO; RIVEIRO, 2006).

### 2.4.1 Processo Descontínuo

As fermentações descontínuas clássicas, ou simplesmente fermentações descontínuas, vêm sendo utilizadas pelo homem desde a antiguidade e, ainda hoje, são as mais empregadas para a obtenção de vários produtos fermentados. São também conhecidas por fermentações por batelada ou processo descontínuo de fermentação.

Na fermentação em processo descontínuo (ou batelada), o substrato e as células da levedura são adicionados juntos ao biorreator (KEIM, 1983), sendo efetuado um inóculo por tanque (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2001). O único material adicionado e removido durante a fermentação em batelada é a troca de gases e as soluções para controle de pH e anti-espumantes. Terminada a fermentação, descarrega-se a dorna e o meio fermentado segue para os tratamentos finais. Então, deve-se lavar a dorna, esterilizá-la e recarregá-la com mosto e inóculo.

### *Revisão Bibliográfica*

---

Uma das vantagens da operação em batelada (processo descontínuo) é a maior flexibilidade que pode ser alcançada usando um biorreator para várias especificações de produtos (ÇAYLAK; SUKAN, 1996). Este processo é mais utilizado na indústria de alimentos.

Por outro lado, a principal desvantagem da fermentação descontínua é o tempo gasto entre as bateladas, compreendendo a carga e descarga do fermentador, a limpeza, esterilização e a reinício do processo (REVIEW, 2007). Outra desvantagem é que a fermentação em processo descontínuo pode levar a baixos rendimentos e/ou produtividades, quando o substrato adicionado de uma vez só no início da fermentação exerce efeitos de inibição, repressão ou desvia o metabolismo celular para formação de produtos que não interessam. Apesar de este processo apresentar algumas desvantagens, apresenta menores riscos de contaminação, grande flexibilidade de operação, devido ao fato de poder utilizar os fermentadores para a fabricação de diferentes produtos, a possibilidade de realizar fases sucessivas no mesmo recipiente, condição de controle mais estreito da estabilidade genética do microrganismo, assim como a capacidade de identificar todos os materiais relacionados quando se está desenvolvendo um lote de produto (CARVALHO; SATO, 2001).

Um rendimento de etanol alto requer alta concentração inicial de açúcar e isto gera uma alta pressão osmótica do meio sobre as células. A adição gradual de açúcar no meio conforme sugerido por Melle-Boinot (SCHIMIDELL; FACCIOTTI, 2001), minimiza os efeitos da pressão osmótica e dos níveis altos de etanol produzido. Por outro lado, a combinação da alta concentração de açúcar com a elevação da temperatura pode inibir o crescimento (GRUBB; MAWSON, 1993). O efeito da pressão osmótica alta pode ser observado em destilarias brasileiras quando a concentração de açúcar do mosto é maior ou igual a 250 g.L. Dependendo do nível de etanol nas dornas de fermentação, pode ocorrer diminuição da tolerância à temperatura.

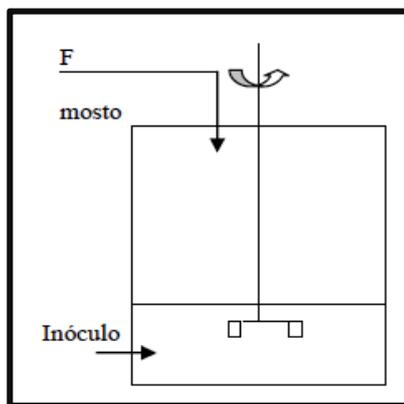
#### 2.4.2 Fermentação Descontínua Alimentada (Batelada Alimentada)

Os processos em batelada alimentada são eficientes e versáteis na grande maioria dos processos fermentativos, incluindo os de fermentação etanólica.

Segundo, Macneil; Harvey (1990); Viegas (2003), concluíram que o processo de batelada alimentada, permite o controle da concentração de açúcar, minimizando assim os efeitos de inibição pelo substrato e permitindo a sua adição em momentos favoráveis a fermentação.

O processo descontínuo alimentado é definido como uma técnica na condução dos processos microbianos, onde podemos encontrar um ou mais nutrientes que serão adicionados ao fermentador durante o cultivo e em que os produtos aí permanecem até o final da fermentação. De acordo com Carvalho; Sato (2001), se esta adição é feita de forma que se os nutrientes forem adicionados em sua totalidade no início da fermentação, esse será um fator inibitório do processo (Figura 6).

Figura 6 - Modo de operação do processo descontínuo alimentado. 2001.



Fonte: CARVALHO; SATO, 2001

A vazão de alimentação pode ser constante ou variar com o tempo, e a adição de mosto pode ser de forma contínua ou intermitente. Mudança de volume pode ou não ocorrer, dependendo da concentração de substrato e da taxa de evaporação do sistema. Cada condição de trabalho pode levar a diferentes perfis de concentração não só de substrato, mas também de células e produtos. Num cultivo, sabe-se que é crescente o número de microrganismos durante o período correspondente ao enchimento da dorna (CARVALHO; SATO, 2001) (Figura 7).

### *Revisão Bibliográfica*

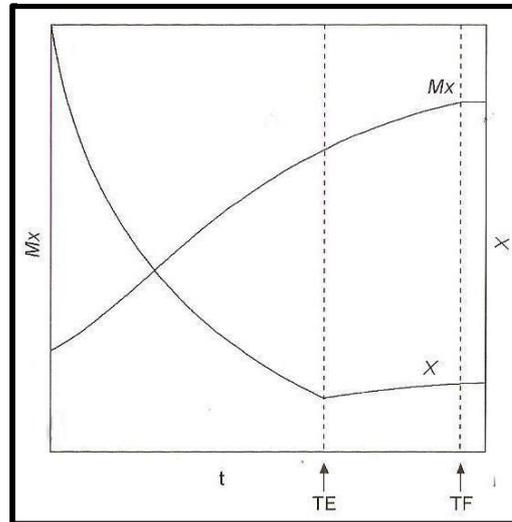
---

No entanto a concentração de microrganismos pode ter um perfil decrescente durante o período correspondente ao enchimento da dorna. Isso pode ocorrer, pois a concentração celular não depende somente da massa de microrganismos, mas também da variação de volume decorrente da adição de mosto a dorna. Por outro lado, deve-se lembrar que, após a fase de enchimento da dorna, o processo passa a ter característica de processo descontínuo clássico (sem entrada ou saída de fluido a dorna) e a fermentação termina no instante a partir do qual a massa de produto na dorna permanece constante (CARVALHO; SATO, 2001).

A principal vantagem do sistema descontínuo alimentado é que a inibição e repressão de catabólitos são impedidas por alimentação intermitente do substrato. Se o substrato tem um efeito inibitório, a adição intermitente melhora a produtividade da fermentação pela manutenção de uma concentração baixa de substrato no meio em fermentação. É essencial manter o volume da cultura constante na operação contínua, enquanto no processo descontínuo alimentado há variação no volume do meio durante a fase de enchimento. Para solucionar estes problemas surgidos com o uso de leveduras termotolerantes em processo descontínuo, a técnica de cultura em processo descontínuo alimentado geralmente tem sido utilizada. Neste sistema parte do problema de alta concentração inicial de açúcar pode ser solucionada através da adição gradual do substrato por certo período a partir do início da cultura. Esta forma de alimentação, entretanto, não parece reduzir os efeitos inibitórios do acúmulo de etanol na cultura (BANAT *et al.*, 1998).

Neste processo, ao término a fermentação, o vinho é separado por centrifugação, retornando-se as células ao reator após tratamento adequado para diminuir os contaminantes das leveduras. A seguir, inicia-se a alimentação com o mosto a ser fermentado (na verdade, a introdução do inóculo e a alimentação de mosto ocorrem simultaneamente desde o início do processo), e assim, o processo é operado na forma de um reator descontínuo alimentado na maior parte do tempo. Quando as dornas encontram-se preenchidas, aguarda-se tempo suficiente para o consumo total dos açúcares fermentescíveis (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2001).

Figura 7 - Massa celular ( $Mx$ ) e concentração celular ( $x$ ) em função do tempo para um processo descontínuo alimentado.



Fonte: CARVALHO; SATO, 2001

Em escala industrial, o processo descontínuo foi adaptado tendo em vista otimizar a produção, de modo a atender o objetivo de diferentes indústrias (BORZANI, 1975). No caso das destilarias de etanol, o processo com recirculação de microrganismo foi utilizado e como o próprio nome indica, usa como inóculo o microrganismo da batelada anterior. Para isto, o meio fermentado é centrifugado, separando assim as células e reutilizando-as. No entanto, como há a tendência de aumentar o número de contaminantes a cada nova batelada, as usinas normalmente empregam uma metodologia para eliminá-los. Consiste num tratamento do leite de levedura (suspensão de leveduras altamente concentrada, obtida a partir da centrifugação do meio fermentado) com água e ácido sulfúrico. Deixado nessas condições, sob agitação por 2 a 3 horas, proporciona a eliminação de contaminantes, bem como de células que já se apresentam em fase de degeneração.

#### 2.4.3 Processo Contínuo

No processo contínuo, o material nutriente (que contém a fonte de carbono e outros nutrientes) é bombeado continuamente dentro de um frasco agitado, onde os microrganismos estão ativos e ao mesmo tempo, o produto é retirado do sistema.

Neste tipo de processo, é essencial manter um volume de cultura constante.

O produto, o qual é retirado do topo de um biorreator, contém etanol, células e açúcar residual (ÇAYLAK; SUKAN, 1996). A manutenção de volume constante de líquido no reator é de primordial importância, a fim de que o sistema atinja a condição de estado estacionário, condição na qual as variáveis de estado (concentração de células, de substrato limitante e de produto) permanecem constantes ao longo do tempo de operação do sistema (FACCIOTTI, 2001).

As principais vantagens do processo contínuo de fermentação (FACCIOTTI, 2001), em relação ao descontínuo tradicional, são decorrentes da operação em estado estacionário; dentre elas estão: a) aumento de produtividade do processo, em virtude de uma redução do “tempo morto” ou não-produtivo; b) obtenção de caldo fermentado uniforme, o que facilita o projeto das operações de recuperação do produto de interesse; c) manutenção das células em um mesmo estado fisiológico, o que torna o processo contínuo uma excelente ferramenta para estudos de mecanismo de regulação metabólica (MARTINI *et al.*, 1989; SCHMIDELL; FACCIOTTI, 1994) ou, ainda, para estudos de otimização da composição de meio de cultura (GOLDBERG; ER-EL, 1981; KUHN *et al.*, 1979) d) possibilidade de associação com outras operações contínuas de linha de produção; e) maior facilidade no emprego de sistemas de controle mais sofisticado; f) menor necessidade de mão-de-obra.

O processo contínuo possui algumas desvantagens ou problemas práticos e de acordo com (FACCIOTTI, 2001), que podem limitar o emprego deste tipo de sistema em escala industrial, para alguns processos fermentativos. Assim, podem-se destacar:

- c) Maior investimento inicial da planta;
- d) Possibilidade de ocorrência de mutações genéticas espontâneas, resultando na seleção de mutantes menos produtivos;
- e) Maior possibilidade de ocorrência de contaminações por se tratar de um sistema aberto. No entanto, necessita de manutenção de condições de assepsia nos sistemas de alimentação e retirada de meio;
- f) Dificuldades de manutenção de homogeneidade no reator, quando se trabalha com baixas vazões, ou quando o caldo adquire comportamento pseudoplástico, como é o caso do cultivo de fungos filamentosos;

- g) Dificuldades de operação em estado estacionário em determinadas situações (formação de espuma, crescimento de microrganismo nas paredes do reator, ou ainda, nos sistemas de entrada e saída de líquidos).

Apesar dos problemas acima mencionados, a utilização do processo contínuo de fermentação encontra grande aplicação prática, como por exemplo, a fermentação etanólica, onde se utiliza normalmente, em escala industrial, o processo contínuo com reciclo de células ou, ainda, o processo contínuo em múltiplos estágios (FINGUERUT, 1993), permitindo, desta forma, a obtenção de elevados rendimentos e produtividades do processo. A escolha entre processo contínuo ou em batelada para produção de etanol por fermentação gera muita discussão. Tradicionalmente as destilarias e usinas brasileiras usam o sistema descontínuo ou de batelada alimentada, processo que começa a enfrentar concorrência do modelo contínuo, porém a polêmica entre processos concorrentes sempre existiu na área industrial das usinas. No Brasil, o sistema de batelada é considerado mais confiável por muitos engenheiros, por apresentar sistema de assepsia mais fácil.

Segundo estudos realizados por Amorim (2005), o sistema em batelada alimentada apresenta maior rendimento, maior teor alcoólico no final da fermentação, maior flexibilidade e é menos sujeito a contaminações. O sistema contínuo apresenta menor custo de instalação, automatização mais fácil e menor volume de equipamentos, tais como dornas e trocadores de calor.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a influência das concentrações de açúcares nos mostos, sobre o desempenho da fermentação etanólica conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação, definindo as melhores concentrações de ART nos mostos (de caldo, de melaço e misto) que conduzam a melhores eficiências de fermentação e produtividade em etanol.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Utilização de condições de matéria-prima, de inóculo e de alimentação de mosto semelhantes às utilizadas industrialmente;
- Condução de fermentações etanólicas em batelada alimentada, com vazão variável de alimentação, utilizando-se mostos de melaço, caldo de cana e misto (melaço + caldo de cana em diferentes proporções), com diferentes concentrações de açúcares;
- Definição do comportamento cinético do processo para os 3 tipos de mosto, com mesmo perfil de enchimento e diferentes concentrações de ART.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foram realizados testes preliminares com o objetivo de determinar as condições de operação, de acordo com a vazão de alimentação a ser utilizada e o ajuste da metodologia mais adequada em função dos diferentes tipos de mostos.

### 4.1 PREPARO DA AMOSTRA

#### 4.1.1 Microrganismo

O microrganismo utilizado para o desenvolvimento da fermentação etanólica foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, sob a forma granulada seca, adquirida no comércio local.

#### 4.1.2 Matéria-prima

Para a realização das fermentações etanólicas, foram utilizadas como matérias-primas melaço (Figura 8) e cana-de-açúcar (caldo) (Figura 9).

Os mostos foram de caldo de cana-de-açúcar, de melaço, proveniente da fabricação de açúcar VHP - Very High Polarization (melaço mais água) e misto (melaço mais caldo), com proporções melaço:caldo previamente calculadas em relação aos diferentes valores do Brix dos mostos.

Figura 8 – Melaço.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 9 - Colmos de Cana-de-Açúcar.

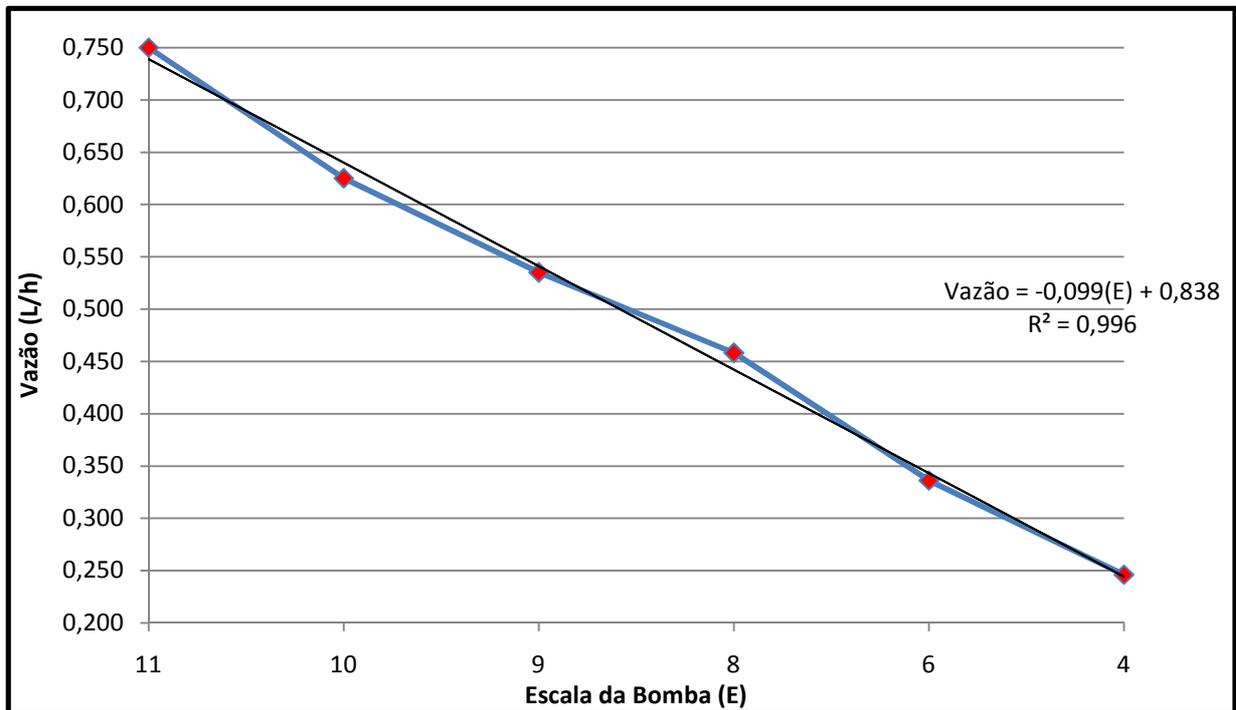


Fonte: (Autora, 2011)

## 4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para a condução da fermentação etanólica, o controle do enchimento do fermentador foi realizado por bomba dosadora (ProMinent D-69123 Heltelberg). Previamente, foi realizada uma curva de calibração, plotando-se vazão versus escala da bomba (Figura 10).

Figura 10 - Curva de calibração da bomba dosadora utilizada nos ensaios.



Fonte: (Autora, 2011)

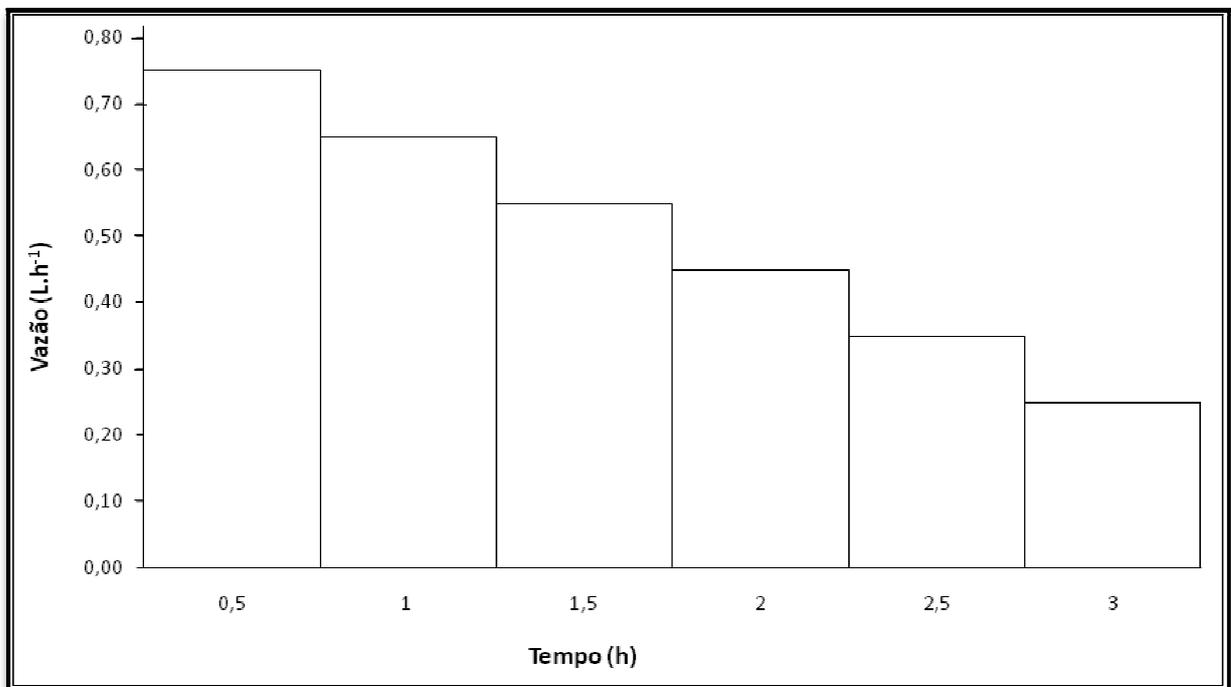
### 4.2.1 Preparo do Inóculo

O inóculo para a condução da fermentação etanólica foi preparado dissolvendo-se 80g de fermento granulado seco, em 1 litro de água, pré-aquecida a 37°C. O inóculo assim preparado foi colocado em reator de polipropileno de 4L de volume de trabalho. Em seguida, acoplou-se um agitador mecânico, iniciando-se o enchimento do reator. O volume de mosto, independentemente do tipo, foi sempre de 3L.

#### 4.2.2 Perfil de Enchimento do Fermentador

Foi adotado como perfil de enchimento do fermentador, em todos os ensaios, independentemente do tipo de mosto utilizado e das concentrações de ART avaliadas, o mostrado na Figura 11. Nesta Figura, verifica-se que a primeira vazão foi ajustada para  $0,75\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$  e, a cada 30 minutos, sofreu decréscimo de  $0,1\text{L}$ , chegando ao final de 3 horas de enchimento com vazão de  $0,25\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ .

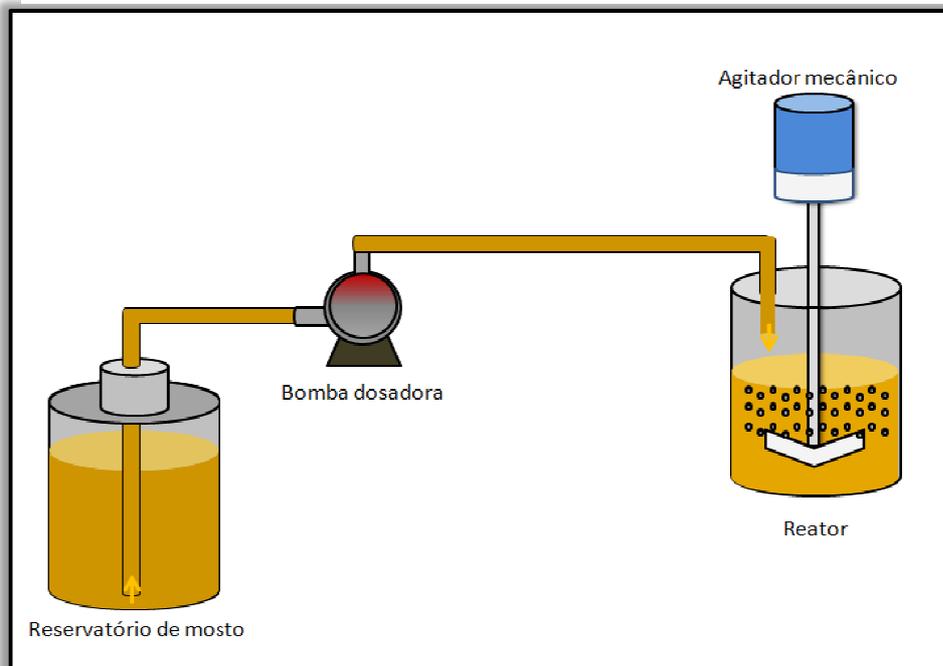
Figura 11 - Perfil de enchimento utilizado nos ensaios experimentados.



Fonte: (Autora, 2011)

O arranjo experimental pode ser visualizado nas Figuras 12a e 12b. Ressalte-se que a agitação mecânica foi utilizada durante todo o processo fermentativo.

Figura 8a - Esquema experimental da fermentação etanólica em batelada alimentada.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 12b - Foto experimental da fermentação etanólica em batelada alimentada.



Fonte: (Autora, 2011)

#### 4.2.3 Cinética da Fermentação Etanólica

Para o acompanhamento cinético, as amostras foram retiradas no início e no final do processo, bem como durante toda a fermentação, em intervalos de 1 hora, analisando-se sempre pH, acidez sulfúrica, quantidade de células, Açúcares Redutores Totais - ART e teor alcoólico. Os experimentos foram realizados na Unidade Experimental de Produção de Derivados da Cana-de-açúcar – UEPDCA, da Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia da UFAL. Os resultados do acompanhamento da cinética da fermentação etanólica podem ser verificados no apêndice.

#### 4.2.4 Preparo do Mosto

Os ensaios foram conduzidos em reatores de polipropileno, utilizando processo em batelada alimentada com vazão variável de alimentação, utilizando-se diferentes tipos de mosto: caldo decana – de - açúcar (12, 14, 16, 18 e 20°Brix), melação (12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30° Brix) e misto (12, 16 e 20 °Brix). Os mostos foram preparados de acordo com as diluições previamente calculadas, para cada tipo, conforme descrito a seguir:

- ✓ Mosto de caldo: o caldo de cana apresentou Brix de 17,8g/100g. Para a preparação dos mostos com Brix de 12, 14 e 16g/100g, o caldo foi diluído com água, enquanto para os de 18 e 20g/100g, o caldo foi concentrado por aquecimento;
- ✓ Mosto de melação: apresentando o melação Brix de 82,1g/100g, fez-se necessário diluições com água para a preparação dos mostos com Brix entre 12 e 30°Brix;
- ✓ Mosto misto: foi preparado utilizando-se proporções variáveis de melação: caldo com o Brix devidamente corrigidos para os ensaios pretendidos, de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4 - Proporções melação: caldo na preparação do mosto misto.

<b>Proporções melação: caldo Utilizadas na preparação dos mostos</b>	
<b>Melação (%)</b>	<b>Caldo (%)</b>
20	80
40	60
50	50
60	40
80	20

Fonte: (Autora, 2011)

### 4.3 METODOLOGIA ANALÍTICA

#### 4.3.1 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada por potenciometria, utilizando-se um potenciômetro digital da DIGIMED, modelo DM-20 (Figura 13).

Figura 9 - Potenciômetro utilizado na determinação do pH.



Fonte: (Autora, 2011)

#### 4.3.2 Determinação de Sólidos Solúveis

As determinações dos sólidos totais dissolvidos foram realizadas por refratômetro portátil (mosto) e densimetria (areômetro de Brix) nos meios em fermentação e fermentado (Figura 14), de acordo com (VASCONCELOS, 2001; ICUMSA, 1994; CALDAS, 1998).

Figura 10 - Determinação do Brix dos meios em fermentação e fermentado.



Fonte: (Autora, 2011)

#### 4.3.3 Determinação dos Açúcares Redutores Totais - ART

A quantificação dos ART presentes nos mostos e vinhos, foi realizada pelo método de Eynon & Lane, utilizando-se, na titulação, equipamento denominado REDUTEC, da TECNAL, Modelo TE 088 (Figura 15). Este método baseia-se na determinação dos componentes que reduzem o  $\text{Cu}^{+2}$  a  $\text{Cu}^{+1}$ , e os resultados são expressos como glicose (VASCONCELOS, 2001).

Figura 11 - Equipamento utilizado para determinação dos ART-REDUTEC.



Fonte: (Autora, 2011)

#### 4.3.4 Densidade

Para a determinação da densidade, foi utilizado um balão volumétrico de 500 mL, o qual foi pesado e completado o volume com a amostra a ser quantificada.

Em seguida foi anotado o valor da pesagem do balão cheio de amostra e calculada a densidade através da fórmula:

$$D = m/V$$

Onde:

D = Densidade da matéria-prima (g/mL)

m = Massa da amostra (g)

V = Volume da amostra (mL)

#### 4.3.5 Determinação do Teor de Etanol

Para a determinação do teor alcoólico, utilizou-se um microdestilador de etanol, da TECNAL, modelo TE 012 (Figura 16). Para a destilação, foi retirada uma alíquota de 25 mL do meio em fermentação ou fermentado, sendo misturada com 25 mL de água destilada. Foi feita a destilação, sendo recolhidos 50 mL da amostra destilada.

Essas amostras foram congeladas e posteriormente analisadas em densímetro digital ANTOR PAAR (Figura 17), modelo DMA 48, na Usina Caeté (SANTOS 2008).

Figura 12- Microdestilador de etanol.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 17 - Densímetro digital.



Fonte: (Autora, 2011)

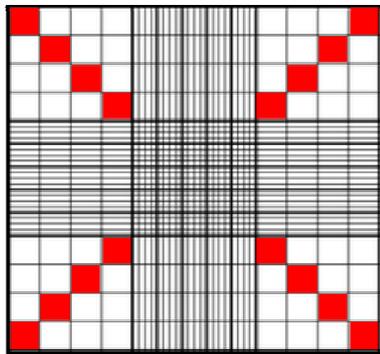
#### 4.3.6 Acidez Sulfúrica

Este método baseia-se na determinação da concentração de substâncias ácidas presentes nas amostras analisadas (expressas em g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L), utilizando-se NaOH 0,05 M e fenolftaleína a 1% como indicador (VASCONCELOS, 2001).

#### 4.3.7 Contagem de Células e Viabilidade Celular

Para a contagem de células, 5 mL de amostra foram diluídos com água destilada em um balão de 100 mL. Para a contagem de células utilizou-se câmara de Neubauer, segundo metodologia descrita por (VASCONCELOS, 2001). A contagem celular foi realizada nos 16 campos destacados em vermelho, como mostra a Figura 18. A contagem foi realizada em amostras do inóculo, do meio em fermentação e do vinho, sendo expressas em células vivas/mL, células mortas/mL, células totais/mL e percentual da viabilidade celular.

Figura 13 - Câmara de Neubauer.



Fonte: (Autora, 2011)

A equação abaixo foi utilizada para os cálculos de contagem celular:

$$\text{Células/mL} = D \times n \times 10^4$$

Onde:

D = Fator de diluição de cada amostra;

n = Média das células contadas nos 16 quadrantes.

Os resultados da cinética foram expressos em g/L. Esta transformação foi feita considerando-se o peso de uma célula de levedura como sendo  $0,998 \times 10^{-10}$ g (VASCONCELOS, 1998).

#### 4.4 PARÂMETROS DA FERMENTAÇÃO

##### 4.4.1 Eficiência da Fermentação

A eficiência fermentativa refere-se ao percentual de etanol produzido com relação à quantidade de ART consumida (etanol teórico). Os cálculos para este parâmetro foram realizados através da equação descrita abaixo, onde o teor de ART consumido é obtido pela diferença dos ART do mosto e dos ART do vinho.

$$\eta_f = \frac{EtOH}{(ART_{adicionado} - ART_{residual}) \times 0,511} \times 100$$

$\eta_f$  = Eficiência da fermentação (%);

EtOH = Etanol produzido (g);

ART<sub>adicionado</sub> = ART do Mosto (g);

ART residual = ART do vinho (g);

0,511 = Fator utilizado para conversão de ART em etanol.

##### 4.4.2 Eficiência do Processo Fermentativo

A eficiência do processo fermentativo compreende o percentual de etanol produzido com relação à quantidade de ART disponível no mosto. O cálculo deste parâmetro está representado através da equação seguinte:

$$\eta P = \frac{EtOH}{(ART_{mosto} \times 0,511)} \times 100$$

Onde:

$\eta P$ : Eficiência do Processo Fermentativo (%);

EtOH: Etanol Produzido (g);

ART<sub>mosto</sub>: ART do Mosto(g);

0,511: Fator utilizado para conversão de ART em etanol.

#### 4.4.3 Produtividade em Etanol

A produtividade em etanol está relacionada com a quantidade de etanol formada durante o processo e o tempo de fermentação, ou seja, é a quantidade de etanol produzida na unidade de tempo e na unidade de volume. A equação para o cálculo deste parâmetro é descrita a seguir:

$$P_{EtOH} = \frac{EtOH}{t_f}$$

Onde:

$P_{EtOH}$  = Produtividade em etanol (g/L.h);

EtOH = Concentração de etanol no meio fermentado (g/L);

$t_f$  = Tempo de Fermentação (h).

---

#### 4.4.4 Determinação dos Fatores de Conversão

##### a) Fator de conversão substrato – célula ( $Y_{x/s}$ )

Representa a massa de células formadas em relação a massa de substrato consumida.

$$Y_{x/s} = \frac{mX}{mS}$$

Onde:

$mX_f$  = Massa de células formadas (g);

$mS$  = Massa de substrato consumido (g).

##### b) Fator de conversão substrato – produto ( $Y_{p/s}$ )

Calculado pela relação entre a massa de etanol produzida e a massa de substrato consumida.

$$Y_{p/s} = \frac{mE}{mS}$$

Onde:

$mE$  = Massa de etanol produzido (g);

$mS$  = Massa de substrato consumido(g).

##### c) Fator de conversão de célula – etanol ( $Y_{p/x}$ )

Este fator representa a relação entre a massa de etanol produzida e a massa de células formadas.

$$Y_{p/x} = \frac{mP}{mX}$$

Onde:

$mP$  = Massa de etanol produzido(g);

$mX$  = Massa de células formadas(g).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para definição das condições de operação mais adequadas da fermentação etanólica, utilizando-se mostos de caldo de cana, melaço e misto, foram realizados ensaios com diferentes valores de ART (medindo-se indiretamente pelo Brix) e sua influência sobre a eficiência da fermentação. Estes ensaios serviram para a definição da melhor concentração dos ART nos mostos, que conduzissem a maiores eficiências fermentativa e produtividade em etanol.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MICRORGANISMO

A levedura utilizada nos ensaios experimentais foi caracterizada pelas quantificações de células vivas/g, e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 5.

Antes da realização dos experimentos, o microrganismo a ser utilizado foi analisado para a verificação de sua capacidade fermentativa. Foram quantificados a viabilidade celular, células vivas e mortas e brotamento. Para essa quantificação, pesou-se 1g de levedura granulada seca que, após diluições adequadas, foram feitas as contagens em câmara de Neubauer, conforme item 4.3.7.

Tabela 5 - Caracterização do microrganismo utilizado nos ensaios experimentais.

<b>Contagem Celular</b>	<b>Valor</b>
Células Vivas	2,975x 10 <sup>9</sup> Células / g
Células Mortas	0,550 x 10 <sup>9</sup> Células / g
Brotos	0,125x 10 <sup>9</sup> Células / g
Células Totais	3,650x 10 <sup>9</sup> Células / g
Viabilidade Celular	84,40 %

Fonte: (Autora, 2011)

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

### 5.2.1 Caracterização do Melaço e Caldo de Cana

Para a caracterização do melaço e do caldo de cana, foram realizadas análises físico-químicas para a caracterização tecnológica destas matérias-primas, antes da realização dos ensaios.

Tabela 6 - Caracterização do caldo de cana-de-açúcar e do melaço utilizados nos ensaios experimentais.

<b>Parâmetro</b>	<b>Caldo-de-cana</b>	<b>Melaço</b>
Brix (g/100g)	17,8	82,1
pH	5,10	5,9
Acidez (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0,230	0,218
Umidade (%)	82,2	17,9
Açúcares Redutores Totais	155,20 (g/L)	53,0(g/100g)
Densidade (g/mL)	1,06	1,31

Fonte: (Autora, 2011)

## 5.3 FASE DE ENCHIMENTO DO FERMENTADOR

Com os resultados obtidos para as fermentações com diferentes tipos de mosto (com diferentes concentrações de ART), pode-se observar que o perfil adotado para a fase de enchimento do fermentador foi satisfatório, tendo em vista os resultados obtidos para tempo de fermentação e percentual de produção de etanol nesta fase em relação ao total produzido, conforme pode ser visualizado na Tabela 7. Pelos dados mostrados nesta tabela, conclui-se que esta fase é de extrema importância para o desempenho da fermentação etanólica, conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação. Este procedimento reduz ou elimina o efeito de inibição por excesso de substrato, já que a adição de mosto acontece de forma contínua, assemelhando-se ao processo praticado industrialmente. Esta adição procura compatibilizar a velocidade de adição de substrato com a de consumo pelo microrganismo agente da fermentação.

## *Resultados e Discussão*

Pelos dados mostrados na Tabela 7, pode-se verificar que o perfil de enchimento adotado foi adequado, haja vista que, até o final da fase de enchimento, o percentual de produção de etanol foi próximo de 80% nos ensaios com as concentrações mais adequadas de açúcares no mosto, para os 3 tipos de mosto utilizados. Em estudos realizados por Vasconcelos (1999), foi observado que diferentes perfis de enchimento e vazões de alimentação adequadas trazem grandes benefícios para o desenvolvimento da fermentação etanólica, tendo em vista que os maiores percentuais de crescimento celular, produção de etanol e consumo de substrato, se encontram nesta fase, menos agressiva ao metabolismo do microrganismo agente.

Tabela 7 - Concentrações de açúcares no mosto (Brix e ART), no vinho (ARR residual) e percentual de produção de etanol no final da fase de enchimento do fermentador.

<b>Tipo de Mosto</b>	<b>Brix (g/100g)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>ART Residual (g/L)</b>	<b>EPFFEn (%)</b>
<b>Melaço</b>	12	86,80	2,48	83,46
	14	100,57	2,82	74,70
	16	114,25	3,15	64,81
	18	125,86	3,40	65,90
	20	135,84	3,72	63,08
	22	151,60	4,10	63,66
	24	167,00	4,48	60,38
	26	181,85	5,20	59,80
	28	197,45	6,05	55,65
	30	213,78	6,85	50,21
<b>Caldo</b>	12	95,86	0,68	84,81
	14	112,90	1,04	74,45
	16	127,70	1,45	68,21
	18	141,24	2,02	65,73
	20	153,72	2,45	61,41
<b>20% melaço + 80% caldo</b>	12	95,20	1,05	86,82
	16	123,30	1,23	73,68
	20	148,00	2,36	63,30
<b>40% melaço + 60% caldo</b>	12	92,25	1,12	86,90
	16	119,10	1,87	69,93
	20	142,20	2,42	66,91
<b>50% melaço + 50% caldo</b>	12	90,80	1,23	84,72
	16	118,00	2,10	68,81
	20	139,40	2,55	67,40
<b>60% melaço + 40% caldo</b>	12	88,90	1,30	83,65
	16	115,43	2,10	71,53
	20	139,50	2,84	65,22
<b>80% melaço + 20% caldo</b>	12	83,50	1,88	82,15
	16	113,68	2,42	71,68
	20	138,48	3,10	64,94

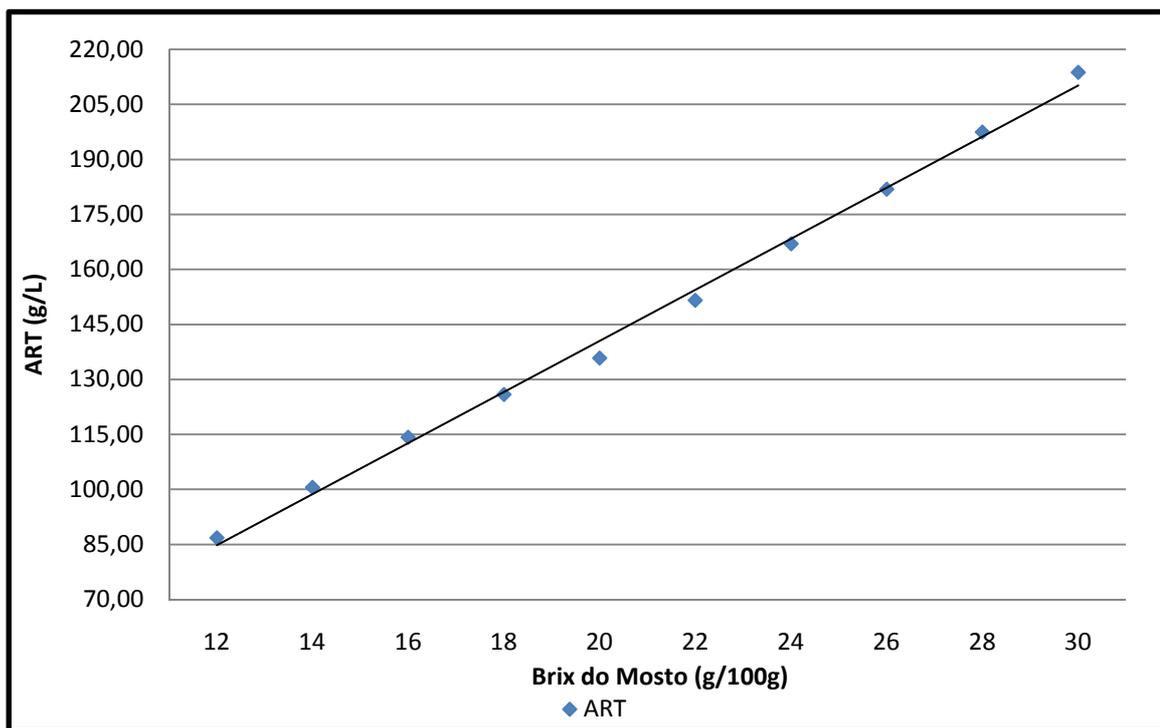
Fonte: (Autora, 2011)

**EPFFEn = Etanol Produzido no Final da Fase de Enchimento (%)**

#### 5.4 FERMENTAÇÕES COM MOSTO DE MELAÇO

A Figura 19 apresenta os resultados do Brix (do mosto de melaço) para a faixa de 12 a 30 °Brix, assim como os respectivos Açúcares Redutores Totais (ART). Nesta Figura verifica-se que, à medida que o Brix aumenta, os valores dos ART se elevam na mesma proporção, ocorrendo o contrário quando o Brix diminui. Existe forte correlação linear entre estes dois parâmetros. Como a determinação do Brix é rápida e de custo praticamente zero, na indústria esta determinação é muito utilizada. Porém, para a avaliação do desempenho da fermentação alcoólica, utilizam-se os ART. O Brix serve como avaliação indireta e aproximada da concentração dos ART.

Figura 19 - Resultados dos parâmetros iniciais (Brix do mosto e do inóculo) para a faixa de 12 a 30°Brix, assim os respectivos valores dos ART.



Fonte: (Autora, 2011)

Nas Figuras 20 a 29, são apresentados os resultados do comportamento cinético das fermentações alcoólicas conduzidas com mosto de melaço, com Brix de 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30°Brix (g/100g). As referidas Figuras evidenciam a variação das concentrações de células, ART e etanol com o tempo de fermentação.

## *Resultados e Discussão*

---

Em todos os ensaios o comportamento cinético foi semelhante, independentemente do Brix do mosto. Após o início da fermentação e à medida que a fermentação prossegue, a concentração de ART aumenta até o final da fase de enchimento, quando então decresce de forma aproximadamente exponencial decrescente.

As concentrações de etanol aumentam de forma considerável, principalmente até o final da fase de enchimento, sendo crescente até o final da fermentação, porém já de forma menos intensa que na fase de enchimento. Este comportamento foi verificado em todos os ensaios realizados com os diferentes tipos de mosto.

Vasconcelos (1988), em estudo desenvolvido em escala industrial, com fermentação etanólica conduzida batelada alimentada com vazão variável de alimentação, verificou comportamento semelhante ao descrito no parágrafo anterior, para células, substrato e etanol.

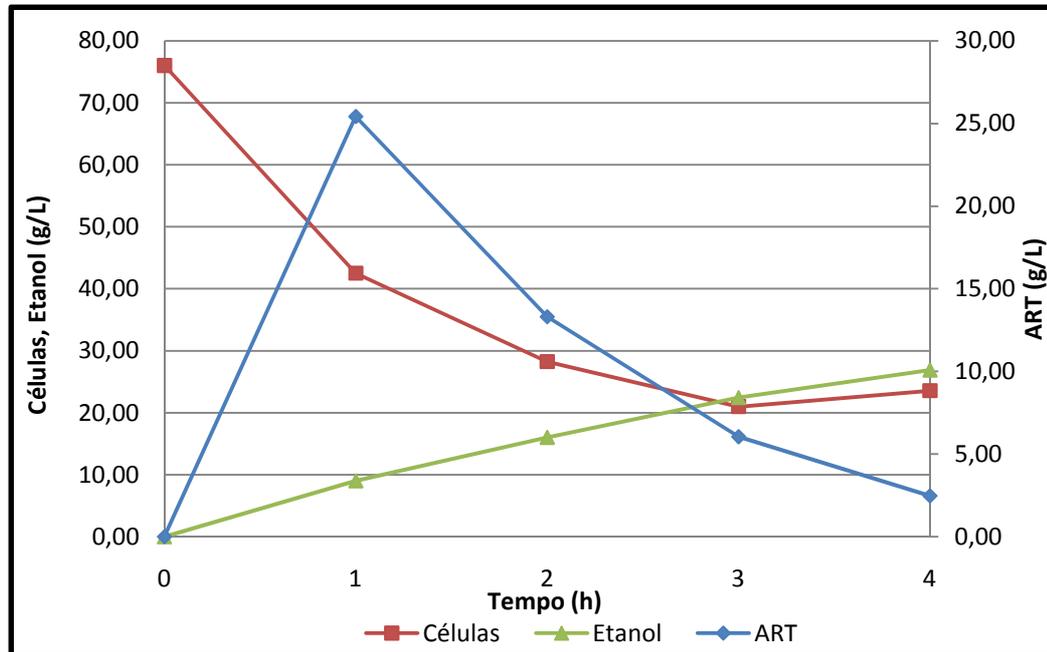
O melaço de cana-de-açúcar é matéria-prima largamente utilizada nas destilarias brasileiras, sendo um resíduo da fabricação de açúcar. Por esta razão, após as diversas etapas da fabricação de açúcar, contém percentual de açúcares não fermentescíveis relativamente elevado em sua composição. Por esta razão, as eficiências de fermentação (e de processo), são decrescentes na ordem mosto de caldo, mosto misto, e mosto de melaço.

Neste trabalho foram utilizadas, para os 3 tipos de mosto avaliados, faixas de concentração de açúcares com valores mínimo-máximo, de modo a se obter os valores que conduzam a eficiências de fermentação e produtividades mais elevadas, nas condições dos ensaios e próximas da utilizadas industrialmente. Ressalte-se que as faixas aqui indicadas como as mais adequadas devem ser entendidas como ponto de partida para a otimização das condições de condução do processo de fermentação etanólica industrial.

Elevadas concentrações de açúcares, mesmo que adicionadas de forma adequada por um perfil de enchimento programado, pode provocar inibição do metabolismo do microrganismo agente da fermentação. Vasconcelos (1987) cita que a inibição pelo substrato começa a ser significativa para valores no meio em fermentação superiores a 100 g/L em fermentações com *Saccharomyces cerevisiae* como agente e glicose como substrato.

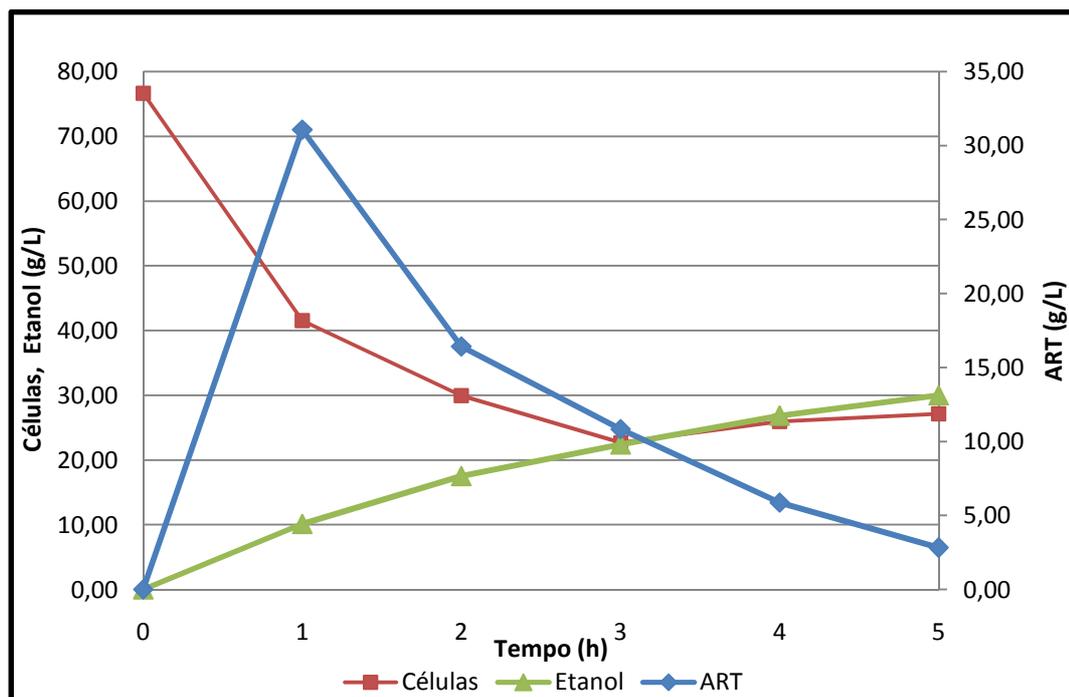
*Resultados e Discussão*

Figura 20 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 12g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

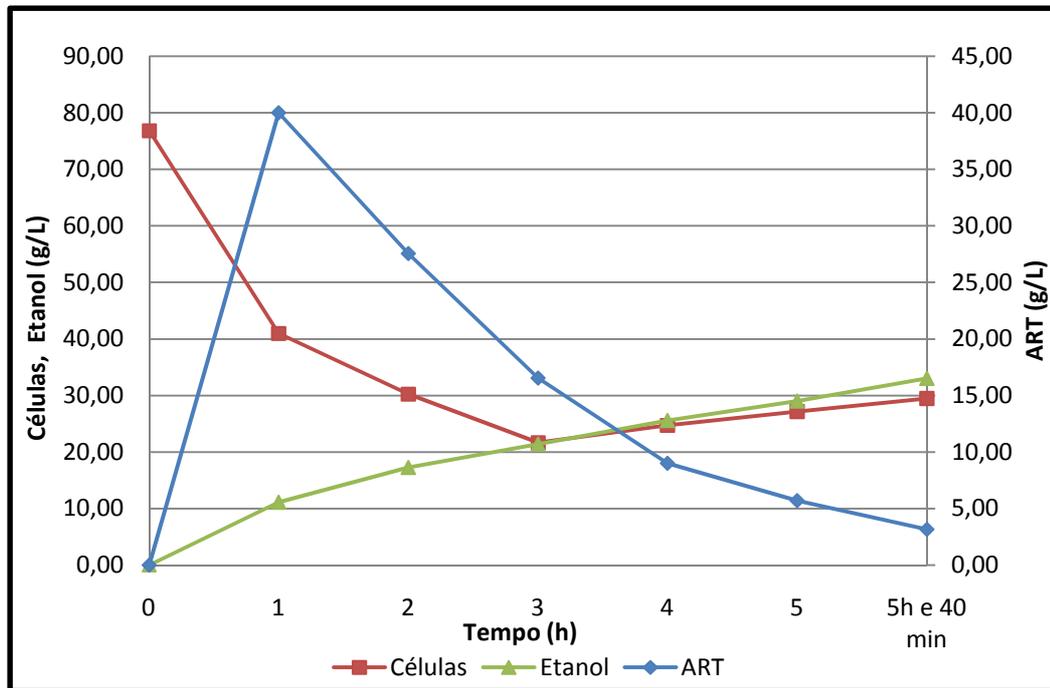
Figura 21 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 14g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

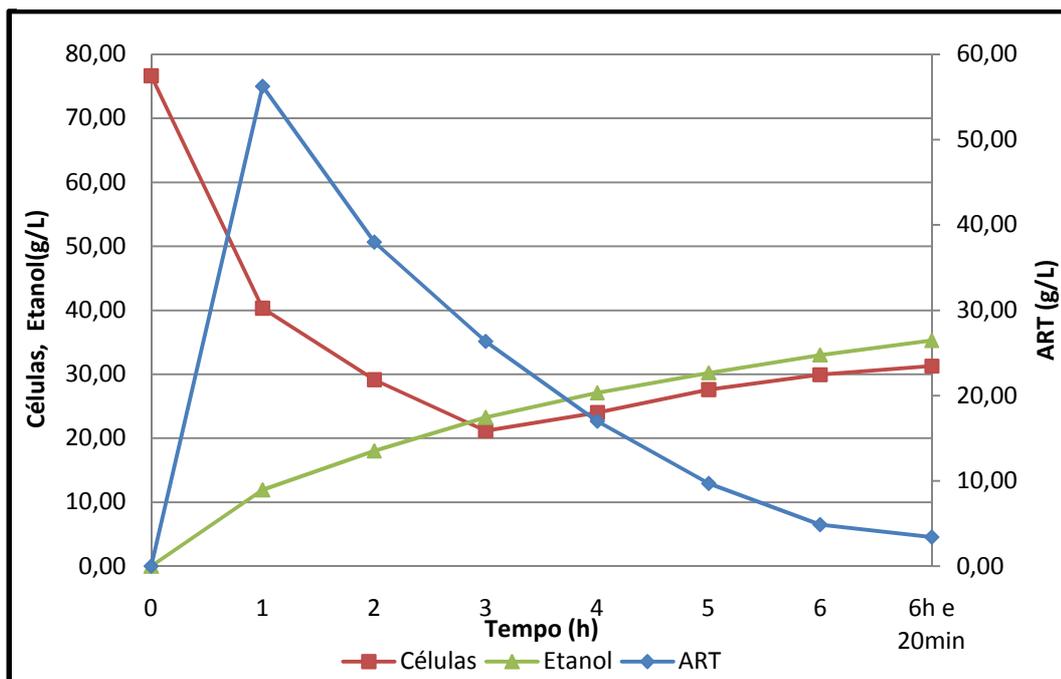
*Resultados e Discussão*

Figura 22 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 16g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

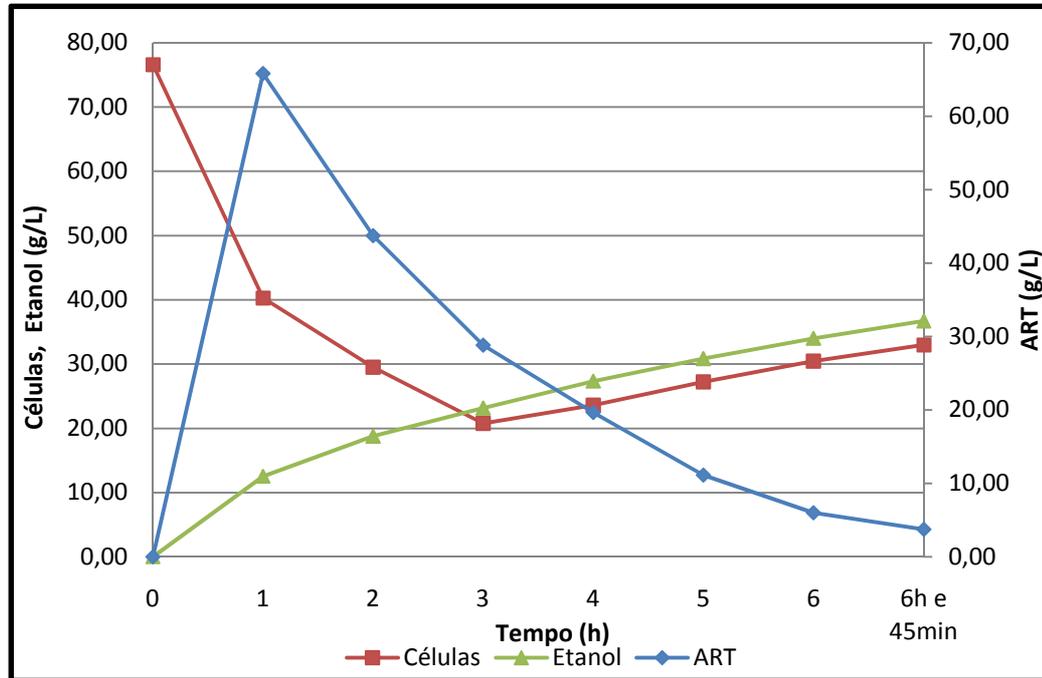
Figura 23 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 18g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

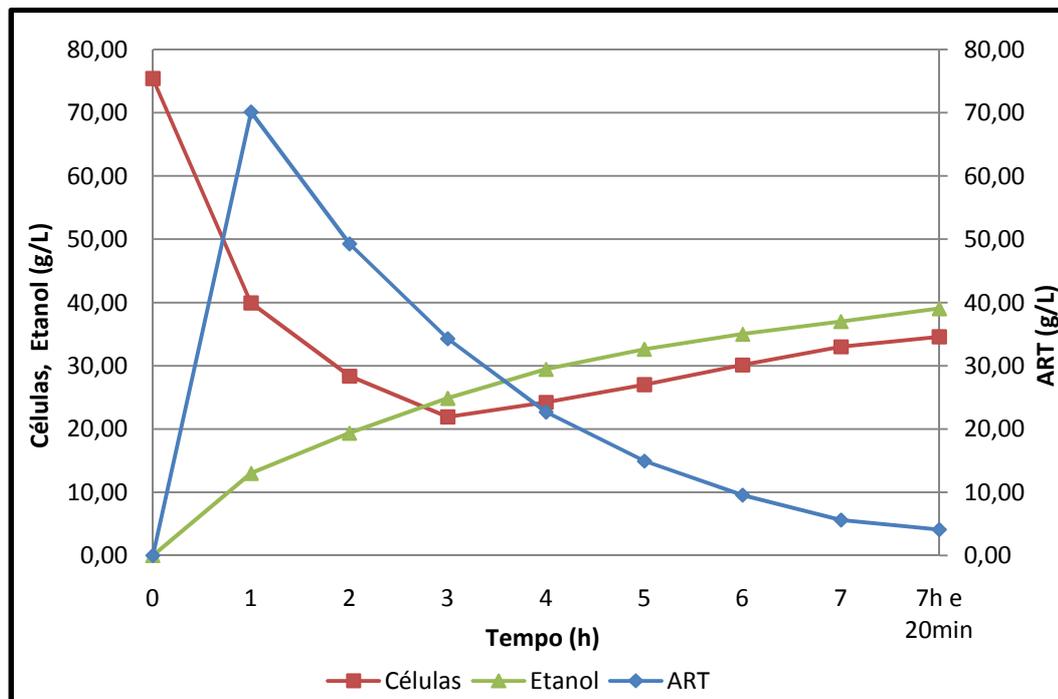
*Resultados e Discussão*

Figura 24 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 20g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

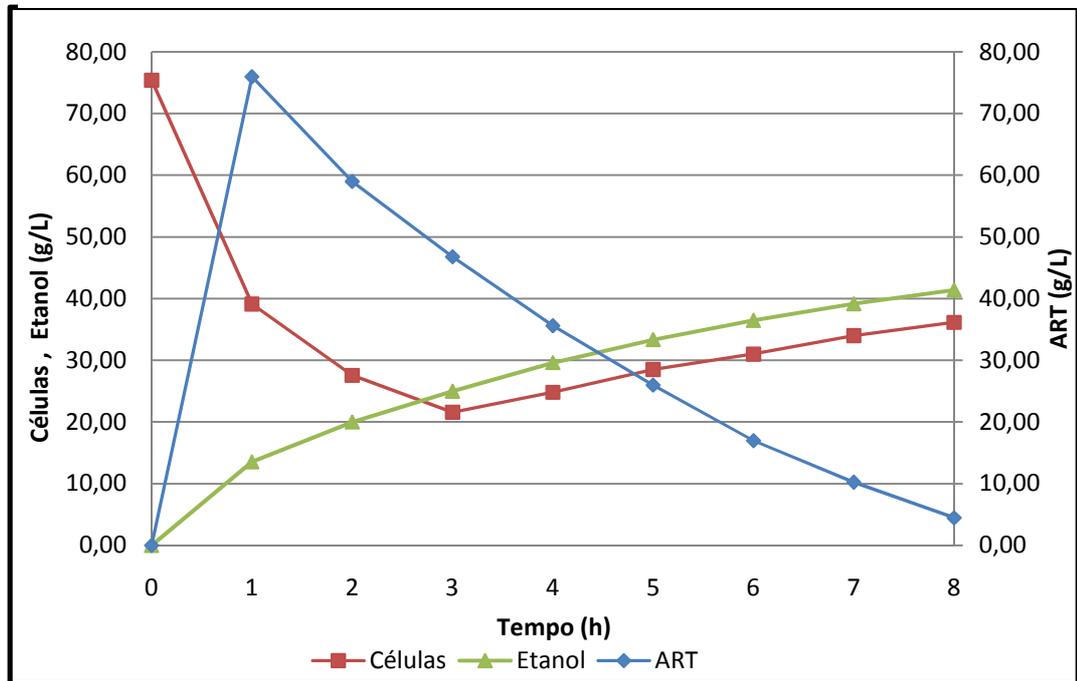
Figura 25 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 22g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

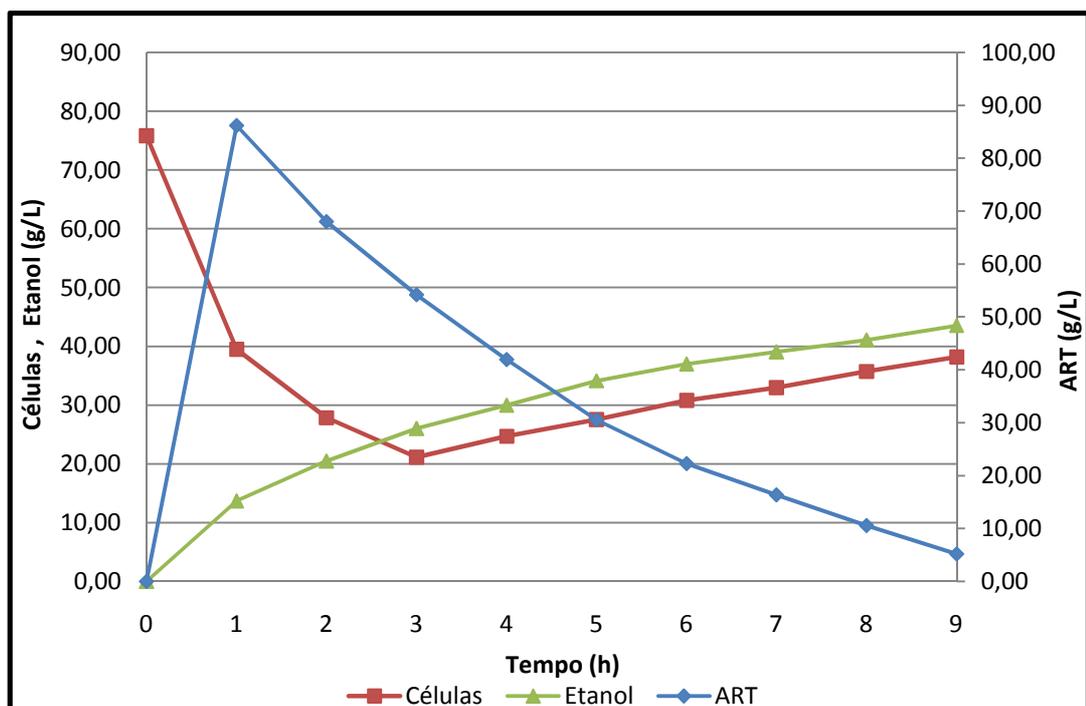
*Resultados e Discussão*

Figura 26 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 24g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

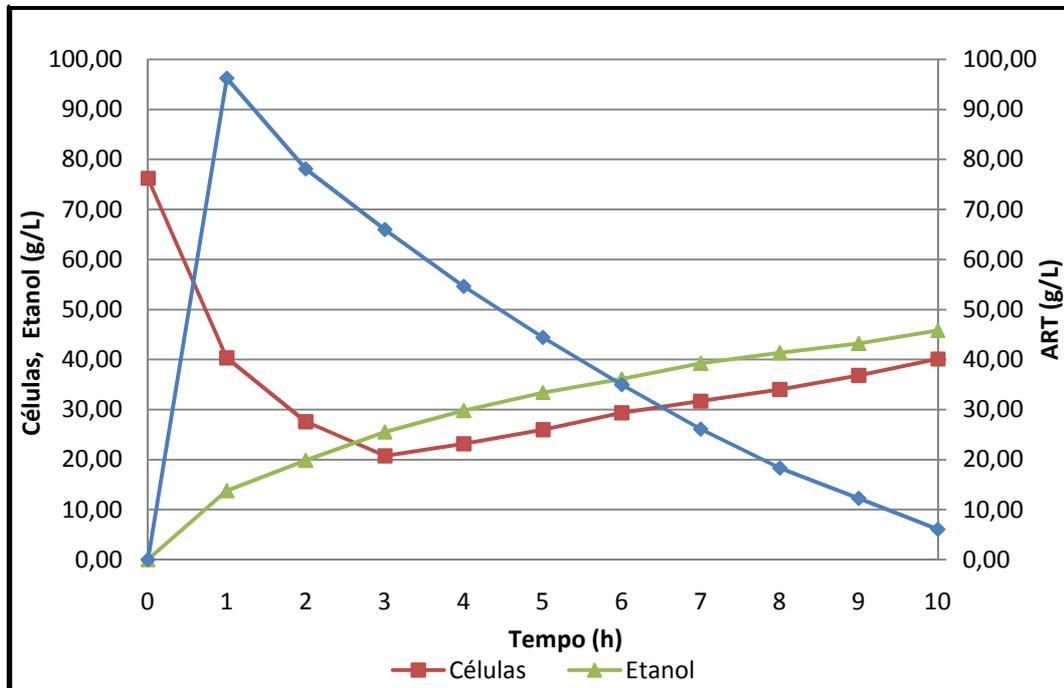
Figura 27 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 26g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

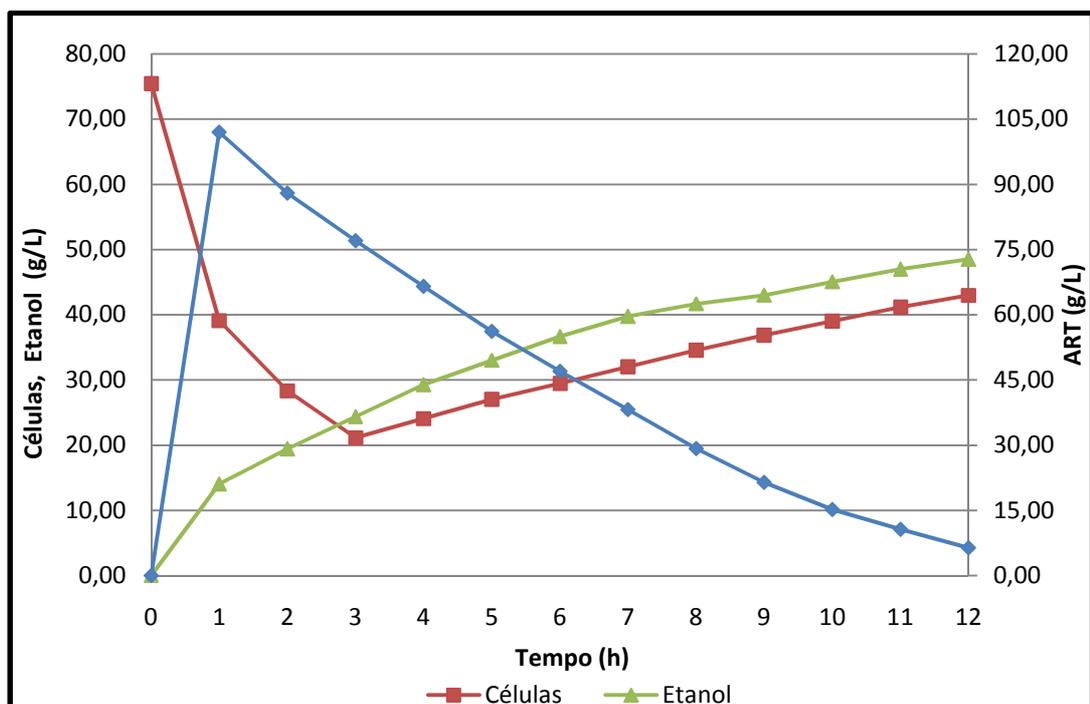
*Resultados e Discussão*

Figura 28 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 28g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 29 - Comportamento cinético do ensaio conduzido com mosto de melão de Brix 30g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

## *Resultados e Discussão*

---

De acordo com resultados obtidos de eficiência fermentativa e produtividade em etanol, pode-se observar na Figura 30, que o Brix ideal encontra-se na faixa entre 86,80 g/L e 125,86 g/L, o mesmo ocorrendo nas fermentações com mosto de caldo e mosto misto. A faixa recomendada, porém, foi de 114,25 a 125,86 g de ART/L (Brix entre 16 e 18g/100g), por apresentar relativamente baixos valores de ART residuais, mantendo eficiência de fermentação e produtividade em etanol próximos aos obtidos industrialmente. Apesar de menor concentração de ART no mosto (Brix entre 12 e 14g/100g) proporcionar maior eficiência de fermentação, mosto com baixa concentração de açúcares favorece o crescimento celular, requer mais mão-de-obra, aumenta o consumo de vapor e água na destilação, exige maior volume de fermentadores, favorecendo contaminações indesejáveis (VASCONCELOS, 1987). Para os mostos de caldo e misto, a justificativa é a mesma para a escolha da faixa mais adequada para utilização industrial.

Os experimentos realizados foram em escala laboratorial e nestas circunstâncias tem-se condições mais apropriadas de cultivo, como temperatura, vazão e composição de ART dos mostos. Porém, os valores obtidos de eficiência de fermentação variaram de 61,84 a 84,06%, abaixo da faixa encontrada na literatura, de 90 a 92% (WHEALS, 1999). Os nossos valores, por outro lado, salvo os do limite inferior, consequência das elevadas concentrações de ART nos mostos utilizados nos ensaios, na faixa mais alta, estão compatíveis com os obtidos em escala industrial para a produção de etanol combustível, quando se trabalha com mosto de melado (Figura 31). Industrialmente, quando se trabalha somente com mosto de melado, normalmente as eficiências de fermentação variam de 84 a 86%. Mesmo quando se trabalha só com mosto de caldo, dificilmente são obtidas eficiências de fermentação superiores a 89-90%.

A produtividade em etanol, no nosso estudo, variou de 4,04 g/L.h<sup>-1</sup> a 213,78 g/L a 6,72 g/L.h<sup>-1</sup>. Pode-se observar que a produtividade segue o mesmo comportamento da eficiência de fermentação, ou seja, à medida que se aumenta a concentração do substrato no mosto, maior será o tempo de fermentação. Conseqüentemente, a produtividade e a eficiência apresentam perfis decrescentes em relação às concentrações de ART presentes nos mostos. A produtividade é um parâmetro que também está relacionado com o perfil de enchimento da dorna, utilizando processo em batelada.

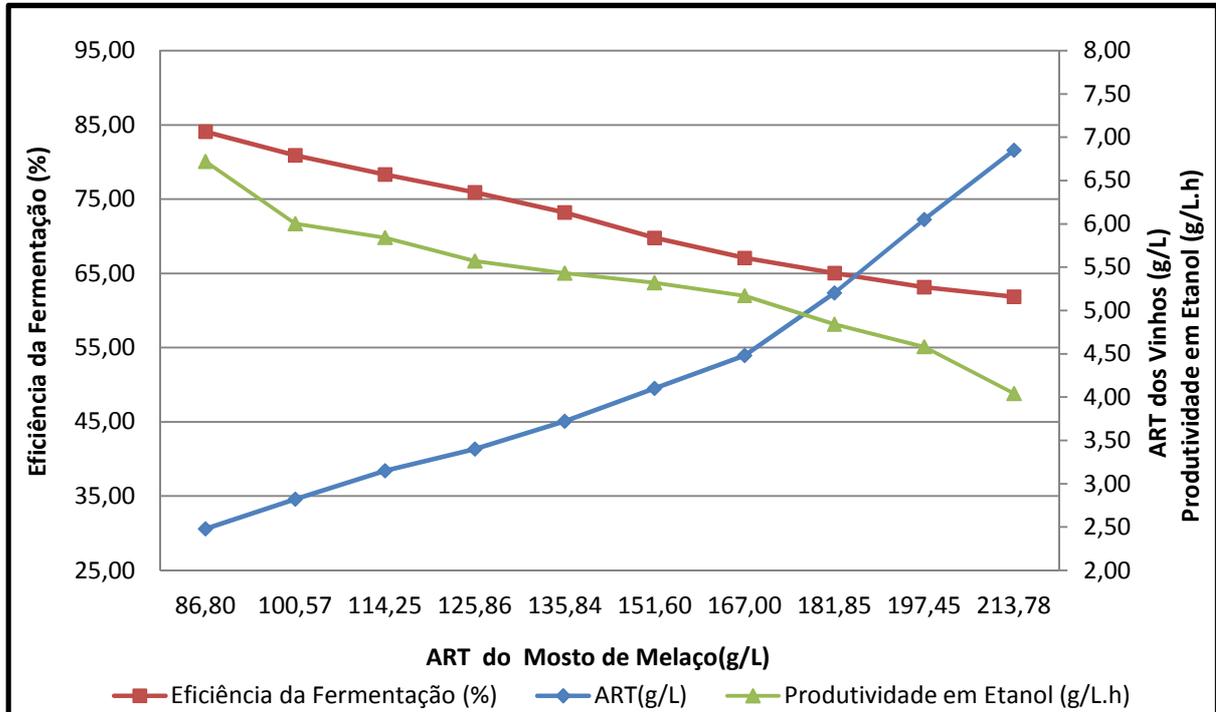
## *Resultados e Discussão*

Em estudos desenvolvidos por Carvalho (1989), foi observado que maiores produtividades foram obtidas com perfis de alimentação com vazões decrescentes e, no mesmo estudo, utilizando tempo de enchimento de 5h, encontrou produtividade em etanol 11,5% superior em relação à alimentação com vazão constante.

BORGES (2008), trabalhando com processo em batelada alimentada, encontrou para fermentações com mosto contendo concentração de ART de 240 (g/L), produtividade de 4,8 g/L.h<sup>-1</sup>. Estes resultados são semelhantes aos obtidos no nosso estudo.

Vale ressaltar que tanto a eficiência de fermentação como a produtividade em etanol são menores quando se trabalha com mosto de melaço, comparando-se os resultados com os obtidos com mosto de caldo, pois naquele a concentração de açúcares redutores não fermentescíveis é elevada, enquanto no caldo é mínima.

Figura 30 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto de melaço.



Fonte: (Autora, 2011)

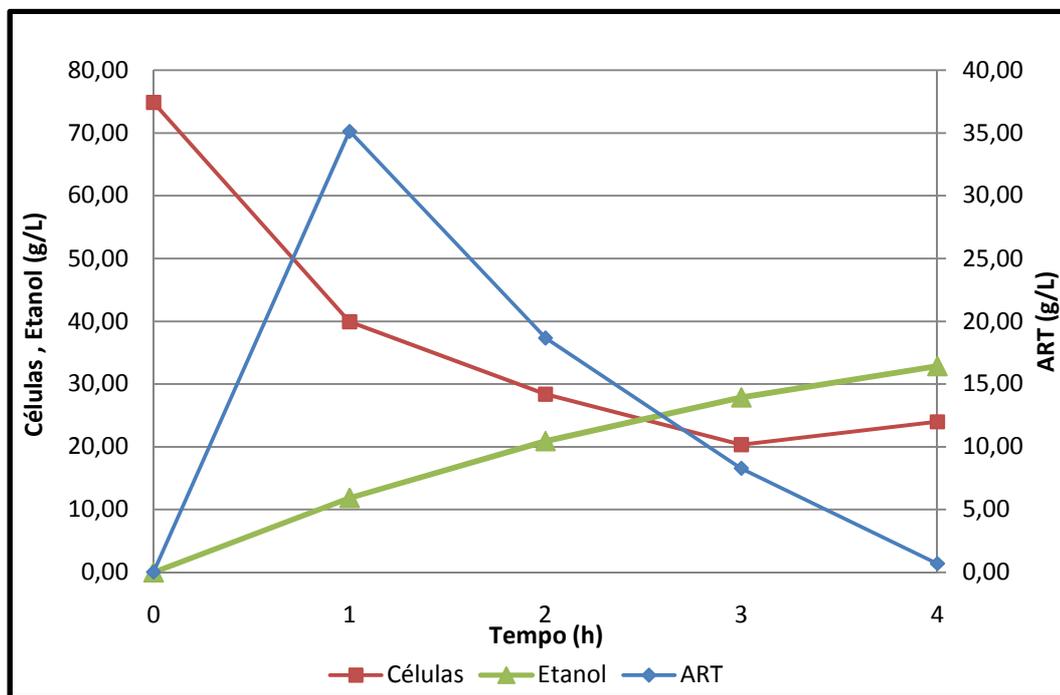
### 5.5 FERMENTAÇÕES COM MOSTO DE CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR

A seguir serão apresentados os resultados (Figuras 31 a 35), referentes às fermentações com mosto de caldo de cana-de-açúcar, com Brix variando de 12 a 20 g/100g.

Pode-se observar, a partir dessas Figuras, que há maior consumo de ART, quando comparadas com as fermentações conduzidas com mostos de melaço e misto.

Os perfis cinéticos apresentam comportamento semelhante aos das fermentações conduzidas com mostos de melaço e misto. No caso dos ART, por ser o caldo matéria-prima com baixos valores de açúcares não fermentescíveis, no final da fermentação o teor de açúcares residuais tende a zero e o tempo de fermentação foi menor em todos os experimentos, acontecendo o contrário com os ensaios com mostos de melaço e misto.

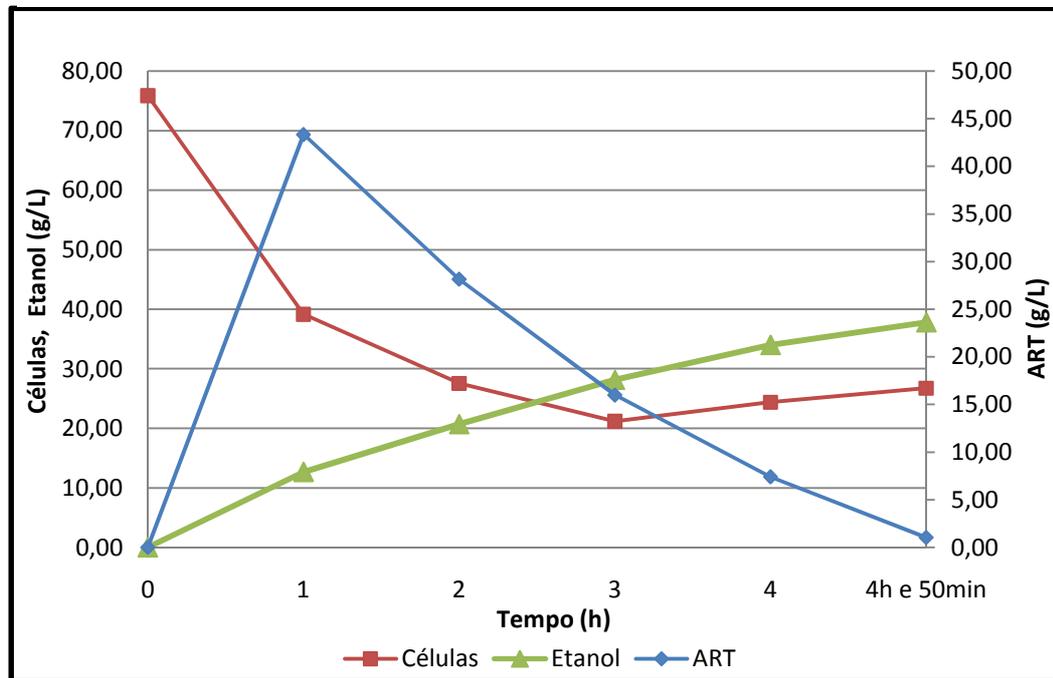
Figura 31 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 12g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

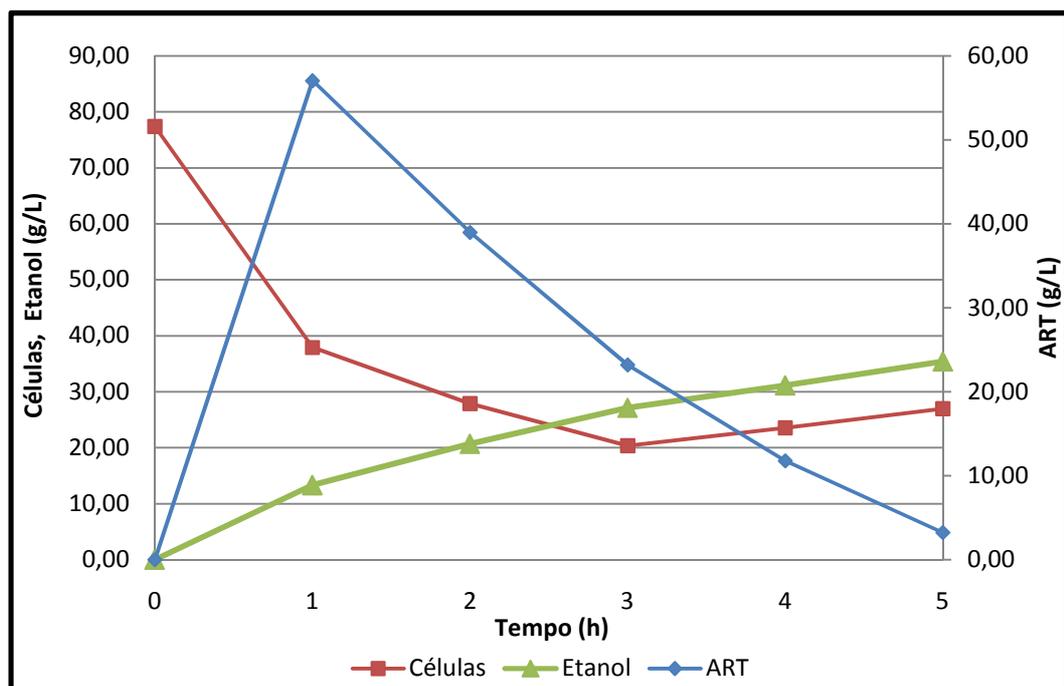
*Resultados e Discussão*

Figura 32 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 14g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

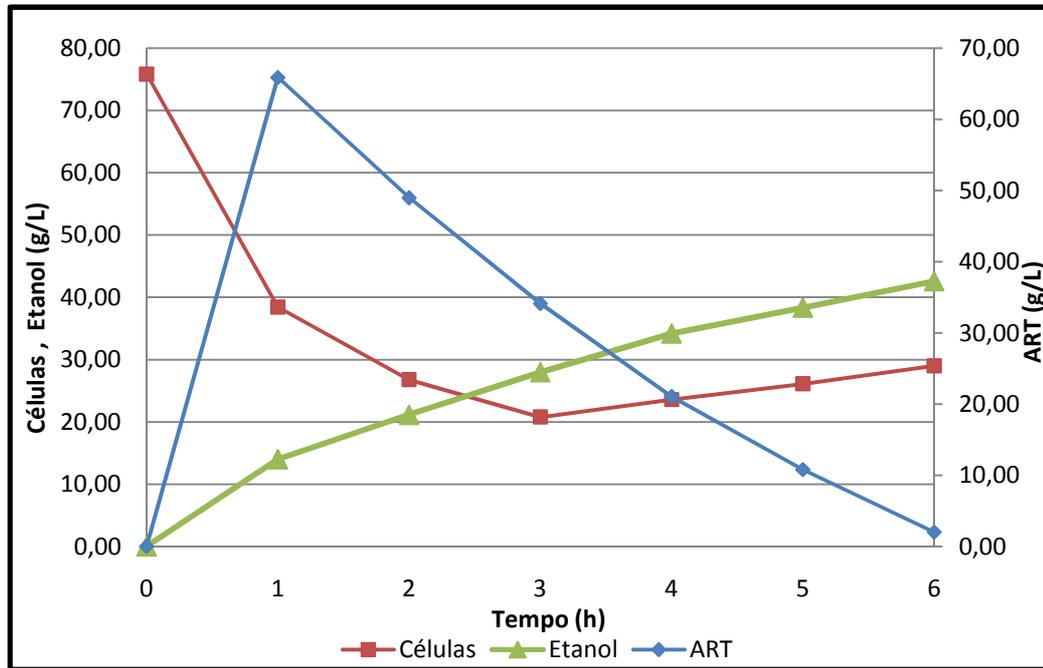
Figura 33 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 16g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

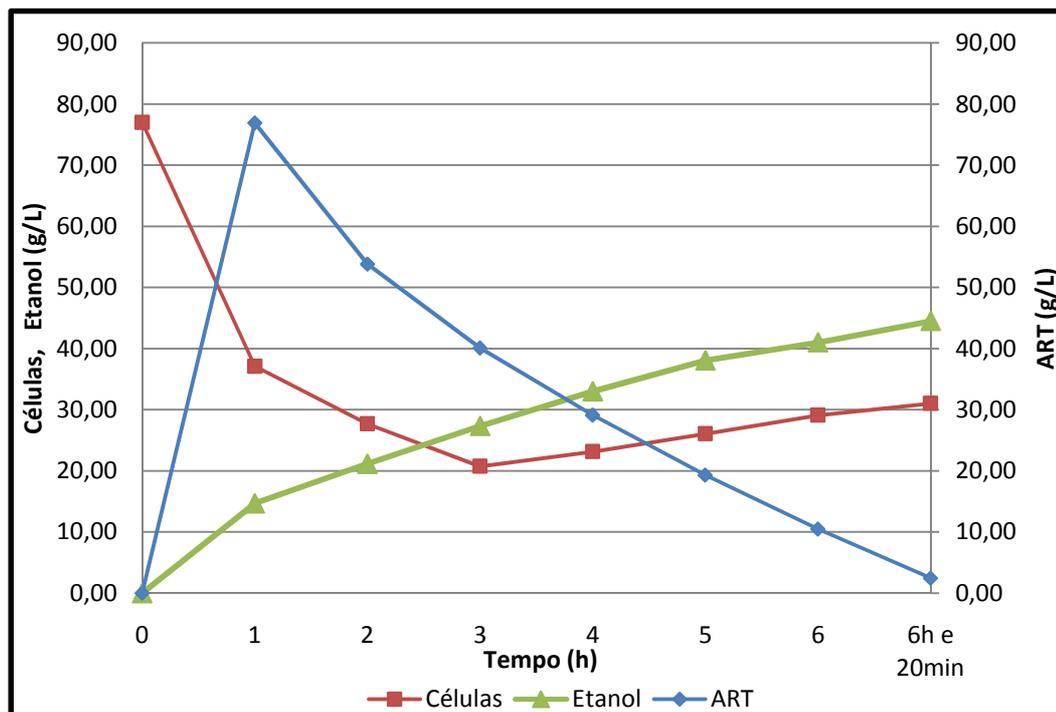
## Resultados e Discussão

Figura 34 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 18g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 35 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto de caldo de Brix 20g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

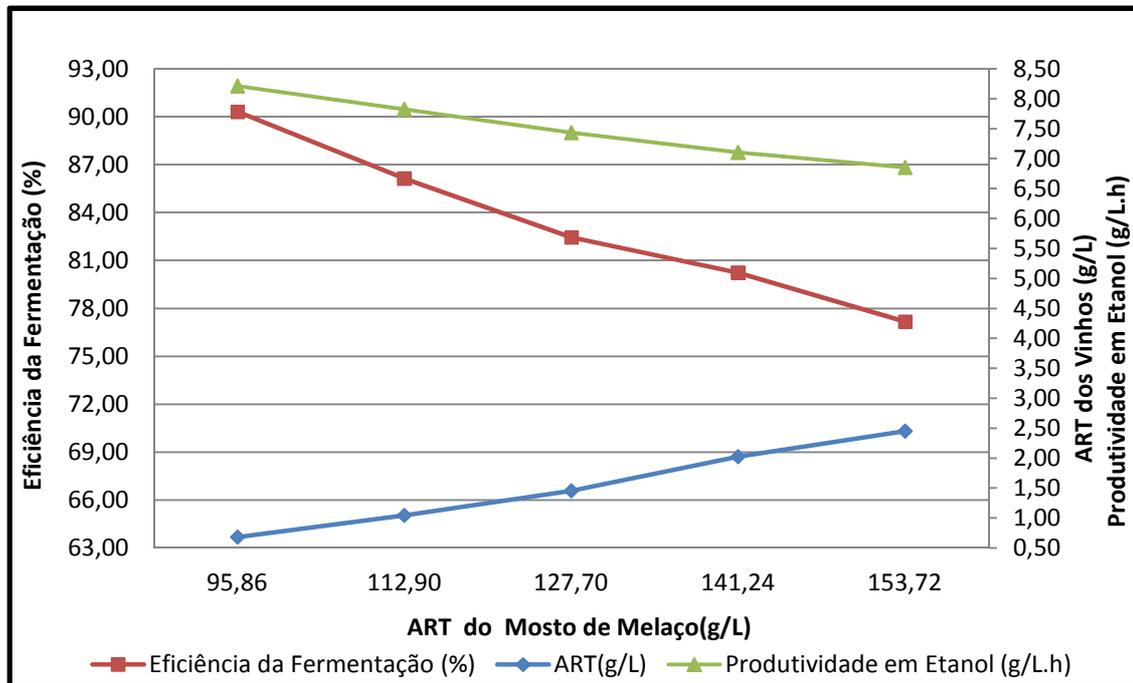
## *Resultados e Discussão*

---

A produtividade em etanol e a eficiência fermentativa são apresentadas na Figura 36, em função da concentração dos ART do mosto. Os dados desta Figura seguem o padrão esperado, ou seja, com o aumento das concentrações de açúcares nos mostos, os açúcares residuais aumentam e a produtividade em etanol e eficiência fermentativa decrescem. Pela observação dos dados, verifica-se que faixa de concentração de ART indicada para utilização industrial situa-se entre Brix de 12 a 18 g/100g, que corresponde a 95,86 a 141,24 g de ART/L de mosto, porém pelas razões citadas para o mosto de melaço, a faixa mais adequada para uma bom desempenho da fermentação etanólica situa-se entre os Brix 16 e 18 com ART correspondentes de 127,70 a 141,24 g/L. Somente as faixas de concentração é que foram diferentes, pelas características dos respectivos mostos. Comparando os ensaios conduzidos com mosto de melaço com os conduzidos com mosto de caldo de cana, observa-se que, neste último, tem-se consumo mais elevado de ART pelas leveduras e maiores produtividade em etanol e eficiência fermentativa.

No nosso estudo foram encontrados eficiência fermentativa entre 77,17 e 90,30% e produtividade em etanol entre 6,85 e 9,10 g/L.h<sup>-1</sup>. Vasconcelos (1988), realizando experimentos com caldo de cana e fermentações conduzidas industrialmente e em batelada alimentada, encontrou valores de produtividade 5,23 a 7,73 g/L.h<sup>-1</sup> e eficiência fermentativa de 82,59 a 91,47 %,com concentrações de substrato superiores a 150 g/L).

Figura 36 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto de caldo de cana-de-açúcar.



Fonte: (Autora, 2011)

## 5.6 FERMENTAÇÕES COM MOSTO MISTO

As Figuras 37 a 56 apresentam os resultados dos experimentos realizados com mosto misto (Melaço + Caldo) em diferentes proporções e concentrações de açúcares nos respectivos mostos (Tabela 8).

Os ensaios realizados com maiores proporções de melaço (80% melaço + 20% de caldo, 60% melaço + 40% de caldo, 50% melaço + 50% de caldo) apresentaram maior teor de açúcares residuais, enquanto os mostos com maiores proporções de caldo apresentaram o contrário, visto que o caldo de cana contém baixas concentrações de ART fermentescíveis, enquanto o melaço apresenta maiores concentrações de açúcares não fermentescíveis. Dependendo das proporções melaço: caldo na preparação do mosto misto, haverá maiores ou menores concentrações de ART não fermentescíveis, resultando em maiores ou menores quantidades de ART residuais no final da fermentação.

Ressalte-se que o perfil cinético, em todos os ensaios realizados, independentemente das proporções melaço: caldo e das concentrações de ART, foi semelhante. As variações quantitativas se devem às diferentes concentrações de ART e dos diferentes tipos de mosto.

## *Resultados e Discussão*

---

Em todos os tipos de mosto (misto) utilizados, independentemente das proporções caldo: melaço, os ensaios sempre foram conduzidos com Brix de 12, 16 e 20 g/100g. Nas condições estudadas, os valores de Brix mais adequados encontram-se próximos a 16 g/100g (ART de 123,30 g/L; 119,10; 118,00; 115,43 e 113,68 g/L, respectivamente, para os cinco tipos de mosto utilizados), independentemente da proporção melaço:caldo na preparação do mosto, pelas razões apresentadas anteriormente.

Ressalte-se que a indicação deste valor deverá ser tomada como ponto de partida para a otimização das condições de condução deste processo em outros estudos e, principalmente, na condução industrial, visto que 70% (estimativa) da produção de etanol atual do Brasil é obtida pelo processo descontínuo alimentado.

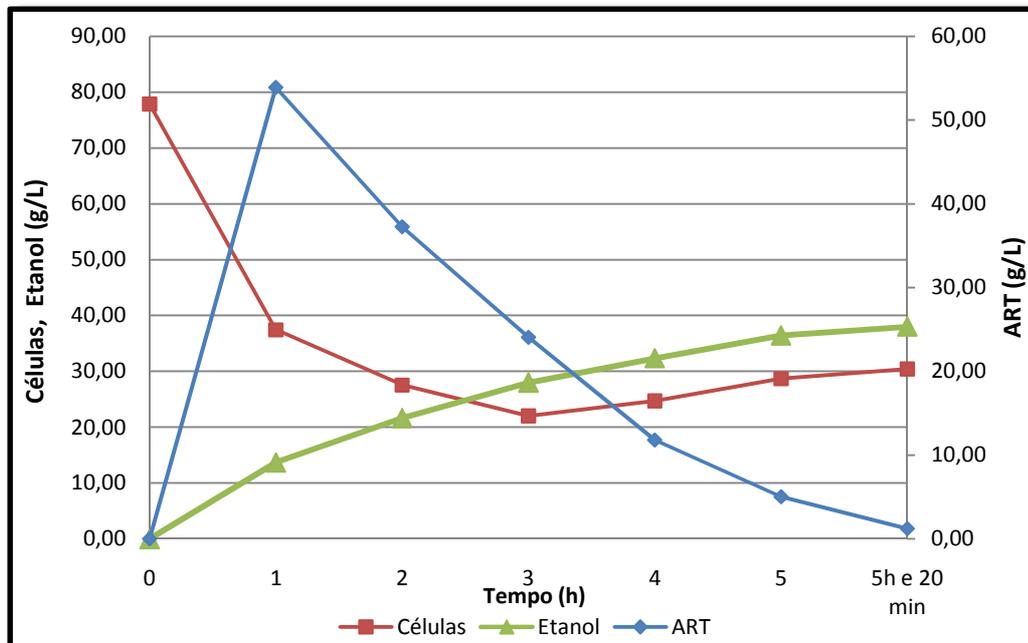
Ainda de acordo com os dados da Tabela 8, verifica-se que os melhores resultados de eficiência de fermentação e produtividade em etanol, foram obtidos para os diferentes tipos de mosto, quando se trabalhou com menores concentrações de açúcares. Aumentando-se as concentrações de ART nos mostos, houve queda nas eficiência fermentativa e produtividade em etanol. O mosto de caldo foi o que proporcionou melhor desempenho do processo fermentativo.

Nos mostos mistos, obtiveram-se melhores resultados quando foram utilizadas menores proporções de melaço na preparação dos mostos. Quanto maior a relação melaço:caldo, menor o desempenho do processo fermentativo.

O melaço é um resíduo da fabricação de açúcar e é utilizado na produção de etanol, visto que a maioria das usinas brasileiras possuem destilarias anexas. Logo, o melaço é composição obrigatória na preparação dos mostos industriais na maioria das destilarias do Brasil e a otimização das relações caldo: melaço na preparação dos mostos mistos poderá trazer ganhos econômicos substanciais para as referidas unidades industriais.

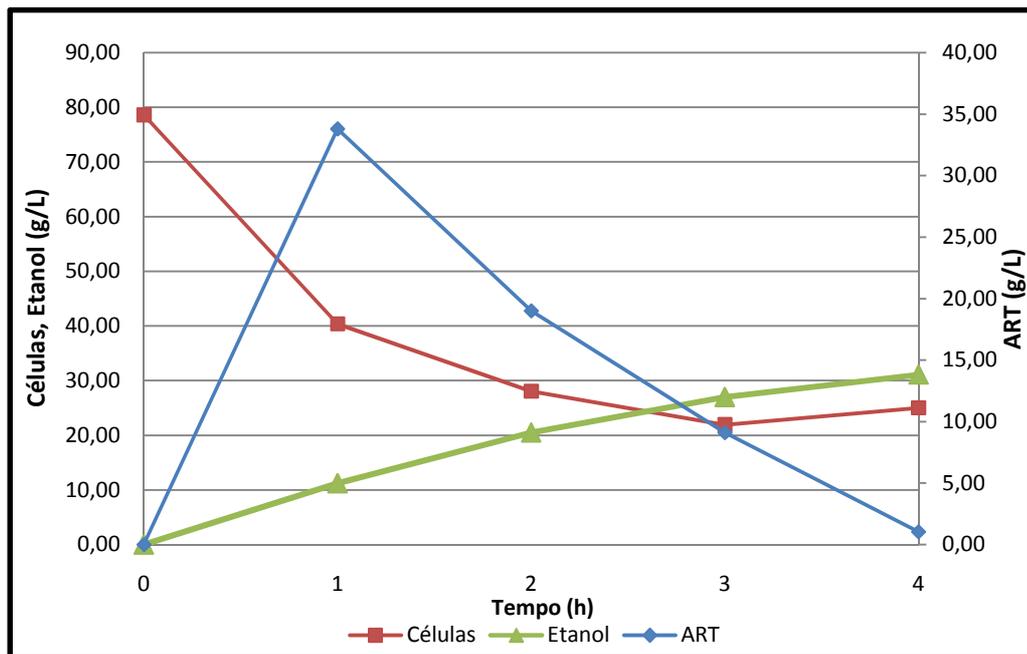
## 5.6.1 Mosto com 20% de Melaço e 80% Caldo

Figura 37 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo de Brix 12g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

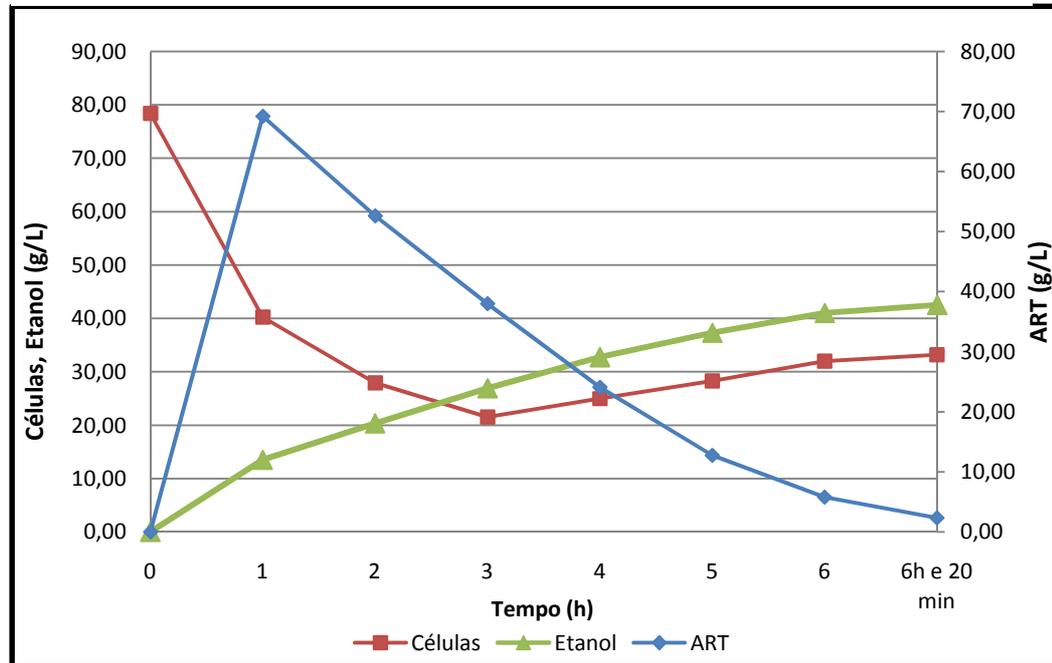
Figura 38- Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo de Brix 16g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

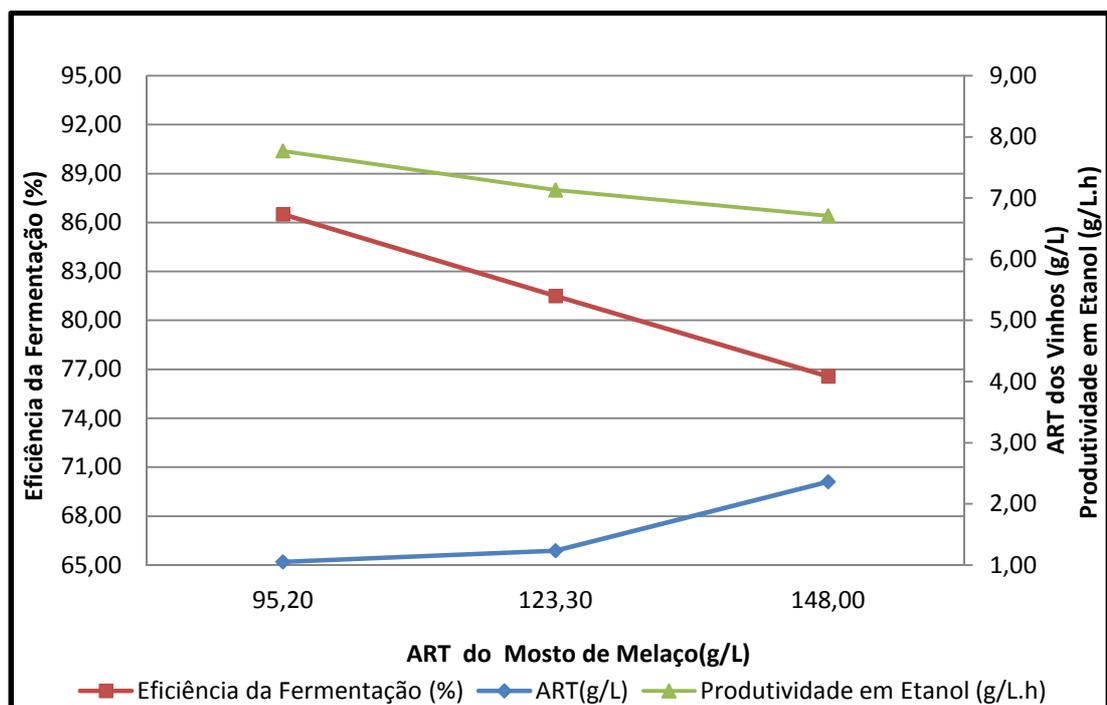
## Resultados e Discussão

Figura 39 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo de Brix 20g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

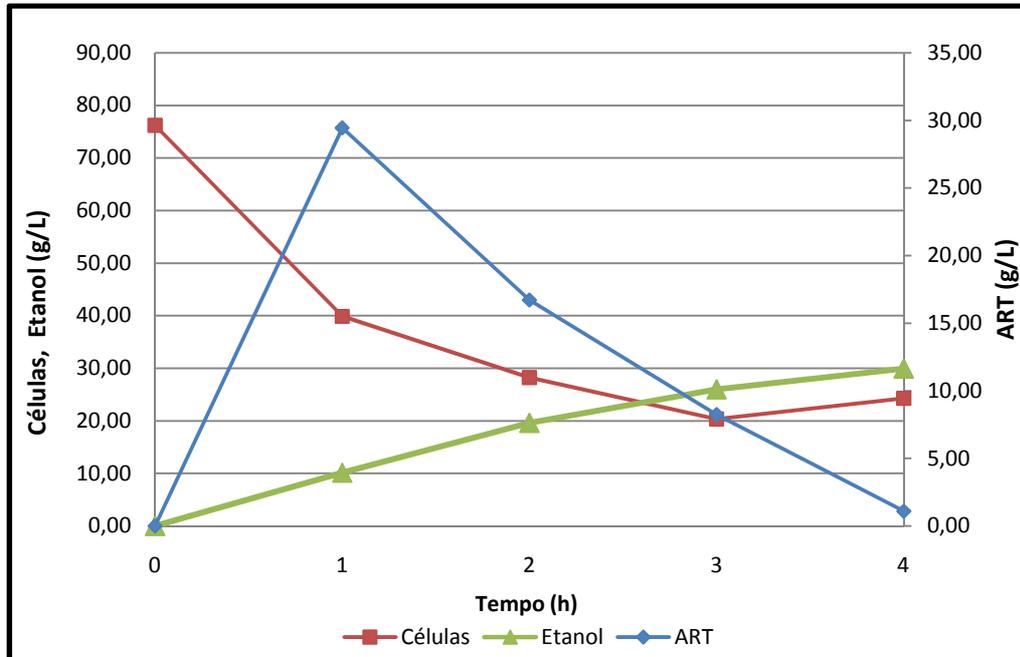
Figura 40 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 20% melaço + 80% caldo.



Fonte: (Autora, 2011)

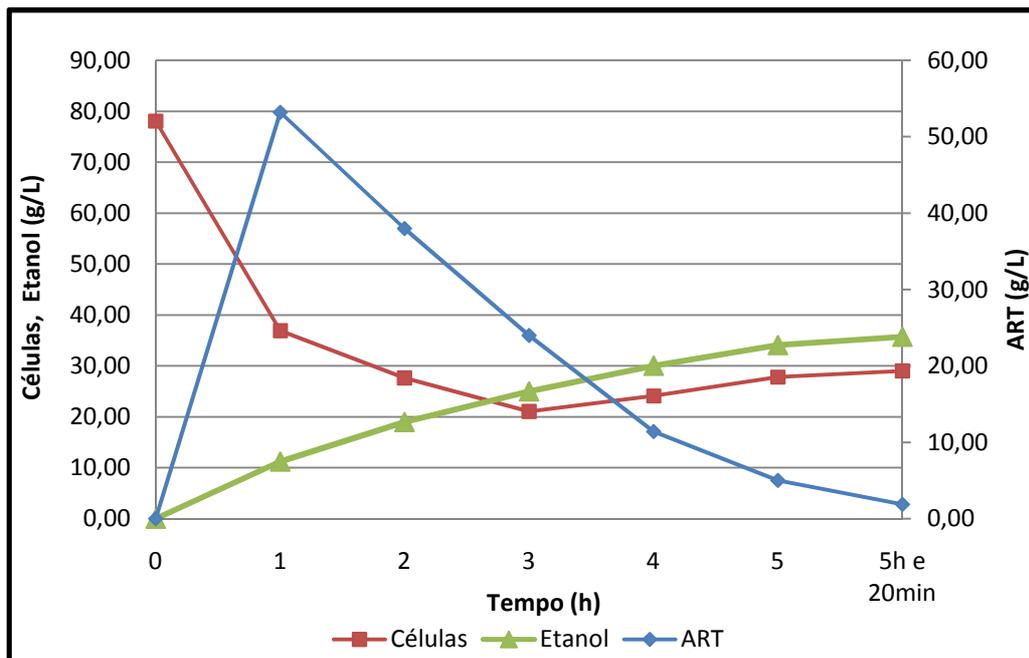
## 5.5.2 Mosto com 40% de Melaço e 60% Caldo

Figura 41 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melaço + 60% caldo de Brix 12g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

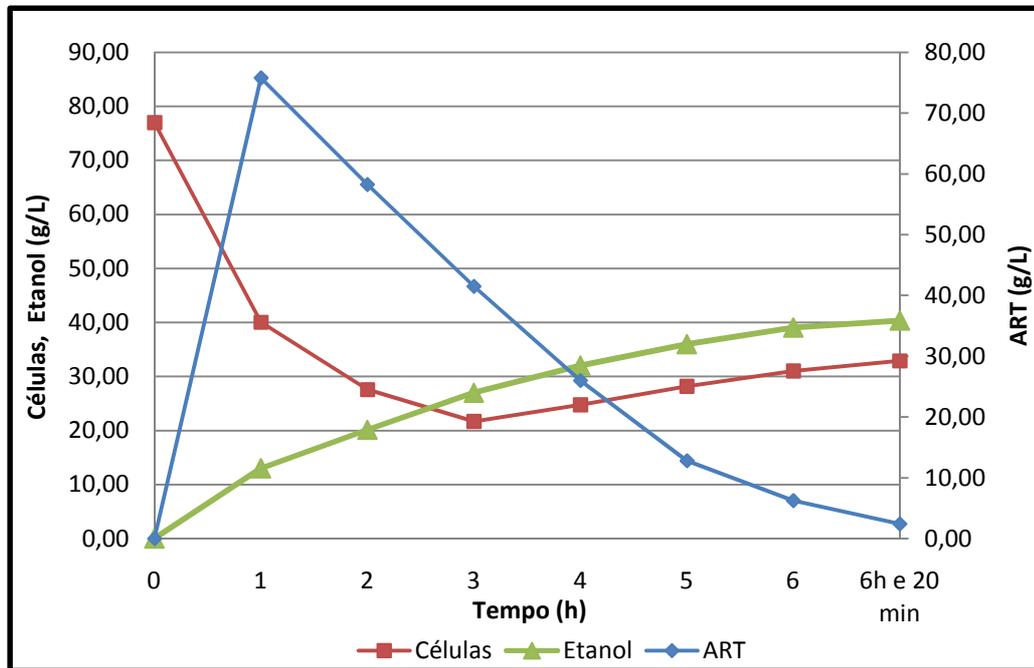
Figura 42 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melaço + 60% caldo de Brix 16g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

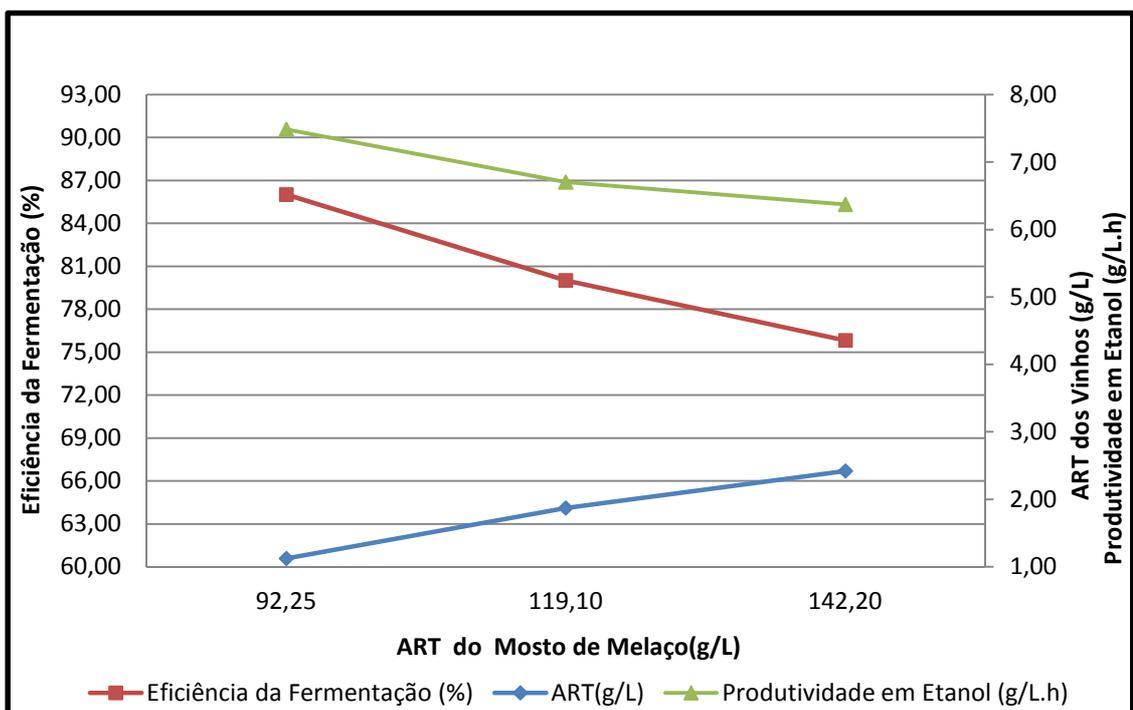
## Resultados e Discussão

Figura 43 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 40% melação + 60% caldo de Brix 20 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

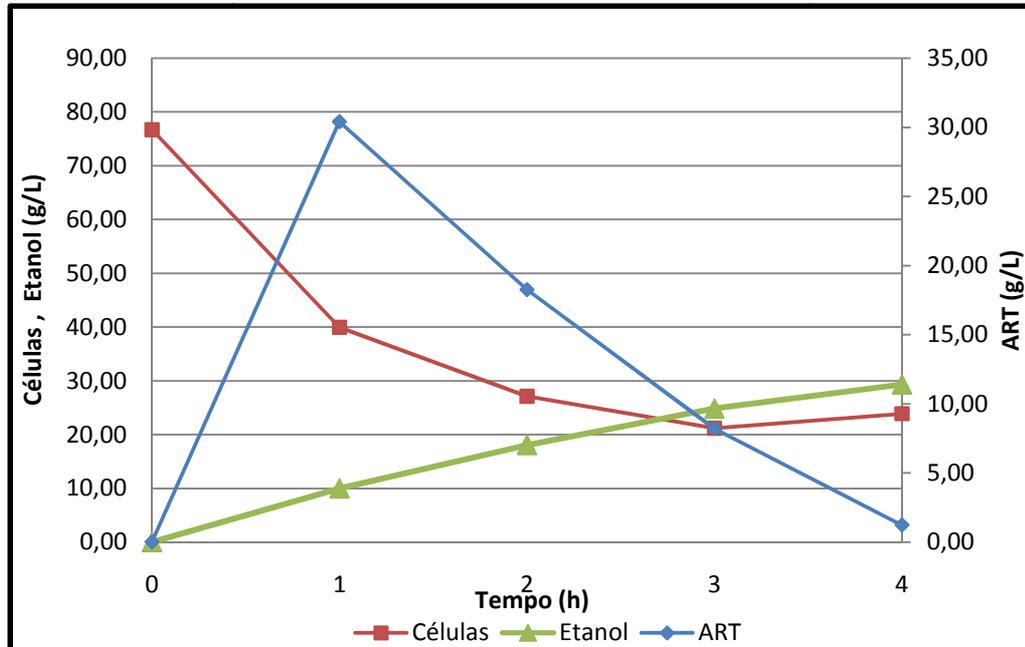
Figura 44 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 40% de melação + 60% de caldo.



Fonte: (Autora, 2011)

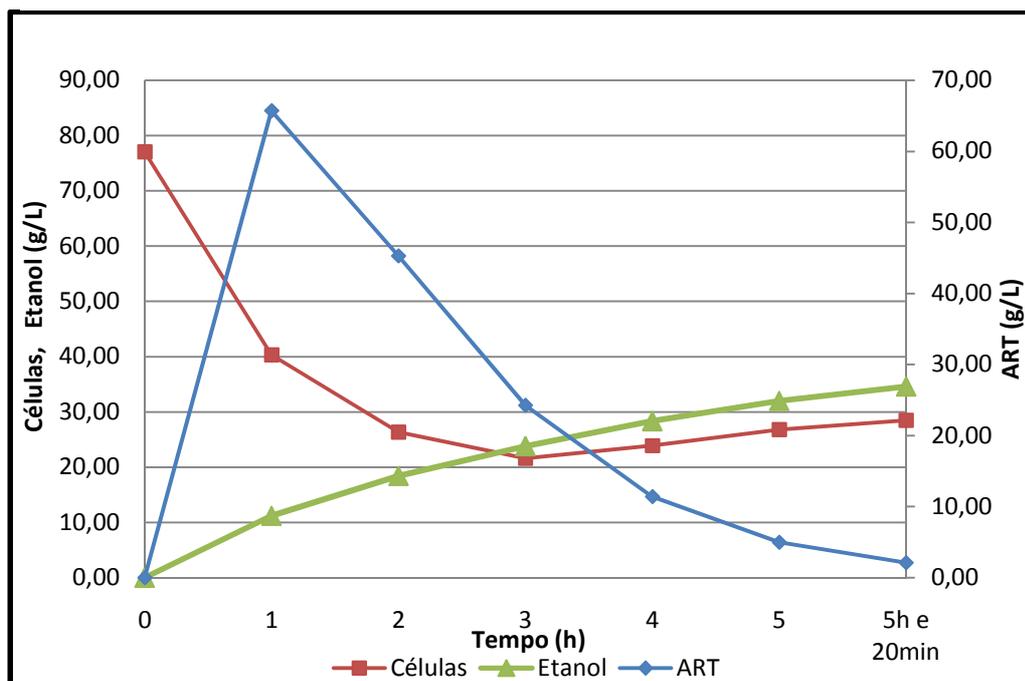
## 5.5.3 Mosto com 50% de Melaço e 50% Caldo

Figura 45 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melaço + 50% caldo de Brix 12 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

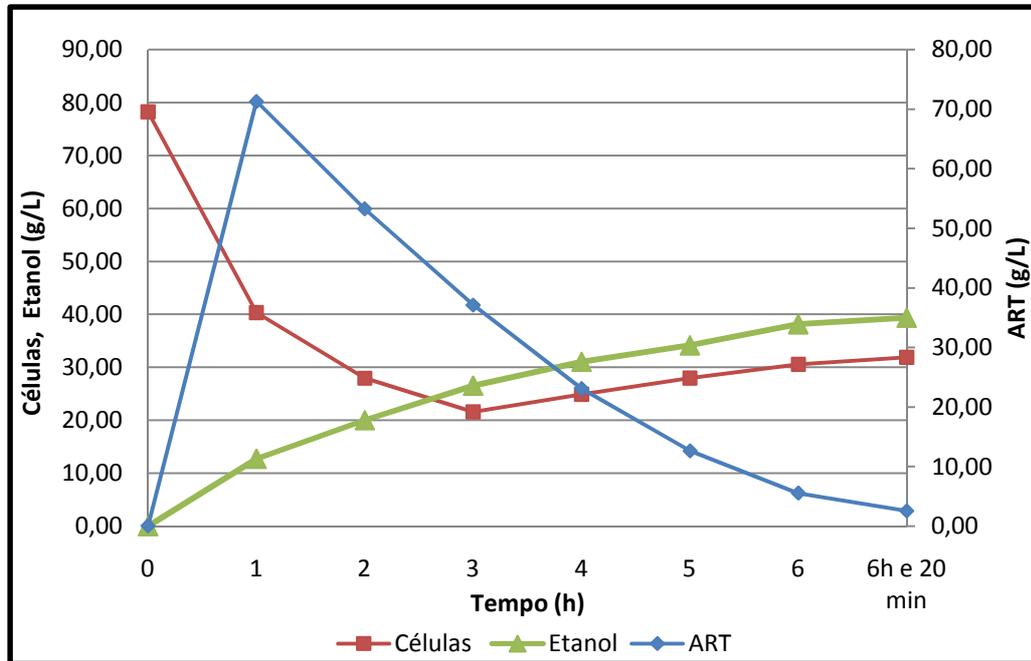
Figura 46 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melaço + 50% caldo de Brix 16 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

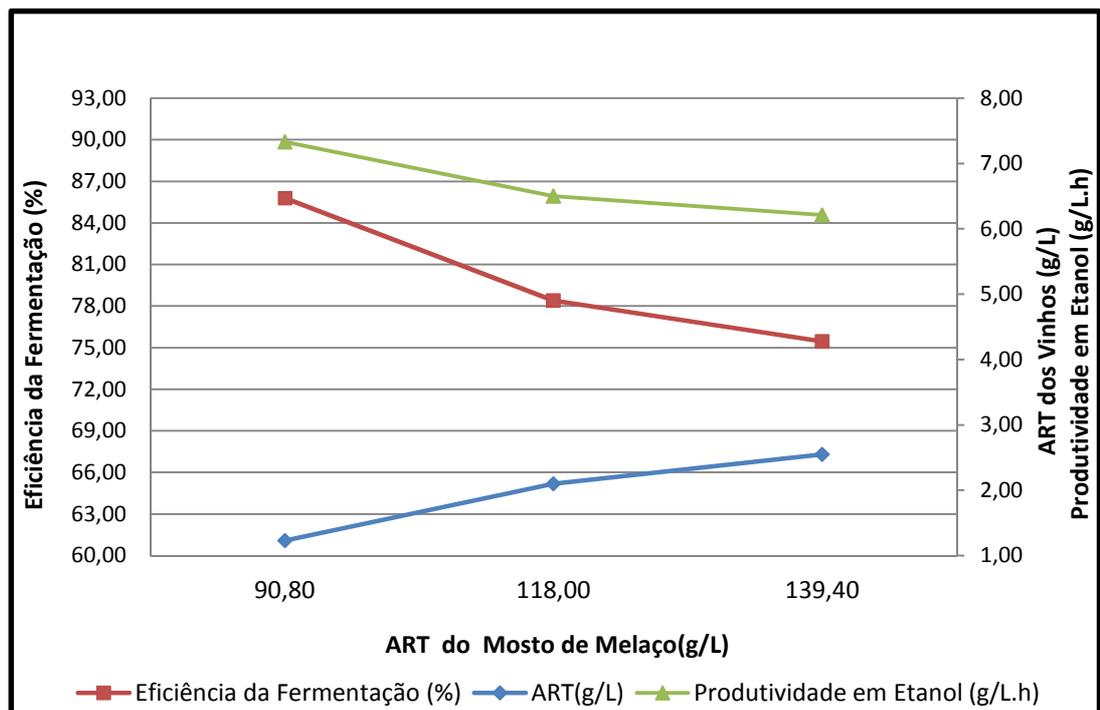
## Resultados e Discussão

Figura 47 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 50% melação + 50% caldo de Brix 20 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

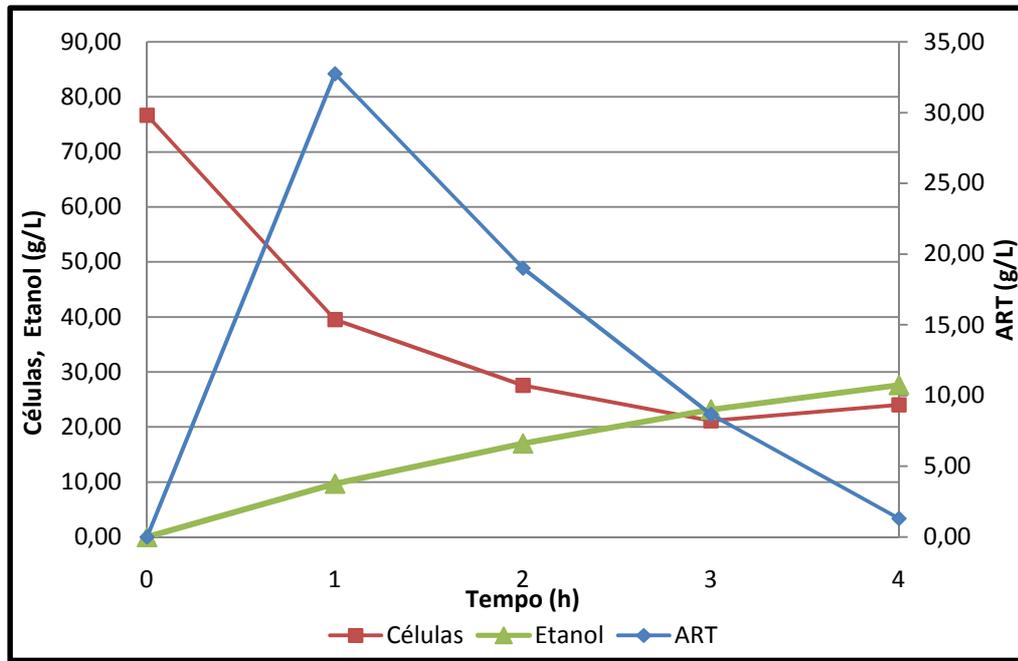
Figura 48 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de (50% de melação + 50% de caldo de cana).



Fonte: (Autora, 2011)

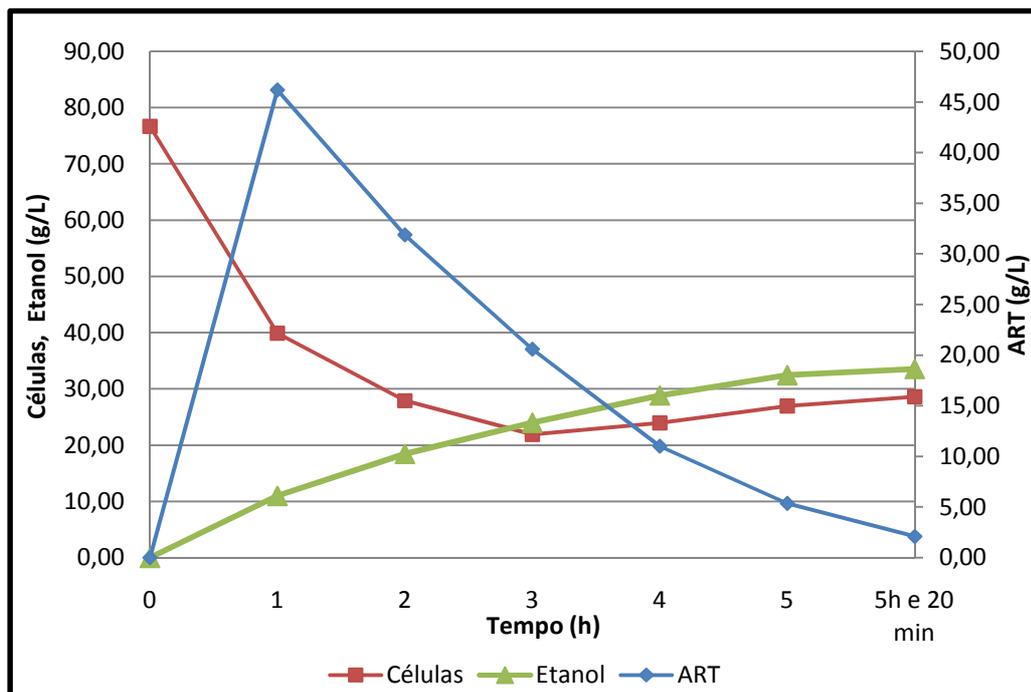
## 5.5.4 Mosto com 60% de Melaço e 40% Caldo

Figura 49 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melaço + 40% caldo-de-cana de Brix 12 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

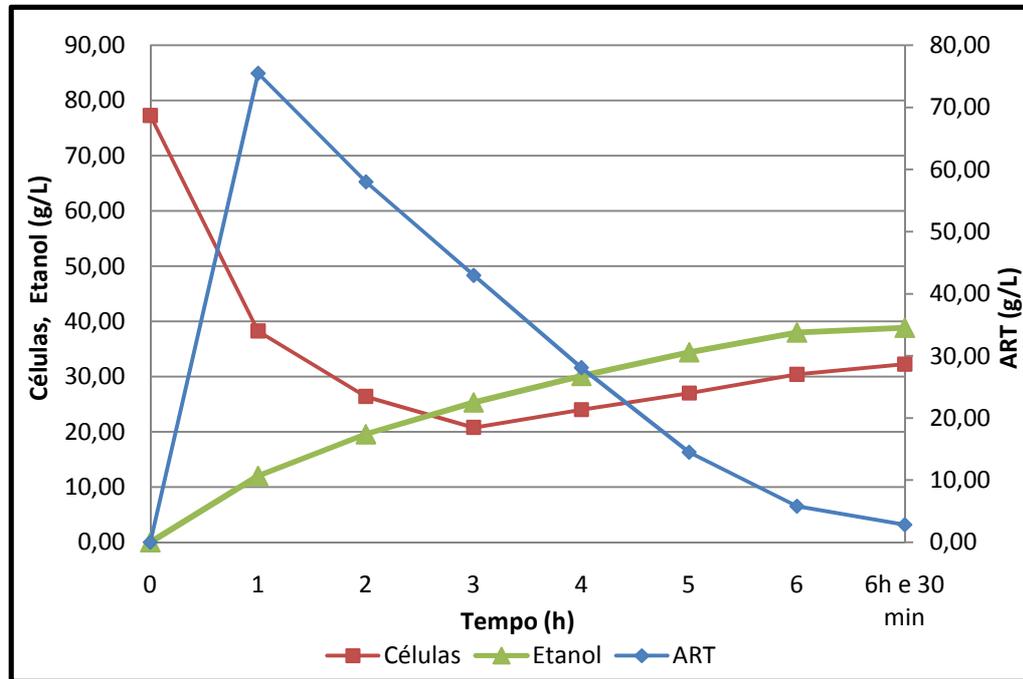
Figura 50 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melaço + 40% caldo-de-cana de Brix 16 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

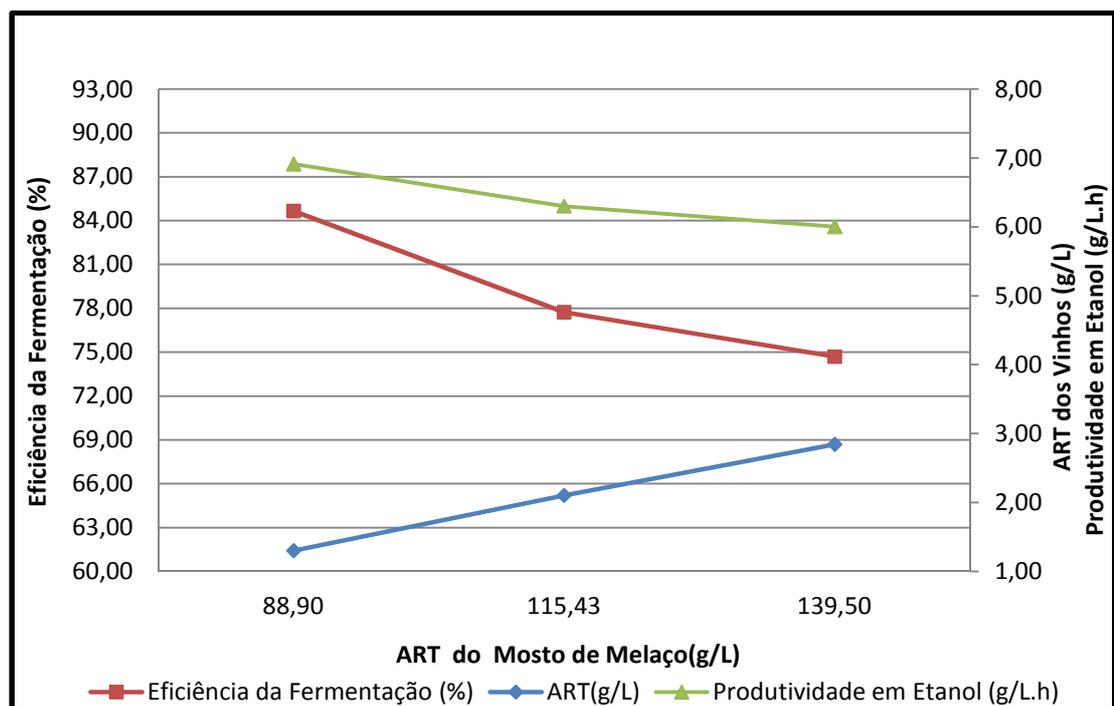
## Resultados e Discussão

Figura 51 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 60% melação + 40% caldo-de-cana de Brix 20 g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

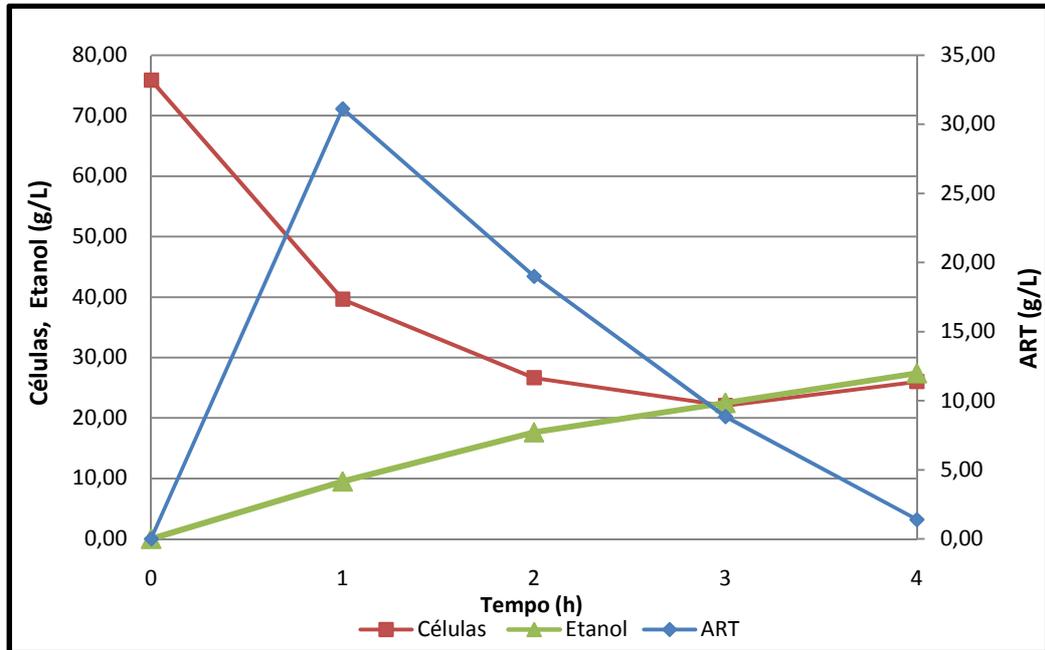
Figura 52 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 60% de melação + 40% de caldo-de-cana.



Fonte: (Autora, 2011)

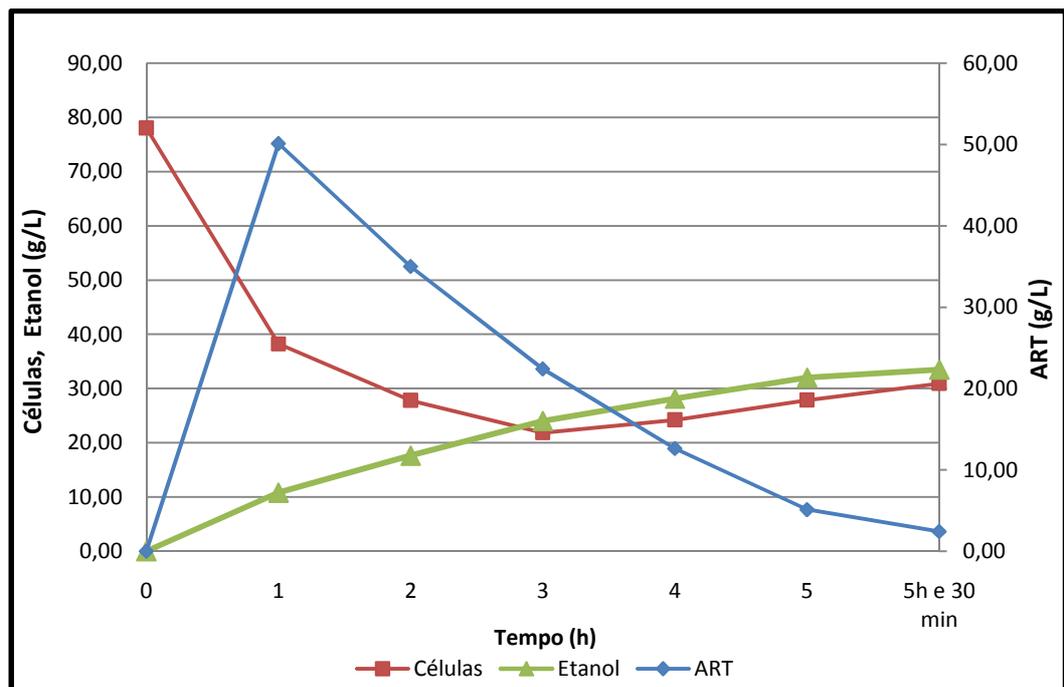
## 5.5.5. Mosto com 80% de Melaço e 20% Caldo

Figura 53 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melaço + 20% caldo-de-cana de Brix 12g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

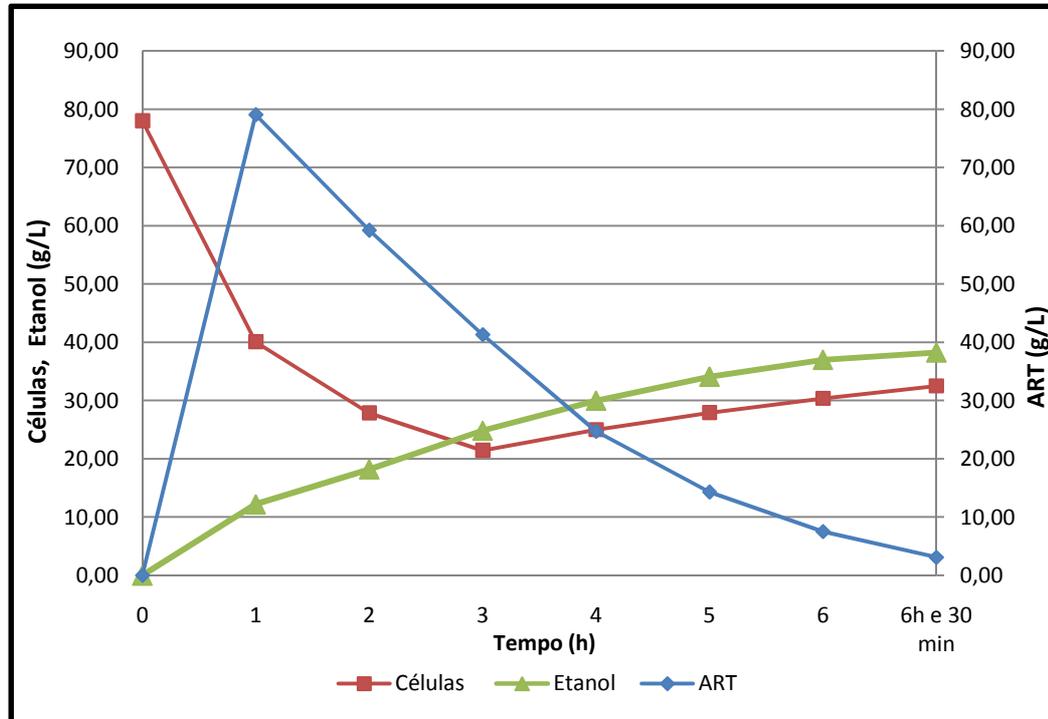
Figura 54 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melaço + 20% caldo-de-cana de Brix 16g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

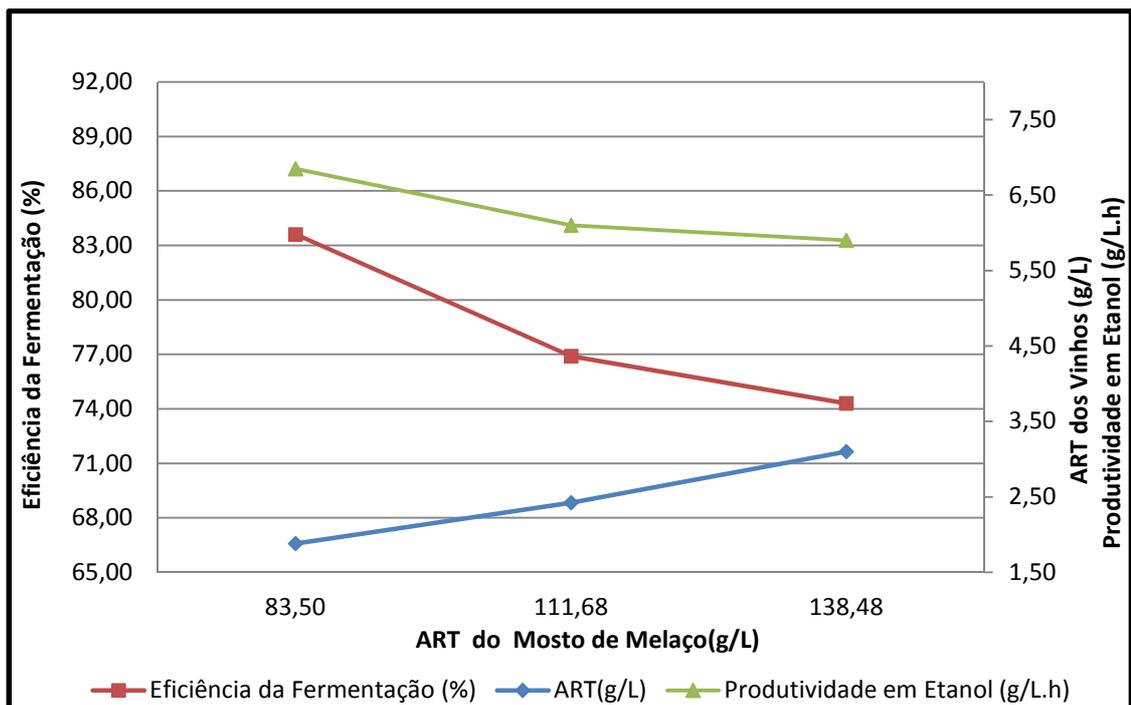
## Resultados e Discussão

Figura 55 - Comportamento cinético de ensaios conduzidos com mosto misto de 80% melação + 20% caldo-de-cana de Brix 20g/100g.



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 56 - Eficiência da Fermentação, Produtividade em Etanol e ART do mosto, para os ensaios com mosto misto de 80% de melação + 20% de caldo-de-cana.



Fonte: (Autora, 2011)

Tabela 8. Eficiência, Produtividade em Etanol,  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$  e  $Y_{P/X}$  para todos os tipos de mostos.

Tipo de Mosto	Brix (g/100g)	ART (g/L)	ART Residual (g/L)	$\eta$ (%)	P (g/L.h-1)	$Y_{X/S}$ (g/g)	$Y_{P/S}$ (g/g)	$Y_{P/X}$ (g/g)
<b>Melaço</b>	12	86,80	2,48	84,06	6,72	0,070	0,430	5,910
	14	100,57	2,82	80,86	6,00	0,110	0,413	3,770
	16	114,25	3,15	78,29	5,84	0,120	0,400	2,940
	18	125,86	3,40	75,90	5,57	0,130	0,388	2,910
	20	135,84	3,72	73,17	5,43	0,140	0,374	2,650
	22	151,60	4,10	69,80	5,32	0,140	0,356	2,480
	24	167,00	4,48	67,10	5,17	0,140	0,343	2,400
	26	181,85	5,20	65,00	4,84	0,150	0,332	2,260
	28	197,45	6,05	63,13	4,58	0,150	0,322	2,150
	30	213,78	6,85	61,84	4,04	0,160	0,316	2,000
<b>Caldo</b>	12	95,86	0,68	90,30	8,21	0,074	0,461	6,240
	14	112,90	1,04	86,12	7,82	0,093	0,452	4,860
	16	127,70	1,45	82,45	7,43	0,096	0,423	4,380
	18	141,24	2,02	80,22	7,1	0,101	0,406	4,000
	20	153,72	2,45	77,17	6,85	0,104	0,394	3,770
<b>20% melaço + 80% caldo</b>	12	95,20	1,05	86,51	7,77	0,076	0,442	5,820
	16	123,30	1,23	81,50	7,13	0,120	0,416	3,470
	20	148,00	2,36	76,56	6,71	0,125	0,391	3,120
<b>40% melaço + 60% caldo</b>	12	92,25	1,12	86,00	7,48	0,077	0,439	5,670
	16	119,10	1,87	80,00	6,70	0,108	0,409	3,770
	20	142,20	2,42	75,80	6,37	0,131	0,387	2,960
<b>50% melaço + 50% caldo</b>	12	90,80	1,23	85,80	7,33	0,070	0,440	6,220
	16	118,00	2,10	78,40	6,50	0,107	0,400	3,750
	20	139,40	2,55	75,45	6,21	0,120	0,385	3,200
<b>60% melaço + 40% caldo</b>	12	88,90	1,30	84,64	6,91	0,074	0,423	5,700
	16	115,43	2,10	77,72	6,30	0,122	0,397	3,540
	20	139,50	2,84	74,70	6,00	0,129	0,382	3,320
<b>80% melaço + 20% caldo</b>	12	83,50	1,88	83,62	6,85	0,109	0,427	3,900
	16	113,68	2,42	79,10	6,10	0,138	0,393	2,930
	20	138,48	3,10	74,30	5,90	0,186	0,379	2,040

Fonte: (Autora, 2011)

 $\eta$  = Eficiência da Fermentação (%)

P = Produtividade em Etanol (g/L.h-1)

### 5.7 FATORES DE CONVERSÃO $Y_{X/S}$ (g/g), $Y_{P/S}$ (g/g) E $Y_{P/X}$ (g/g)

Os fatores de conversão obtidos nos ensaios realizados estão apresentados na Tabela 8. O principal parâmetro a ser observado para que as leveduras sejam consideradas adequadas para utilização industrial é o fator de rendimento etanol - substrato ( $Y_{p/s}$ ). Pelos resultados apresentados, observou-se que os valores para este parâmetro variaram entre 0,316 a 0,442 g/g, resultados semelhantes aos obtidos por Vasconcelos (1987), que trabalhou com mosto de melão e obteve valores próximos aos obtidos industrialmente e em outros estudos, cujos valores desejados são superiores a 0,46 g/g (BORGES, 2008). O máximo teórico é 0,511g/g.

Borges (2008), trabalhando com fermentação etanólica em processo em batelada alimentada, com mosto de melão e com tempo de enchimento de 3 horas, obteve  $Y_{p/s}$  próximos de 0,41 g/g. Concluiu que, à medida que a concentração de sacarose aumentou, os valores de conversão em etanol permaneceram constantes, fato este que não aconteceu nos nossos experimentos, pois, à medida que a concentração de açúcares do mosto aumentou, o fator  $Y_{p/s}$  decresceu proporcionalmente. Isto ocorreu em todos os ensaios realizados, independentemente do tipo de mosto utilizado. Nossos resultados confirmam os obtidos na rotina industrial de produção de etanol carburante, cujos mostos são relativamente diluídos, para se evitar efeitos de inibição por excesso de substrato.

O fator de rendimento de etanol em relação à quantidade de células ( $Y_{p/x}$ ) apresentou comportamento contrário, pelas razões apresentadas anteriormente.

O fator de rendimento substrato - células ( $Y_{x/s}$ ), variou numa faixa ampla, entre 0,073 e 0,160 (g/g), refletindo a diversidade de condições na preparação dos mostos utilizados nos ensaios experimentais. Este fator é importante, pois indica a conversão de células a partir de determinada quantidade de substrato utilizado no processo fermentativo. Vasconcelos (1987), trabalhando com mosto de melão, batelada alimentada com vazão variável de alimentação e 16 perfis de enchimento, obteve  $Y_{x/s}$  médio de 0,039g/g.

Em experimentos realizados por Borges (2008), os valores de  $Y_{x/s}$  variaram de forma decrescente à medida que se aumentou a concentração de sacarose, variando de 0,007 a 0,020 g/g.

## 5.8 AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS METABOLIZADOS PARA TODOS OS TIPOS DE MOSTOS

A Tabela 9 apresenta os valores encontrados para Açúcares Redutores Totais Metabolizados, para os diferentes tipos de mosto utilizados neste trabalho.

Comparando-se os 3 tipos de mosto, pode ser observado que, no mosto de caldo, o percentual de açúcares metabolizados é maior, em relação aos de melaço e misto, por estes últimos apresentarem composições menos favorável ao processo de fermentação etanólica. De modo geral, o percentual de ART metabolizados foi decrescente na ordem mosto de caldo:mosto misto:mosto de melaço, independentemente das concentrações de substrato utilizadas. Vasconcelos (1987) obteve valores que variaram entre 94,12 e 98,27% de Açúcares Redutores Totais metabolizados.

O percentual de ART metabolizados na fase de enchimento apresentou maior percentual para fermentações com mosto de melaço (64,00 e 93,04%), valores mais elevados que os obtidos por Vasconcelos (1987), que trabalhou com mosto de melaço (65,32 a 83,98%), visto que, em nosso estudo, trabalhou-se com mostos mais diluídos. Este fato evidencia a grande importância desta fase no processo de fermentação etanólica. Como o melaço é menos adequado que o caldo de cana como matéria-prima para a produção de etanol, o perfil de enchimento adotado provavelmente influenciou na eliminação ou redução de possíveis efeitos de inibição por excesso de substrato.

Ressalte-se que a fase de enchimento é de extrema importância para o desempenho do processo de fermentação etanólica, conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação. É nesta fase que se produz a maior quantidade de etanol em relação ao total produzido, conforme pode ser observado na Tabela 9. Esta variação (50,21 a 86,90%) reflete a diversidade de concentrações de açúcares nos mostos utilizados. Esta conclusão também foi obtida por Vasconcelos (1987), encontrando valores entre 66,21 e 88,17% de etanol produzido durante a fase de enchimento da fermentação etanólica.

*Resultados e Discussão*

Tabela 9 - Açúcares Redutores Totais metabolizados e Produção de Etanol até o final da fase de enchimento para os 3 tipos de mosto utilizados neste estudo.

<b>Tipo de Mosto</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>ART Residual (g/L)</b>	<b>ARTmffe %</b>	<b>ARTm %</b>	<b>Effe (%)</b>
<b>Melaço</b>	86,80	2,48	93,04	96,19	83,46
	100,57	2,82	89,22	96,26	74,70
	114,25	3,15	85,53	96,32	64,81
	125,86	3,40	79,07	96,40	65,90
	135,84	3,72	78,77	96,35	63,08
	151,60	4,10	77,41	96,39	63,66
	167,00	4,48	71,98	96,42	60,38
	181,85	5,20	70,19	96,19	59,80
	197,45	6,05	66,57	95,91	55,65
213,78	6,85	64,00	95,73	50,21	
<b>Caldo</b>	95,86	0,68	91,37	99,05	84,81
	112,90	1,04	85,83	98,77	74,45
	127,70	1,45	81,82	98,49	68,21
	141,24	2,02	75,83	98,10	65,73
	153,72	2,45	74,00	97,87	61,41
<b>20% Melaço + 80% Caldo</b>	95,20	1,05	90,44	98,53	86,83
	123,30	1,23	80,48	98,67	73,68
	148,00	2,36	74,32	97,87	63,30
<b>40% Melaço + 60% Caldo</b>	92,25	1,12	91,06	98,41	86,9
	119,10	1,87	79,85	97,91	69,93
	142,20	2,42	70,81	97,73	66,91
<b>50% Melaço + 50% Caldo</b>	90,80	1,23	90,97	98,20	84,72
	118,00	2,10	79,45	97,63	68,81
	139,40	2,55	73,39	97,56	67,40
<b>60% Melaço + 40% Caldo</b>	88,90	1,30	90,25	98,05	83,65
	115,43	2,10	82,15	97,57	71,53
	139,50	2,84	69,22	97,28	65,22
<b>80% Melaço + 20% Caldo</b>	83,50	1,88	89,94	97,15	82,15
	113,68	2,42	80,29	97,16	71,68
	138,48	3,10	70,18	97,01	64,94

Fonte: (Autora, 2011)

**ARTm = Percentual de Açúcares Redutores Totais Metabolizados;****ARTmffe = Percentual de ART metabolizados no final da fase de enchimento;****Effe (%) = Percentual de etanol produzido no final da fase de enchimento, em relação ao total produzido (%);**

### 5.9 pH e ACIDEZ ENCONTRADAS PARA TODOS OS TIPOS DE MOSTO

Os valores do pH e da acidez sulfúrica apresentados para os três tipos de mosto e os respectivos meios fermentados (vinhos), assim como durante a fermentação, estão apresentados nas Figuras 57 a 70. Os ensaios experimentais foram conduzidos sem a realização da correção da acidez dos mostos. Nos 3 tipos de mosto utilizados, o perfil foi semelhante, ou seja, pH dos mostos aproximadamente constantes e o pH dos vinhos menores que o dos mostos, haja vista que, durante a fermentação, alguns ácidos são formados, fazendo com que o pH diminua durante o processo fermentativo. O que pode ser verificado nos 3 tipos de mosto é que, com o aumento da concentração de ART nos mostos, os valores finais do pH tendem a ser menores, provavelmente pelo aumento da pressão osmótica do meio, favorecendo o aparecimento de ácidos durante o processo fermentativo.

Os mostos de caldo de cana apresentaram pH entre 4,7 e 5,0, faixa essa favorável ao desenvolvimento das leveduras alcoólicas, com valores para o meio fermentado de 3,5 a 4,3.

Os mostos de melação apresentaram pH de 5,6 a 5,8. No vinho, foram obtidos pH de 4,2 a 5,0 semelhantes aos experimentos realizados por Oliveira (2007), que encontrou valores entre 4 e 5. Em fermentações em processo descontínuo conduzidas por Williams e Munnecke (1981), concluíram que na faixa de pH de 3 a 7, as taxas de produção de etanol não são alteradas. Por outro lado, Jones *et al.*, (1981), citando outros autores, afirmam que a levedura auto-regula o pH interno entre 5,8 e 6,2, desde que o externo (do meio em fermentação) esteja entre 3,0 e 7,0.

A acidez sulfúrica apresentou comportamento contrário ao do pH, comportamento já esperado, justificando-se pelas razões apresentadas quando da discussão dos valores de pH. Verifica-se que, com o aumento da concentração de ART dos mostos, há aumento considerável da acidez, porém de forma muito menor que para a acidez dos vinhos correspondentes.

A acidez sulfúrica é um dado importante na condução da fermentação etanólica. Segundo a literatura, valores ideais são de 2,5 a 3,0 g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/litro de meio em fermentação ou meio fermentado, não devendo ultrapassar 5g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (STUPIELLO *et al.*, 1973).

Em nosso estudo, foram obtidos, para mosto de melação, valores que variaram entre 0,73 e 1,16 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, porém nos vinhos os resultados foram substancialmente superiores, entre 2,0 e 5,31 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Para o mosto de caldo, a acidez variou entre 0,75 e 1,24 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, para os respectivos vinhos, de 2,06 a 4,02 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

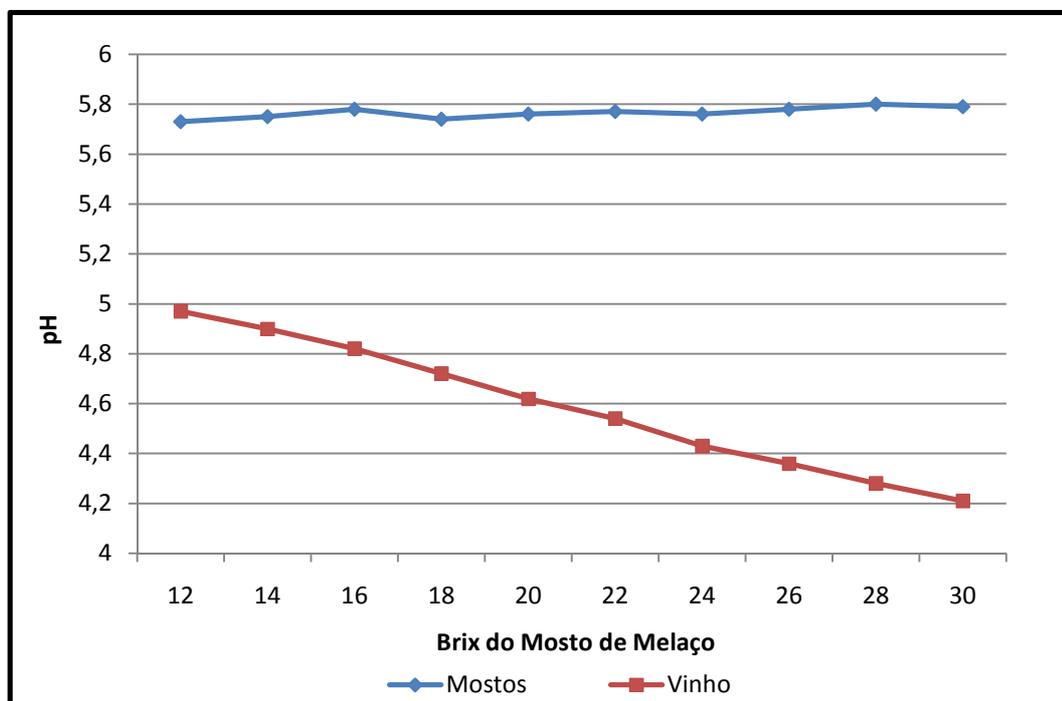
## *Resultados e Discussão*

Com relação ao mosto misto, a acidez variou de 0,68 a 1,05 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e os vinhos apresentaram valores de 1,85 a 4,16 g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Estes resultados indicam que, provavelmente, a avaliação da acidez, nas condições citadas, merece discussão para avaliação da metodologia analítica ou dos limites citados, pois, nos nossos ensaios, apesar de ultrapassarem os limites citados na literatura, aparentemente não comprometeu o desempenho da fermentação etanólica.

Segundo Ripoli; Ripoli, (2004) a acidez é uma característica que pode ser atribuída para estabelecer o padrão de qualidade do caldo de cana e deve apresentar valor inferior a 0,8g de ácido sulfúrico por litro de caldo.

A acidez sulfúrica apresentou comportamento contrário ao do pH, o que já era esperado, ou seja, a concentração de açúcares vai aumentando, a tendência é que aconteça um aumento consecutivo da acidez com uma paralela diminuição do pH.

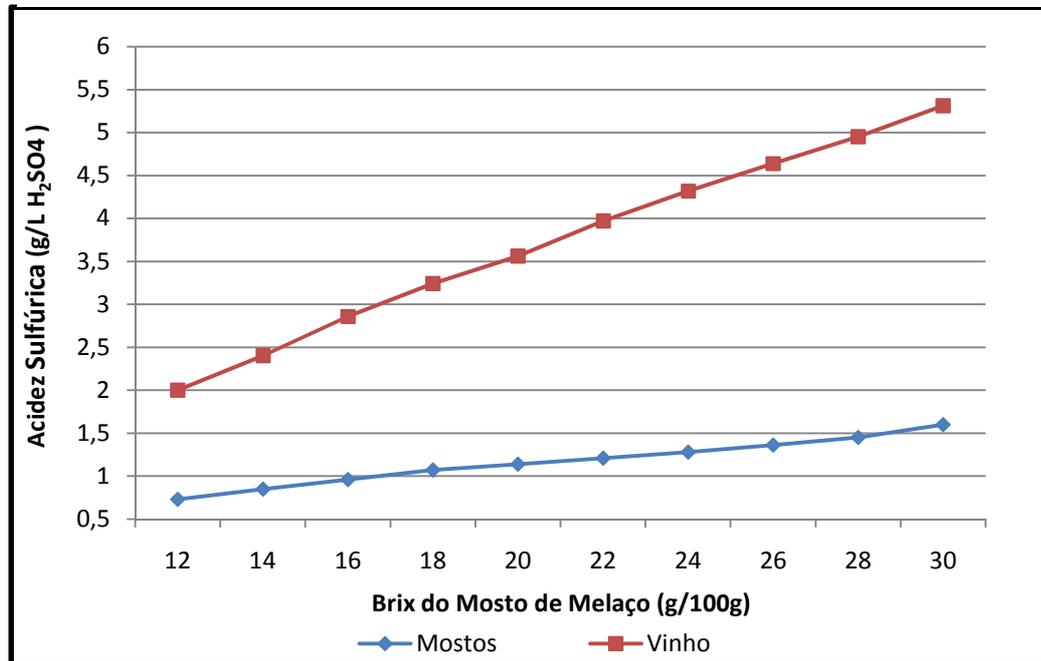
Figura 57 - pH do mosto e do vinho de ensaios com melão.



Fonte: (Autora, 2011)

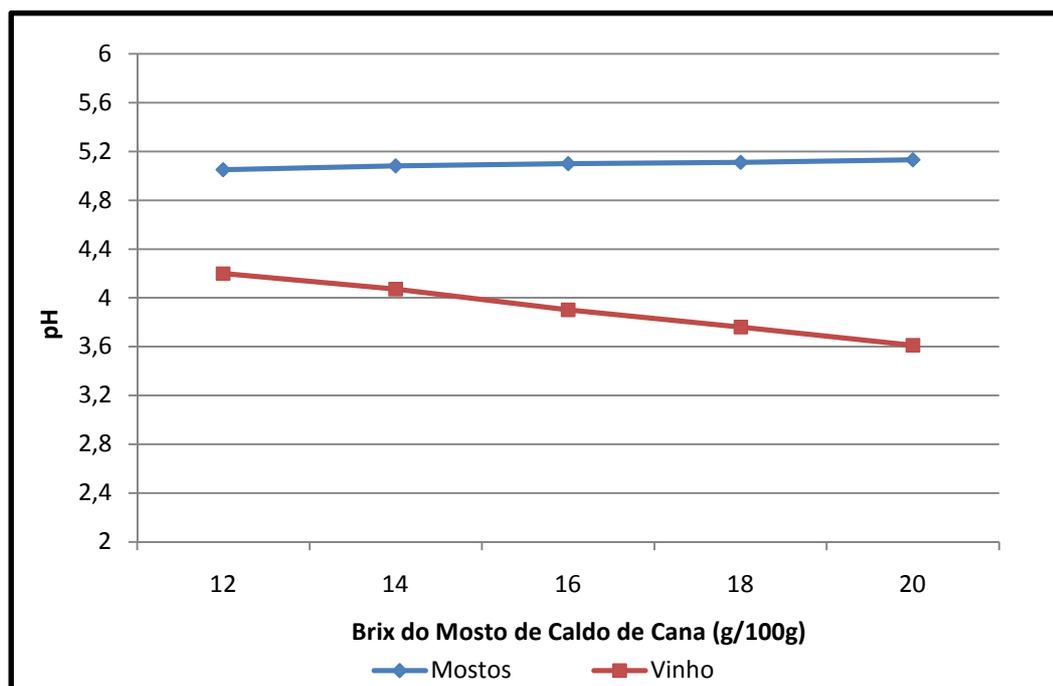
*Resultados e Discussão*

Figura 58 - Acidez Sulfúrica no mosto e vinho para os ensaios realizados com mosto de melaço.



Fonte: (Autora, 2011)

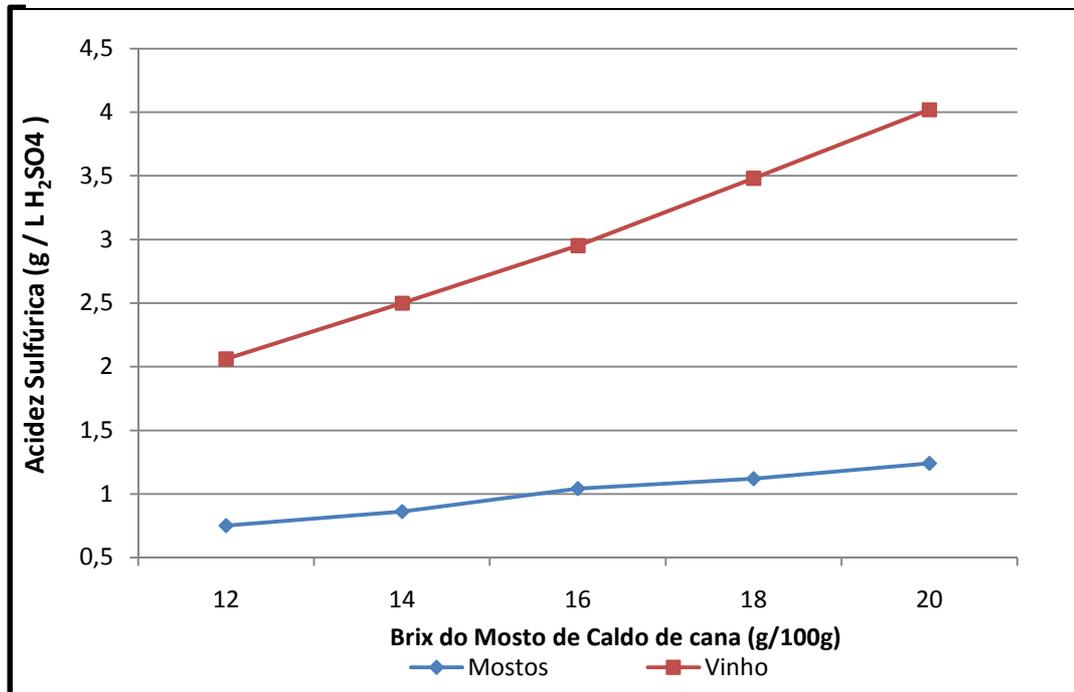
Figura 59 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com caldo de cana.



Fonte: (Autora, 2011)

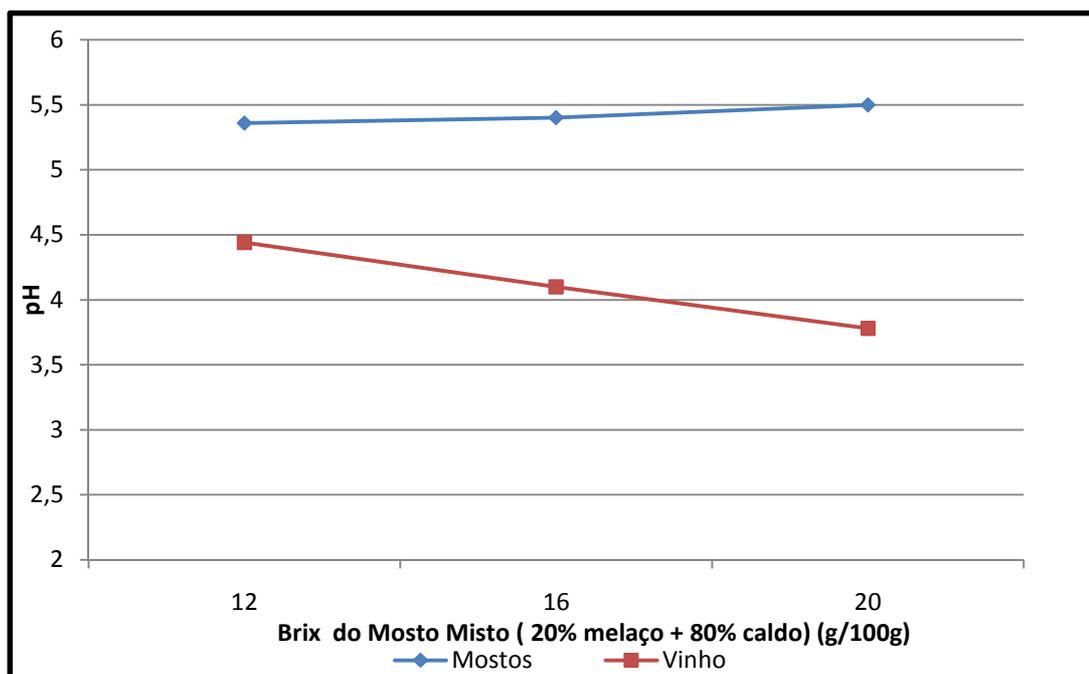
*Resultados e Discussão*

Figura 60 - Acidez Sulfúrica no mosto e vinho para os ensaios realizados com mosto de caldo de cana.



Fonte: (Autora, 2011)

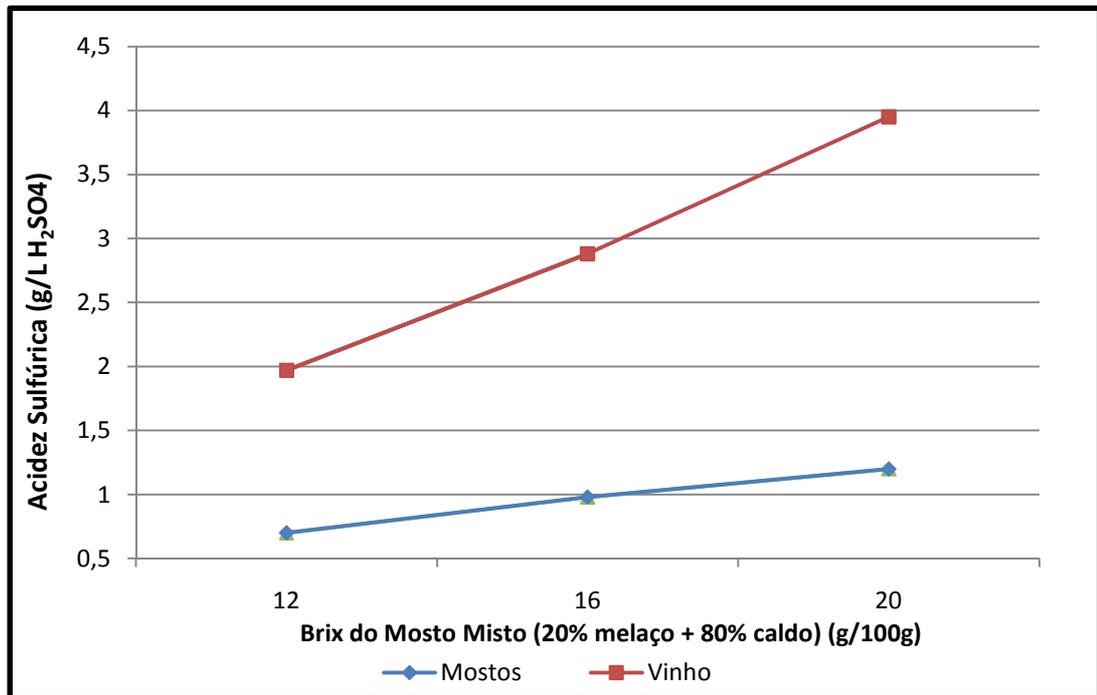
Figura 61 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (20% melão + 80% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

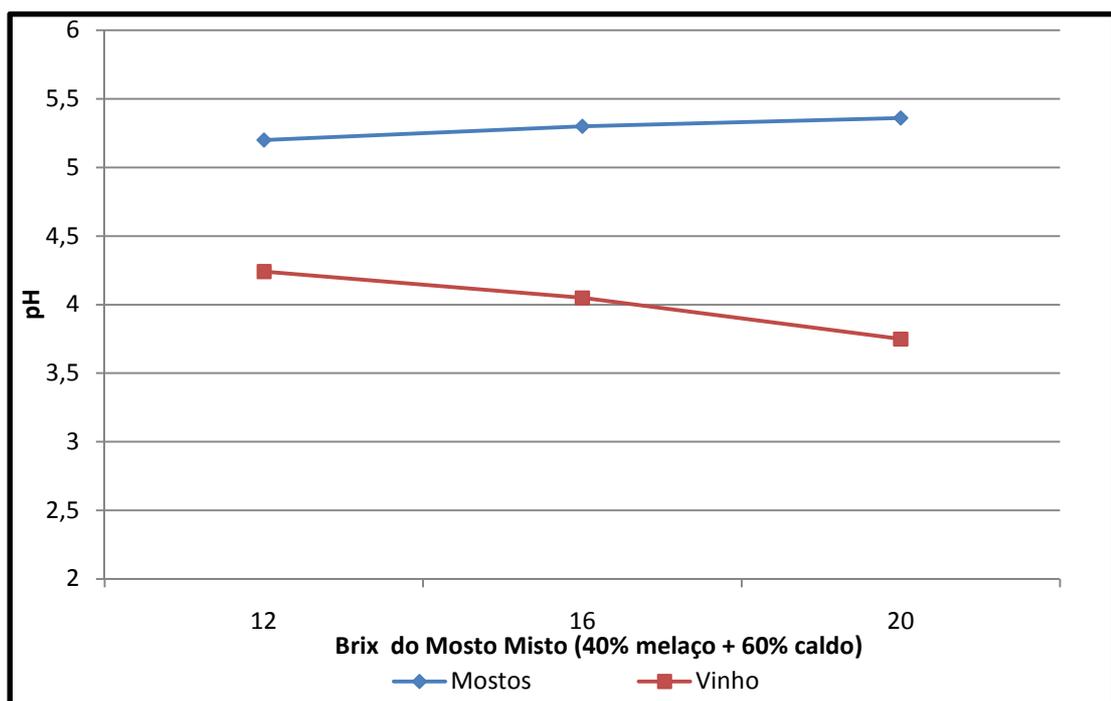
*Resultados e Discussão*

Figura 62 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (20% melão + 80% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

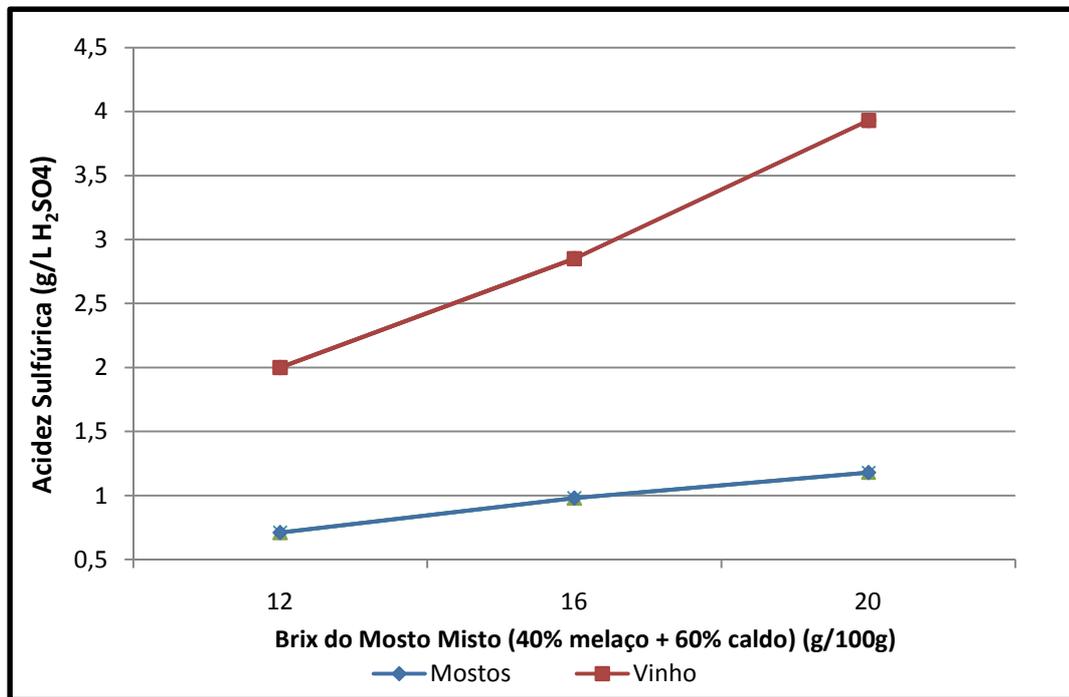
Figura 63 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (40% melão + 60% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

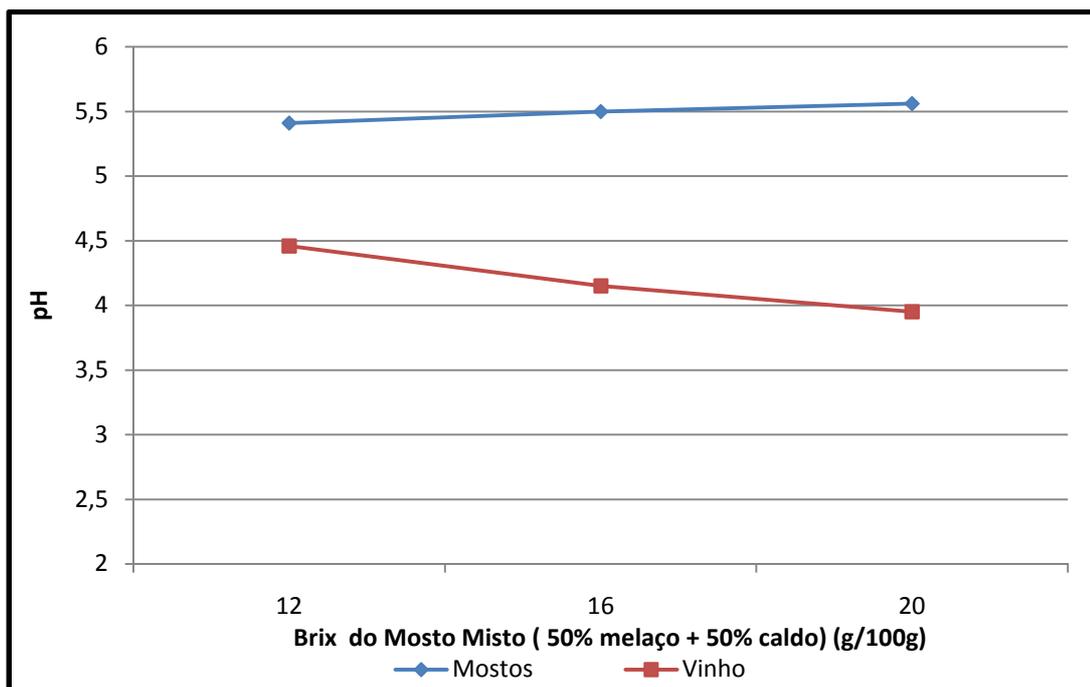
*Resultados e Discussão*

Figura 64 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (40% melão + 60% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

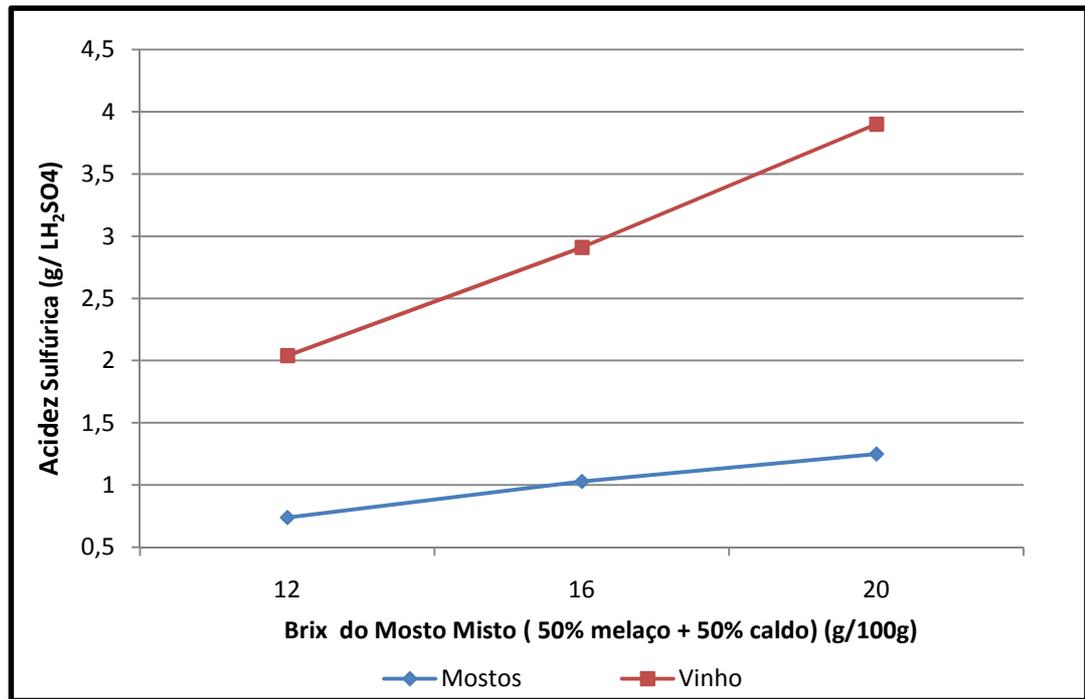
Figura 65 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (50% melão + 50% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

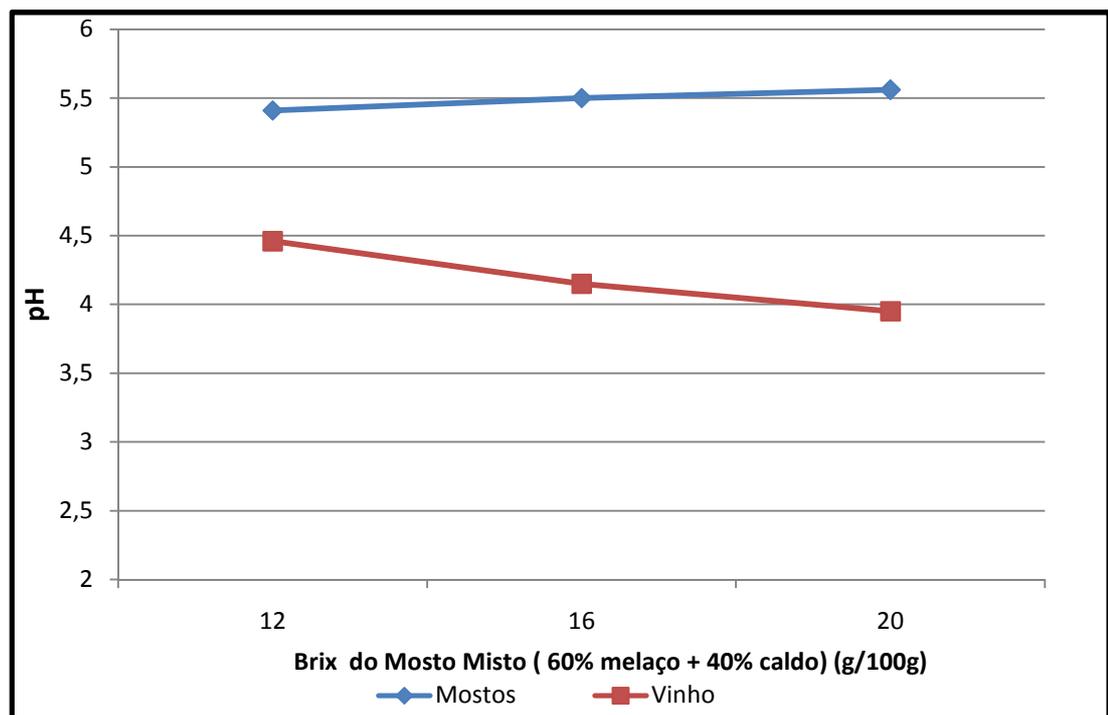
*Resultados e Discussão*

Figura 66 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (50% melão + 50% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

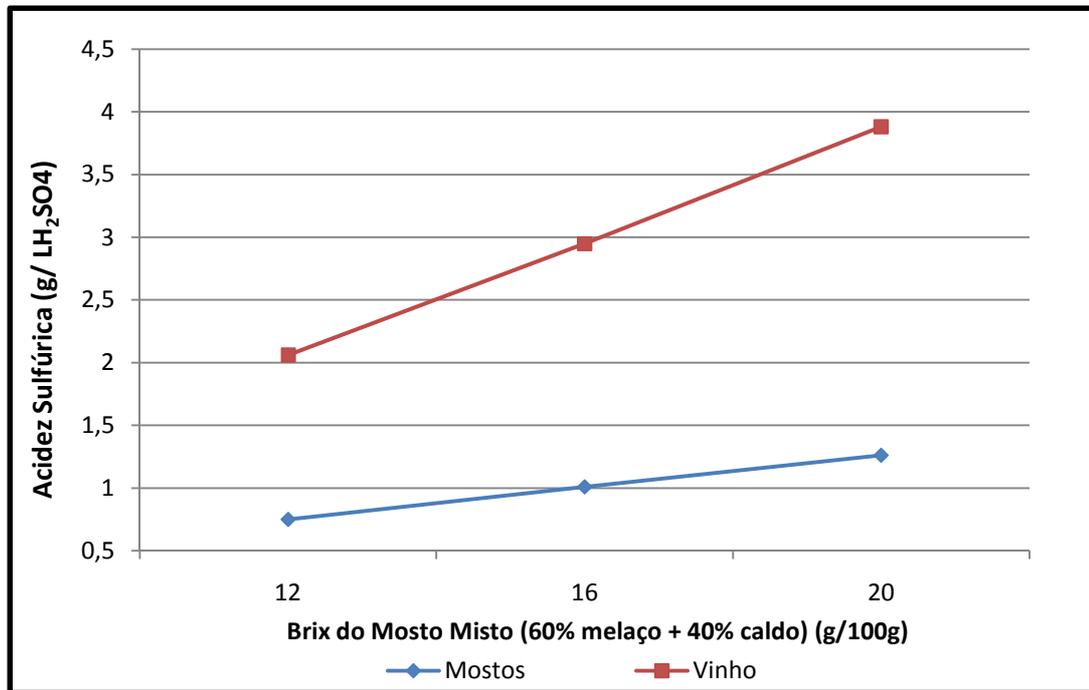
Figura 67 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (60% melão + 40% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

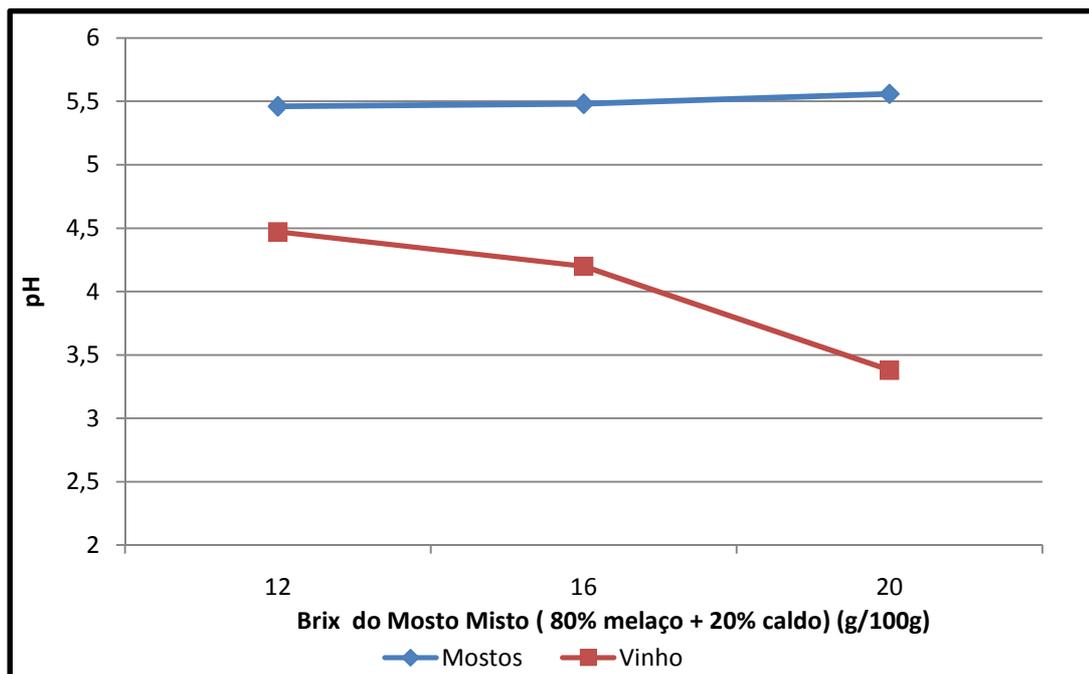
*Resultados e Discussão*

Figura 68 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (60% melação + 40% caldo).



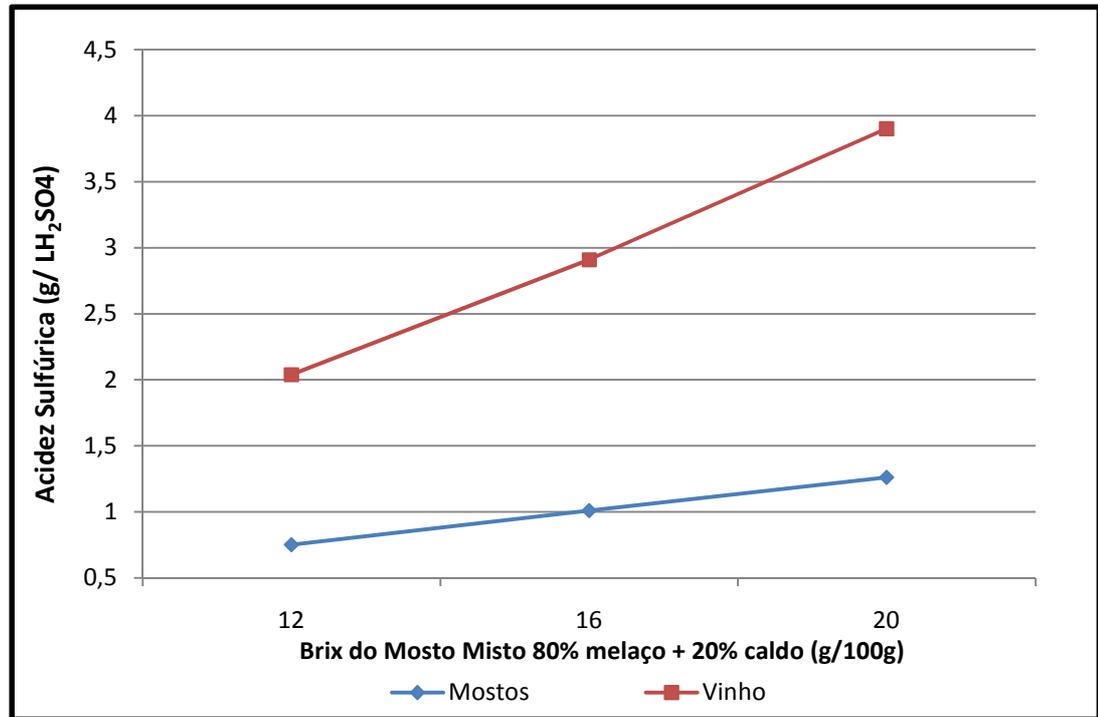
Fonte: (Autora, 2011)

Figura 69 - pH do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (80% melação + 20% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

Figura 70 - Acidez Sulfúrica do mosto e vinho dos ensaios realizados com mosto misto (80% melaço + 20% caldo).



Fonte: (Autora, 2011)

---

## 6 CONCLUSÃO

As conclusões obtidas neste estudo podem ser resumidas como segue:

- ✓ O processo de fermentação conduzido batelada alimentada com vazão variável de alimentação pode ser indicado para melhorar as condições de fermentação durante a fase de enchimento do fermentador;
- ✓ Nas condições deste estudo foi possível a definição dos Brix (e dos ART) mais adequados para a preparação dos mostos de melaço, caldo e misto (caldo + melaço), que conduzam ao melhor desempenho da fermentação etanólica conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação. Os valores indicados neste estudo, como ponto de partida para utilização industrial, são Brix de 16 a 18 (ART 114,25 a 125,86 g/L), de 16 a 18 °Brix (ART de 127,70 a 141,24 g/L) e próximo de 16 °Brix (ART de 113,68 g/L a 123,30), respectivamente para mostos de melaço, caldo e misto (caldo + melaço);
- ✓ O maior percentual de açúcares redutores totais metabolizados foi obtido para o mosto de caldo de cana com valores variando entre 97,87 e 99,05%, seguido de mosto misto (97,01 a 98,67%) e mosto de melaço (95,73 e 96,42%). Na fase de enchimento, foram obtidos 64,00 a 93,04%, 74,00 a 91,37% e 69,22 e 91,06 % para os mostos de melaço, caldo e misto, respectivamente.

As eficiência fermentativa e produtividade em etanol apresentaram valores decrescentes na ordem mosto de caldo:mosto misto:mosto de melaço. As eficiências de fermentação foram: 77,17 a 90,30%, para mosto de caldo, 74,4 a 86,51% para mosto misto e 61,84 a 84,06 para mosto de melaço. As produtividades obtidas foram 6,85 a 8,21g/L.h, para mosto de caldo, 5,90 a 7,77g/L.h para mosto misto e 4,04 a 6,72g/L.h para mosto de melaço.

- ✓ As faixas de concentração definidas como as melhores para os 3 tipos de mosto devem ser entendidas como sugestões de ponto de partida para a otimização das condições de condução da fermentação etanólica industrial, inclusive com o estudo de outros perfis de enchimento com variações de vazão com menor espaço de tempo e, também, com outros tempos de enchimento.

## **7 SUGESTÕES**

Para a continuação deste estudo, algumas sugestões são apresentadas a seguir, como forma de otimização das condições de alimentação de mosto e de condução da fermentação etanólica conduzida em batelada alimentada com vazão variável de alimentação:

- Realização de ensaios com concentrações de ART nos 3 tipos de mosto entre as faixas indicadas, porém com menores variações nas concentrações de açúcares;
- Avaliação perfis de vazão de alimentação de mosto, com maiores e menores tempos de enchimento, assim como variações de vazão em menor espaço de tempo.

**REFERÊNCIAS**

AMORIM, H. V. Fermentação Alcoólica – Ciência e Tecnologia. 2005, 448p. Fermentec, Piracicaba-SP.

AMORIM, H. V. Introdução à Bioquímica da Fermentação Alcoólica. Araras, IAA-PLANALSUCAR (COSUL), 90p,1977

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. Biotanol – Brasil, 30 anos na vanguarda. Multi-Ciência: Revista Interdisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp, v. 7, p. 1-16, 2006. Disponível em: <[http://www.multiciencia.unicamp.br/intro\\_07.htm](http://www.multiciencia.unicamp.br/intro_07.htm)>. Acesso em: 26 de junho. 2011.

ATALA, D.I.P., Fermentação alcoólica com alta densidade celular: modelagem cinética, convalidação de parâmetros e otimização do processo. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2000. 135p.

BANAT, I. M., *et al.*, Review: Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: Part I – Yeast in general. World J. Microbiol. Biotechnol., v. 14, n. 6, p. 809-821, 1998.

BASSO, L. C., *et al.*, Dominância das leveduras contaminantes sobre as linhagens industriais avaliadas pela técnica da cariotipagem. In: Congresso Nacional da STAB, 5., 1993, Águas de São Pedro. Anais. Águas de São Pedro: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 1993. p. 45-49.

BASSO *et al.* In. LIMA, U. A.; BASSO, L.C. e AMORIM. Biotecnologia Industrial – Vol.3: Processos Fermentativos e Enzimáticos. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo,2001. p.82.

BORGES, P. C. S., Otimização dinâmica da fermentação alcoólica no processo em batelada alimentada. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2008.

BORZANI, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. Biotecnologia – Engenharia Bioquímica, v. 3. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1975. 301 p.

BORZANI, W., *et al.*, Fundamentos, vol. 1 da série Biotecnologia Industrial, Editora Edgard Blucher Lt, 2001.

BROWN, S. W., OLIVER, S. G., The Effect of Temperature on the Ethanol Tolerance of the Yeast, *Saccharomyces uvarum*, Biotechnology Letters, 4(4):269-274, 1982.

---

*Referências Bibliográficas*

CALDAS, C. S., Manual de Análises Seleccionadas para a Indústria Sucroalcooleira. Sindaçúcar-AL, CRPAAA, STAB Leste, Maceió, 423p,1998.

CARVALHO, J. C. M. de., Influência de vazão exponencialmente decrescente do mosto de melação de cana-de-açúcar no processo descontínuo alimentado de fermentação Alcoólica. (Mestrado em Tecnologia de Fermentação) – Universidade de São Paulo - SP, 1989.

CARVALHO, J. C. M. de; SATO, S., Fermentação descontínua alimentada. In: LIMA, *et al.*, Biotecnologia Industrial – V.02, p.205-218, 2001.

CLARK, D.S; BLANCH, H.W. Biochemical Engineering. Marcel Dekker, Inc. New York, 1996. p 2005-2008 and 618-620.

COSTA, A.C.; MELEIRO, L.A.C.; MACIEL FILHO, R., Non-linear predictiv an extractive alcoholic fermentation process. Process Biochemistry. 2002. v. 38. p 743-750.

ÇAYLAK, B.; SUKAN, V., Comparison of different production processes for bioethanol. Turk. J. Chem., v. 22, n. 4, p. 351-359, 1996.

DUARTE, J. C.; LOURENÇO, V.; RIVEIRO, B. Continuous culture of flocculent yeast for ethanol production. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, Biotechnology Department, Portugal, 2006.

FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação Continua. In: Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica. Fermentação contínua. São Paulo-SP, v. 2, p. 223-246, 2001.

FINGUERUT, J. Estado da arte da fermentação alcoólica nas usinas cooperadas. Rev. Politécnica, n. 209, p. 42-45, 1993.

GOLDBERG, I.; ER-EL, Z., The chemostat – an efficient technique for medium optimization. Proc. Biochem.,v. 16, p. 2-8, 1981.

GOMES, J. F. F., Produção de colmos e exportação de macronutrientes primários por cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Piracicaba, 65p. Dissertação (Mestrado). ESALQ/USP, 2003.

GRUBB, C. F.; MAWSON, A. J., Effects of elevated solute concentrations on the fermentation of lactose by *Kluyveromyces marxianus* Y-113. Biotechnol. Lett., v.15, n. 6, p. 621-626, 1993.

ICUMSA - International Comission for Uniform Methods of Sugar Analysis. Methods Book. Colney, 225p, 1994.

JIMENEZ, J.; VAN UDEN. N., Ethanol toxicity and ethanol tolerance in yeasts. Biotechnology and Bioengineering, 1985. v. 27, p 1596-1598.

*Referências Bibliográficas*

- JONES, R.P.; PAMMENT, P. F. E.; GRENFELD, P. F., Alcohol Fermentation by Yeasts – the Effect of Environmental and Other Variables. *Process Biochemistry*, p. 42-49, 1981.
- KEIM, C. R., Technology and economics of fermentation alcohol - an update. *Enzyme Microbial. Technol.*, v. 5, n. 2, p. 103-114, 1983.
- KUHN, H.; FRIEDRICH, U.; FIECHTER, A., Defined minimal medium for a thermophilic *Bacillus* sp. developed by a chemostat pulse and shift technique. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 6, p. 341-349, 1979.
- LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A., *Álcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira*. Curitiba: Editora UFPR, 248p. 2002.
- LIMA, U. A., BASSO, L. C., AMORIM, H. V., Produção de Etanol. In: LIMA, *et al.*, (Coord.). *Biotecnologia Industrial. Processos Fermentativos e Enzimáticos*. Editora Edgard Blucher LTDA, São Paulo, v.3, cap. 1, p.1-43, 2001.
- MAIORELLA, B., et al., By-Product Inhibition Effects on Ethanolic Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 25:103,1983.
- MARTINI, G.; MIGNONE, C.; ERTOLA, R., Studies in beta-galactosidase production in transient operation cultures. *Biotechnol. Lett.*, v. 11, n. 8, p. 545-550, 1989.
- McNEIL, B.; HARVEY, L. M., *Fermentation: A Practical Approach*. 1 ed. IRL PRESS at Oxford University Press, 1990.
- MCELROY, W.D. *Fisiologia e Bioquímica da Célula*. Edgard Blucher LTDA, São Paulo, 144p, 1988.
- MUTTON, M. J.R.; MUTTON, M.A., Aguardente. In: Venturini, W.G. (Coord.). *Tecnologia de Bebidas*. Editora Edgard Blucher LTDA, São Paulo, Cap. 20, p.485-524, 2005.
- NOBREGA, I. C. da C., *Apostila de tecnologia de produtos Agropecuários - Tecnologia Pós-colheita da cana-de-açúcar*. Universidade Federal Rural de Pernambuco - Departamento de tecnologia rural, Recife-PE, 2009.
- OLIVEIRA, L.P. de, Seleção e aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada. Tese (Doutor em Biotecnologia). Universidade Federal da Amazônia. Manaus, 2006.
- OLIVEIRA, C. T. de, Isolamento, seleção e comportamento cinético de leveduras produtoras de etanol da indústria sucroalcooleira do Estado de Alagoas. Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas, 2007.
- PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C., Diferentes métodos de concentração de proteína de levedura e suas implicações nas propriedades funcionais. *Bol. SBCTA*, v. 36, n. 2, p. 83-94, 2002.

*Referências Bibliográficas*

PHISALAPHONG, M., *et al.*, Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 2005. v 28. p. 36-43.

PMGCA - PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR. –catálogo de variedades, 2003.

REVIEW, on fed-batch fermentations: Mathematical Modelling, Parameters and Control. Disponível em <<http://userpages.umbc.edu/~gferre1/outline.html>>. Acesso em: 12 Nov. 2007.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C., Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente. Piracicaba: Barros e Marques Ed. Eletrônica, 2004. 302 p.

ROS, P. B., Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, 2004

SAITO, J. R., Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2000.

SANTOS, A.M. dos; Fermentação Alcoólica com Levedura Imobilizada em Colmos de Bambu e em Fibra de Coco. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Alagoas, AL. 2008.

SCHMIDELL, W.; FACCIOTTI, M. C. R., Studies on glucoamylase production in a bioreactor operating with polysaccharide pulses in the reactor. *Biotechnologia*, v. 4, n.2, p.43-47, 1994.

SCHMIDEL, W. , FACCIOTTI, M.C.R., Biorreatores e Processos Fermentativos. In: SCHMIDELL, W., *et al.*, *Biotechnologia Industrial*, Edgard Blücher Ltda., V.2, p.179-190, 2001

SHULER, M. L.; KARGI, F., *Bioprocess Engineering – Basic Concepts, Anaerobic Process – Ethanol Production*, 17 (2): 515 – 518, 2002.

SILVA, J. A., *et al.*, *Quim. Nova* 2006, 29, 695.

SIQUEIRA, M. A., Proposta de Otimização para Destilarias autônomas. *Stab Açúcar e Subprodutos*, p.33-38, maio/junho, 1993.

SKINNER, K. A., LEATHERS, T. D., Bacterial contaminants of fuel ethanol production, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, Vol 31, p.401–408, 2004.

SOUZA, R. R., Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2006.

STECKELBERG, C., Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas. 2001. 215p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

*Referências Bibliográficas*

STUPIELLO, J. P., MARINO, E. A., CELINSKI, R., Fermentação. Piracicaba: COPERSUCAR, 79 p., s.d. CELIN, 1973.

VASCONCELOS, J. N. de., Operação e Simulação do Processo de Fermentação Alcoólica em Batelada Alimentada com Vazão Variável de Alimentação. Rio de Janeiro, 229 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Bioquímicos) - Escola de Química da Universidade Federal do Rio Janeiro, 1987.

VASCONCELOS, J. N., VILELA FILHO, V., Estudo do comportamento cinético da fermentação alcoólica industrial conduzida pelo processo descontínuo. STAB, Novembro-Dezembro, 1988.

VASCONCELOS, J. N. de., Fermentação Alcoólica com Leveduras Imobilizadas em Colmos de Cana-de-Açúcar. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química da Universidade Federal do Rio Janeiro, 1998.

VASCONCELOS, J.N., Avaliação da condução da fermentação alcoólica em batelada alimentada. STAB, Novembro-Dezembro, 1999.

VASCONCELOS, J. N. de., Manual de Aulas Práticas. Laboratório de Derivados da Cana-de-Açúcar, NPT/CTEC/UFAL, 35p,2001.

VASCONCELOS, J.N., Fermentação Etanólica. In: SANTOS, F., BORÉM, A., CALDAS, C.,Cana-de-Açúcar - Bioenergia, Açúcar e Álcool. Editora UFV, Minas Gerais, 2010.

VIEGAS, M. C., Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características flocculantes. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. 150p., 2003.

ZARPELON, Fermentação Contínua para Produção de Álcool, STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos. Piracicaba, p.23-28, mar-abr 1992.

WHEALS, A.E., *et al.*, Fuel ethanol after 25 years, Elsevier Science Ltd., v.17, p. 482-486, 1999.

WILLIAMS, D., MUNNECKE, D. M., The Production of ethanol by Immobilized yeast Cells. Biotechnology and Bioengineering, v.23, n.8, p. 1813-1825, 1981.

<http://www.pmgca.dbv.cca.ufscar.br/InfoPublica/infopublica.php3>  
(acessado em 04 agosto.2010)

## APÊNDICE

Apêndice 1 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (G/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	4,40	4,53			76,00	
<b>MOSTO</b>	11,90	5,73	0,73	86,80		
<b>1h</b>	6,12	5,51	0,94	25,41	42,51	9,02
<b>2h</b>	5,62	5,05	1,31	13,31	28,25	16,04
<b>3h</b>	4,70	4,98	1,82	6,04	21,00	22,45
<b>4h</b>	4,23	4,97	2,00	2,48	23,55	26,90

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 2 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 14g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,50	4,65			76,64	
<b>MOSTO</b>	13,86	5,75	0,85	100,57		
<b>1h</b>	8,05	5,60	0,95	31,08	41,52	10,12
<b>2h</b>	6,55	5,08	1,35	16,42	29,94	17,52
<b>3h</b>	5,75	4,98	1,98	10,84	22,70	22,41
<b>4h</b>	5,30	4,95	2,21	5,87	25,95	26,82
<b>5h</b>	4,75	4,90	2,40	2,82	27,11	30,00

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 3 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,67			76,85	
<b>MOSTO</b>	15,81	5,78	0,96	114,25		
<b>1h</b>	8,32	5,60	1,22	40,00	41,00	11,10
<b>2h</b>	7,42	5,19	1,63	27,54	30,26	17,24
<b>3h</b>	6,62	4,98	1,91	16,53	21,68	21,40
<b>4h</b>	6,00	5,00	2,30	9,00	24,74	25,54
<b>5h</b>	5,65	4,91	2,64	5,65	27,66	29,15
<b>5h e 40 min</b>	5,32	4,82	2,86	3,15	29,45	33,02

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 4 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 18g/100g

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,30	4,54			76,64	
<b>MOSTO</b>	17,68	5,74	1,07	125,83		
<b>1h</b>	10,30	5,62	1,57	56,26	40,32	11,19
<b>2h</b>	9,23	5,51	1,95	38,00	29,14	18,00
<b>3h</b>	8,00	5,32	2,26	26,33	21,16	23,25
<b>4h</b>	6,82	5,21	2,74	17,00	24,00	27,08
<b>5h</b>	6,20	5,00	2,90	9,68	27,60	30,21
<b>6h</b>	6,00	4,80	3,10	4,85	29,96	33,00
<b>6h e 20min</b>	5,81	4,72	3,24	3,40	31,30	35,28

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 5 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,72			76,64	
<b>MOSTO</b>	19,66	5,76	1,14	135,84		
<b>1h</b>	10,88	5,60	1,68	65,84	40,31	12,52
<b>2h</b>	9,68	5,51	2,08	43,74	29,50	18,75
<b>3h</b>	8,42	5,35	2,41	28,84	20,75	23,15
<b>4h</b>	7,44	5,27	2,77	19,63	23,60	27,34
<b>5h</b>	6,84	4,90	3,10	11,12	26,12	30,85
<b>6h</b>	6,50	4,74	3,30	6,00	30,00	34,00
<b>6h e 45min</b>	6,21	4,62	3,56	3,72	32,04	36,70

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 6 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 22g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,00	4,68			7,44	
<b>MOSTO</b>	21,66	5,77	1,21	151,60		
<b>1h</b>	12,62	5,62	1,63	70,11	39,92	13,00
<b>2h</b>	11,60	5,50	1,96	49,25	28,34	19,36
<b>3h</b>	10,51	5,31	2,45	34,25	21,90	24,86
<b>4h</b>	9,40	5,14	2,76	22,65	24,20	29,45
<b>5h</b>	8,62	5,07	3,04	14,92	27,00	32,60
<b>6h</b>	7,45	4,68	3,38	9,56	30,11	35,00
<b>7h</b>	7,10	4,60	3,66	5,60	33,00	37,00
<b>7h e 20min</b>	6,68	4,54	3,97	4,10	34,58	39,05

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 7 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melação com Brix de 24 g/100g

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	4,00	4,68			75,45	
<b>MOSTO</b>	23,34	5,76	1,28	167,00		
<b>1h</b>	13,62	5,60	1,70	76,00	39,12	13,56
<b>2h</b>	12,70	5,41	2,02	59,00	27,55	20,00
<b>3h</b>	12,00	5,27	2,43	46,80	21,55	25,00
<b>4h</b>	10,63	5,05	2,87	35,60	24,80	29,62
<b>5h</b>	8,75	4,95	3,26	26,00	28,50	33,35
<b>6h</b>	8,00	4,71	3,71	17,00	31,00	36,47
<b>7h</b>	7,51	4,52	4,05	10,25	33,98	39,17
<b>8h</b>	7,00	4,43	4,32	4,48	36,15	41,40

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 8. Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melação com Brix de 26g/100g

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	3,90	4,69			75,85	
<b>MOSTO</b>	25,60	5,78	1,36	181,85		
<b>1h</b>	14,96	5,55	1,80	86,21	39,50	13,70
<b>2h</b>	13,56	5,34	2,29	68,03	27,90	20,48
<b>3h</b>	12,20	5,21	2,60	54,21	21,16	26,04
<b>4h</b>	11,10	5,07	2,95	42,00	24,75	30,00
<b>5h</b>	10,14	5,00	3,31	30,55	27,55	34,15
<b>6h</b>	9,42	4,87	3,76	22,30	29,54	37,00
<b>7h</b>	8,65	4,62	4,10	16,40	32,00	39,05
<b>8h</b>	8,10	4,42	4,31	10,60	33,93	41,10
<b>9h</b>	7,89	4,36	4,64	5,20	35,53	43,55

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 9. Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 28g/100g

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	4,00	4,72			76,26	
<b>MOSTO</b>	27,70	5,80	1,45	197,45		
<b>1h</b>	15,96	5,62	1,85	96,21	40,31	13,80
<b>2h</b>	14,20	5,41	2,37	78,11	27,55	19,84
<b>3h</b>	13,10	5,30	2,70	66,00	20,75	25,50
<b>4h</b>	12,00	5,14	2,98	54,60	23,14	29,80
<b>5h</b>	10,80	5,02	3,28	44,40	25,97	33,40
<b>6h</b>	10,20	4,95	3,62	35,00	29,33	36,14
<b>7h</b>	9,50	4,82	3,93	26,08	31,74	39,24
<b>8h</b>	9,11	4,71	4,36	18,30	34,00	41,35
<b>9h</b>	8,60	4,50	4,63	12,23	36,80	43,20
<b>10h</b>	7,8	4,28	4,95	6,05	40,15	45,82

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 10 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de melão com Brix de 30g/100g

	° Brix	pH	Acidez Sulfúrica (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	4,30	4,68			75,45	
<b>MOSTO</b>	29,50	5,79	1,60	213,78		
<b>1h</b>	17,50	5,60	1,92	102,00	39,12	14,02
<b>2h</b>	16,17	5,41	2,33	88,00	28,35	19,41
<b>3h</b>	15,00	5,23	2,67	77,00	21,16	24,35
<b>4h</b>	13,64	5,10	3,00	66,50	24,10	29,25
<b>5h</b>	12,80	4,95	3,38	56,14	27,00	33,00
<b>6h</b>	12,00	4,85	3,81	47,00	29,44	36,65
<b>7h</b>	11,00	4,70	4,02	38,15	32,00	39,74
<b>8h</b>	10,40	4,54	4,47	29,20	34,56	41,68
<b>9h</b>	10,00	4,42	4,78	21,40	36,84	43,00
<b>10h</b>	9,70	4,37	5,01	15,16	39,00	45,05
<b>11h</b>	9,10	4,32	5,19	10,60	41,16	47,00
<b>12h</b>	8,00	4,20	5,31	6,85	43,00	48,50

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 11 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de caldo de cana com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INÓCULO</b>	4,10	4,50			74,88	
<b>MOSTO</b>	11,50	5,05	0,75	95,86		
<b>1h</b>	4,10	4,62	1,16	35,13	39,93	11,85
<b>2h</b>	3,35	4,50	1,43	18,65	28,36	20,92
<b>3h</b>	3,00	4,52	1,79	8,27	20,33	27,86
<b>4h</b>	1,50	4,20	2,06	0,68	23,98	32,85

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 12 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de caldo de cana com Brix de 14g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,10	4,62			75,84	
<b>MOSTO</b>	13,85	5,10	0,86	112,90		
<b>1h</b>	6,10	4,74	1,28	43,34	39,12	12,68
<b>2h</b>	5,40	4,61	1,51	28,15	27,54	20,70
<b>3h</b>	4,80	4,37	1,92	16,00	21,18	28,14
<b>4h</b>	2,75	4,30	2,21	7,40	24,38	34,00
<b>4h e 45 min</b>	1,70	4,07	2,50	1,04	26,74	37,80

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 13 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de caldo de cana com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,10	4,50			77,44	
<b>MOSTO</b>	15,90	5,08	1,04	127,70		
<b>1h</b>	6,70	4,60	1,35	57,07	37,92	13,32
<b>2h</b>	6,35	4,30	1,78	39,00	27,91	20,71
<b>3h</b>	4,75	4,21	2,11	23,21	20,37	27,15
<b>4h</b>	3,60	4,05	2,43	11,78	23,58	31,14
<b>5h</b>	2,50	3,94	2,70	3,24	27,00	35,42
<b>5h e 20min</b>	1,70	3,90	2,95	1,45	28,42	39,80

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 14 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de caldo de cana com Brix de 18g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,15	4,62			75,89	
<b>MOSTO</b>	17,6	5,11	1,12	141,24		
<b>1h</b>	7,55	4,83	1,58	65,91	38,44	14,00
<b>2h</b>	8,5	4,62	2,00	49,00	26,78	21,15
<b>3h</b>	7,4	4,41	2,40	34,14	20,77	28,00
<b>4h</b>	5,75	4,30	2,81	21,07	23,57	34,20
<b>5h</b>	4,00	3,90	3,18	10,80	26,12	38,36
<b>6h</b>	2,35	3,76	3,48	2,02	29,00	42,60

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 15 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto de caldo de cana com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,65			77,00	
<b>MOSTO</b>	19,60	5,13	1,24	153,72		
<b>1h</b>	7,80	4,85	1,62	76,90	37,11	14,67
<b>2h</b>	8,30	4,71	1,97	53,80	27,68	21,14
<b>3h</b>	8,75	4,50	2,44	40,08	20,74	27,33
<b>4h</b>	6,35	4,21	2,8	29,11	23,15	33,00
<b>5h</b>	4,60	4,12	3,35	19,30	26,08	38,05
<b>6h</b>	3,20	3,92	3,72	10,50	29,11	41,00
<b>6h e 20min</b>	2,30	3,61	4,02	2,45	31,04	44,50

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 16 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (20% melão + 80% caldo) com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,10	4,71			78,62	
<b>MOSTO</b>	11,85	5,18	0,70	95,20		
<b>1h</b>	6,60	5,00	1,17	33,80	40,37	11,20
<b>2h</b>	4,60	4,71	1,40	19,00	28,05	20,52
<b>3h</b>	3,20	4,40	1,71	9,10	21,93	27,00
<b>4h</b>	2,20	4,16	1,97	1,05	25,00	31,10

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 17 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (20% melão + 80% caldo) com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,13	4,48			77,86	
<b>MOSTO</b>	15,90	5,30	0,98	123,30		
<b>1h</b>	7,85	5,14	1,30	53,90	37,41	13,70
<b>2h</b>	6,52	5,00	1,83	37,26	27,52	21,65
<b>3h</b>	5,12	4,82	2,20	24,07	22,00	28,00
<b>4h</b>	4,10	4,41	2,47	11,80	24,68	32,35
<b>5h</b>	3,50	4,20	2,61	5,02	28,67	36,45
<b>5h e 20 min</b>	2,80	4,00	2,88	1,23	30,41	38,00

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 18 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (20% melão + 80% caldo) com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,70			78,41	
<b>MOSTO</b>	19,78	5,32	1,20	148,00		
<b>1h</b>	9,00	5,00	1,68	69,20	40,27	13,50
<b>2h</b>	7,42	4,82	2,17	52,60	27,94	20,33
<b>3h</b>	6,23	4,50	2,58	38,00	21,55	26,90
<b>4h</b>	5,20	4,32	3,00	24,10	25,00	32,74
<b>5h</b>	4,35	4,11	3,30	12,74	28,32	37,30
<b>6h</b>	3,84	3,95	3,62	5,80	32,28	41,00
<b>6h e 20min</b>	3,40	3,75	3,95	2,36	33,74	42,50

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 19 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (40% melão + 60% caldo) com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,15	4,55			76,22	
<b>MOSTO</b>	12,00	5,20	0,71	92,25		
<b>1h</b>	5,50	4,50	1,14	29,45	39,89	10,12
<b>2h</b>	4,50	4,40	1,48	16,71	28,27	19,60
<b>3h</b>	3,20	4,31	1,75	8,25	20,36	26,00
<b>4h</b>	2,30	4,24	2,00	1,10	24,33	29,92

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 20 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (40% melão + 60% caldo) com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,12	4,60			78,14	
<b>MOSTO</b>	15,90	5,30	0,98	119,10		
<b>1h</b>	8,00	5,14	1,37	53,20	36,89	11,22
<b>2h</b>	6,70	5,00	1,78	38,00	27,63	19,00
<b>3h</b>	5,20	4,82	2,03	24,00	21,03	25,00
<b>4h</b>	4,40	4,32	2,36	11,42	24,16	30,00
<b>5h</b>	4,00	4,14	2,63	5,00	27,86	34,10
<b>5h e 20 min</b>	3,50	4,05	2,85	1,87	29,02	35,75

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 21 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (40% melão + 60% caldo) com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,61			77,00	
<b>MOSTO</b>	19,70	5,36	1,18	142,20		
<b>1h</b>	10,50	5,24	1,52	75,80	40,02	13,00
<b>2h</b>	9,40	5,10	2,01	58,25	27,56	20,13
<b>3h</b>	7,30	4,85	2,57	41,51	21,66	27,00
<b>4h</b>	6,10	4,51	3,03	26,00	24,75	32,04
<b>5h</b>	5,60	4,25	3,37	12,80	28,16	36,00
<b>6h</b>	4,90	4,00	3,60	6,25	31,23	39,06
<b>6h e 20 min</b>	4,70	3,75	3,93	2,42	32,87	40,35

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 22 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (50% melão + 50% caldo) com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,50			76,67	
<b>MOSTO</b>	11,82	5,36	0,74	90,80		
<b>1h</b>	6,10	5,15	1,20	30,40	39,95	10,00
<b>2h</b>	4,00	4,70	1,63	18,25	27,14	18,06
<b>3h</b>	3,20	4,50	1,80	8,20	21,18	24,84
<b>4h</b>	2,70	4,44	2,04	1,23	23,88	29,32

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 23 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (50% melão + 50% caldo) com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,40	4,50			77,05	
<b>MOSTO</b>	15,70	5,40	1,03	118,00		
<b>1h</b>	7,70	5,28	1,56	65,70	40,31	11,20
<b>2h</b>	6,00	5,00	1,84	45,25	26,34	18,41
<b>3h</b>	5,00	4,88	2,10	24,25	21,58	23,81
<b>4h</b>	4,20	4,62	2,41	11,41	23,87	28,34
<b>5h</b>	3,68	4,30	2,71	5,00	26,79	32,00
<b>5h e 20min</b>	3,20	4,10	2,91	2,10	28,48	34,60

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 24 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (50% melão + 50% caldo) com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,65			78,25	
<b>MOSTO</b>	19,88	5,50	1,25	139,40		
<b>1h</b>	10,00	5,20	1,62	71,30	40,31	12,70
<b>2h</b>	8,70	5,04	1,93	53,25	27,93	20,00
<b>3h</b>	7,50	4,82	2,30	37,10	21,56	26,50
<b>4h</b>	5,90	4,63	2,78	23,07	24,88	31,00
<b>5h</b>	5,10	4,30	3,20	12,62	27,97	34,12
<b>6h</b>	4,30	4,00	3,62	5,54	30,55	38,10
<b>6h e 20 min</b>	4,00	3,78	3,90	2,55	31,8	39,32

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 25 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (60% melão + 40% caldo) com Brix de 12 g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,50	4,48			76,63	
<b>MOSTO</b>	12,00	5,41	0,72	88,90		
<b>1h</b>	6,54	5,20	1,07	32,74	39,51	9,68
<b>2h</b>	4,32	5,00	1,54	19,00	24,55	17,00
<b>3h</b>	3,30	4,80	1,80	8,67	21,14	23,12
<b>4h</b>	2,90	4,46	2,04	1,30	24,00	27,64

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 26 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (60% melão + 40% caldo) com Brix de 16 g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,15	4,74			76,68	
<b>MOSTO</b>	15,86	5,50	0,95	115,43		
<b>1h</b>	8,00	5,21	1,33	46,21	39,91	11,00
<b>2h</b>	7,00	5,04	1,76	31,90	27,93	18,46
<b>3h</b>	6,00	4,90	2,01	20,60	21,93	24,00
<b>4h</b>	4,90	4,70	2,28	11,00	23,97	28,85
<b>5h</b>	4,15	4,23	2,39	5,36	27,00	32,42
<b>5h e 20min</b>	3,62	4,15	2,44	2,10	28,65	33,55

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 27 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (60% melão + 40% caldo) com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,30	4,62			77,260	
<b>MOSTO</b>	19,90	5,56	1,17	139,50		
<b>1h</b>	11,20	5,30	1,60	75,45	38,24	12,00
<b>2h</b>	10,00	5,11	2,00	58,00	26,41	19,57
<b>3h</b>	9,20	4,85	2,44	42,94	20,78	25,34
<b>4h</b>	7,30	4,68	2,87	28,11	24,00	30,14
<b>5h</b>	6,50	4,35	3,21	14,50	27,00	34,42
<b>6h</b>	5,00	4,12	3,60	5,80	30,40	37,98
<b>6h e 30min</b>	4,50	3,95	3,98	2,84	32,25	38,85

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 28 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (80% melação + 20% caldo) com Brix de 12g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,12	4,46			75,880	
<b>MOSTO</b>	11,50	5,46	0,72	88,00		
<b>1h</b>	5,30	5,32	1,18	31,12	39,64	9,5
<b>2h</b>	4,10	5,00	1,67	19,35	26,65	17,63
<b>3h</b>	3,50	4,84	1,83	8,85	22,04	22,51
<b>4h</b>	3,00	4,47	2,04	1,88	26,00	27,4

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 29 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (80% melação + 20% caldo) com Brix de 16g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,10	4,38			78,07	
<b>MOSTO</b>	15,92	5,48	1,03	113,68		
<b>1h</b>	7,50	5,30	1,41	50,10	38,22	10,80
<b>2h</b>	6,70	5,10	1,83	35,00	27,84	17,63
<b>3h</b>	6,00	4,85	2,17	22,41	21,87	24,00
<b>4h</b>	5,20	4,81	2,43	12,62	24,23	28,12
<b>5h</b>	4,50	4,56	2,65	5,12	27,88	32,00
<b>5h e 30min</b>	4,20	4,20	2,96	2,42	30,95	33,48

Fonte: (Autora, 2011)

Apêndice 30 - Resultados físico-químicos obtidos dos experimentos com mosto misto (80% melação + 20% caldo) com Brix de 20g/100g.

	°Brix	pH	Acidez Sulfúrica (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ART (g/L)	Células (g/L)	Teor de Etanol (g/L)
<b>INOCULO</b>	4,20	4,47			78,00	
<b>MOSTO</b>	19,60	5,56	1,27	138,48		
<b>1h</b>	8,50	5,24	1,59	79,06	40,08	12,20
<b>2h</b>	7,70	5,10	1,98	59,21	27,88	18,21
<b>3h</b>	7,00	5,02	2,37	41,30	21,46	24,84
<b>4h</b>	6,80	4,84	2,80	24,70	25,00	30,00
<b>5h</b>	6,00	4,52	3,22	14,30	27,94	34,10
<b>6h</b>	5,40	4,20	3,55	7,51	30,36	37,00
<b>6h e 30min</b>	5,00	3,88	3,93	3,10	32,50	38,25

Fonte: (Autora, 2011)