



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
MESTRADO PROFISSIONAL EM ENERGIA DA BIOMASSA



MÁGDA CORREIA DOS SANTOS

**CONDUÇÃO DE FERMENTAÇÃO ETANÓLICA CONTÍNUA
COM O USO DE ANTIBIÓTICO**

Rio Largo

2016

MÁGDA CORREIA DOS SANTOS

**CONDUÇÃO DE FERMENTAÇÃO ETANÓLICA CONTÍNUA
COM O USO DE ANTIBIÓTICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de pós-graduação Mestrado Profissional em Energia da Biomassa, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Energia da Biomassa.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Renata Maria Rosas Garcia Almeida.

Rio Largo

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janaina Xisto de Barros Lima

S237c Santos, Mágda Correia dos.
Condução de fermentação etanólica contínua com o uso de antibiótico /
Mágda Correia dos Santos. - 2016.
61f.: il.

Orientadora: Renata Maria Rosas Garcia Almeida.
Dissertação (Mestrado Profissional em Energia da Biomassa) —
Universidade Federal de Alagoas. Programa de Pós-Graduação em Energia da
Biomassa. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2016.

Bibliografia: f. 56 -61.

1. Etanol. 2. Processo fermentativo - Rendimento. 3. Fermentação etanólica.
I. Título .

CDU. 661.722

TERMO DE APROVAÇÃO

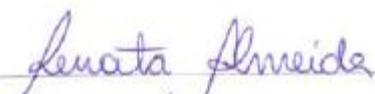
MÁGDA CORREIA DOS SANTOS

CONDUÇÃO DE FERMENTAÇÃO ETANÓLICA COM USO DE ANTIBIÓTICO

Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre Profissional em Energia da Biomassa, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

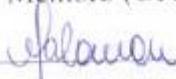
Aprovado em 05/09/2016


Prof.^a. Dr.^a. Renata Maria-Rosas Garcia Almeida

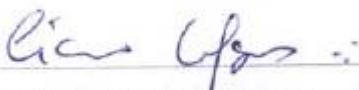
Orientadora (CTEC/UFAL)


Prof. Dr. Wagner Roberto de Oliveira Pimentel

Membro (UFAL)


Prof.^a. Dr.^a. Karina Ribeiro Salomon

Membro (UFAL)


Prof. Dr. Cicero Luiz Calazans de Lima

Membro (CECA-UFAL)

Rio Largo – AL

2016

Dedico esta dissertação a meus pais, José Correia e Dulcilene Emídio, meus irmãos, Margarete, Mastro (in memoriam) e Mádson, sempre presentes em minha vida. E, a meu esposo Daniel Fernandes pelo amor e apoio de sempre.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me dar saúde, coragem, disposição e me proporcionar todas as oportunidades de minha vida.

Ao Sr. Ebel de Albuquerque Toledo, gerente industrial da Usina Sumaúma, que permitiu que eu realizasse o mestrado.

A professora Renata Maria Rosas Garcia Almeida pela atenção e disponibilidade em me orientar nesse estudo.

Ao professor João Nunes de Vasconcelos pela atenção e orientação inicial.

A meu amigo Ivson de Almeida Costa, Engenheiro da Usina Sumaúma, que com paciência e humildade transmitiu muitos conhecimentos e suas experiências, importantes para o desenvolvimento desse estudo.

A todos os amigos de trabalho da Usina Sumaúma pelo apoio e carinho, em especial a técnica em química Mary Alves, que me ajudou a levantar muitos dados necessários ao estudo. E, ao Engenheiro de produção Juliano da Silva Toledo, mesmo distante me ajudou a compreender etapas da fermentação que o mesmo vivenciou.

Aos colegas de mestrado, pelo carinho, amizade, e muita troca de conhecimentos.

Aos professores do mestrado, pela atenção, compreensão e conhecimentos transmitidos.

E a todos que contribuíram de forma direta e indireta para conclusão deste trabalho.

Obrigada!

RESUMO

A fermentação etanólica é um processo onde os açúcares são convertidos em energia celular, produzindo etanol, CO₂ e calor. No processo, é necessário haver o controle bacteriano para propiciar melhores condições produtivas. Este controle é realizado principalmente pelo ácido sulfúrico, sendo o uso de antibióticos cada vez mais frequentes. Este estudo avaliou os resultados de uma condução de fermentação etanólica contínua com o uso apenas de antibióticos no tratamento do fermento. A partir da safra 2010/2011, o processo fermentativo da Usina Sumaúma foi analisado quanto à condição operacional da fermentação, viabilidade celular, custos com o uso de antibióticos e o rendimento (Litros de etanol por tonelada de melaço consumido). A análise da fermentação foi realizada através de dados analíticos e da avaliação da condição operacional do processo. Por se tratar de uma fermentação contínua, onde as condições de assepsia são limitadas, a condição operacional da fermentação em estudo, com duas linhas independentes de dornas, possibilitou melhor controle das possíveis fontes de contaminação, além de estabilidade de pH e acidez, uma vez que se alternava entre as linhas sempre que necessário. Já as análises fermentativas revelaram uma percentagem de viabilidade celular alta, proporcionada pela ação específica dos antibióticos sobre as bactérias, não afetando o metabolismo das leveduras. Com melhores condições microbiológicas das células e assepsia do processo, o rendimento, etanol produzido por mel consumido, manteve-se dentro dos padrões aceitáveis para uma fermentação a partir de melaço. Também foi verificado os custos com antibióticos, que revelaram menores valores quando implantado a dosagem intermitente, uma vez que o processo é contínuo e com reciclo de fermento. Contudo, constatou-se que é possível conduzir uma fermentação etanólica contínua com o uso apenas de antibióticos como agente antibacteriano.

Palavras-chave: Etanol. Processo fermentativo – Rendimento. Fermentação etanólica.

ABSTRACT

Ethanol production is a process where the sugars are converted into cellular energy, producing ethanol, CO₂ and heat. In the process, there needs to be bacterial control to provide better production conditions. This control is performed mainly by the sulfuric acid, and the use of increasingly frequent antibiotics. This study evaluated the results of continuous ethanol fermentation driving only with the use of antibiotics in the treatment of yeast. From the 2010/2011 harvest, the fermentation process of Sumaúma Industry was analyzed for the operating condition of fermentation, cell viability, costs with the use of antibiotics and the yield (Liters of ethanol consumed per tonne of molasses). The analysis of fermentation was performed by analytical data and evaluating the operating condition of the process. Because it is a continuous fermentation where aseptic conditions are limited, the operating condition of fermentation in the study, with two independent lines of vats, enabled better control of possible sources of contamination, and pH stability and acidity, since that alternated between the lines where required. Already fermentative analysis revealed a percentage of high cell viability, provided by the specific action of antibiotics on bacteria, not affecting the metabolism of yeast. With better microbiological conditions of cells and aseptic process, yield, ethanol produced by honey consumed, remained within acceptable standards for fermentation of molasses. It was also found costs antibiotics, which showed lower values when implanted intermittent dosing, once the process is continuous and yeast recycle. However, it was found that it is possible to conduct continuous ethanol fermentation with the use of antibiotics only as an antibacterial agent.

Keywords: Ethanol. Fermentative process – Yield. Ethanol fermentation.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 3.1 | Fábrica da USGA..... | 14 |
| Figura 3.2 | Fluxograma de uma unidade com destilaria anexa..... | 18 |
| Figura 3.3 | Dornas de fermentação..... | 19 |
| Figura 3.4 | Trocador de calor a placas..... | 20 |
| Figura 3.5 | Centrífugas de vinho..... | 21 |
| Figura 3.6 | Coluna de destilação..... | 21 |
| Figura 3.7 | Condensadores verticais abertos da Usina Sumaúma..... | 22 |
| Figura 3.8 | Estrutura da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 25 |
| Figura 3.9 | Reações da fermentação etanólica..... | 27 |
| Figura 3.10 | Esquema de fermentação por batelada do tipo Melle –Boinot..... | 30 |
| Figura 3.11 | Esquema simplificado de fermentação contínua..... | 31 |
| Figura 4.1 | Fluxograma operacional da fermentação..... | 41 |
| Figura 4.2 | Tanque de mel..... | 42 |
| Figura 4.3 | Balança e tanque estacionário de mel..... | 43 |
| Figura 4.4 | Diluidores de mel..... | 43 |
| Figura 4.5 | Dornas fechadas e dorna pulmão aberta..... | 44 |
| Figura 4.6 | Conexão em forma de S entre as dornas..... | 44 |
| Figura 4.7 | Fluxograma do processo fermentativo contínuo..... | 45 |
| Figura 4.8 | Tubulação de passagem de gases da fermentação entre as dornas..... | 46 |
| Figura 4.9 | Lavagem de gases da fermentação..... | 46 |
| Figura 4.10 | Centrífugas de vinho..... | 47 |
| Figura 4.11 | Pré-fermentador..... | 47 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 | OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 | Geral | 13 |
| 2.2 | Específicos | 13 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 3.1 | História do etanol | 14 |
| 3.2 | Proálcool | 15 |
| 3.3 | Principais matérias primas para obtenção de etanol | 16 |
| 3.3.1 | Etanol de milho | 16 |
| 3.3.2 | Etanol de cana-de-açúcar | 17 |
| 3.4 | Tecnologias de fabricação | 19 |
| 3.4.1 | Dornas | 19 |
| 3.4.2 | Trocador de calor | 20 |
| 3.4.3 | Centrífugas de fermento | 20 |
| 3.4.4 | Coluna de destilação | 21 |
| 3.4.5 | Condensadores | 22 |
| 3.5 | Preparação do mosto | 22 |
| 3.5.1 | Mosto de caldo de cana-de-açúcar | 23 |
| 3.5.2 | Mosto de melão | 23 |
| 3.6 | Leveduras | 25 |
| 3.7 | Fermentação etanólica | 26 |
| 3.7.1 | Fases da fermentação etanólica | 28 |
| 3.7.1.1 | Fermentação preliminar | 28 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 3.7.1.2 | Fermentação principal ou turbulenta | 28 |
| 3.7.1.3 | Fermentação complementar | 29 |
| 3.7.2 | Tipos de condução da fermentação | 29 |
| 3.7.2.1 | Fermentação em batelada | 29 |
| 3.7.2.2 | Fermentação contínua | 30 |
| 3.7.3 | Fatores que controlam a fermentação etanólica | 32 |
| 3.7.3.1 | Brix do mosto | 32 |
| 3.7.3.2 | Temperatura | 32 |
| 3.7.3.3 | Nutrientes | 33 |
| 3.7.3.4 | Agitação | 33 |
| 3.7.3.5 | pH | 34 |
| 3.8 | Contaminação bacteriana | 34 |
| 3.9 | Tratamento do fermento | 35 |
| 3.9.1 | Ácido sulfúrico | 36 |
| 3.9.2 | Antibiótico | 37 |
| 3.10 | Rendimento da fermentação etanólica | 38 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 39 |
| 4.1 | Local do experimento | 39 |
| 4.1.1 | Descrição da condição operacional do processo fermentativo | 39 |
| 4.1.1.1 | Melaço e preparo do mosto | 42 |
| 4.1.1.2 | Dornas de fermentação | 44 |
| 4.1.1.3 | Lavagem dos gases | 45 |
| 4.1.1.4 | Centrífugas de fermento | 46 |
| 4.1.1.5 | Pré-fermentador (PF) | 47 |
| 4.1.2 | Coleta de dados | 48 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.1.2.1 | Descrição analítica | 48 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 50 |
| 5.1 | Análise da condição operacional do processo fermentativo | 50 |
| 5.2 | Viabilidade celular das leveduras (%) | 51 |
| 5.3 | Custos com antibióticos | 52 |
| 5.4 | Rendimento (etanol produzido por melaço consumido) | 53 |
| 6 | CONCLUSÕES | 55 |
| | REFERÊNCIAS | 56 |

1 INTRODUÇÃO

O Etanol, álcool ou álcool etílico, de forma molecular C_2H_5OH , é uma substância orgânica obtida pela fermentação de açúcares. Esse processo é realizado pela ação de microrganismos anaeróbicos (leveduras), produzindo etanol, gás carbônico e energia (RASOVSKY, 1973).

O processo fermentativo a partir da cana pode ser realizado através do melaço, subproduto da produção de açúcar, do próprio caldo extraído nas moendas ou da mistura destes (AMORIM, 2005).

A fermentação etanólica é conduzida de forma contínua ou em batelada, com reciclo de fermento. Em ambos os casos, vários fatores afetam a eficiência de conversão dos açúcares em etanol, sendo necessário controle físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, nutrientes) e microbiológicos (concentração de fermento e contaminação bacteriana) (LIMA *et. al.*, 2001).

A *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada nas indústrias para produção de etanol. Durante o processo fermentativo, o tratamento da levedura, que visa à eliminação de células inativas e contaminantes para reciclo de células, é uma das etapas cruciais para o bom rendimento da fermentação (SCHMIDELL, 2001).

O tratamento do fermento com ácido sulfúrico é o principal método de controle das contaminações da fermentação. Esta lavagem ácida consiste em reduzir o pH do fermento, que também é diluído em água sob agitação constante (NAVES *et. al.*, 2010). Apesar de eficiência comprovada no tratamento do fermento, o ácido sulfúrico é agressivo as leveduras se expostas a pH muito baixo ou tempos de retenção elevados na cuba de tratamento (CEBALLOS-SCHIAVONE, 2009).

Os antibióticos, agentes quimioterapêuticos especiais, constitui uma das opções de tratamento do fermento. Estes passaram a ser largamente utilizados, principalmente os compostos a base de monensina, que agem de forma eficiente contra as bactérias Gram-positivas, contaminantes predominantes na fermentação etanólica (STROPPIA, 1998).

Considerando o efeito agressivo do ácido sulfúrico às leveduras, a característica corrosiva, ocasionando maiores cuidados com manutenção de equipamentos e, a segurança operacional, uma vez que se trata de um produto químico perigoso, a substituição do mesmo por antibióticos constitui um estudo importante para fins industriais.

Neste trabalho verifica-se o processo de fermentação contínua a partir de melaço utilizando apenas antibiótico no controle das contaminações. A partir da safra 2010/2011 da Usina Sumaúma, retirou-se completamente o ácido sulfúrico como agente antibacteriano no tratamento do fermento. Esta alteração proporcionou novas condições de processo, sendo os resultados obtidos expostos neste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar os resultados da condução do processo de fermentação etanólica contínua com o uso de antibióticos como agente antibacteriano.

2.2 Específicos

- Analisar a condição operacional do processo fermentativo;
- Observar a viabilidade das leveduras;
- Verificar os custos com antibióticos;
- Averiguar o rendimento (etanol produzido por melão consumido).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 História do etanol

O primeiro registro de uso prático de etanol se deu em 1925, quando a Estação Experimental de Combustíveis e Minérios, atual Instituto Nacional de Tecnologia, utilizou um automóvel adaptado para funcionar com álcool etílico hidratado, sendo realizados vários testes com o intuito de avaliar o uso do etanol em motores automotivos (INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA, 2012).

A Usina Serra Grande, localizada em São José da Laje – Alagoas foi à primeira do país a produzir etanol combustível em 1927. Motivada pela crise na indústria e agricultura devido à retração do mercado internacional do pós-guerra, lançou a USGA (Figura 3.1), combustível com 75% de etanol e 25% de éter etílico, como alternativa a substituição da gasolina. O empreendimento obteve êxito até os primeiros anos da década seguinte, quando fatores como desenvolvimento tecnológico, reequilíbrio no comércio internacional, melhores preços do petróleo e outros, tiraram a competitividade da solução álcool-motor da época (ENERGIAS RENOVÁVEIS, 2011).

Figura 3.1 – Fábrica da USGA.



Fonte: ENERGIAS RENOVÁVEIS, 2011.

Apesar das experiências bem sucedidas com o etanol, seu uso só passou a ser considerável a partir da década de 1970, quando devido à queda do açúcar e o aumento do preço do petróleo, criou-se a necessidade da utilização do álcool combustível na matriz

energética do país, conduzindo ao desenvolvimento do Programa Nacional do Álcool (Proálcool), em 1975.

3.2 Proálcool

O Programa Nacional do Álcool ou *Proálcool* foi criado em 14 de novembro de 1975 pelo decreto nº 76.593, com o objetivo de estimular a produção do álcool, visando à substituição do petróleo e seus derivados, em especial a gasolina. De acordo com o decreto, a produção do álcool oriundo da cana-de-açúcar, da mandioca ou de qualquer outro insumo deveria ser incentivada por meio da expansão da oferta de matérias-primas, com ênfase no aumento da produção agrícola, da modernização e ampliação das destilarias existentes e da instalação de novas unidades produtoras, anexas a usinas ou autônomas (BIODIESELBR, 2006).

De 1975 a 1979, constituiu-se a primeira fase do Programa, que visava à produção de álcool anidro para misturar à gasolina, montando destilarias autônomas e aproveitando as usinas de açúcar existentes para implantar destilarias anexas. Nessa fase, o Proálcool teve como meta a produção de 3 bilhões de litros de álcool na safra de 1979/80, obtendo 3.396,5 bilhões de litros, portanto, 13% superior à meta estabelecida (CAVALCANTI, 1992).

A partir da segunda crise do petróleo, 1978, iniciou-se a segunda fase do Proálcool, 1980 a 1986. O governo ampliou o programa, passando a produzir álcool hidratado para ser utilizado em automóveis com motores movidos a álcool, que passaram a ser fabricados naquela década a partir de um protocolo de intenções entre a indústria automobilística e o Governo Federal (CARVALHO E CARRIJO, 2007).

Organismos como o Conselho Nacional do Álcool (CNAL) e a Comissão Executiva Nacional do Álcool (CENAL) foram criados para agilizar o programa nesta segunda etapa, onde a produção alcooleira atingiu um pico de 12,3 bilhões de litros em 1986 superando em 15% a meta do Governo que era de 10,7 bilhões de litros/ano (BIODIESELBR, 2006).

Na última fase do Proálcool, de 1986 a 1989, caracterizou-se a estagnação do crescimento. O setor petrolífero mais uma vez se alterou, caindo o preço do barril de petróleo, desestimulando o programa, uma vez que para o Governo não compensava mais os gastos para manter preços, com subsídios e a garantia da compra dos estoques de álcool pela Petrobras (ANDRADE *et. al.*, 2009).

Os baixos preços pagos aos produtores de álcool a partir da queda dos preços internacionais do petróleo impediram a elevação da produção interna do produto. A crise de abastecimento de álcool do fim dos anos 80 afetou a credibilidade do Proálcool, que, juntamente com a redução de estímulos ao seu uso, provocou, nos anos seguintes, um significativo decréscimo da demanda e, conseqüentemente, das vendas de automóveis movidos por esse combustível (BIODIESELBR, 2006).

Entre 1995 e 2000, ocorreu a fase de redefinição. Os mercados de álcool combustível, tanto anidro quanto hidratado, encontravam-se liberados em todas as suas fases de produção, distribuição e revenda sendo os seus preços determinados pelas condições de oferta e procura.

Atualmente, com a tecnologia dos motores flex, introduzido no país em março de 2003, largamente aceito pelos consumidores, garante o consumo interno de álcool. A opção pelos automóveis bicombustíveis ultrapassa aos movidos a gasolina. Diante do nível elevado das cotações de petróleo no mercado internacional, a expectativa da indústria é que essa participação se amplie ainda mais (NOVACANA, 2015).

3.3 Principais matérias primas para obtenção de etanol

3.3.1 Etanol de milho

O milho é uma espécie pertencente à família das gramíneas, assim como a cana-de-açúcar. É o terceiro cereal mais cultivado no mundo, e considerado um dos principais componentes alimentares (CIB, 2006 e MAPA, 2007).

Através do processo de fotossíntese, o milho produz amido, e a partir da hidrólise do mesmo, as moléculas de açúcares são liberadas para serem transformadas em etanol pelo processo de fermentação. Durante o processo produtivo do etanol de milho, há também a produção de produtos alimentícios, tais como óleos e proteínas para ração animal. Estima-se, que para cada unidade de milho processada para esse biocombustível, um terço segue para o mercado de nutrição animal (MILANEZ *et. al.*, 2014).

As unidades produtoras de etanol americanas não são autossuficientes em termos energéticos, em comparação com as de etanol brasileiras. No processo produtivo enquanto o etanol de milho fornece entre 1,9 e 2,3 unidades de energia para cada unidade de energia fóssil consumida, o de cana pode disponibilizar até nove unidades de energia para cada

unidade de energia fóssil consumida (MILANEZ *et. al.*, 2014). Outro fator relevante é o custo médio de produção do etanol, enquanto no de cana se gasta R\$0,35 por litro, no de milho R\$0,82 por litro (BOSSO e MACHADO, 2006).

Apesar das desvantagens inerentes ao processo e matéria-prima, os Estados Unidos possui estratégia claramente disposta nos documentos da política do governo para alcançar a liderança mundial em etanol. Política essa motivada pelos preços e pelo esgotamento das reservas de petróleo, mas também como demonstração de preocupação com os problemas advindos da queima de combustíveis fósseis (BASTOS, 2007).

Com a crise energética mundial, a importância do milho cresceu muito em razão de programas como os do biodiesel e do etanol. Surge, assim, uma grande oportunidade para que o Brasil definitivamente ingresse como um grande país exportador desse cereal, considerando que os Estados Unidos, o maior exportador para o mercado internacional, irão consumir parte significativa de sua produção para a indústria do álcool. No ano de 2006 os EUA destinaram aproximadamente 54,6 milhões de toneladas de milho para a produção de etanol. Esse valor representou 20% do total de milho produzido naquele ano (MAPA, 2007).

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, este cereal tem papel importante na economia nacional, seja como componente na alimentação de aves, caprinos, ovinos, suínos e bovinos ou pela rotatividade de culturas, minimizando assim possíveis problemas decorrentes da monocultura. Dessa forma, contribui para a sustentabilidade dos diferentes sistemas de produção praticados no país e no mundo (FIESP, 2016).

3.3.2 Etanol de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta originária do continente Asiático, em sua forma natural é perene, mas no cultivo extensivo (fins industriais) é semi-perene. Essa gramínea pertencente ao gênero *Saccharum* não é exigente em termos de solo, porém apresenta maior produtividade quando cultivada em solos com boa aeração, boa drenagem e profundidade superior a um metro. A parte aérea da cana-de-açúcar é composta pelos colmos, onde se concentra a sacarose, e pelas pontas e palhas (CIB, 2009; MICHEL JUNIOR, 2010; PICOLI, 2007).

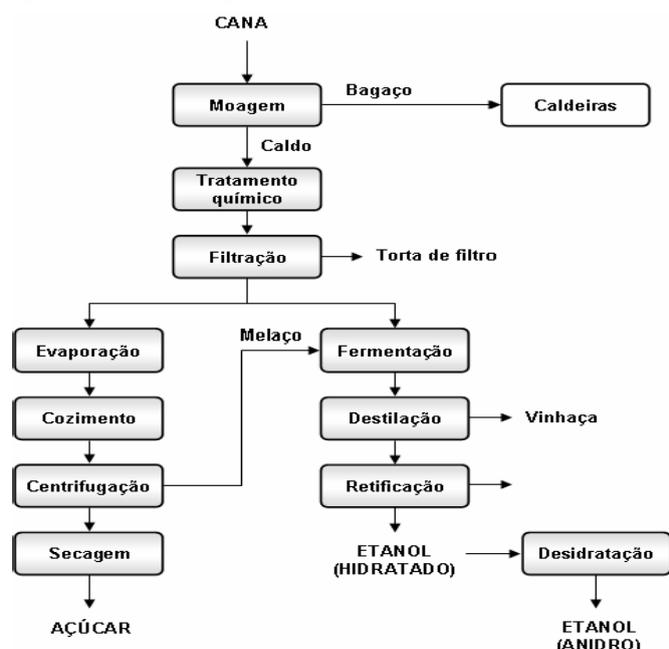
A produção e a utilização do etanol de cana no Brasil, desde 1975 constituem o mais importante programa de produção de combustível renovável e economicamente viável, implantado no mundo até os dias atuais. No ano de 2003 o país lançou o automóvel movido

tanto à gasolina quanto a etanol, *flex-fuel*. Nos anos de 2004, 2005 e 2007 esse tipo de veículo representou 21,6%, 61,7% e 90% do total de automóveis vendidos, respectivamente (SOUZA, 2013; ÚNICA, 2007; BNDES e CGEE, 2008).

A preocupação com os problemas ambientais, cada vez mais crescentes, tem sido um incentivo à produção de etanol, este combustível se torna uma alternativa para amenizar os problemas com a escassez dos combustíveis fósseis e problemas causados pela queima destes (PACHECO, 2011). A produção brasileira de etanol na safra 2013/2014 foi 28 bilhões de litros. Sendo produzido 16,2 bilhões de etanol hidratado e 11,8 bilhões de anidro (UDOP, 2014).

No Brasil é comum encontrar dois tipos de unidades produtoras de bioetanol, as destilarias anexas e autônomas. Enquanto as destilarias anexas são parte integrante da usina e recebem como matérias-primas melaço e o excedente de caldo da produção de açúcar, as destilarias autônomas possuem matéria-prima própria (MICHEL JUNIOR, 2010). Contudo, vale ressaltar que as unidades que operam com destilarias anexas, conseguem uma boa sinergia entre a produção de açúcar e etanol, uma vez que podem utilizar concomitantemente os equipamentos de extração (moendas ou difusores) e as utilidades industriais (Caldeiras, ETA's, Sistemas de Resfriamentos, ETE's) (BNDES e CGEE, 2008). A figura 3.2 apresenta o fluxograma de uma unidade com destilaria anexa.

Figura 3.2 - Fluxograma de uma unidade com destilaria anexa.



Fonte: BNDES e CGEE, 2008.

Durante o desenvolvimento histórico da produção e uso do bioetanol no Brasil, houve a enorme contribuição de técnicos e visionários dedicados. Ao mesmo tempo se estabelecia uma base legal e institucional, que permitiu ao etanol se tornar um importante combustível para a matriz energética do país (BNDES e CGEE, 2008).

3.4 Tecnologias de fabricação

3.4.1 Dornas

Dornas de fermentação são tanques cilíndricos geralmente construídos em aço carbono ou inox, com altura igual a uma vez e meio o diâmetro e o fundo cônico, suas capacidades volumétricas são variáveis de acordo as particularidades dos processos. Esses equipamentos podem ser fechados ou abertos e são acoplados sistemas de refrigeração, nos mesmos (ZOOCA, 2007; SEJIMO, 2011).

As dornas abertas contribuem para perdas em média de 1,5 % em etanol, assim recomenda-se utilizar dornas fechadas (Figura 3.3), onde os gases são coletados e conduzidos para uma coluna de recuperação do etanol arrastado pelo CO₂ (SEJIMO, 2011).

Os sistemas de refrigeração se fazem necessários devido ao alto desprendimento de energia sob a forma calor pela reação de fermentação. Esses podem ser serpentina de resfriamento ou trocadores de calor a placas (ZOOCA, 2007).

Figura 3.3 – Dornas de fermentação.



Fonte: Autora (2016).

3.4.2 Trocador de calor

O trocador de calor é um equipamento utilizado para refrigeração e/ou aquecimento de diversos tipos de fluidos. Na indústria alcooleira, o trocador de calor a placas (Figura 3.4) é largamente utilizado para resfriar o vinho contido nas dornas de fermentação, através do fluxo de água por um lado do conjunto de placas metálicas e vinho do outro, proporcionando desta forma, a troca térmica necessária (GUT e PINTO, 2001).

Figura 3.4 – Trocador de calor a placas.



Fonte: Autora (2016).

3.4.3 Centrífugas de fermento

As centrífugas (Figura 3.5) são os equipamentos responsáveis por separar o fermento do vinho. Essa separação é realizada através da força centrífuga, que desloca as partículas de maior densidade (fermento) para a parte inferior do equipamento, e as de menor densidade ficam na parte superior, chamado vinho delevurado (ZOCCA, 2007).

Figura 3.5 – Centrifugas de vinho.

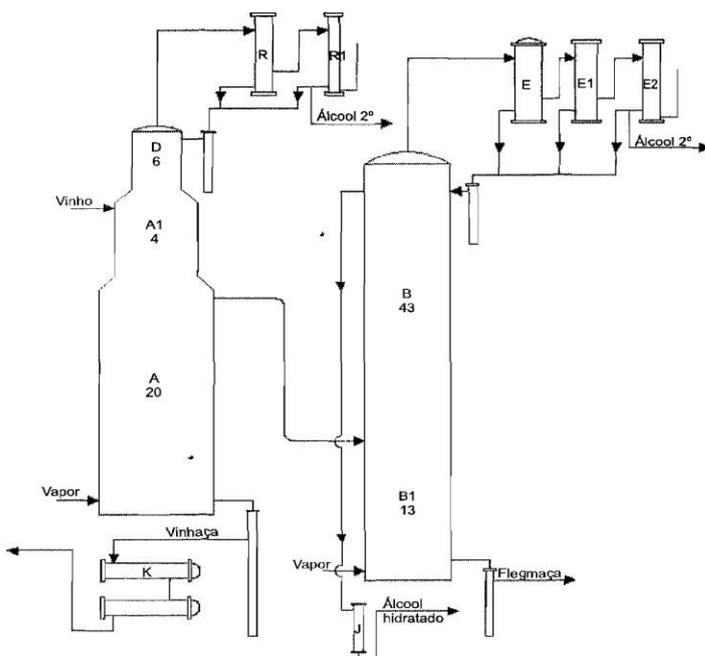


Fonte: Autora (2016).

3.4.4 Coluna de destilação

A coluna de destilação (Figura 3.6) tem o objetivo de separar misturas líquidas, utilizando calor (vapor) como agente de separação. O componente mais leve, ou seja, de menor ponto de ebulição, é chamado de destilado, ou produto de topo, e o componente mais pesado, de maior ponto de ebulição, é o produto de fundo (BARRETO e COELHO, 2012).

Figura 3.6 – Coluna de destilação.



Fonte: BARRETO e COELHO, 2012.

A destilação apresenta inúmeras vantagens, seja pela flexibilidade da operação em relação a pressões, temperaturas e volumes e a enorme variedade de aplicações. Estas são definidas em função das particularidades das substâncias a serem separados ou purificados, tais como destilação de etanol, fracionamento de petróleo, de gases, reações químicas e separações de misturas líquidas em geral. Por serem muito versáteis as unidades de destilação são fortemente utilizadas nas indústrias em geral (MARANGONI, 2005).

3.4.5 Condensadores

Os condensadores são trocadores de calor com a função de resfriar os vapores alcoólicos oriundos das colunas. Estes podem ser verticais (Figura 3.7) ou horizontais, abertos ou fechados, sendo os condensadores verticais abertos mais práticos em relação à limpeza, pois a mesma pode ser efetuada com o aparelho funcionando (ZOCCA, 2007).

Figura 3.7 – Condensadores verticais abertos da Usina Sumaúma.



Fonte: Autora (2016).

3.5 Preparação de mosto

A concentração de açúcares no mosto deve ser devidamente definida com o intuito de não inibir o metabolismo do microrganismo agente da fermentação e consequentemente conduzir a um processo fermentativo de bom rendimento.

Mostos com baixa concentração implicam em fermentações mais rápidas, porém com menor teor alcoólico; favorecem o crescimento celular; aumentam o consumo de vapor e água; proporcionam maior volume de dornas; as contaminações tornam-se mais suscetíveis

devido o menor teor asséptico do etanol; produzem maior volume de vinhaça e menores problemas com assepsia. Já os mostos com alta concentração, conduzem a fermentações incompletas, demoradas, com alto residual de açúcares, maiores problemas com assepsia, inibição da levedura pelo aumento do poder antisséptico do etanol e menor rendimento da fermentação (VASCONCELOS, 2012 e CODISTIL, 1978).

3.5.1 Mosto de caldo de cana-de-açúcar

O caldo obtido da extração das moendas, já diluído com a água de embebição, é rico em sacarose, glicose e frutose, estando pronto para o processo fermentativo. Dependendo das particularidades de cada fermentação, pode sofrer outras diluições (LIMA *et. al.*, 2001).

Apesar de o caldo bruto poder ser utilizado diretamente para fermentação, é indicado realizar o tratamento, que consiste em clarificar, aquecer, decantar e filtrar, com o objetivo de separar colóides, gomas e materiais nitrogenados para se obter um mosto mais limpo, que fermente melhor, forme menos espumas e suje menos as colunas de destilação (CODISTIL, 1978).

O caldo, dependendo do processo de extração, varia sua concentração de 14 – 20 °Brix, e devido sua alta pureza, normalmente apresenta uma concentração de açúcares totais entre 12,5 e 18%. Na prática industrial, os mostos com °Brix de 13 a 15 tem apresentado os melhores resultados (CODISTIL, 1978).

3.5.2 Mosto de melaço

O mel final ou melaço naturalmente não constitui um meio favorável ao processo de fermentação, sendo necessário ajustá-lo as condições do agente fermentativo. Para as condições industriais, isto implica nos cuidados com concentração, acidez, nutrientes e antissépticos (CODISTIL, 1978).

O melaço é um líquido denso e viscoso, de cor escura, rico em açúcares, contendo pequeno percentual de água. Sua densidade varia de 1,4 a 1,5 g/mL e é produzido à razão de 40 kg/tonelada de cana. O rendimento em etanol é de 280 a 320 L/tonelada de mel (VASCONCELOS, 2012).

Na tabela 3.1 apresenta-se a composição média do melaço do estado de Alagoas. Tal composição depende de vários fatores, destacando-se a natureza e qualidade da matéria-

prima, os métodos de fabricação, o sistema e o tempo de armazenamento. Mesmo considerando uma determinada variedade de cana e apenas um método de fabricação numa dada região, as variáveis do mel final ainda variam com a época e os fatores agrícolas do ano (COPERSUCAR, 1987).

Tabela 3.1 – Composição do melaço provenientes da produção de açúcar cristal e demerara de Alagoas.

| Determinação | Melaço proveniente de: | |
|-----------------------------------|--|-----------------|
| | Açúcar cristal | Açúcar demerara |
| C (%) | 23,66 ^a ± 1,21 ^b | 22,36 ± 0,79 |
| CaO (%) | 1,36 ± 0,12 | 1,35 ± 0,10 |
| MgO (%) | 1,03 ± 0,10 | 0,99 ± 0,07 |
| N (%) | 0,49 ± 0,02 | 0,49 ± 0,03 |
| K ₂ O (%) | 3,51 ± 0,21 | 3,80 ± 0,13 |
| P ₂ O ₅ (%) | 0,07 ± 0,01 | 0,15 ± 0,02 |
| Cu (ppm) | 16,85 ± 7,7 | 5,60 ± 1,60 |
| Zn (ppm) | 19,45 ± 4,01 | 11,96 ± 0,78 |
| Fe (ppm) | 225,16 ± 55,74 | 274,44 ± 24,84 |
| Mn (ppm) | 19,61 ± 3,53 | 38,22 ± 4,93 |
| Brix (%) | 78,61 ± 0,81 | 81,33 ± 0,88 |
| Pol (%) | 36,58 ± 1,13 | 33,58 ± 0,69 |
| AR (%) | 16,20 ± 0,49 | 19,20 ± 0,90 |
| ART (%) | 54,73 ± 1,14 | 54,65 ± 0,69 |
| Pureza (%) | 46,54 ± 1,29 | 41,41 ± 1,01 |

a Média; b Desvio-padrão da média.

Fonte: VASCONCELOS, 1985 adaptada pela AUTORA, 2016.

O preparo do mosto começa pela diluição do mel, com água que deve possuir características potáveis, isto é, inodora, incolor e isenta de sais minerais. Os problemas fermentativos em muitas destilarias remetem justamente a qualidade desta água, nem sempre fáceis de resolver.

A concentração do mosto de melaço normalmente varia de 14 a 26 ° Brix. A concentração de açúcares deve ser compatível com a natureza e composição da matéria-prima, com o tipo de levedura utilizada e com o processo de condução da fermentação (CODISTIL, 1978).

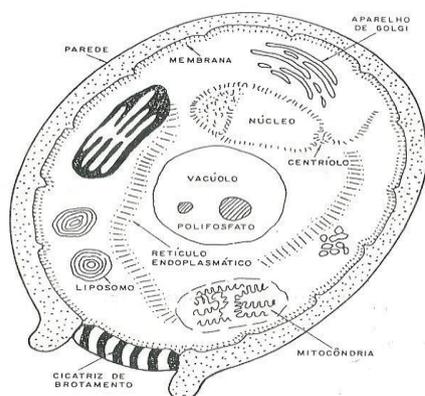
3.6 Leveduras

As leveduras, do latim *levare*, que significa fazer crescer, são fungos eucarióticos, unicelulares, não filamentosos. As primeiras leveduras descobertas estavam associadas a processos fermentativos como o de pães e de mostos que provocavam um aumento da massa do pão ou do volume do mosto pela liberação de gás e formação de espuma (SCHMIDELL, 2001).

Como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem rapidamente, pois são mais eficientes na realização das reações químicas, devido a sua maior relação de área/volume (COPERSUCAR, 1987).

Os processos industriais de fermentação alcoólica utilizam em sua maioria leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 3.8). Estas células têm entre 2 a 8 micrometros de diâmetro e 3 a 15 micrometros de comprimento, sendo facilmente diferenciáveis das bactérias devido às características morfológicas e tamanhos maiores (LIMA *et. al.*, 2001).

Figura 3.8 – Estrutura da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.



Fonte: COPERSUCAR, 1987.

Através do açúcar, as leveduras obtêm a energia química e a estrutura carbônica necessária as suas células, constituídas predominantemente de carbono, oxigênio e hidrogênio. Vitaminas (tiamina e ácido pantotênico), nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo, e outros elementos também constituem papel importante na nutrição das leveduras (LIMA *et.al.*, 2001).

A temperatura ideal para a produção de etanol fica na faixa de 26 – 35°C, e pH entre 4 e 5. A manutenção dessas condições evita a contaminação do cultivo por outros microrganismos (LIMA *et. al.*, 2001).

Com a importância econômica dos processos biotecnológicos relacionados às leveduras, tais organismos vêm sendo bastante estudados devido sua vasta gama de aplicações, sendo a principal no Brasil, produção de etanol.

3.7 Fermentação etanólica

A prática da fermentação etanólica acontece desde a antiguidade, devido registros que comprovam o consumo de alimentos fermentados pelos sumérios, egípcios e babilônicos. Produtos como o vinho, cerveja, pão e queijo, são consumidos desde que há a prática da agricultura, mas não se compreendia o processo de fabricação destes produtos (AMORIM, 2005).

A partir do século XIX o processo de fermentação começou a ser compreendido graças ao cientista Louis Pasteur, que durante estudos sobre os problemas na produção de vinho e cerveja, descobriu que um tipo de levedura produzia bom vinho, enquanto outra tornava-o azedo. Essa conclusão permitiu verificar que a fermentação estava associada ao crescimento das leveduras, mas que se estas fossem expostas a uma quantidade considerável de oxigênio produziria água ao invés de álcool e dióxido de carbono. Assim, Pasteur definiu que a fermentação alcoólica é o mecanismo utilizado pelos seres vivos para produzir energia na ausência de oxigênio (AMORIM, 2005).

A fermentação etanólica, portanto, é um processo anaeróbico e biológico, onde açúcares, como a glicose e frutose, são convertidos em energia celular, produzindo etanol, gás carbônico e energia, segundo as reações abaixo.



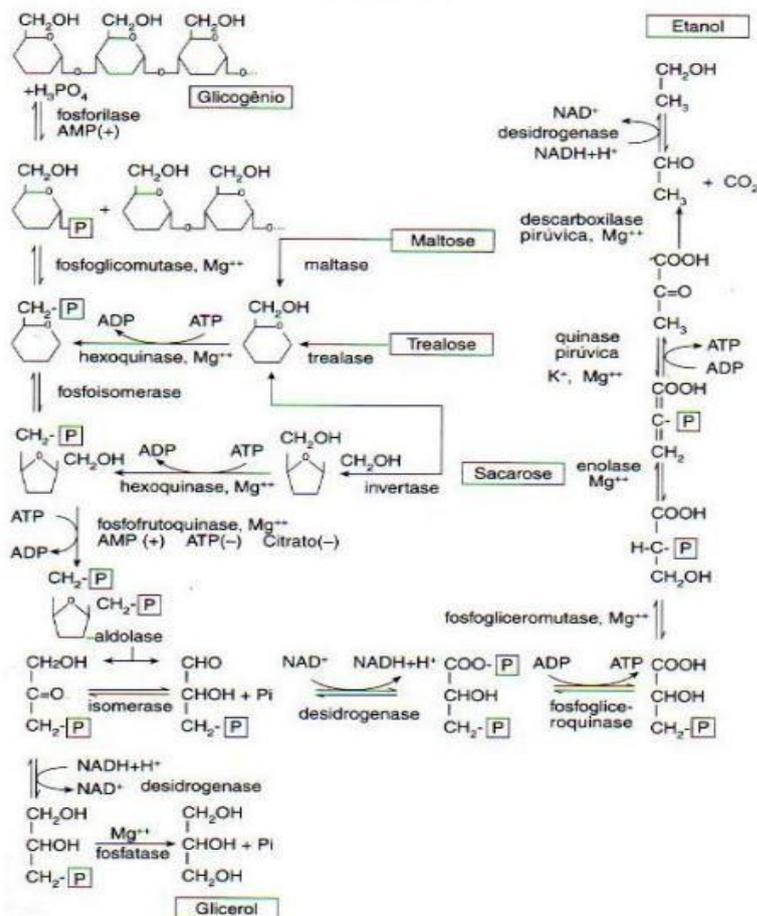
A conversão do açúcar em etanol, CO₂ e energia envolvem 12 reações em sequência ordenada e catalisada por enzimas específicas (Figura 3.9). Essas enzimas sofrem ações de diversos fatores (nutrientes, minerais, vitaminas, inibidores, pH, temperatura e outros), alguns

que estimulam e outros que reprimem a ação enzimática, afetando o desempenho do processo fermentativo conduzido pelas leveduras (LIMA *et. al.*, 2001).

Os produtos finais da metabolização dos açúcares irão depender das condições ambientais do meio fermentativo, assim, como a levedura é um organismo facultativo, ou seja, tanto produz na presença quanto na ausência de oxigênio, na fermentação alcoólica haverá produção de biomassa (aerobiose) e em maior proporção a conversão em etanol e CO₂ (anaerobiose).

A levedura tem o objetivo principal de metabolizar anaerobicamente o açúcar para gerar uma forma de energia (ATP, adenosina trifosfato) que será empregada na realização de diversas atividades fisiológicas (absorção, excreção e outros) e biossínteses, necessários à manutenção da vida celular, crescimento e multiplicação. O etanol e o CO₂ resultantes deste processo bioquímico constituem os produtos de excreção, sem utilidade metabólica para as leveduras em anaerobiose (LIMA *et. al.*, 2001).

Figura 3.9 – Reações da fermentação etanólica.



Fonte: LIMA *et. al.*, 2001.

Considerando o objetivo metabólico da levedura, crescer e multiplicar, a produção industrial de etanol explora a capacidade de adaptação da mesma, alterando as condições físico-químicas do meio fermentativo sem comprometer as necessidades metabólicas, para com isso atingir a conversão etanólica desejada.

3.7.1 Fases da fermentação etanólica

O termo fermentação vem do latim *fervere*, que significa ferver, uma referência à aparência que se observa na ação das leveduras num meio açucarado, por causa da liberação de CO₂ (VASCONCELOS, 2012).

A intensidade da produção de CO₂, etanol e liberação de calor caracterizam 3 fases distintas do processo fermentativo, descritas abaixo:

3.7.1.1 Fermentação preliminar

Quando o fermento entra em contato com o mosto, inicia-se essa etapa da fermentação. Caracteriza-se por intensa multiplicação celular, pequena elevação de temperatura e desprendimento de CO₂, devido ao baixo consumo de açúcares, 1,5 a 2,0g de sacarose por 1g de peso seco da levedura formada (CODISTIL, 1978).

Como essa fase praticamente não produz álcool, a duração depende do sistema de fermentação da Destilaria, sendo alguns fatores comuns: concentração do mosto baixa, favorecendo a fermentação; pH na faixa de 4 a 5, acidez necessária a vida da levedura; temperatura do mosto de 28 - 32°C, ideal para crescimento do fermento.

3.7.1.2 Fermentação principal ou turbulenta

A produção de CO₂ intensa, devido à existência de células suficientes para consumir os açúcares fermentescíveis do mosto, caracteriza o fim da fermentação preliminar e o início da fermentação principal.

Nesta fase, de maior duração, há rápida formação de álcool com elevação da temperatura, sendo necessário acionar os trocadores de calor para manter a temperatura ideal de fermentação. A densidade do mosto diminui e a acidez aumenta, havendo também a

formação de espumas pelo desprendimento do CO₂, sendo necessário usar antiespumantes em alguns casos (LIMA *et. al.*, 2001).

3.7.1.3 Fermentação complementar

Esta fase caracteriza-se pela queda no desprendimento de CO₂, menor agitação do vinho, diminuição da temperatura e formação de subprodutos a partir da degradação do etanol. Também pode haver precipitação de fermento (CODISTIL, 1978).

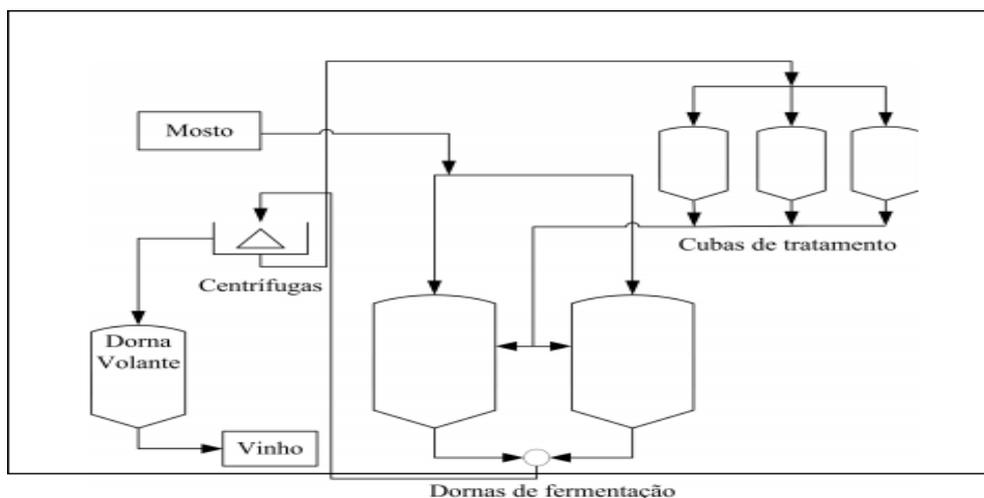
3.7.2 Tipos de condução da fermentação

3.7.2.1 Fermentação em batelada

A fermentação em batelada (Figura 3.10), também conhecida como fermentação descontínua, de forma geral, consiste em (CARVALHO e SATO, 2001):

- inicialmente, misturar o mosto ao fermento numa dorna, dando início a fermentação, proporcionando condições ótimas para o microrganismo.
- no decorrer do processo fermentativo, se necessário, adiciona-se dispersante ou antiespumante, para inibir ou conter a formação de espuma, respectivamente.
- ao término da fermentação, a dorna é descarregada, e o meio fermentado segue para tratamentos finais.
- a dorna vazia é então lavada para que seja carregada novamente com mosto e fermento dando início a o outro ciclo fermentativo.

Figura 3.10 – Esquema de fermentação por batelada do tipo Melle-Boinot.



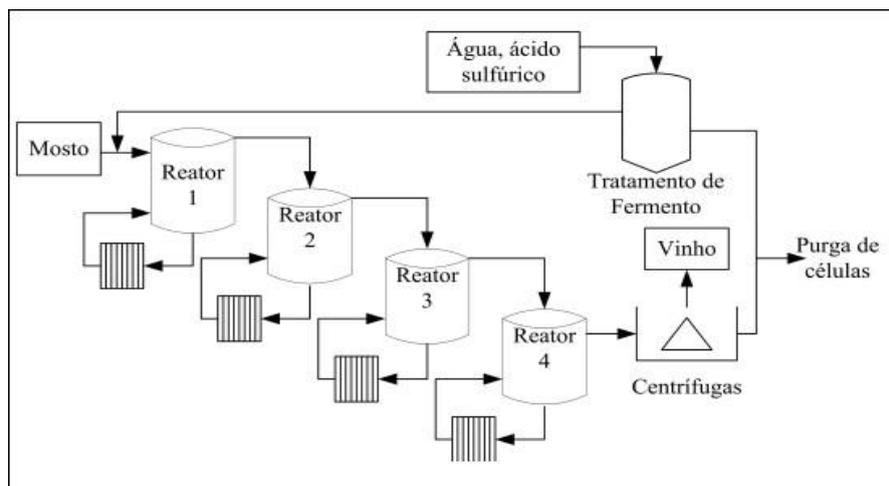
Fonte: NAVES *et. al.*, 2010.

Segundo Carvalho e Sato (2001), o processo descontínuo apresenta as vantagens de volume praticamente constante no decorrer da fermentação, menor risco de contaminação e maior flexibilidade operacional. As desvantagens consistem nos possíveis baixos rendimentos e/ou produtividades, devido à adição de uma vez do substrato no início da fermentação, causando efeitos inibitórios ou desvio de produção; além de apresentar "tempos mortos", ou seja, tempos em que a dorna não está sendo usada para o processo fermentativo propriamente dito, tais como tempo de carga e descarga de dorna e período correspondente à lavagem.

3.7.2.2 Fermentação contínua

A fermentação contínua se faz alimentando uma dorna com fluxo contínuo de substrato, em concentração adequada ao microrganismo agente, retirando-se desta, de forma contínua e na mesma vazão, o meio fermentado que, após centrifugação, é encaminhado para a destilação, conforme figura 3.11 (LIMA *et. al.*, 2001).

Figura 3.11 – Esquema simplificado de fermentação contínua.



Fonte: NAVES *et. al.*, 2010.

A manutenção do volume constante na dorna é de primordial importância, a fim de que o sistema atinja a condição de estado estacionário ou regime permanente ("*steady state*"), 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.

As principais vantagens do processo contínuo consistem em (FACCIOTTI, 2001):

- aumento da produtividade, em virtude da redução dos tempos não-produtivos.
- obtenção de fermentado uniforme, facilitando as operações de recuperação do produto de interesse.
- manutenção das células em um mesmo estado fisiológico, o que torna o processo contínuo uma excelente ferramenta para estudos de mecanismos de regulação metabólica ou, ainda, para estudos de otimização da composição de meio de cultura.
- possibilidade de associação com outras operações contínuas na linha de produção.
- maior facilidade no emprego de controles avançados.
- menor necessidade de mão-de-obra.

Contudo, ainda segundo FACCIOTTI (2001), a fermentação contínua possui também algumas desvantagens, destacadas a seguir:

- maior investimento inicial na planta.
- Possibilidade de ocorrência de mutações genéticas espontâneas, resultando na seleção de mutantes menos produtivos.

- maior possibilidade de contaminações.
- Dificuldades de operação em estado estacionário em determinadas situações (formação de espuma, crescimento de microrganismos nas paredes das dornas, ou ainda, nos sistemas de entrada e saída de líquido).

Apesar dos problemas citados, a utilização do processo contínuo de fermentação encontra grande aplicação prática na fermentação etanólica (FACCIOTTI, 2001).

3.7.3 Fatores que controlam a fermentação etanólica

3.7.3.1 Brix do mosto

A concentração de açúcares está ligada à natureza da parede celular das leveduras, que funciona como agente no transporte dos açúcares (por difusão) para o interior da célula (CODISTIL, 1978).

Embora haja leveduras adaptadas para fermentar em meios ricos em açúcares, esta alta concentração promove a maior quantidade de álcool no meio, ocasionando condições inadequadas à fisiologia celular da levedura, devido o etanol ser um agente inibidor. Conseqüentemente, um mosto rico em açúcares acarretará numa fermentação incompleta e de baixo rendimento. Na prática, indica-se utilizar mostos com uma concentração de açúcares que se obtenha vinhos com teores de etanol compatíveis com os aceitáveis pelo fermento.

3.7.3.2 Temperatura

A temperatura exerce influência tanto na produção de etanol como na multiplicação da levedura. Durante a fermentação, a temperatura do mosto tende a elevar, devido às reações exotérmicas do meio, para tanto, deve-se ativar os trocadores de calor das dornas, para manter a temperatura do vinho na faixa de 26 a 35°C (LIMA *et. al.*, 2001), evitando com isso, o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e a evaporação do etanol produzido.

3.7.3.3 Nutrientes

As leveduras são microrganismos saprófitas, que exigem uma fonte de carbono elaborada – glicose ou outro açúcar – que fornece a energia química e o esqueleto carbônico de suas estruturas celulares, constituída predominantemente de carbono, oxigênio e hidrogênio. Algumas vitaminas, como tiamina e ácido pantotênico, também são exigidas. O meio ainda deve, igualmente, fornecer nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em quantidades menores (LIMA *et. al.*, 2001).

Dentre os nutrientes citados acima se destaca o fósforo, sob forma de fosfatos, importante no metabolismo energético e na síntese de ácidos nucleicos; o enxofre, necessário por fazer parte de aminoácidos como cistina e cisteína e para a síntese de vitaminas como a biotina e tiamina; o potássio, ativador de enzimas e regulador de pressão osmótica; e o magnésio, que desempenha papel importante no crescimento da levedura, como co-fator em muitas reações metabólicas (CARVALHO *et. al.*, 2007).

3.7.3.4 Agitação

Segundo Vasconcelos (2012), a agitação mecânica é uma importante operação da fermentação etanólica industrial, trazendo vários benefícios como: menor gradiente de temperatura, impedimento da formação de “fundo de dornas de fermentação”, menor tempo de fermentação, maior produtividade em etanol, maiores eficiências fermentativa e de processo, maior uniformidade do produto, melhor desempenho das centrífugas, amostragem representativa e maior viabilidade celular.

Tanto no processo em batelada quanto no contínuo, a agitação mecânica quando adequada, provoca a permanência das células em suspensão, aumentando dessa forma, a superfície de contato do microrganismo com o substrato (CODISTIL, 1987).

3.7.3.5 pH

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

O Potencial Hidrogênico tem grande influência nas fermentações industriais, devido a sua importância no controle de contaminação bacteriana, ao seu efeito sobre o crescimento celular, às taxas de fermentação e à formação de subprodutos. A fermentação da sacarose é mais afetada pelo pH que a da glicose, visto que a atividade invertásica das leveduras é mais afetada pelos valores baixos de pH que a habilidade fermentativa (VASCONCELOS, 2012).

3.8 Contaminação bacteriana

Na fermentação etanólica, a contaminação bacteriana é um fator importante a ser observado, devido os reflexos negativos sobre o processo fermentativo. A presença dos contaminantes pode desviar a conversão dos açúcares fermentescíveis para substâncias indesejáveis.

Segundo BADIN, 2010 *apud* TILBURY, 1975, as perdas quantificadas no processo fermentativo são 63% decorrentes da atividade bacteriana, 25% oriunda de inversão enzimática e 13% de inversão química.

Os microrganismos contaminantes afetam diretamente a fermentação, tornando-se o agente mais estressante no meio, uma vez que compete com a levedura pelo substrato existente na dorna (NAVES *et. al.*, 2010).

A produtividade e o rendimento fermentativo são afetados negativamente pela ação dos microrganismos contaminantes, uma vez que estes ao degradarem o açúcar do meio, liberam metabólitos indesejáveis como os ácidos orgânicos que podem agir como inibidores da fermentação e causarem a floculação do fermento (YOKOYA, 1991).

Segundo OLIVA-NETO & YOKOYA (1997), os maiores prejuízos causados pelos contaminantes da fermentação são a degradação da sacarose e a formação de ácidos orgânicos que provocam a perda de açúcar e intoxicação das leveduras.

A floculação do fermento, causada tanto por bactérias como por leveduras selvagens floculentas, resulta na deposição das mesmas no fundo das dornas, dificultando a conversão

do açúcar em etanol, uma vez que não estão suspensas no vinho. A perda de células nas centrífugas e o conseqüente consumo de substrato para reposição celular, também é um dos fatores causados pela floculação (LUDWIG *et. al.*, 2001).

Estudos constataram que os principais contaminantes identificados na fermentação etanólica pertencem aos gêneros *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Streptococcus* e *Leuconostoc* (FREITAS e ROMANO, 2013 *apud* SERRA *et. al.*, 1976).

De acordo com GALLO e CANHOS (1991), o grupo predominante de bactérias na fermentação etanólica são as Gram-positivas (98,5%), em forma de bastonetes (85,3%) e não esporuladas (73,9%), principalmente as do gênero *Lactobacillus* (59,7%) e *Bacillus* (26,6%).

Um processo de fermentação etanólica considerado bom apresenta níveis de contaminação bacteriana próximo a 10^5 células/mL (ANDRIETTA *et. al.*, 2006). Já quando a contaminação atinge níveis superiores 10^6 ou 10^7 células/mL, pode haver significativa queda no rendimento fermentativo (ALCARDE *et. al.*, 1996).

Segundo STECKELBERG (2001), o problema da contaminação poderia ser sanado conduzindo uma fermentação etanólica sob condições estéreis, mas devido à dimensão do processo industrial, essa condição é inviável economicamente. Entretanto, se eliminar a contaminação não é possível, as condições mínimas de assepsia devem ser asseguradas para controlar os microrganismos contaminantes com o objetivo de garantir rendimentos fermentativos aceitáveis.

3.9 Tratamento do fermento

Na fermentação etanólica em escala industrial, faz-se necessário a reutilização do fermento para garantir menor custo de reposição e melhores condições de processo, uma vez que o fermento reciclado não necessita consumir substrato para fase de crescimento e já se encontra adaptado ao meio (LIMA, 2004).

Durante a fermentação etanólica com reciclo de fermento, a levedura além de ser reciclada inúmeras vezes sofre interferências externas oriundas do mel e/ou caldo utilizado e das condições do ambiente, tornando-se vulnerável a contaminação por microrganismos indesejáveis (CEBALLOS-SCHIAVONE, 2009 *apud* OLIVEIRA e PAGNOCCA, 1988).

A reciclagem do fermento permite a reutilização da levedura para um novo ciclo fermentativo, contudo, as mesmas não podem ser apenas centrifugadas, é necessário tratar, para assim propiciar condições ótimas de fermentação.

O fermento recuperado na etapa de centrifugação, conhecido como creme ou leite de levedura, passa por um tratamento antes de retornar ao processo. O tratamento consiste na adição de água, com intuito de reduzir o teor alcoólico do meio, e a utilização de produto químico com o objetivo de reduzir os contaminantes (STROPPIA, 1998).

O método tradicional utilizado pelas indústrias sucroalcooleiras para controle da contaminação bacteriana no tratamento do fermento ainda é a utilização de ácido sulfúrico. O tratamento é realizado reduzindo o pH do fermento diluído a uma faixa de 2 a 3, mantendo o mesmo na cuba por um período de 1 a 3 horas em constante agitação. Esta condição desfavorece a atividade microbiana (OLIVA-NETO, 1995).

Os antibióticos, compostos orgânicos naturais ou sintéticos, também são utilizados como agente antibacteriano no tratamento do fermento. Sua atuação inibe ou causa a morte de microrganismos específicos (CAETANO e MADALENO, 2011). Segundo ALCARDE *et. al.* (1996), estudos comprovaram o efeito positivo do uso de antibióticos, reduzindo com altas porcentagens populações de microrganismos contaminantes na fermentação etanólica.

3.9.1 Ácido sulfúrico

O ácido sulfúrico normalmente utilizado para tratamento do fermento é o tipo comercial, com 98% em peso. Trata-se de um ácido corrosivo para a maioria dos metais, principalmente em concentrações baixas, com alto poder de oxidação e desidratação, constituindo-se um risco iminente a unidade e as pessoas envolvidas no manuseio (CEBALLOS-SCHIAVONE, 2009).

Apesar dos cuidados especiais com este ácido, na busca pelo controle das contaminações bacterianas na fermentação etanólica, o mesmo constitui o agente mais utilizado no tratamento do fermento. Além de reduzir a contaminação na fermentação, possui custos relativamente baixos (CHERUBIN, 2003).

O tratamento do fermento com ácido sulfúrico reduz até 44,38% da população de bactérias contaminantes (GALLO e CANHOS, 1991). Estudos relataram que uma das causas da floculação do fermento é a interação entre as células das bactérias com as células das

leveduras, afetada pela variação de pH, evidenciando a importância do tratamento ácido no controle da contaminação bacteriana (AMORIM, 2000).

Segundo Ludwig *et. al.* (2001), o tratamento ácido do fermento é eficiente contra a diminuição das células floculadas. Utilizando pH na faixa de 2,0 a 2,7 a técnica demonstrou que a suspensão de leveduras e bactérias foi desfloculada, estando o fermento quase totalmente homogeneizado, sem apresentar separação de fases.

Contudo, apesar do estudo supracitado constatar a eficiência do tratamento ácido na desfloculação do fermento, o efeito não é duradouro, sendo revertido quando o inóculo retorna à dorna de fermentação, onde o pH não se encontra tão ácido quanto na cuba de tratamento (LUDWIG *et. al.*, 2001).

Ainda segundo estudos de Ludwig *et. al.* (2001), o pH baixo (2,0 a 2,5) na cuba de tratamento do fermento, devido a adição do ácido sulfúrico, pode afetar o metabolismo das leveduras, diminuindo a viabilidade celular. O fermento pode ainda sofrer efeitos mais severos para esta faixa de pH, se o tempo de exposição for superior a 2 horas.

O tratamento ácido pode também causar estresse as leveduras, podendo afetar a fisiologia das células, modificando conseqüentemente seu funcionamento (AMORIM, 1996).

Contudo, a aplicação do ácido sulfúrico é importante para reduzir a contaminação bacteriana do processo e com isso minimizar as perdas de eficiência fermentativa (MUTTON, 1998).

3.9.2 Antibiótico

Os antibióticos englobam uma diversidade de substâncias que podem ser classificadas de acordo com seu mecanismo de ação (STROPPA, 1998). Segundo STROPPA, 1998 *apud* EGUCHI, 1989, os antibióticos são agentes quimioterapêuticos especiais, geralmente obtidos a partir de metabólitos de microrganismos que podem matar ou inibir outros microrganismos.

Segundo CHERUBIN (2003), o princípio ativo dos antibióticos varia conforme o tipo de microrganismo selecionado, e o grau de pureza depende das operações envolvidas no processo de purificação das empresas que fabricam o produto.

Os antibióticos a base de monensina são um dos mais utilizados nas indústrias sucroalcooleiras para controle da contaminação bacteriana nas fermentações etanólica (PRADO, 2014).

A monensina atua diretamente no transporte de sódio/potássio, desestabilizando a concentração de potássio celular, afetando o pH intracelular e conseqüentemente o metabolismo da célula bacteriana. Ainda de acordo com os autores, este biocida possui ação efetiva no controle de bactérias gram-positivas, devido à formação de invólucro celular (BADIN, 2010 *apud* RUSSEL & STROBEL, 1989).

Segundo ALCARDE *et. al.* (1996), estudos constataram o efeito antimicrobiano de alguns antibióticos com altas porcentagens de reduções populacionais em diferentes microrganismos contaminantes da fermentação etanólica.

Uma das limitações ao uso contínuo dos antibióticos na indústria é a seleção de bactérias cada vez menos sensíveis a sua ação e também a mudança do equilíbrio natural da microbiota existente na fermentação, uma vez que as bactérias gram-negativas não são afetadas (STROPPA, 1998).

3.10 Rendimento da fermentação etanólica

O rendimento teórico da fermentação etanólica é expresso pela quantidade de etanol produzido dividido pelo açúcar consumido. Com isso, todo o açúcar que não é convertido em etanol, provoca queda no rendimento. A ação dos contaminantes da fermentação, provocando entre outros a floculação do fermento, também é uma das causas de diminuição do rendimento etanólico (ALCARDE, 2000).

Estudos constataram que as bactérias presentes na fermentação etanólica são responsáveis por perdas de até 55% do valor teórico do rendimento etanólico (ALCARDE, 2000 *apud* AMORIM *et. al.*, 1981). Segundo ALCARDE, 2000 *apud* ALTERTHUM *et. al.*, 1984 o rendimento diminui de 14 a 90% quando a contaminação bacteriana na fermentação atinge valores de 10^8 a 10^9 células/mL.

A floculação do fermento, fenômeno causado por bactérias e/ou leveduras selvagens floculentas, ocasionando problemas como deposição de células no fundo das dornas e dificuldade de conversão dos açúcares em etanol, é comprovadamente um dos fatores que elevam a acidez do vinho, provocando significativa queda no rendimento etanólico e viabilidade celular (LUDWIG *et. al.*, 2000).

Avaliando as condições de controle da fermentação etanólica, determinou-se uma relação positiva entre a viabilidade do fermento e o rendimento fermentativo, evidenciando

com isso, a necessidade do controle bacteriano que afetam as leveduras, conseqüentemente interferindo na viabilidade celular (CHERUBIN, 2003).

A indústria considera um rendimento fermentativo bom, quando o mesmo equivale 90 a 92% do rendimento estequiométrico, havendo um consumo de substrato para multiplicação celular e subprodutos. Considerando uma contaminação bacteriana significativa da fermentação, este rendimento cai consideravelmente (LIMA *et. al.*, 2001).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

A pesquisa se deu com base em dados quantitativos referentes às safras a partir da 2010/2011 até 2015/2016 da Destilaria da Usina Sumaúma (Grupo Toledo), localizada em Marechal Deodoro, Alagoas.

A indústria, que possui capacidade máxima diária de moagem de 6.000 toneladas de cana, produz Açúcar VHP e Etanol Anidro, sendo que todo o caldo é destinado à produção do açúcar, e o subproduto deste, o melaço ou mel final, é a matéria-prima utilizada para a produção do etanol.

4.1.1 Descrição da condição operacional do processo fermentativo

O esquema fermentativo da Usina Sumaúma possui uma particularidade única, existem 10 dornas divididas em duas linhas de 5, uma de numeração ímpar e outra par, ambas com mesma capacidade de processo. A fermentação sempre opera com apenas uma das linhas fermentativas. A outra, mantém-se pronta para iniciar uma fermentação caso seja necessário (Figura 4.1).

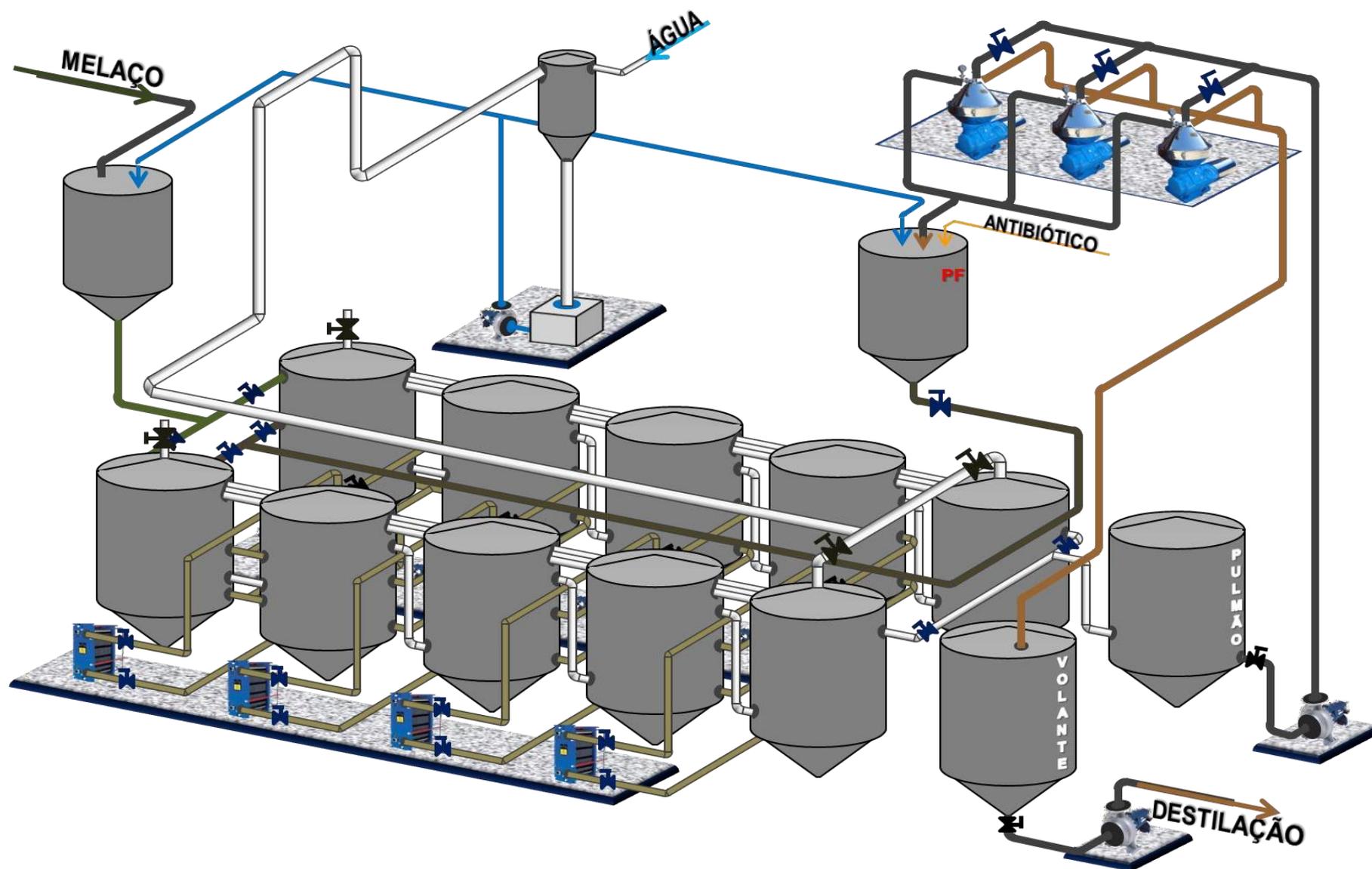
Essa condição permite alternar entre as linhas fermentativas sempre que o processo cai de rendimento, sem comprometer a produção.

Normalmente, a cada 15 dias alternam-se entre as linhas. A operação ocorre esvaziando uma linha ao mesmo tempo em que enche a outra. O mosto e o fermento que entrava numa linha ímpar, por exemplo, é direcionada para a linha par, e conforme esta enche, a ímpar esvazia, passando todo o vinho pela centrífuga.

Os trocadores de calor a placas são os mesmos para as duas linhas fermentativas, com isso, na mudança, faz-se as modificações de válvulas necessárias e todos os trocadores são obrigatoriamente lavados, a fim de evitar que contaminações provenientes da linha anterior interfiram na fermentação “nova” que inicia em outra linha do processo.

Ao término de uma mudança de linha, todos os filtros e centrífugas que estavam operando são lavados, com o intuito de permitir uma condição inicial da “nova” fermentação o mais isenta de interferências da anterior possível.

Figura 4.1 – Fluxograma operacional da fermentação.



Fonte: Autora (2016).

4.1.1.1 Melaço e preparo do mosto

A fábrica de açúcar possui um sistema de cozimento de 3 massas com magma duplo. Este tipo de processo utiliza o magma C como pé de cozimento da massa B e esta gera o magma B que será o pé de cozimento da massa A. Tal sistema, quando bem controlado, é ideal para produzir açúcar de alta qualidade e ótimo rendimento industrial (ALBUQUERQUE, 2011).

O mel final, adquirido da centrifugação da massa C, não é esgotado, propositalmente, o suficiente para recuperação de sacarose. Devido apenas o mesmo ser utilizado para produção de etanol na Usina Sumaúma, o melaço com bom teor de açúcares é necessário para garantir melhor rendimento da fermentação.

Quadro 4.1 - Dados médios do melaço da Usina Sumaúma.

| ART (g/100mL) | ° Brix | Pureza |
|---------------|--------|--------|
| 60 | 80 | 52 |

Fonte: Autora (2016).

O Mel final obtido, é armazenado num tanque fechado de aço carbono (Figura 4.2), com capacidade para 3 mil m³, deste é encaminhado ao processo fermentativo.

Figura 4.2 – Tanque de mel.



Fonte: Autora (2016).

Todo o melaço utilizado na fermentação é pesado antes. O mel contido no tanque supracitado é bombeado para a balança, quando esta atinge 4.500 kg, descarrega o mesmo num tanque estacionário (Figura 4.3), e este alimenta uma bomba dosadora que

através de *set point* definido num inversor de frequência, dosa uma determinada quantidade de mel que entra tangencialmente no diluidor 1, assim como a água de diluição, oriunda da lavagem dos gases gerados na fermentação, esta é bombeada para o diluidor sendo regulada manualmente por uma válvula gaveta de 4 polegadas na entrada do mesmo.

Figura 4.3 – Balança e tanque estacionário de mel.



Fonte: Autora (2016).

Uma vez misturado o mel final e a água no diluidor 1 (Figura 4.4), estes são direcionados pelo fundo do reator para o diluidor 2 (com agitação mecânica), e deste último é encaminhado para a primeira dorna do sistema contínuo de fermentação etanólica.

Figura 4.4 – Diluidores de mel.



Fonte: Autora (2016).

O °Brix do mosto preparado varia em torno de 15, sendo este o valor mais adequado, até então, as condições do processo fermentativo da Usina Sumaúma.

4.1.1.2 Dornas de fermentação

A fermentação etanólica ocorre de forma contínua, com 5 dornas em série, cada uma com capacidade de 170 m³, uma dorna pulmão e volante de 150 m³ cada.

Como visto na figura 4.5 as dornas são fechadas para recuperação de etanol, com exceção da dorna pulmão.

Figura 4.5 – Dornas fechadas e dorna pulmão aberta.



Fonte: Autora (2016).

O mosto entra na região superior da primeira dorna juntamente com o leite tratado que entra na região central da dorna, iniciando assim a fermentação. De forma contínua o vinho é transferido de uma dorna para outra através de conexões de inox em forma de S (Figura 4.6).

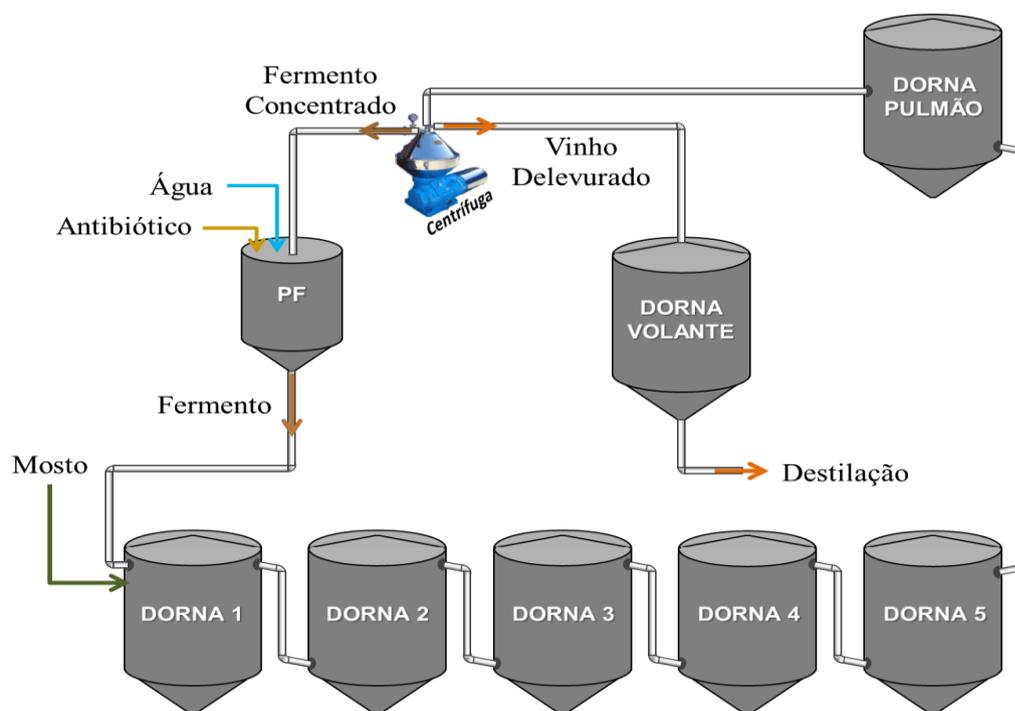
Figura 4.6 – Conexão em forma de S entre dornas.



Fonte: Autora (2016).

Ao término do processo fermentativo, o vinho da última dorna é encaminhado à dorna pulmão, desta é enviado à etapa de centrifugação, onde o vinho delevurado é encaminhado à dorna volante e o fermento ao pré-fermentador (PF), onde é diluído com água e tratado com antibiótico, conforme figura 4.7.

Figura 4.7 – Fluxograma do processo fermentativo contínuo.



Fonte: Autora (2016).

Com exceção da última dorna da fermentação, todas as demais possuem trocadores de calor a placas, que utiliza água tratada oriunda de um circuito fechado para controlar a temperatura das dornas entre 32 e 34 °C.

4.1.1.3 Lavagem dos gases

Todas as dornas são fechadas para recuperação de etanol. O gás gerado no processo fermentativo na primeira dorna se comunica com a próxima e assim sucessivamente até a última, através de 4 tubulações na parte superior de cada reator (Figura 4.8). Na quinta dorna o gás é direcionado para uma tubulação de inox, de 10 polegadas de diâmetro, que conduz o mesmo a lavagem.

Figura 4.8 – Tubulação de passagem de gases da fermentação entre dornas.



Fonte: Autora (2016).

Água bruta, proveniente do rio Sumaúma, é utilizada para lavagem destes gases (Figura 4.9), passando antes numa peneira estática para retirada de contaminantes sólidos, sendo a água resultante utilizada para diluir o melão no diluidor e o fermento no pré-fermentador (PF).

Figura 4.9 – Lavagem de gases da fermentação.



Fonte: Autora (2016).

4.1.1.4 Centrífugas de fermento

Na etapa de centrifugação, operam três centrífugas (Figura 4.10) com uma reserva, e dois filtros com um reserva. A lavagem das centrífugas é realizada a cada três

dias de funcionamento, podendo ser antecipada. Já os filtros, são limpos nas mudanças de linhas de fermentação e eventualmente quando necessário.

Figura 4.10 – Centrífugas de vinho.



Fonte: Autora (2016).

4.1.1.5 Pré-fermentador (PF)

O tratamento do fermento é realizado em um pré-fermentador com agitação mecânica e capacidade volumétrica de 52 m³ (Figura 4.11).

Figura 4.11 – Pré-fermentador.



Fonte: Autora (2016).

O antibiótico é adicionado no PF através de bombas dosadoras, sendo a quantidade estabelecida em função do volume de vinho nas dornas.

A relação de água e fermento é de 2:1 e o tempo de retenção no PF de aproximadamente 1,3 horas.

4.1.2 Coleta de dados

O laboratório industrial da Usina Sumaúma realiza o controle físico-químico da fermentação através das análises de pH, percentagem de fermento, acidez sulfúrica, teor etanólico (°GL) e ART do mel. Também é realizado o controle microbiológico, através das análises de concentração de células vivas, viabilidade e brotamento celular.

Para análise do rendimento (etanol produzido por melaço consumido), todo o mel utilizado na fermentação é pesado, através de uma balança com célula de carga que envia os dados automaticamente para o laboratório. Com isso, diariamente é possível relacionar a produção de etanol com o mel processado.

O consumo de antibiótico é controlado diariamente através da dosagem efetuada no tratamento do fermento. E, no fim de cada safra, é gerado um relatório com o consumo total.

4.1.2.1 Descrição analítica

Abaixo segue a descrição das análises supracitadas, para controle fermentativo.

➤ pH

O pH, potencial de hidrogênio, é uma medida que expressa a concentração de íons H^+ , sendo a solução considerada ácida quando $pH < 7$, básica ($pH > 7$) e neutra quando pH igual a 7 (CALDAS, 1998).

A determinação da concentração de íons H^+ na Usina Sumaúma é realizada pelo método potenciométrico, através de um pH-metro Metrohm E 250, calibrado com solução tampão de pH igual a 7 e 4.

➤ Percentual de fermento

A concentração de fermento é determinada por centrifugação, para separação do material sólido do líquido. Este parâmetro é obtido pela diferença de peso de uma amostra antes da centrifugação por 5 minutos a 3.000 rpm e depois, desprezando o sobrenadante (CALDAS, 1998).

➤ Acidez total (sulfúrica)

A análise de acidez sulfúrica (expressa em gramas de H₂SO₄/L de amostra) utiliza o método de titrimetria de neutralização segundo a metodologia de CALDAS, 1998. Utiliza NaOH 0,05 N como agente neutralizante, previamente padronizado com biftalato de potássio 0,1N, e fenolftaleína a 1% como indicador.

$$\text{Acidez Sulfúrica (g H}_2\text{SO}_4\text{/L de amostra)} = V_{g \text{ (NaOH)}} \times 24,5 \times N_{\text{ (NaOH)}}$$

Onde,

V_g = volume gasto na titulação de NaOH a 0,05N;

24,5 = equivalente-grama do ácido sulfúrico (H₂SO₄);

N = normalidade verdadeira do hidróxido de sódio a 0,05N.

➤ Teor etanólico (°GL)

A partir da amostra de vinho coletada no processo fermentativo, 100 mL desta é inserido num Destilador, onde se retira 60 mL do destilado. Completa-se o volume para cem com 40 mL de água destilada. Em seguida, através de seringa com volume de 20 mL, injeta-se o líquido em densímetro digital ANTON-PAAR, fornecendo o percentual de etanol, em % de v/v, gerados na fermentação.

➤ ART do mel

Os Açúcares Redutores Totais (ART), expresso em percentagem, é determinado pelo método de Eynon-Lane. Consiste na titulação em ebulição de uma amostra, antes hidrolisada com ácido clorídrico 1:1 a 65°C por 12 minutos (CALDAS, 1998).

➤ Concentração de células vivas, viabilidade e brotamento celular

A determinação da concentração de células, percentual de brotamento e viabilidade celular é realizado através da câmara de Neubauer, realizando a contagem em 16 campos, utilizando solução de azul de metileno a 0,1% que colore as células mortas (CALDAS, 1998).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

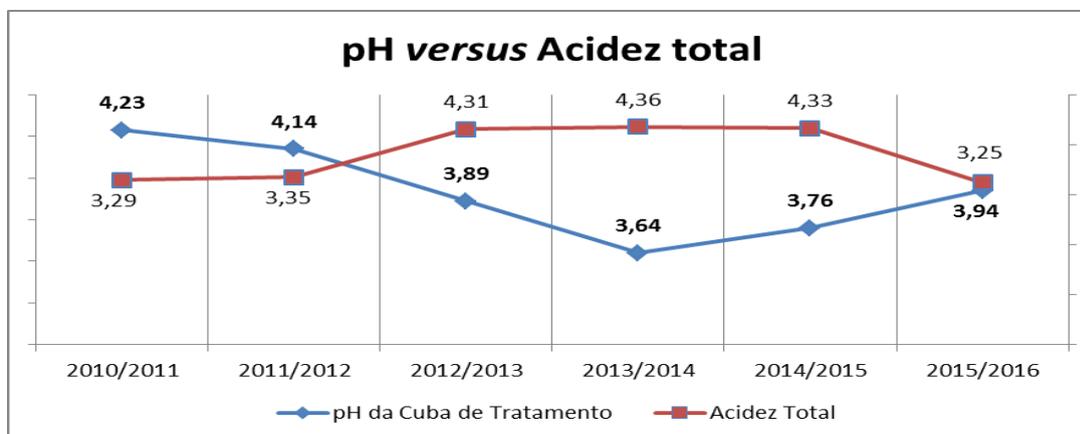
5.1 Análise da condição operacional do processo fermentativo

A condição operacional da fermentação etanólica da Usina Sumaúma constituiu importante fator para se alcançar êxito na substituição do ácido sulfúrico por antibióticos. A fermentação contínua de mosto de melação com duas linhas de dornas independentes propiciou um melhor controle do processo.

As condições de pH proporcionada pelo tratamento ácido provoca a diminuição das condições ótimas de proliferação bacteriana. Quando se usa apenas antibiótico, o pH da cuba de tratamento torna-se menos ácido, sendo esta condição menos favorável ao controle bacteriano, principalmente por se tratar de uma fermentação contínua, onde as condições de assepsia são limitadas.

O gráfico 5.1 mostra o pH da cuba de tratamento do fermento e a acidez total da fermentação utilizando apenas antibiótico como agente antibacteriano a partir da safra 2010/2011.

Gráfico 5.1 – pH da cuba de tratamento do fermento e acidez total da fermentação.



Fonte: Autora (2016).

Sabendo que num tratamento de fermento com ácido sulfúrico o pH normalmente se encontra na faixa de 2,0 a 3,2 (LIMA *et. al.*, 2001), nota-se no gráfico acima que o uso de antibióticos no controle antibacteriano proporciona pH maiores, sendo o menor valor encontrado na fermentação da Usina Sumaúma de 3,64 obtido na safra 2013/2014.

Apesar do antibiótico utilizado nas safras em estudo possuírem o mesmo princípio ativo, houve considerável variação de pH devido as condições do processo

fermentativo. A acidez total, medida indireta do nível de contaminação da fermentação, pois uma contaminação elevada aumenta o teor de ácidos no meio fermentativo (SANTOS, 2008), explica esta variação de pH mostrando no gráfico 5.1 que conforme a contaminação da fermentação aumentava o pH da cuba de tratamento do fermento baixava.

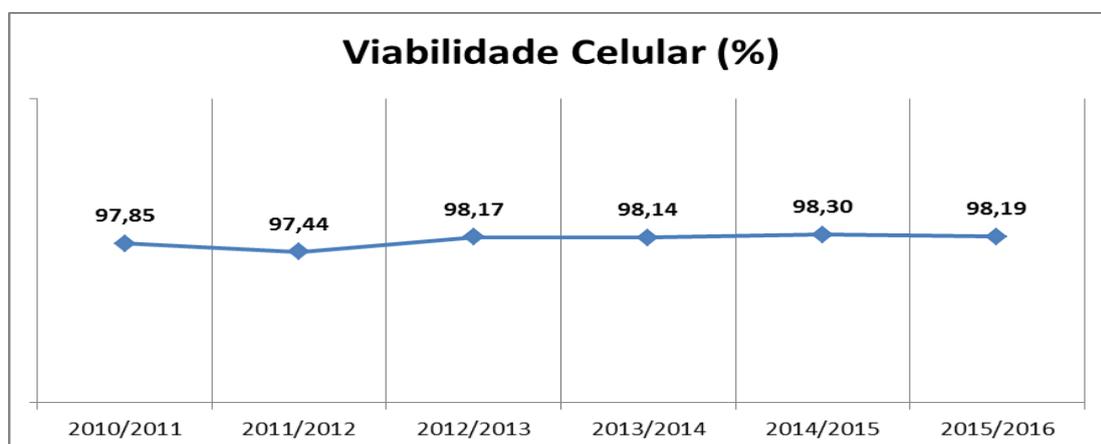
Contudo, para minimizar as condições de pH menos favoráveis ao controle bacteriano e as limitações de assepsia que o processo fermentativo contínuo possui, a Usina Sumaúma possui em seu processo duas linhas de fermentação, sendo mantida uma reserva, e sempre que necessário, normalmente a cada 15 dias, executa a liquidação da linha de dornas em operação e inicia a fermentação na linha reserva, devidamente limpa.

Esta condição operacional de alternar entre linhas do processo fermentativo, permite melhor controle de possíveis fontes de contaminação na fermentação etanólica, assim como estabilidade de pH e acidez, constituindo condição necessária para uma boa condução da fermentação contínua utilizando apenas antibióticos.

5.2 Viabilidade celular das leveduras (%)

O tratamento do fermento com ácido sulfúrico é eficiente, porém nocivo ao mesmo se a quantidade e o tempo de exposição da levedura ao meio ácido não for bem conduzido, podendo ocorrer interferências no metabolismo das células ocasionando perdas de viabilidade celular.

Gráfico 5.2 – Viabilidade celular da fermentação.



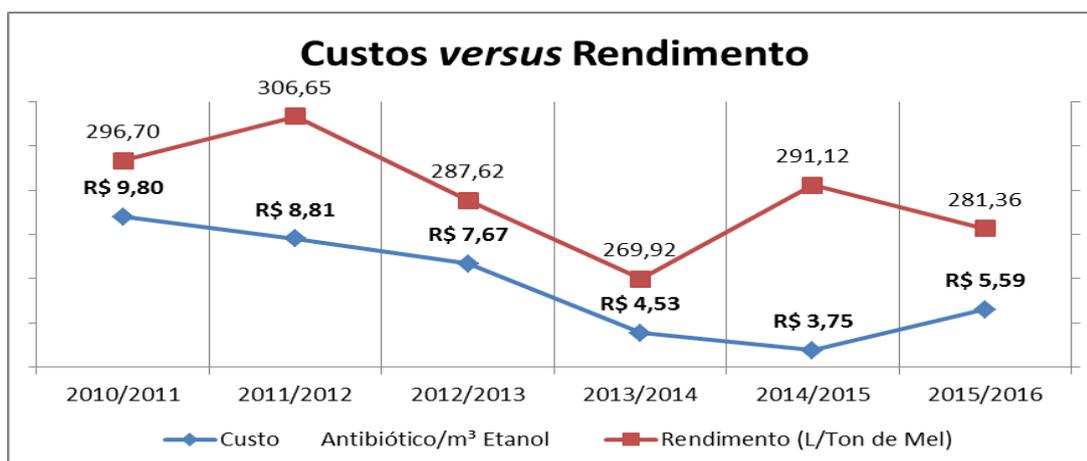
Fonte: Autora (2016).

O gráfico 5.2 apresenta uma viabilidade celular alta utilizando apenas antibióticos na fermentação. Esta condição se deve ao fato do antibiótico atuar exclusivamente na ação contra os contaminantes da fermentação etanólica, não havendo interferências no metabolismo das leveduras.

5.3 Custos com antibióticos

O gráfico 5.3 mostra que houve uma redução gradativa do consumo de antibióticos. A partir dos resultados obtidos na primeira safra sem uso do ácido sulfúrico, 2010/2011, foi possível viabilizar a técnica e promover o seu aperfeiçoamento.

Gráfico 5.3 – Custos e Rendimento da fermentação etanólica.



Fonte: Autora (2016).

A dosagem do antibiótico inicialmente era conduzida de forma contínua. A partir da safra 2013/2014 foi proposto à dosagem intermitente, uma vez que o processo fermentativo é contínuo e com reciclo de células, tal condição favorece o retorno residual do antibiótico.

O primeiro teste proposto foi uma interrupção de 6 horas a cada 18 horas de dosagem contínua de antibiótico. Durante 15 dias foram observados os dados da fermentação, não sendo constatada nenhuma alteração. A partir deste, um segundo teste fora realizado. No período de 15 dias foi administrada uma dosagem intermitente (12 horas) de antibiótico. O resultado deste foi satisfatório para as condições analíticas do

processo de fermentação, passando então a ser a dosagem efetuada a partir da safra 2013/2014.

Considerando uma fermentação contínua, a regularidade do processo é fator primordial para garantir estabilidade operacional e conseqüentemente melhores números produtivo. Porém, esta regularidade nem sempre é possível e devido a isto é necessário aumentar a dosagem de antibiótico em alguns momentos.

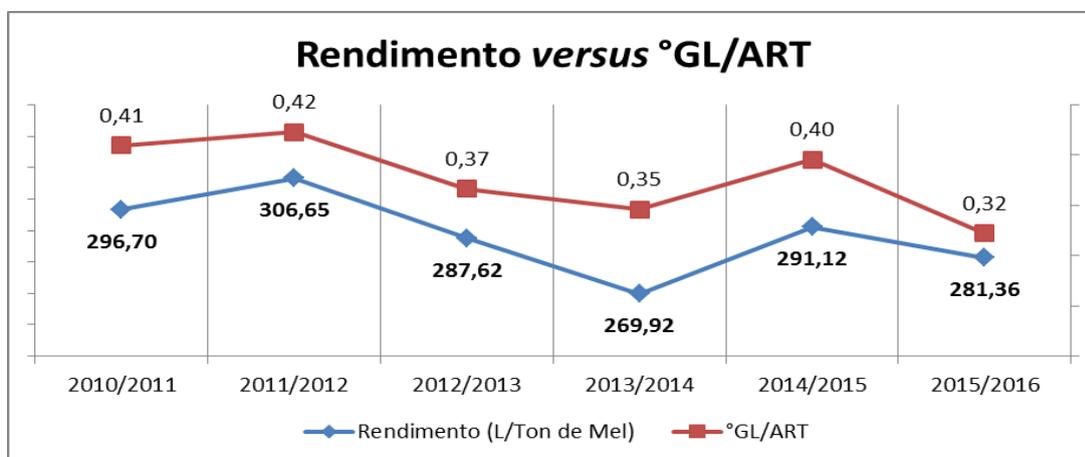
Contudo, o consumo de antibiótico está diretamente relacionado com a estabilidade do processo, sendo possível produzir mais etanol com menor consumo de antibiótico se for garantido maior regularidade da fermentação, como visto na safra 2014/2015.

5.4 Rendimento (etanol produzido por melão consumido)

O bom desempenho de uma fermentação etanólica de mosto de melão sem uso de ácido sulfúrico e sem água tratada para diluição de mosto e fermento, pode ser avaliado pelo rendimento, que segundo a literatura deve estar entre 280 a 320 L de etanol/ ton de mel (VASCONCELOS, 2012). Contudo, as condições citadas anteriormente dificultam a obtenção deste.

O gráfico 5.4 mostra como o rendimento se comportou em relação ao °GL/ART. Esta relação é um importante fator de desempenho da fermentação, porque mostra quanto de etanol foi produzido em função dos açúcares contidos no mosto de alimentação.

Gráfico 5.4 – Rendimento e relação °GL/ART da fermentação etanólica.



Fonte: Autora (2016).

Sabendo que as condições operacionais não se alteraram nas safras em estudo, percebe-se que a relação de °GL/ART foi influenciada principalmente pelas características do melão empregado na fermentação. No gráfico 5.4, percebe-se que na safra 2013/2014 houve uma conversão de açúcares em etanol maior que na safra 2015/2016, porém um rendimento menor, revelando que a qualidade da matéria-prima comprometeu o resultado do mesmo.

A acidez total também exerce influência sobre o rendimento, mas como observado no gráfico 5.1, na safra 2015/2016 houve a menor acidez comparada às outras safras em estudo, contudo ocorreu à taxa de conversão de açúcares em etanol mais baixa, evidenciando mais uma vez a interferência da qualidade do melão no rendimento final da fermentação.

A safra 2014/2015 também mostra a importância da qualidade do melão inserido na fermentação, pois apesar desta ter apresentado um dos maiores valores de acidez total, conforme gráfico 5.1, houve um °GL/ART bom, comparado as outras safras.

A regularidade do processo fermentativo também é fator importante para obtenção de melhores índices de rendimento. Assim como acontece com os custos com antibióticos, uma fermentação mais regular garante maior estabilidade das variáveis do processo e com isso melhor controle operacional.

Contudo, apenas na 2013/2014 houve rendimento fora dos limites aceitáveis para uma fermentação a partir de melão, esta condição devido principalmente à qualidade da matéria-prima empregada, como visto anteriormente no comparativo entre esta e a safra 2015/2016.

6 CONCLUSÕES

Neste estudo foi realizada uma análise da viabilidade de uma condução de fermentação etanólica contínua isenta de ácido sulfúrico, utilizando apenas antibióticos no tratamento do fermento. Para tanto, foi considerado as condições operacionais da planta industrial e as dificuldades de controle analítico do processo fermentativo, devido às limitações de assepsia e utilização de água não tratada na diluição do mosto e fermento.

Sabendo que o controle bacteriano é fundamental para se obter bons rendimentos fermentativos, e uma das ferramentas para tal objetivo é a assepsia das dornas, que elimina possíveis focos de contaminação, as linhas de dornas independentes da fermentação foram importantes e necessárias para se alcançar êxito na substituição do ácido sulfúrico por antibióticos, porque possibilitava a troca de linhas de dornas em operação sempre que necessário, sem comprometimento da produção de etanol.

Com melhor controle das condições de assepsia da fermentação através das linhas de dornas independentes, e o tratamento do fermento a partir de antibióticos, que agem especificamente contra as bactérias do meio fermentativo, sem interferir no metabolismo das leveduras, a viabilidade celular expressou as boas condições da fermentação, com valores altos em todas as safras abordadas no estudo.

O tratamento do fermento com antibióticos propiciou melhores condições microbiológicas para as leveduras. Inicialmente com dosagem contínua e a partir da safra 2013/2014 com dosagens intermitentes de 12 horas, os custos com antibióticos foram inferiores a R\$6,00/m³ de etanol nas três últimas safras em estudo.

Com melhores condições de assepsia e do fermento, numa fermentação contínua a partir de melaço, o rendimento esteve dentro dos limites aceitáveis, sendo a regularidade do processo fator determinante para se alcançar melhores resultados.

Contudo, em condições operacionais adequadas para manutenção da assepsia e o uso de antibióticos no tratamento do fermento, é possível conduzir uma fermentação etanólica contínua sem o uso de ácido sulfúrico. E, para melhor entendimento deste tipo de fermentação e maior segurança dos resultados esperados, pesquisas e testes operacionais devem ser realizados com foco em mais variáveis fermentativas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F. M. DE. **Processo de Fabricação do Açúcar**. 3ª ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2011.
- ALCARDE, A. R. **Efeito da radiação gama em alguns parâmetros microbiológicos e bioquímicos da fermentação etanólica**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2000.
- ALCARDE, V. E.; GALLO, C. R.; OLIVEIRA, A. J. DE. **Avaliação de Antimicrobianos na germinação de esporos e células vegetativas de bactérias isoladas de processos de fermentação alcoólica**. Semina: Ci. Biológicas/Saúde. v. 17. n. 2. p. 223-229, 1996.
- AMORIM, H. V. DE. **Controle microbiológico no processo de fermentação alcoólica**. Apostila Fermentec, p. 9 – 18. 2000.
- AMORIM, H. V. DE. **Fermentação Alcoólica: ciência e tecnologia**. Piracicaba: FERMENTEC, 2005, 448 p.
- AMORIM, H. V. DE. **Métodos analíticos para o controle da produção de álcool e de açúcar**. 2ª ed. Piracicaba: FERMENTEC, 1996, 194 p.
- ANDRADE, E. T. DE.; CARVALHO, S. R. G. DE., SOUZA, L. F. DE. **Programa do Proálcool e o Etanol no Brasil**. ENGEVISTA, V.11, nº 2, p. 127-136, dezembro 2009.
- ANDRIETTA, M. DA G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. **Bioetanol – Brasil, 30 anos de vanguarda**. Divisão de Biotecnologia e Processos – Universidade de Campinas – UNICAMP. Campinas – SP. 2006.
- BADIN, F. **Biocidas naturais e seus reflexos sobre contaminantes na produção de etanol**. Dissertação de Mestrado (Universidade Estadual Paulista). Jaboticabal, 2010.
- BARRETO, V. B.; COELHO, A. C. D. **Distillation**. In: Santos, F.; Borém, A.; Caldas, C. (Ed.). **Sugarcane: Bioenergy, Sugar and Ethanol – Technology and Prospects**. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, MAPA/ACS: UFV/DEA, 2012. 568p.: Il.; 22cm – , cap. 16, p. 451-487, 2012. ISBN: 978-85-7991-058-6.
- BASTOS, V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, 2007, 35 p.
- BIODIESELBR. **Proálcool**. < <http://www.biodieselbr.com/proalcool/proalcool/programa-etanol.htm>>. Acesso em: 16 de Maio de 2015.
- BNDES e CGEE. **Bioetanol de Cana-de-Açúcar: Energia para o Desenvolvimento Sustentável**. Rio de Janeiro: 2008. 316 p.
- BOSSO, A. de A.; MACHADO, M. L. **Álcool da Cana ou do Milho?**. Revista Ciências do Ambiente On-Line, Vol. 2, Nº 1, 2006, pág. 26-30.

- CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. **Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais**. Ciência & Tecnologia, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 27-37, 2011.
- CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. 1ª ed. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas, 1998.
- CARVALHO, G. B. M.; ROSSI A. A.; ALMEIDA E SILVA, J. B. **Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 2ª parte – A fermentação**. Revista Analytica, n.26, p. 46-54, 2007.
- CARVALHO, J. M. DE.; SATO, S. **Biotecnologia Industrial: Fermentação Descontínua**. Vol. 2. Cap. 9. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.
- CARVALHO, S. P. DE.; CARRIJO, E. L. DE O. **A produção de álcool: do PROÁLCOOL ao contexto atual**. Londrina: Sober, 2007.
- CAVALCANTI, G. de A. **A dinâmica econômica do Proálcool: Acumulação e Crise 1975-1989**. Revista brasileira de Energia, Vol. 2, nº 1, ano 1992.
- CEBALLOS-SCHIAVONE, C. H. de M. **Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar visando a redução de contaminantes bacterianos – *Lactobacillus* – na produção de etanol e eficiência de tratamento do fermento por etanol**. Dissertação de Mestrado (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”). Piracicaba, 2009. 177p.
- CHERUBIM, R. A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2003.
- CIB – Conselho de Informações sobre Biotecnologia. **Guia da Cana-de-Açúcar, Avanço Científico Beneficia o País**. 2009, 20p.
- CODISTIL. **Manual de Operação das Destilarias de Alcool Etilico**. Piracicaba: Departamento de Engenharia, 1978.
- COPERSUCAR. **Fermentação**. São Paulo: CTC, 1987.
- ENERGIAS RENOVÁVEIS. **USGA: Em 1927, primeiro grande empreendimento brasileiro em álcool combustível**. <<http://aondevamos-energiasrenovaveis.blogspot.com.br/2011/10/usga-em-1927-primeiro-grande.html>>. Acesso em: 16 de Maio de 2015.
- FACCIOTTI, M. C. R. **Biotecnologia Industrial: Fermentação Contínua**. Vol. 2. Cap. 12. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.
- FREITAS, M. D.; ROMANO, F. P. **Tipos de contaminações bacterianas presentes no processo de fermentação alcoólica**. Bioenergia em revista: diálogos, ano 3, n. 2, p. 29-37, jul./dez. 2013.

FIESP. **Safra mundial de milho**. < http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachment/boletim_milho_agosto2016/>. Acesso em: 12 de Setembro de 2016.

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. **Efeito do tratamento ácido no fermento sobre a microbiota bacteriana contaminante da fermentação alcoólica**. STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos. Piracicaba, v. 9, n. 6, p. 35 – 37, 1991.

GUT, J. A. W.; PINTO, J. M. **Conhecendo os trocadores de calor a placas**. Dep. De Eng. Química – Universidade de São Paulo, USP. São Paulo – SP, [2001?].

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA. **Terças Tecnológicas apresenta um panorama das pesquisas em biocombustíveis nos últimos 90 anos**.

<<http://www.int.gov.br/sala-de-imprensa/noticias/item/5156-tercas-tecnologicas-apresenta-um-panorama-das-pesquisas-em-biocombustiveis-nos-ultimos-90-anos>>. Acesso em: 16 de Maio de 2015.

LIMA, U. DE A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. DE. **Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. Vol. 3. Cap. 1. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

LIMA, U. DE A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. DE. **Biotecnologia Industrial: Produção de Etanol**. Vol. 3. Cap. 1. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

LIMA, W. J. N. **Produção de proteínas recombinantes utilizando *Escherichia coli* em cultivos em alta densidade celular**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

LUDWIG, K. M.; OLIVA-NETO, P.; ANGELIS, D. F. DE. **Quantificação da floculação de *Saccharomyces cerevisiae* por bactérias contaminantes da fermentação alcoólica**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 21, n. 1, p. 63-68, Campinas, 2001.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva do milho**. Série Agronegócio. Secretaria de Política Agrícola - SPA, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura – IICA. Coordenador Luiz Antônio Pinazza. – Brasília, 2007.

MARANGONI, C. **Implementação de uma Estratégia de Controle com Ação Distribuída em uma Coluna de Destilação**. Tese de Doutorado (Universidade Federal de Santa Catarina). Florianópolis, 2005. 144 p.

MENEGUELO, A. P. **Contribuições à Análise e Modelagem de Operações Transientes de Colunas de Destilação**. Tese de Doutorado (Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis), 2007, 177p.

MICHEL JÚNIOR, R. J. S. **Obtenção do Álcool Etilico Hidratado, com graduação Alcoólica para uso Automotivo: Validação de um Processo em Batelada**.

Dissertação de Mestrado (Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM). 146 p. 2010.

MILANEZ, A. Y.; NYKO, D.; VALENTE, M. S.; XAVIER, C. E. O.; KULAY, L. A.; DONKE, C. G.; MATSUURA, M. I. da S. F.; RAMOS, N. P.; MORANDI, M. A. B.; BONOMI, A.; CAPITANI, D. H. D.; CHAGAS, M. F.; CAVALETT, O.; GOUVÊIA, V. L. R. de. **A Produção de Etanol pela Integração do Milho-Safrinha às Usinas de Cana-de-Açúcar: Avaliação Ambiental, Econômica e Sugestões de Política.** Revista do BNDES 41, 2014, pág. 147-208.

MUTTON, M. J. R. **Avaliação da fermentação etanólica do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) tratadas em maturadores químicos.** Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. São Paulo, 1998, 178 p.

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. DE. S.; PINTO, O. G.; NAVES, P. L. F. **Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira.** ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N° 11, 2010.

NOVACANA. **Perspectivas para o etanol na matriz de transportes no Brasil.** < <https://www.novacana.com/n/etanol/carros/19-apresentacoes-evento-bndes-etanol-250915/> >. Acesso em: 11 de Setembro de 2016.

OLIVA-NETO, P. **Estudo de diferentes fatores que influenciam o crescimento da população bacteriana contaminante da fermentação alcoólica por leveduras.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 1995.

OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. **Effects of nutritional factors on growth of *Lactobacillus fermentum* with *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation.** Revista de Microbiologia. São Paulo, n. 28, p. 25 – 31. 1997.

PACHECO, T. F. **Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?.** Circular Técnica, 2011, 6p.

PICOLI, M. C. A. **Estimativa da Produtividade Agrícola da Cana-De-Açúcar Utilizando Agregados de Redes Neurais Artificiais: Estudo de caso Usina Catanduva.** Dissertação (Mestrado no setor de Sensoriamento Remoto do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE - São José dos Campos), 2007, 93p.

PRADO, J. L. **Uso de antibióticos convencionais e antimicrobianos a base de lúpulo no controle da infecção bacteriana em fermentação alcoólica.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrônômicas. Botucatu, SP. 2014.

RASOVSKY, E. M. **Álcool: Destilarias. Instituto do Açúcar e do Álcool.** Rio de Janeiro: Coleção Canavieira, nº 12. 23 – 34 Pág. 1973.

SANTOS, A. M. DOS. **Fermentação alcoólica com levedura imobilizada em colmos de bambu e em fibra de coco**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2008.

SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial: Microrganismos e meios de cultura para utilização industrial**. Vol. 2. Cap. 2. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

SEJIMO, W. N. **Obtenção do Álcool Anidro**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Biocombustíveis - Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza - Araçatuba). 44 p. 2011.

SOUZA, L. DO S. S. DE. **Avaliação do processo de produção de etanol pela fermentação do caldo de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*)**. 84 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química - Universidade Federal do Pará, Belém – PA, 2013.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Química. Campinas, SP. 2001.

STROPPIA, C. T.; **Avaliação da ação de antibióticos utilizados na fermentação alcoólica através do consumo de açúcar por bactérias contaminantes**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, 1998.

UDOP – União dos Produtores de Bioenergia. **Tabela de Comparação da Produção Sucroalcooleira do Brasil 2001 a 2013**. <http://www.udop.com.br/download/estatistica/institucional_economia/27abr15_planilha_comparacao_setor_sucroalcooleiro.pdf>. Acesso em 11 de junho de 2015.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-Açúcar. **Produção e uso do etanol combustível no Brasil**. Respostas às Questões mais Frequentes. 70 p. 2007.

VALLE, T. L., FELTRAN, J. C., CARVALHO, C. R. L. **Mandioca para produção de Etanol**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2009.

VASCONCELOS, J. N. DE. **Estudo sobre a composição química de melaios do Estado de Alagoas**. STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos, p. 45 – 51. 1985.

VASCONCELOS, J. N. DE. **Ethanollic Fermentation**. In: Santos, F.; Borém, A.; Caldas, C. (Ed.). **Sugarcane: Bioenergy, Sugar and Ethanol – Technology and Prospects**. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, MAPA/ACS: UFV/DEA, 2012. 568p.:Il.; 22cm – , cap. 15, p. 451-487, 2012. ISBN: 978-85-7991-058-6.

YOKOYA, F. **Problemas com contaminantes na fermentação alcoólica**. STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos. Piracicaba v. 9, n. 5, p. 38 – 39, 1991.

ZOCCA, M. **Centrífugas de Fermento**. Piracicaba: COTIP, 2007.

ZOCCA, M. **Dornas de Fermentação**. Piracicaba: COTIP, 2007.