

Etec. Professor Carmelino Corrêa Júnior
CURSO TÉCNICO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM TÉCNICO EM BIOTECNOLOGIA

Samantha Silva Ferreira

Thei Augusto da Silva

Ana Beatriz dos Santos

Hechilen Cristina Rodrigues Coco

Fermentação alcoólica com alta presença de açúcar

Franca

2021

ETEC. PROFESSOR CARMELINO CORRÊA JÚNIOR
CURSO TÉCNICO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM TÉCNICO EM BIOTECNOLOGIA

Samantha Silva Ferreira

Thel Augusto da Silva

Ana Beatriz dos Santos

Hechilen Cristina Rodrigues Côco

Fermentação alcoólica com alta presença de açúcar

Trabalho de graduação apresentado à instituição de ensino técnico ETEC. Professor Camelino Corrêa Júnior, como parte dos requisitos necessários para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão do curso de Biotecnologia.

Franca

2021

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DO TRABALHO DA DISCIPLINA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE SAMANTHA SILVA FERREIRA,
THEL AUGUSTO DA SILVA, ANA BEATRIZ DOS SANTOS, HECHILEN CRISTINA
RODRIGUES CÔCO, APRESENTADO À INSTITUIÇÃO DE ENSINO TÉCNICO
ETEC. PROFESSOR CARMELINO CORRÊA JÚNIOR, EM ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Orientador(a): _____

Nome: Profa. Dra. Joana D'Arc Felix Sousa

Instituição: ETEC Prof. Camelino Corrêa Júnior

Examinador(a) 1: _

Nome:

Instituição ETEC Prof. Camelino Corrêa Júnior

Examinador(a) 2 :_ _

Nome:

Instituição: ETEC Prof. Camelino Corrêa Júnior

Franca

2019

RESUMO

A fermentação com alta concentração de açúcar (VHG, very high gravity) é um tema recorrente, porém a maior dificuldade é vencer a inibição que o etanol produzido, como consequência da alta concentração de açúcar, exerce sobre as várias cepas de levedura. Na fermentação alcoólica em VHG, a levedura está sujeita a várias situações de estresse, tais como a pressão osmótica devido à alta concentração de açúcar e ao etanol gerado na fermentação. A situação de alta concentração inicial de açúcar pode ser contornada operando em batelada alimentada, numa situação em que a alimentação do mesmo se dá de uma forma controlada, de forma a não se atingir no reator uma concentração em situação de inibição pela alta concentração de substrato. Também em operação em processo de fermentação contínua é possível trabalhar com alta concentração de açúcar na alimentação e uma concentração relativamente baixa no reator. Assim, o principal gargalo em um processo de fermentação alcoólica industrial em condições de VHG é a inibição pelo etanol, que limita o rendimento e a produtividade. Visando diminuir o efeito da forte inibição pelo etanol, as linhas de pesquisa mais estudadas em termos de processo tem sido a remoção do etanol à medida que ele é produzido e avaliação das condições de processo.

Palavras chave: etanol, biocombustíveis, VHG.

ABSTRACT

High-gravity (VHG) fermentation is a recurring theme, but the greatest difficulty is to overcome the inhibition that the ethanol produced as a consequence of the high sugar concentration exerts on the various strains of yeast. In alcoholic fermentation in HGV, the yeast is subject to several stress situations, such as the osmotic pressure due to the high concentration of sugar and the ethanol generated in the fermentation. The situation of high initial sugar concentration can be circumvented by operating in a fed batch, in a situation in which the feed is given in a controlled way, so that a concentration in the inhibitor is not reached by the high concentration of substrate. Also in operation in continuous fermentation process is possible to work with high sugar concentration in the feed and a relatively low concentration in the reactor. Thus, the main bottleneck in an industrial alcoholic fermentation process under HGV conditions is inhibition by ethanol, which limits yield and yield. In order to reduce the effect of the strong inhibition by ethanol, the most studied research lines in terms of process have been the removal of ethanol as it is produced and evaluation of the process conditions.

Key words: ethanol, biofuels, HGV.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Produção da safra 2011/2012.....	
11 Figura 2- Os dez principais produtores mundiais de etanol, 2011.....	
12 Figura 3 - Via metabólica simples da alcoolização na levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
13 Figura 4- Processo fermentativo genérico.....	
14 Figura 5- Fluxograma do processo batelada alimentada.....	
15 Figura 6- Processo contínuo com dornas ligadas em série.....	
16 Figura 7- Fatores de estresse que afetam as células de levedura em fermentações industriais para a produção de etanol e mecanismos comuns de defesa da célula baseados em trealose, glicogênio, ácido succínio e glicerol.....	
17 Figura 8- Esquema simplificado do processo de fermentação alcoólica acoplado ao evaporador.....	
25 Figura 9 - Esquema do processo de pervaporação com vácuo ou corrente com gás inerte.....	27

SUMÁRIO 1.

INTRODUÇÃO.....	8 1.1.
Biocombustíveis.....	8 1.2.

Etanol.....	8	2.
PRODUÇÃO DE ETANOL		
BRASILEIRA/MUNDIAL.....	10	2.1.
Produção Brasileira.....	10	
2.2. Produção		
Mundial.....	11	3.
PROCESSO FERMENTATIVO		
INDUSTRIAL.....	13	3.1.
Bioquímica da		
fermentação.....	13	3.2.
Processo fermentativo		
genérico.....	14	3.3.
Processo batelada.....	15	
3.4. Processo batelada		
alimentada.....	15	3.5.
Processo contínuo.....	16	4.1.
16 4. FATORES QUE AFETAM A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	16	4.1.
Temperatura.....	17	4.2.
Contaminação		
bacteriana.....	18	4.3.
Concentração de		
inóculo.....	18	4.4.
pH.....	19	5.
FERMENTAÇÃO		
VHG.....	19	5.1.
Extração contínua com remoção de CO ₂ para produção de		
etanol.....	20	5.2.
Controle de temperatura para obtenção de vinhos mais		
concentrados.....	22	5.3.
Evaporação à		
vácuo.....	23	5.4.
Pervaporação.....	25	6.
Considerações		

finais.....	27 7.
REFERÊNCIAS.....	28

1. Introdução

1.1. Biocombustíveis Há tempos é discutido a substituição dos combustíveis fósseis (carvão mineral, petróleo e gás natural), pois são provenientes da queima de recursos naturais não renováveis, em que o gás carbônico (CO₂) é o principal colaborador para o aumento do efeito estufa, e conseqüentemente, o aquecimento global gerando grandes impactos no meio ambiente. No mundo atual, os países tem buscado fontes de energia limpa devido a esta questão de mudança climática (BIOBLOG, 2018). Uma possibilidade de reduzir o lançamento de substâncias poluentes na atmosfera é a utilização de biocombustíveis. Além disso, o aumento no preço do petróleo impulsiona o uso do biocombustível, como uma opção de energia renovável e menos poluente. Na produção dos biocombustíveis são utilizadas as matérias-primas de origem vegetal, tais como, o milho, a cana-de-açúcar, os cereais, as beterrabas e as plantas oleaginosas. O biodiesel e o etanol são os principais biocombustíveis utilizados no Brasil (BIOBLOG, 2018). Além disso, o biocombustível é uma fonte de energia gerado pelo processo de fotossíntese, onde a energia do sol é capturado e transformado em biomassa que pode ser queimado para produzir energia (BNDES,2008). No primeiro semestre de 2018, o consumo médio mensal de 2.2 bilhões de litros de etanol pelos carros flex evitou a emissão de 32 milhões de toneladas de dióxido de carbono na atmosfera, um recorde em 15 anos. Nestes últimos 15 anos, o uso do biocombustível já acumula uma redução superior a 480 milhões de toneladas de dióxido de carbono, gás responsável pelo aquecimento global (ÚNICA,2018).

1.2. Etanol No ano de 1920, o etanol inicia a sua comercialização no Brasil, porém somente após a implementação do Programa Nacional do Alcool permitiu o investimento do setor privado. Mas nesse período o programa não obteve sucesso, pois a produção interna do petróleo aumentava, enquanto seu preço internacional reduzia, levando à queda na produção de etanol.

Apenas em 2003, a crescente produção de etanol se concretizou com o lançamento de veículos flex (BIOBLOG,2018). O etanol da cana-de-açúcar mostrou, até agora, ser o mais competitivo pelas seguintes razões:

- Redução de GEE (gases de efeito estufa) em 84% (em termos de volume), enquanto o etanol produzido à partir do milho reduz as emissões de GEE em 30% e etanol de beterraba em 40%.
- O custo de produção é menor que o milho em 60% e em 75% menor em relação à produção à partir da beterraba.
- O rendimento em litros de etanol por hectare (64701/ha) é significativamente maior do que o rendimento do milho (41801/ha) ou beterraba (55001/ha). O etanol é produzido a partir da cana-de-açúcar por um processo simples de fermentação do suco. Os talos são esmagados para extrair o suco e o bagaço restante é queimado para originar eletricidade para operar a usina e o excedente dessa eletricidade é vendida. Pesquisas atuais visam melhorar o processo de conversão da biomassa em etanol e reduzir o custo de produção. O rendimento da fermentação é sensível a diversos fatores, como o excesso de temperatura, ausência de vitaminas, variações no pH, falta de nutrientes minerais, entre outros (BASSO; ALVES; AMORIM, 1996). Dessa forma, muitos destes fatores tem sido trabalhados para o melhoramento do processo fermentativo. Adicionalmente, tendências dos mercados internacionais levaram a indústria sucroalcooleira brasileira a direcionar o caldo de cana para a cristalização da sacarose e produção de açúcar. O desvio da cana para a produção de açúcar gerou a necessidade de suplementar o caldo disponível com o melaço para a fermentação, o que resultou num estress adicional para a levedura, já que este faz aumentar drasticamente a tensão osmótica dos meios fermentativos (GIUDICI et al.,2005). A verdadeira inovação consistiria em conseguir concentrar o processo mantendo a eficiência, ou seja, aumentar a concentração de açúcar nos fermentadores sem diminuir a viabilidade das leveduras e mantendo o rendimento de produção, dessa forma produzir mais etanol em menos tempo com o mesmo volume de fermentação. Uma fermentação desse tipo, com alta concentração de açúcar (High Gravity), e por consequência alta concentração de etanol, é uma tecnologia que pode potencializar a produtividade, o rendimento e a capacidade implantada das destilarias sem necessidade de grandes investimentos (BASSO et al.,2008). Fermentação VHG apresenta baixo consumo de energia e água, e alta

produtividade anual de etanol, tornando-se uma tecnologia promissora para a indústria de etanol. Sob condições de VHG, a levedura encontra várias tensões induzidas por altas concentrações de dextrina, resultando em fermentação lenta do etanol e utilização incompleta de açúcar. O oxigênio é necessário durante a fermentação VHG, a fim de sintetizar ácidos graxos insaturados para manter a integridade da membrana celular e ajudar as células a se adaptarem aos efeitos negativos. Devido às características anaeróbica de fermentação, o excesso de oxigênio no caldo irá redirecionar a via metabólica para a formação de biomassa e portanto menor rendimento de etanol para açúcar. Logo, o oxigênio dissolvido deve ser regulado com precisão (BOLETIM DCR,2014). Entre muitos microorganismos que foram explorados para a produção de etanol, a *Saccharomyces cerevisiae* é o microrganismo que ainda permanece como a principal espécie a ser utilizada em grande escala para fermentação e produção do bioetanol devido à sua capacidade de fermentar uma vasta gama de açúcares e desenvolver os mecanismos adequados para lidar com as condições de estresses encontrados nos processos de VHG (BAI et al., 2008).

2. Produção de etanol brasileira/mundial

2.1 Produção Brasileira

O automóvel foi uma das invenções mais impressionantes que mudou o estilo de vida da humanidade. Os primeiros carros foram projetados para funcionar com etanol. No entanto, devido à descoberta de novos campos de petróleo, sua abundância e preços baixos no início do século XX, os motores estavam sendo modificados, dando preferência para combustíveis à base de petróleo. Então, a gasolina tornou-se a principal opção de combustível para carros em todo o mundo (POTTER NI,2008). No entanto, com a crise do petróleo de 1970, o governo brasileiro lançou o programa “Proálcool” em 1975, com o objetivo de reduzir a dependência do país das importações de petróleo. Na primeira fase do programa, o etanol foi adicionado à gasolina. Em 1980, a produção de veículos leves movidos à etanol atingiu 95% de toda a frota produzida no Brasil. Aumentando o consumo de etanol e reduzindo significativamente a dependência do petróleo (BIODISELBR,2008). A principal forma de extração de etanol no Brasil é a partir do processo fermentativo da cana-de-açúcar, o que torna o Brasil o maior produtor mundial de cana. Um decreto foi criado determinando a mistura de álcool anidro à gasolina, sendo a fração de etanol anidro cerca de 27 % (NOVA CANA,2018). O Brasil tem várias vantagens no cenário de produção de biocombustível, sendo uma

delas devido ao seu extenso e vasto território, também é favorecido na posição geográfica, recursos hídricos abundantes e intensa radiação solar todo o ano por situar-se na faixa tropical e subtropical do planeta (BIODISELBR,2008).

A Figura 1 apresenta a produção de cada estado.

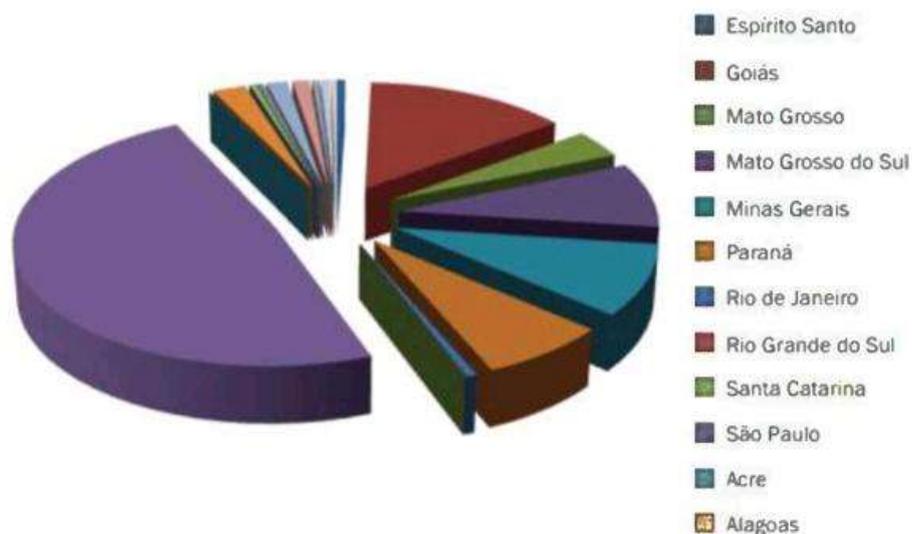


Figura 1: Produção da safra 2011/2012. Fonte: adaptado de Única (2018)

2.2 Produção Mundial

No ano de 2011, foram produzidos 107,5 bilhões de litros de biocombustíveis (86,1 bilhões de etanol e 21,4 bilhões de biodiesel), um valor que representa 2% de crescimento em relação ao ano de 2010 (105 bilhões de litros, sendo 86 bilhões de litros de etanol e 19 bilhões de litros de biodiesel). Os dez maiores produtores mundiais representam 93,7% de toda produção. No entanto, Estados Unidos e Brasil, os dois maiores produtores, apresentam 77,3% da produção total de biocombustíveis do mundo. Além desses dois líderes, podemos destacar o Canadá que utiliza o trigo e o milho; a China utiliza a mandioca, sorgo e milho (BOLETIM DCR,2012). Os Estados Unidos produzem etanol de milho e é o maior produtor do mundo com a produção de 50 bilhões de litros por ano (CANAL BIOENERGIA,2016). Nas usinas norte- americanas, na maioria dos casos o milho é moído até ser transformado em farinha, após este processo são adicionadas água e enzimas, assim sendo obtida uma pasta que passa por fermentação até gerar o álcool

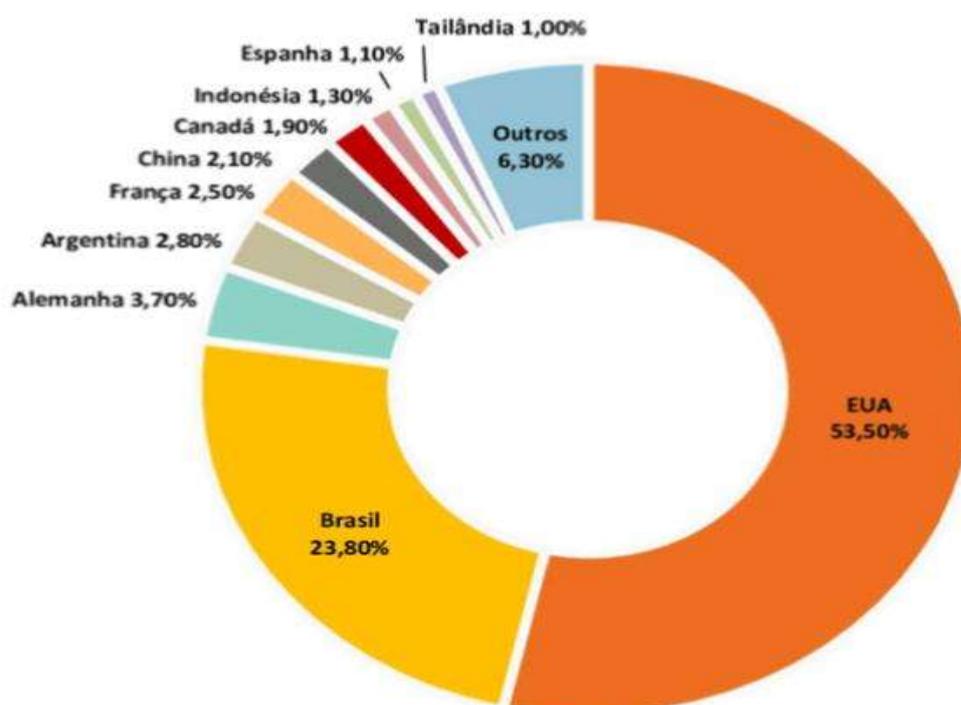


Figura 2- Os dez principais produtores mundiais de etanol, 2011. Fonte: adaptado de DCR, 2012.

(BIOBLOG,2017). Na Alemanha, o etanol é produzido à base de beterraba açucareira, atingindo em 2013 uma produção aproximada de 852 milhões de litros

de etanol (NOVACANA,2014). Na Figura 2 a seguir pode-se observar os dez maiores produtores mundiais de etanol:

3. Processo fermentativo industrial

3.1 Bioquímica da fermentação Em todo bioprocessamento industrial o reator é um equipamento fundamental, pois nele ocorre as transformações bioquímicas até a obtenção do produto final da fermentação. A transformação da matéria-prima em álcool é efetuada por microrganismos, usualmente as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, por meio da fermentação alcoólica. O sucesso de um processo fermentativo depende de vários fatores, sendo um deles a forma de condução do processo, para isso é extremamente importante que se inocule no mosto uma quantidade de leveduras capaz de converter os açúcares em álcool e gás carbônico, dentro de determinadas condições. Este conjunto de microrganismos recebe o nome de pé-de-cuba ou simplesmente fermento (AGEITEC,2018). A Figura 3 ilustra um esquema simplificado do caminho metabólico da fermentação alcoólica. Em primeiro lugar, a sacarose é convertida em glicose e frutose na reação de hidrólise catalisada pela enzima invertase. Conseqüentemente, glicose e frutose são convertidos em piruvato. Cada molécula de piruvato é convertida a acetaldeído em uma reação de descarboxilação através da ação da enzima Piruvato Descarboxilase que gera uma molécula de CO₂. Esse acetaldeído é reduzido a etanol a partir da enzima álcool desidrogenase. A fermentação produz também biomassa celular e outros produtos como o glicerol e ácidos orgânicos (RODRIGUES et al., 2018).

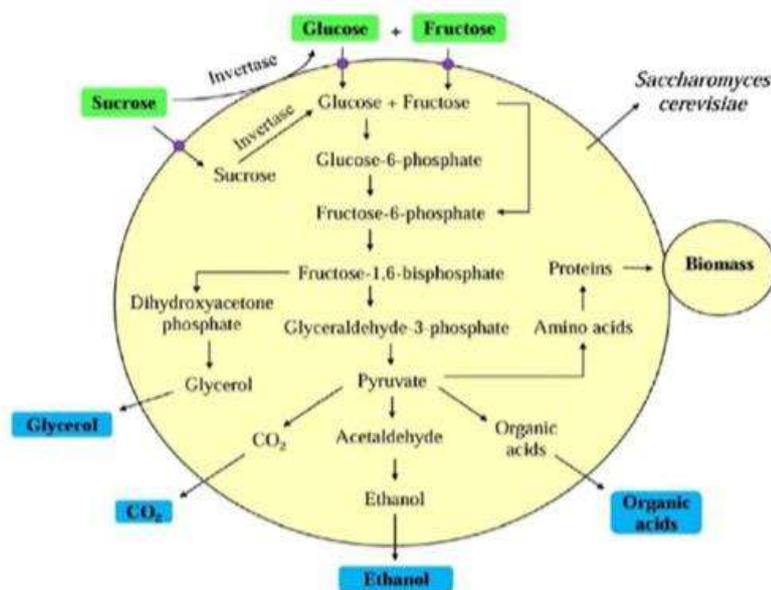


Figura 3 - Via metabólica simples da alcoolização na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Fonte: Rodrigues et al., 2018.

3.2 Processo fermentativo genérico É mostrado na Figura 4 um processo de produção genérico do etanol a partir da cana de açúcar. Após a cana de açúcar ser cortada, ela é levada rapidamente para a usina com a finalidade de evitar desperdício de sacarose. Chegando na usina a cana é lavada para a retirada de impurezas, e segue para o preparo e extração. A extração do caldo é feita por um conjunto de rolos trituradores, após essa etapa o caldo contendo sacarose é separado do bagaço. O bagaço é transportado para as caldeiras, onde é queimado para gerar vapor. Esse vapor gerado é usado como combustível para todo o processo produtivo. Parte da energia elétrica gerada pode ser vendida para outras indústrias. O caldo extraído passa por um tratamento químico e após estar completamente puro é levada para as dornas de fermentação. O tempo de fermentação dura em torno de 6 a 8 horas. Ao terminar a fermentação, o teor médio de álcool nestas dornas é de 7% a 10%, e a mistura recebe o nome de vinho fermentado. Após essa etapa, o vinho fermentado é aquecido nas colunas de destilação, onde ocorre a separação do etanol hidratado da vinhaça. A vinhaça retirada em uma proporção aproximada de 13 litros para cada litro de álcool produzido, é constituída principalmente de água, sais sólidos em suspensão e

solúveis e é utilizada como fertilizante. (NOVACANA,2018) Na Figura 4 é mostrado o processo fermentativo genérico para obtenção de álcool a partir da cana de açúcar.

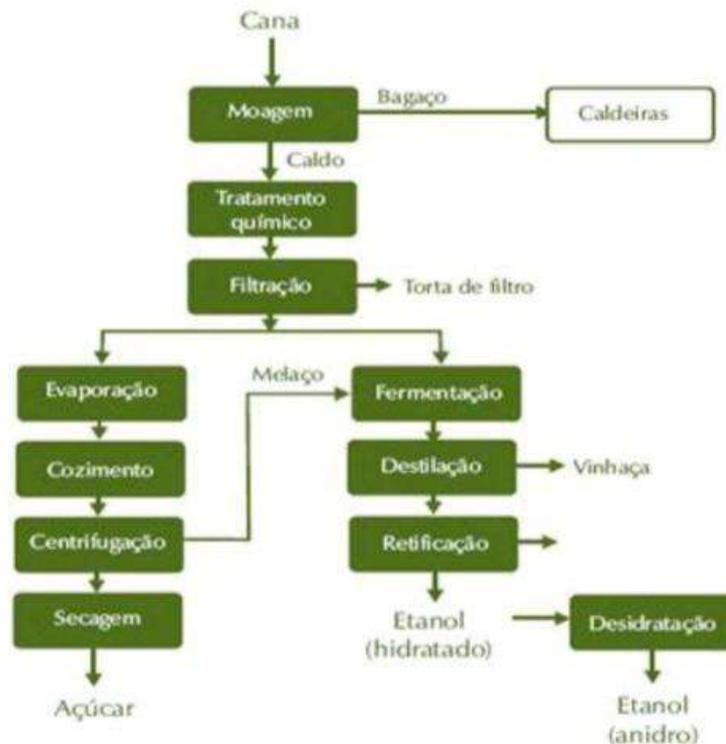


Figura 4: Processo fermentativo genérico. Fonte Seabra(2008)

3.3 Processo batelada A operação da fermentação em batelada ou processo descontínua ocorre inicialmente quando o mosto é adicionado a dorna e então é inoculada com microrganismos e incubada. No decorrer do processo nada é adicionado, exceto oxigênio na forma de ar. Igualmente nada é retirado, exceto gases que não foram gastos. Assim o volume do reator permanece constante. Terminada a fermentação, descarrega-se a dorna, e o meio fermentado segue para os tratamentos finais. Ao final do processo deve-se lavar as dornas e esterilizá-la antes da próxima fermentação. O tempo de enchimento da dorna é um parâmetro extremamente importante, pois é ele que diferencia a fermentação batelada simples da fermentação batelada alimentada. Esta fermentação pode levar a baixos rendimentos e/ou produtividades, quando o substrato é adicionado de uma só vez no

início da fermentação, pois pode formar produtos indesejáveis (CNPEM,2017). 3.4 Processo batelada alimentada O processo fermentativo em batelada alimentada ou Melle-Boinot, é o mais utilizado nas destilarias do Brasil, sendo caracterizado pela recuperação da levedura através da centrifugação do vinho. O mosto é alimentado na dorna de fermentação, que já está preenchida com uma suspensão de levedura. A fermentação do mosto ocorre durante a alimentação da dorna e continua pelo processo batelada até completar a conversão dos açúcares. O tempo de enchimento leva em torno de 5 horas, já o tempo total de fermentação pode levar em torno de 8 a 13 horas. Após esse tempo o vinho é levado para a centrífuga, o vinho centrifugado é levado às colunas de destilação e a levedura recuperada é tratada com diluição de água e adição de ácido. Posteriormente a levedura tratada retorna à dorna para iniciar uma nova fermentação (OLIVEIRA, 2010). A seguir é mostrado na Figura 5 um fluxograma simplificado do processo batelada alimentada:

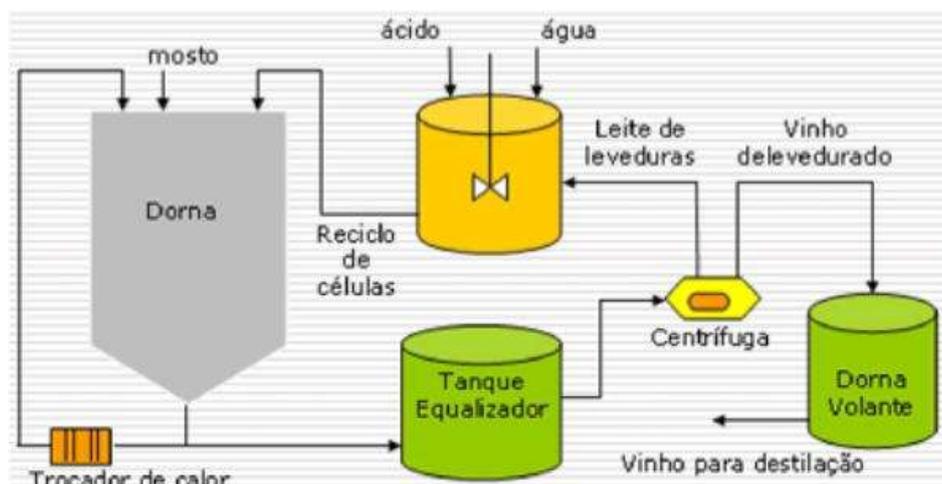


Figura 5: Fluxograma do processo batelada alimentada.

3.5 Processo contínuo

Os processos contínuos estão sendo pesquisados no país a cerca de 30 anos e baseia na alimentação e retirada do mosto com uma vazão constante, de modo que a o volume seja mantido constante (CNPEM, 2017). O mosto e a levedura são misturados na primeira dorna e passará de forma continua para as demais dornas até que todos os açúcares tenham sido consumidos durante o processo. O vinho fermentado que sai da última dorna é enviado para a centrifuga, onde o leite de levedura é tratado (CNPEM, 2017). Esse tratamento passa inicialmente por uma diluição com água e após recebe a adição de ácido até atingir o pH de 2,0 a 3,0. Assim o fermento tratado é enviado para a primeira dorna para iniciar uma nova fermentação (MAGALHÃES, 2007). Já o vinho centrifugado é enviado para a coluna de destilação. É mostrado na Figura 6 a seguir um processo contínuo com dornas ligadas em série e com reciclo de células. C

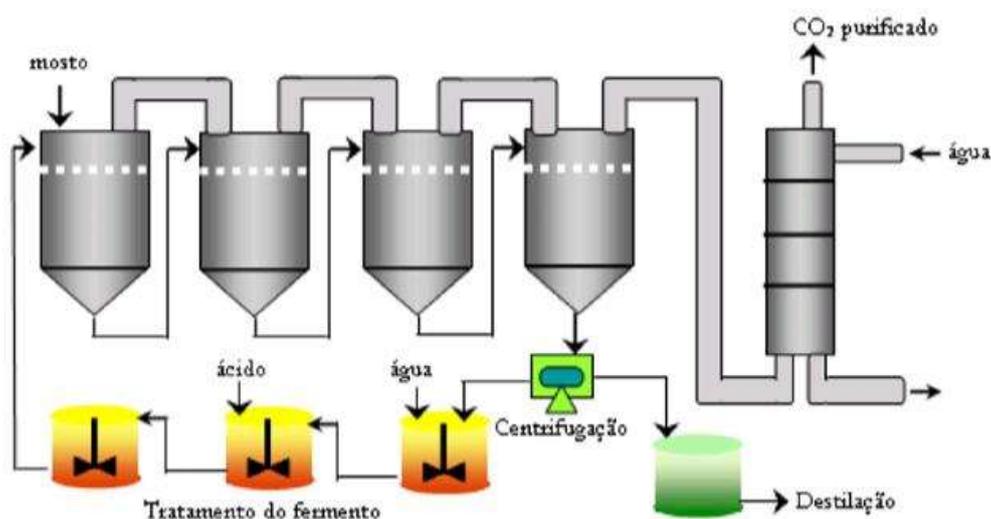


Figura 6: Processo contínuo com dornas ligadas em série. Fonte: Magalhães, 2007.

4. Fatores que afetam a fermentação alcoólica Diversos fatores físicos, químicos e microbiológicos afetam o rendimento da fermentação e a eficiência da conversão de

açúcar em etanol. Esses fatores são referidos como 'estresse' da levedura. Entre os principais fatores que afetam a produção de etanol destacam-se: temperatura, tempo de alimentação do substrato, concentração de inoculo, pH, contaminação bacteriana, nutrientes, e inibidores (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001).

Altas concentrações de açúcar no início e altos níveis de etanol no final da fermentação expõem as leveduras a estresses fisiológicos, e para isso é necessário a utilização de linhagens robustas, que mantenham a viabilidade celular e vitalidade fermentativa durante os ciclos fermentativos. Além do estresse osmótico e etanoico, as leveduras são submetidas a outros tipos de estresses, incluindo lavagens com ácido, contaminação com outros microrganismos, ausência de nutrientes no meio e temperatura elevada. Conseqüentemente o estado fisiológico e a performance fermentativa das leveduras podem se alterar e não permanecer constantes durante os vários ciclos de fermentação. O aumento dos níveis de trealose, glicogênio e glicerol também são caracterizados como respostas ao estresse sofrido pela levedura (BLIECK et al., 2007; DING et al., 2009; ZHAO e BAI, 2009, LOPES, M. L. et al, 2016). A Figura 7 é uma ilustração das condições estressantes vivenciadas por células de leveduras sob condições industriais de fermentação alcoólica.



Figura 7 - Fatores de estresse que afetam as células de levedura em fermentações industriais para produção de etanol e mecanismos comuns de defesa da célula baseados em trealose, glicogênio, ácido succínico e glicerol (LOPES, M. L. et al, 2016- modificado). 4.1 Temperatura O controle da temperatura é um fator de grande importância durante o processo de fermentação, pois a levedura trabalha bem entre temperaturas de 25°C e 30°C. Valores de temperatura acima destes citados podem gerar enfraquecimento da levedura, criar boas condições para o aparecimento de outros microrganismos e ocasionar maiores perdas de álcool por evaporação, já temperaturas inferiores a 25° C diminuem a atividade da levedura (CARDOSO, 2006). A velocidade de conversão de açúcares em etanol aumenta à medida que a temperatura do mosto aumenta, porém pode também propiciar o desenvolvimento de contaminação bacteriana (LIMA et al. 2001). Quando aumenta a concentração de

açúcar, deve-se diminuir a temperatura, a fim de evitar quedas na viabilidade devido ao aumento da quantidade de etanol produzido pelas células de levedura. Assim, é recomendado diminuir a temperatura para minimizar a mortalidade celular e manter níveis elevados da produção de etanol, quando a temperatura está aumentando no reator industrial (LALUCE, et al., 2009). Conforme Lima et al.(2009) “A temperatura é indiscutivelmente um dos parâmetros mais importantes que afetam a fermentação, ela influencia no metabolismo da levedura e na produção de compostos voláteis. O tratamento térmico mostra-se eficiente e conveniente, pois além de destruir microrganismos o calor ainda inativa enzimas que podem causar a deterioração do alimento durante a estocagem. A literatura cita vários tratamentos térmicos utilizados e recomendados para a fermentação alcoólica de forma positiva, ou seja, utilizados para o controle dos fatores negativos da fermentação para obtenção do etanol.”

4.2 Contaminação bacteriana Desde que a fermentação industrial, pela dimensão do processo não é conduzida em condições de completa assepsia, a contaminação bacteriana, principalmente de *Lactobacillus* e *Bacillus*, está sempre presente e, dependendo de sua intensidade, compromete o rendimento do processo fermentativo. As altas temperaturas de fermentação favorecem a contaminação bacteriana, o aumento do tempo de fermentação e o estresse da levedura. A contaminação bacteriana associa-se ao aumento da formação de ácido láctico e, considera-se, na indústria, que essa contaminação é o principal responsável pelo acidente da fermentação alcoólica (LIMA et al., 2001)

4.3 Concentração de inóculo Para a obtenção de fermentações mais rápidas é necessário que as dornas tenham maiores concentrações de levedura, conseqüentemente, maior produtividade e maior controle sobre as bactérias contaminantes, além de restringir o crescimento da própria levedura. No entanto, elevado teor de levedura exige maior consumo de açúcar para manter as células vivas. Como consequência, resultam em maior competição pelos nutrientes do meio, minerais e vitaminas, diminuindo a efetividade do fermento (LIMA et al., 2001). Tendo como propósito a redução do crescimento excessivo da levedura, simultaneamente a diminuição da formação de glicerol e o aumento do rendimento da fermentação, é recomendado a utilização do ácido benzoico (LIMA et al., 2001).

4.4 pH O pH tem influência marcante nas fermentações industriais, devido à sua importância no controle de contaminação bacteriana, ao seu efeito sobre o crescimento de leveduras, às taxas de fermentação e à formação

de subprodutos (CALDAS; BOREM; SANTOS; 2012). As fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo adequada entre 4 e 5. Nos mostos industriais, em geral são encontrados valores de pH na faixa de 4,5 e 5,5. No processo de fermentação com reutilização da levedura, faz-se seu tratamento com ácido sulfúrico em pH de 2,0 a 3,2, durante aproximadamente uma hora, objetivando a redução da carga microbiana (LIMA et al.,2001). A fermentação alcoólica inicia com valores de pH baixos, finalizando com valores de 3.5 a 4,0. Fermentações conduzidas em meios ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pelo fato de restringir o crescimento do fermento, com a conseqüente redução da produção de glicerol, ao mesmo tempo que reduz a contaminação microbiana (LIMA et al., 2001). Uma das características importantes para as leveduras industriais é a tolerância à acidez. Porém, valores muito baixos de pH, além de ocasionarem a perda de nutrientes como nitrogênio e potássio, aumentam a sensibilidade ao etanol, aos ácidos orgânicos e ao SO₂ (LIMA et al., 2001).

4.5 Álcool

O efeito inibitório do álcool produzido por *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação é complexo e resulta no principal fator que desencadeia fermentação incompleta e conseqüentemente diminuição no rendimento do processo. Portanto, o melhor conhecimento do efeito de álcool sobre a levedura pode ser interessante para melhorar a fermentação. O álcool retarda o crescimento da levedura, reduz viabilidade e habilidade fermentativa (FERREIRA, 2002). Os fatores que influenciam na sensibilidade do álcool (temperatura, aeração, composição do meio) agem direta ou indiretamente sobre as propriedades da membrana plasmática. Entretanto, o álcool parece não ter um efeito único, provocando modificações nas propriedades da membrana lipídica e nos sistemas de transporte de soluto e agindo sobre algumas enzimas (STECKELBERG, 2001). Algumas análises evidenciaram que o crescimento celular não é inibido em concentrações de álcool inferiores a 26 g/L, mas é inibido totalmente quando a concentração de álcool atinge 68,5 g/L no meio da fermentação. Da mesma forma ao isolar leveduras de destilarias mostraram inibição de suas atividades fermentativa em batelada simples a 30°C quando a concentração de álcool no meio foi superior a 8%. Acima de 8% de álcool a fermentação ocorre de forma gradativamente reduzida (SOUZA, 2009).

5. Fermentação VHG As concentrações iniciais de açúcar empregadas em fermentações alcoólicas podem ser classificadas em três classes: concentrações

normais (normal gravity, NG) até 180 g/L, concentrações altas (high gravity, HG) na faixa de 180 a 240 g/L e concentrações muito altas (very high gravity, VHG), acima de 250 g/L. Sob condições de VHG a alta pressão osmótica pode ser um problema, pois esta afeta negativamente o crescimento da levedura e a produção de etanol, porém a severidade deste efeito depende principalmente da cepa usada (PHUKOETPHIM et al. 2017; RIVERA et al. 2017). A fermentação alcoólica em VHG pode reduzir o uso de energia no processo de destilação, redução do uso de água, redução da quantidade de resíduo produzido e redução de gastos energéticos, porém em tais processos pode resultar em estresse para a levedura, com perda de viabilidade celular e decréscimo nas taxas de produção de etanol e essa situação de estresse pode ser mais ou menos intensa, dependendo da composição do meio de cultivo e condições operacionais (BAI et al., 2004; BAI et al.,2008). O custo do substrato de fermentação influencia significativamente a economia da produção de etanol. Na tecnologia de fermentação VHG, além do menor investimento, custos de operação e redução da demanda de energia, o uso de insumos econômicos pode reduzir ainda mais os custos e melhorar a economia da produção de etanol.

5.1 Extração contínua com remoção de CO₂ para produção de etanol A fermentação extrativa é um processo onde um produto inibitório é continuamente removido do meio de fermentação. A remoção do inibidor possibilita vantagens importantes para o processo como, por exemplo, o aumento da produtividade do processo. Estudos tem mostrado que uma maneira eficiente de superar o problema de inibição é combinar técnicas de separação com fermentação, removendo etanol do biorreator à medida que ele é produzido.

Souto (2009) define arraste com gás como qualquer processo de transferência de massa em que a passagem de um determinado composto de uma fase líquida para uma fase gasosa seja acelerada, forçando-se o contato do líquido com um gás que não contenha o composto que se deseja remover ou que, se o contiver, este esteja em concentrações muito baixas para que o processo de transferência não seja prejudicado. De acordo com Park e Geng (1992) e Lu et al. (2012), o arraste gasoso utilizado durante a fermentação é um método atraente para a produção em larga escala, devido à sua relativa simplicidade e a remoção seletiva de compostos voláteis em formas limpas que não estão contaminados com material não volátil. Não remove os nutrientes do caldo e não prejudica as células durante a

fermentação. Além disso, para a produção de etanol por fermentação é possível obter o gás de arraste (dióxido de carbono) a um custo zero. Além disso, o etanol por ser um composto volátil, pode ser separado do caldo de fermentação por meio do arraste gasoso. Essa técnica apresenta a vantagem de não necessitar fazer a aquisição de produtos caros como membranas ou solventes. Atualmente, o CO₂ gerado nas dornas de fermentação é descartado sem ser utilizado pelas destilarias. Assim, as usinas possuem à disposição durante o período de processamento da cana um grande volume de dióxido de carbono para ser empregado como gás de arraste. Há processos que geram fluxos de CO₂ para a atmosfera e que não estão baseados na combustão. Um deles é a emissão de CO₂ gerado durante o processo de fermentação do açúcar em etanol (IPCC, 2011). Depois de capturado, o CO₂ é separado de outros gases e enviado, através de linhas de tubulação (pipelines) ou outro tipo de transporte, ao local de armazenamento onde será armazenado longe da atmosfera, por um longo período de tempo (BRAUNE et al., 2012). O sistema de captura do gás fluente é um processo dominado pela indústria e utilizado no projeto devido ao fato de o CO₂ proveniente da fermentação ter 99% de pureza. Na fabricação do etanol, o mosto é fermentado nas dornas de fermentação apresentando o dióxido de carbono como um dos produtos da reação. Nessa etapa o gás que sai do processo é lavado, pois, caso contrário, arrastaria para a atmosfera certa quantidade de etanol evaporado, mantendo assim um ciclo de fabricação mais eficiente e o CO₂ produzido não necessitará de purificação, saindo praticamente puro, economizando outras etapas. Não há, portanto, a necessidade de equipamentos como os que são utilizados nos sistemas de captura do CO₂ de outros processos. O CO₂ extraído será mais puro dispensando outro tipo de separação deixando-o com um valor mais competitivo perante os outros sistemas (GEF, 2009), pois a corrente de gás emitida pela planta será basicamente de CO₂ podendo ser enviada diretamente para o seu armazenamento.

No mundo todo o sistema de transporte mais viável economicamente e muito difundido nas mais diversas formas de utilização, seja com hidrocarbonetos, seja com gases e distribuição de água, é o realizado por meio de tubulações (pipelines) (IPCC, 2005). Diante das informações apresentadas, fica evidente que a utilização de fermentação extrativa com arraste gasoso possibilita que os compostos inibidores sejam mantidos no caldo de fermentação em concentrações mais baixas, resultando

na redução do efeito de inibição. Com relação à fermentação alcoólica, o processo extrativo mostra-se como uma alternativa promissora para contornar o problema da inibição pelo etanol, resultando em um aumento na produtividade em etanol, possibilitando a utilização de soluções mais concentradas de substratos (sacarose), reduzindo o volume de água inserida no processo.

5.2 Controle de temperatura para obtenção de vinhos mais concentrados

A indústria do etanol utiliza predominantemente fermentação em batelada alimentada com reciclagem de células: 70% a 80% das destilarias utilizam esse modo de operação para produzir etanol. Nessa configuração, 99,5% das células são reutilizadas em fermentação seqüencial (reciclagem intensiva). A alta densidade celular dentro dos biorreatores contribui para reduzir o tempo de fermentação para 6-11 h e para aumentar o rendimento de etanol para 90-92%. A concentração final de etanol varia entre 8 e 11 °GL. No entanto, esta tecnologia atual de fermentação é limitada no processamento de substratos a uma concentração de até 200 g / L de TSAI (açúcares totais invertidos nos quais a sacarose original é equivalente a 0,95 dos açúcares redutores formados (glicose e frutose) e glicose e frutose originalmente presente), representando o potencial de obter uma concentração de etanol de pelo menos 1bGL. Um método para melhorar a rentabilidade atual da fermentação do etanol é através da intensificação do processo. A tecnologia de gravidade muito alta (VHG) é um tipo de processo de melhoria destinado a obter altas concentrações de etanol de até 15^GL a partir de concentrações moderadamente altas de açúcar (> 250 g / L). Ao longo da fermentação do VHG, uma célula encontra estresse significativo induzido pela pressão osmótica, o que leva a variações na cinética da fermentação. Além disso, o nível de etanol na fase final do processo depende fortemente das condições nutricionais para a manutenção da célula. O parâmetro de controle de processos, importante na fermentação alcoólica, é a temperatura, visto que a conversão de açúcares a etanol por leveduras é uma reação exotérmica e proporcional à taxa de consumo de açúcares e produção de etanol, ou seja, há liberação de calor e por isso necessita-se o controle. Rossell et al. desenvolveu uma nova fermentação contínua de VHG, aprimorando o processo de projeto e operação da engenharia. Consiste na fermentação do etanol em biorreatores multiestágios, com perfil de temperatura bem definido. Temperaturas mais altas foram consideradas nos estágios iniciais para maximizar a conversão, e temperaturas mais

baixas foram consideradas nos estágios posteriores para minimizar a inibição e dano celular da alta concentração de etanol. Além disso, uma alimentação de fonte de carbono distribuída foi considerada nas primeiras e segundas etapas para evitar a inibição por altas concentrações de açúcar. O processo é constituído por um conjunto de biorreatores para fermentação composta por 4 ou 5 biorreatores, no qual ocorrerá conversão de açúcares fermentescíveis a etanol através da biocatálise pelos micro-organismos, preferencialmente cepas de leveduras. Nos dois primeiros estágios da fermentação a faixa da temperatura de controle nos biorreatores é de 36 a 30°C que correspondem às temperaturas que favorecem a taxa cinética da reação bioquímica sem prejuízo aos micro-organismos. Nos dois outros estágios a agitação será mecânica com combinação de fluxo ascendente e axial para manter a mistura e temperaturas homogêneas na faixa de 30 a 26°C, comparativamente menores que os estágios iniciais com o objetivo de minimizar o efeito tóxico devido à elevação do teor alcoólico no meio. No último estágio, a temperatura é mantida entre 26°C e 28°C.

Nesse estágio é injetado ar para promover uma micro aeração para minimizar a danificação da membrana celular e, conseqüentemente minimizar a taxa de morte celular devido ao elevado teor alcoólico. Esse último estágio visa o esgotamento final dos açúcares que se encontram em baixa concentração. O controle da temperatura e a microaeração no estágio final da fermentação são fundamentais para que o alto teor alcoólico acima de 11°GL evite prejuízos irreversíveis às células. Portanto, conforme a elevação do teor alcoólico do vinho ao passar sucessivamente pelo primeiro até o último estágio há uma redução da temperatura de controle e inserção de ações mitigatórias para manter a viabilidade celular. A Fermentação apresenta rendimento fermentativo entre 89 e 91% ; tempo de residência total de 12 a 20 horas e redução de 50% de geração de vinhaça em comparação ao processo atual de fermentação alcoólica. O vinho final que é caracterizado por conter açúcar residual ou açúcar não fermentescível abaixo de 0,50 g/ L e etanol na faixa de 10 a 15°GL. O vinho gerado na etapa de fermentação é bombeado para separação de células, em que o vinho é enviado para a destilação e o fermento que será reciclado e enviado à etapa de tratamento de células. O parâmetro de controle de processos, importante na fermentação alcoólica, é a temperatura, visto que a conversão de açúcares a etanol por leveduras é uma reação exotérmica e proporcional à taxa de

consumo de açúcares e produção de etanol, ou seja, há liberação de calor e por isso necessita-se o controle. Rossell et al. desenvolveu uma nova fermentação contínua de VHG, aprimorando o processo de projeto e operação da engenharia. Consiste na fermentação do etanol em biorreatores multiestágios, com perfil de temperatura bem definido. Temperaturas mais altas foram consideradas nos estágios iniciais para maximizar a conversão, e temperaturas mais baixas foram consideradas nos estágios posteriores para minimizar a inibição e dano celular da alta concentração de etanol. Além disso, uma alimentação de fonte de carbono distribuída foi considerada nas primeiras e segundas etapas para evitar a inibição por altas concentrações de açúcar. O processo é constituído por um conjunto de biorreatores para fermentação composta por 4 ou 5 biorreatores, no qual ocorrerá conversão de açúcares fermentescíveis a etanol através da biocatálise pelos micro-organismos, preferencialmente cepas de leveduras. Nos dois primeiros estágios da fermentação a faixa da temperatura de controle nos biorreatores é de 36 a 30°C que correspondem às temperaturas que favorecem a taxa cinética da reação bioquímica sem prejuízo aos micro-organismos. Nos dois outros estágios a agitação será mecânica com combinação de fluxo ascendente e axial para manter a mistura e temperaturas homogêneas na faixa de 30 a 26°C, comparativamente menores que os estágios iniciais com o objetivo de minimizar o efeito tóxico devido à elevação do teor alcoólico no meio. No último estágio, a temperatura é mantida entre 26°C e 28°C. Nesse estágio é injetado ar para promover uma micro aeração para minimizar a danificação da membrana celular e, conseqüentemente minimizar a taxa de morte celular devido ao elevado teor alcoólico. Esse último estágio visa o esgotamento final dos açúcares que se encontram em baixa concentração. O controle da temperatura e a microaeração no estágio final da fermentação são fundamentais para que o alto teor alcoólico acima de 11°GL evite prejuízos irreversíveis às células. Portanto, conforme a elevação do teor alcoólico do vinho ao passar sucessivamente pelo primeiro até o último estágio há uma redução da temperatura de controle e inserção de ações mitigatórias para manter a viabilidade celular. A Fermentação apresenta rendimento fermentativo entre 89 e 91% ; tempo de residência total de 12 a 20 horas e redução de 50% de geração de vinhaça em comparação ao processo atual de fermentação alcoólica. O vinho final que é caracterizado por conter açúcar residual ou açúcar não fermentescível abaixo de 0,50 g/ L e etanol na faixa de 10 a

15°GL. O vinho gerado na etapa de fermentação é bombeado para separação de células, em que o vinho é enviado para a destilação e o fermento que será reciclado e enviado à etapa de tratamento de células.

5.3. Evaporador à vácuo O evaporador flash equivale a um estágio de uma coluna de destilação. O sistema opera em pressões reduzidas (vácuo) facilitando a separação da mistura etanol-água, em temperaturas relativamente baixas (ATALA, 2004). O vácuo é feito por intermédio de uma bomba de vácuo ou compressor. O tanque de evaporação flash deve estar sob pressão entre 90 e 150 mmHg e trabalhar com temperatura entre 28°C e 30°C (ATALA, 2004). Devido à diferença de volatilidade de um componente com relação ao outro, o etanol e parte da água do caldo de fermentação evaporam. O líquido remanescente no tanque de evaporação rápida, contendo o caldo de fermentação com baixa concentração de etanol, retorna para o fermentador por meio de uma bomba (PATERNINA, 2011). Um ponto importante a destacar para esta tecnologia é o impacto do custo operacional do consumo de energia devido ao sistema de vácuo. O uso do evaporador flash possibilita usar altas concentrações de açúcares no meio de alimentação do reator, o que tem como consequência uma maior produção de etanol, reduzindo o custo da destilação e gerando menos resíduos (vinhaça). O evaporador flash equivale a um estágio de uma coluna de destilação. O sistema opera em pressões reduzidas (vácuo) facilitando a separação da mistura etanol-água, que ocorre em temperatura ambiente. Em processos usando altas concentrações de açúcares (melaço de cana de açúcar), a eliminação do produto inibidor (etanol) é essencial para conseguir alta produtividade.

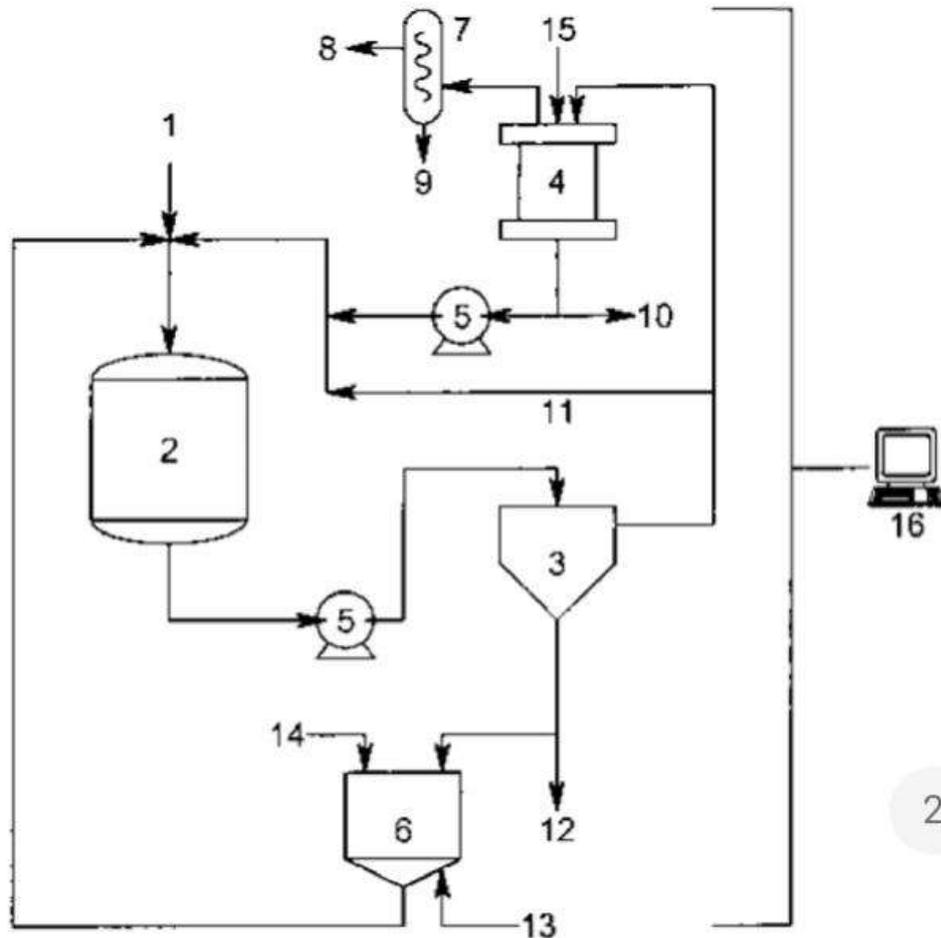


Figura 8- Esquema simplificado do processo de fermentação alcoólica acoplado ao evaporador

A figura apresenta um esquema simplificado do processo de fermentação alcoólica acoplado ao evaporador, tanque flash, a vácuo onde (1) é a linha de alimentação do substrato (melaço de cana de açúcar diluído em água), (2) é a dorna de fermentação, (3) é o sistema de separação de células podendo ser uma centrífuga contínua ou um sistema de micro-filtração/membranas, (4) é o tanque flash, (5) é a bomba de circulação, (6) é a cuba de tratamento do creme de leveduras, (7) é o sistema de condensação do etanol, (8) é o vácuo do sistema, (9) é a saída de etanol condensado, (10) é a saída de líquido do tanque flash (taxa de reciclo do flash), (11) é a linha de retorno ao fermentador, (12) é a purga de células, (13) é a entrada de ar, (14) é a entrada de solução ácida, (15) é a entrada de antiespumante e (16) é o

sistema de monitoramento e controle do processo. Após a adição do inoculo, o sistema será colocado em operação batelada até o consumo total de substrato, sendo monitorado pela produção de CO₂. Após este procedimento será dado início ao processo contínuo, podendo operar com ou sem sistema de extração, acionando-se a bomba de alimentação do processo. A corrente de saída do fermentador, contendo substrato, células e etanol, é enviada para o sistema de separação de células onde ocorre a separação em duas fases: a fase pesada, contendo a maior parte das células (microrganismos) e a fase leve, praticamente isenta de células. O sistema poderá operar com reciclo total ou parcial de células e sofrer tratamento do creme de leveduras. Quando se atinge o estado estacionário do processo convencional, o sistema de separação a vácuo acoplado ao fermentador é então acionado. A fase leve é conduzida parcialmente ou totalmente para o tanque flash a vácuo onde ocorre a separação da mistura etanol-água. O sistema de vácuo garantirá a baixa pressão do tanque flash que deverá operar na temperatura de 28°C a 35°C. O tanque flash irá trabalhar nesta temperatura, pois eliminará a necessidade de trocadores de calor nos processos envolvidos. A fase vapor é enviada para uma coluna de retificação (condensador) e a fase líquida sofre uma purga, retornando parcial ou totalmente para o fermentador, garantindo assim, o tempo de residência no sistema. A extração do etanol no tanque flash será parcial, até níveis de 40-60 g/L no meio fermentativo, reduz significativamente o poder inibitório exercido na atividade metabólica do microrganismo, por outro lado, garantindo uma ação antisséptica no meio. O uso do evaporador flash possibilita usar altas concentrações de açúcares no meio de alimentação do reator, o que tem como consequência maior produtividade de etanol, reduzindo o custo da destilação e gerando menos resíduos (vinhaça) (M Francisco Jr, ADI Pires, 2006).

5.4. Pervaporação Na destilação de etanol, o consumo de energia depende explicitamente sobre a concentração de etanol no vinho para alimentação. Consequentemente, há um efeito sobre o consumo de energia devido à maneira em que o processo de fermentação é conduzido. Ainda assim, existem vários fatores que afetam a fermentação alcoólica, como o etanol produzido no meio fermentativo, que tem um efeito inibitório no crescimento celular da levedura. Neste contexto, uma solução possível é alterar parcialmente a estrutura das áreas de fermentação e separação, no processo de produção de etanol, para que o etanol seja

continuamente extraído à medida que é produzido na fermentação. Isto pode ser conseguido através da implementação de pervaporação de membrana no processo de fermentação, o que resultaria em um impacto positivo na energia consumo no processo. A pervaporação é um processo de membrana em que uma mistura de líquidos fica em contato com a membrana na alimentação à pressão atmosférica e onde o permeado é removido na forma de vapor devido à baixa pressão parcial existente no lado da saída do permeado. Esta baixa pressão parcial pode ser atingida empregando-se uma corrente de um gás inerte ou utilizando-se uma bomba de vácuo. A pressão (parcial) na saída do permeado deve ser menor ou igual à pressão de saturação. Em seguida, o permeado é condensado.

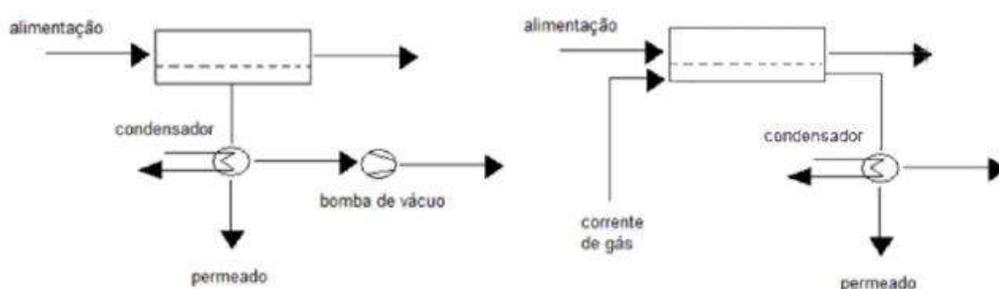


Figura 9 - Esquema do processo de pervaporação com vácuo ou corrente com gás inerte — condensador

O princípio de separação na destilação é baseado no equilíbrio líquido-vapor, enquanto na separação por pervaporação é baseado nas diferenças de solubilidade e difusividade. As características da pervaporação são determinadas pela escolha do material, enquanto as da destilação são fixadas no equilíbrio líquido-vapor. A chave para o sucesso do processo de pervaporação é a fabricação de membranas adequadas com alta permeabilidade, boa seletividade e resistência mecânica suficiente.

6.Considerações finais com a finalidade de alcançar os objetivos propostos neste estudo, após esclarecer todo os processos de produção de etanol, foi realizada uma

pesquisa bibliográfica buscando formas inovadoras de fermentação alcoólica para obtenção de vinhos mais concentrados. Os processos sofrem diversos efeitos inibitórios que devem ser controlados com a finalidade de trazer uma redução considerável no consumo de energia, baixo consumo de água de resfriamento e vapor, produção de etanol de alta qualidade.

7. Referências

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technology from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, n. 1, p. 89-105, 2008.

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technology from sugar and starch feed stocks. *Biotechnology Advances*, n. 1, p. 89-105, 2008.

BAI, F. W.; CHEN, L. J.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Parameter oscillations in very high gravity medium continuous ethanol fermentation and their attenuation on multi-stage packed column bioreactor system. *Biotechnol Bioeng*.p.558-566, 2004.

BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G.; AMORIM, H.V. Fermentação alcoólica e alguns fatores que afetam o desempenho fermentativo. In: AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G. *Processos de produção de álcool: controle e monitoramento*. 2 ed, Piracicaba: FERMENTEC; FEALQ; ESALQ, 1996. P. 38-84.

BASSO, L.C.; AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J.; LOPES, M.L. Yeast selection for fuel ethanol in Brazil. *FEMS Yeast Research*, Amsterdam, v. 8, n.7, p. 1155-1163, 2008.

BIOBLOG. Disponível em <http://www.bioblog.com.br/combustiveis-fosseis-por-que-eles-prejudicam-o-meio-ambiente/>. Acesso em 25/07/2018.

BIOBLOG. Disponível em <http://www.bioblog.com.br/diferencas-entre-o-combustivel-fossil-e-o-biocombustivel/>. Acesso em 25/07/2018.

BIOBLOG. Disponível em <http://www.bioblog.com.br/historia-do-etanol-no-brasil/>. Acesso em 26/08/2018

BIOBLOG. Disponível em <http://www.bioblog.com.br/o-etanol-de-milho-nos-estados-unidos/>. Acesso 17/08/2018

BIODISELBR. Disponível em <https://www.biodieselbr.com/energia/alternativa/agricultura-energia.htm>. Acesso em 16/08/2018

BIODISELBR. Disponível em <https://www.biodieselbr.com/proalcool/proalcool/programa-etanol.htm>. Acesso 18/08/2018

BNDES. *Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável* Rio de Janeiro: BNDES. 2008. 316 p.(pagina28)

BOLETIMDCR.

Disponível em http://www.mme.gov.br/documents/10584/1992924/Boletim_DCR_nx054_julho_de_2012.pdf/3ecc4ca6-bc38-4835-ac45-37649c39f91e. Acesso 20/08/2018 Borzani, W. vol.1, cap.1: Produção de Etanol, p.1-4 3, 2001. BRAUNE, A. V.; VELÁZQUEZ, S. M. S. G.; MOREIRA, J. R. Projeto RCCS - Captura e Armazenamento do CO2 Proveniente do Processo de Fermentação do Açúcar em Etanol do Estado de São Paulo. Artigo apresentado e publicado no SHEWC, Safety, Health and Environment World Congress, 2012. São Paulo, jul. 2012. C.E.V. Rossell, J. Nolasco Junior, C.K. Yamakawa, Processo e equipamento para fermentação contínua multiestágio com recuperação, reativação, e reciclo de fermento para obtenção de vinhos com alto teor alcoólico. PatentWO2014078924A1, 2012. CALDAS, C; BORÉN, A; SANTOS, F. Cana-de-açúcar_Bioenergia, Açúcar e Etanol _tecnologias e Perspectivas .2. ed. Viçosa MG, 2012. 637p. CANALBIOENERGIA. Disponível em <http://www.canalbioenergia.com.br/etanol-de-cana-e-de-milho-diferencas-importantes-mas-convergencia-parece-ser-uma-tendencia/>. Acesso 17/08/2018 CARDOSO, M.G. Produção de aguardente de cana. 2a ed. UFLA, Lavras, 2006. 445p CNPEM. Disponível em <http://cnpem.br/fermentacao-continua-ou-em-batelada/>. Acesso 21/11/2108 Fermentativos e Enzimáticos. In: Schimidell , W.; Lima, U.A.; Aquarone , E.; FERREIRA, Leonel Vasco. Estudo da fermentação alcoólica em frascos agitados. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, Brasil, 2002. GEF - Global Environmental Facility. Project title: RCCS - Renewable CO2 capture and storage from sugar fermentation industry in São Paulo State. 2009. GIUDICI, P.; SOLIERI, L.; PULVIRENTI, A.M.; CASSANELLI, S. Strategies and perspectives for genetic improvement of wine yeasts. Applied Microbiology Biotechnology, Oxford, v. 66, p. 622-628, 2005.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Bioenergy. In: CHUM, H.; FAAIJ, A.; MOREIRA, J. R. et al. IPCC - Special Report on Renewable Energy Sources and Climate Change Mitigation. Cambridge, UK: Cambridge University

Press, 2011. IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Carbon Dioxide Capture and Storage.: Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo: Cambridge University Press, 2005. LALUCE, C.; TOGNOLLI, J.O.; OLIVEIRA, K.F.; SOUZA, C.S.; MORAIS, M.R. Optimization of temperature, sugar concentration and inoculum size to maximize ethanol production without significant decrease in yeast cell viability. Applied Microbiology and Biotechnology, Berlin, v.3, p.627-637, 2009. LIMA, U. A. et al. Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos. São Paulo - SP, Blucher, v. 3, 593p., 2001. LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. Biotecnologia Industrial - Processos LIMA, Anny. Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar para o processo de fermentação alcoólica: O Estado da Arte, Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior - ABEAS - v.24, n.1, p.7-12, 2009. Disponível em: http://www.abeas.com.br/wt/files/3_2009_1.pdf. LU, C.; ZHAO, J.; YANG, S.-T.; WEI, D. Fed-batch fermentation for n-butanol production from cassava bagasse hydrolysate in a fibrous bed bioreactor with continuous gas stripping. Bioresource technology, v. 104, p. 380-7, jan. 2012. MAGALHAES, A.C.M. Disponível em <http://www.ebah.com.br/content/ABAAApoQAE/unidade-vii-fermentacao-alcoolica-parte-i?part=4>>. Acesso em: 22/11/2018. MENDONÇA, M. A. Expansão da produção de álcool combustível no Brasil: uma análise baseada nas curvas de aprendizagem. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio de Branco. Anais... Rio Branco: BNDES, 2008. NOVACANA. Disponível em <https://www.novacana.com/etanol/curiosidades/>. Acesso em 14/08/2018 NOVACANA. Disponível em <https://www.novacana.com/etanol/fabricacao>. Acesso 13/11/2018

OLIVEIRA, W. A. Modelos estatísticos integrados à metodologia Lean Seis Sigma visando ao aumento da produtividade na obtenção do etanol. 2010. Tese. Doutorado. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11134/tde-20092010-092946/en.php>>. Acesso em: 26/11/2018. PARK, C.-H.; GENG, Q. Simultaneous Fermentation and Separation in the Ethanol and Abe Fermentation. Separation & Purification Reviews, v. 21, n. 2, p. 127-174, jan. 1992. PERFILSUCROALCOOLEIRO. Disponível em [file:///D:/Meus%20Documentos/Downloads/perfil sucroalcooleiro julho 2017 safra 14-](file:///D:/Meus%20Documentos/Downloads/perfil%20sucroalcooleiro%20julho%202017%20safra%2014-)

15.pdf. Acesso 20/08/2018 PHUKOETPHIM, N., SALAKKAM, A., LAOPAIBOON, P. LAOPAIBOON, L. Improvement of ethanol production from sweet sorghum juice under batch and fed-batch fermentations: Effects of sugar levels, nitrogen supplementation, and feeding regimes. (2017). Potter NI. How Brazil achieved energy independence and the lessons the United States should learn from Brazil's experience. Wash U Glob Stud Law Rev. 2008;7(2):331-351. Available from: <http://openscholarship.wustl.edu/law> Rodrigues, K. C. S., Sonego, J. L. S., Cruz, A. J. G., Bernardo, A., & Badino, A. C. (2018). Modeling and simulation of continuous extractive fermentation with CO₂ stripping for bioethanol production. Chemical Engineering Research and Design, 132, 77-88. SOUTO. G. D. B. Lixiviado de aterros sanitários brasileiros - estudo da remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar ("stripping"). 2009. 371 p. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. SOUZA, C. S. Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009. 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, Brasil, 2001. UNICA - União da Indústria de Cana-de-Açúcar. União da Indústria da Cana de Açúcar. Disponível em: . Acesso em: 26 dez. 2018.