

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO MTA - GESTÃO INDUSTRIAL SUCROENERGÉTICA**

TITULO: FATORES QUE INTERFEREM NA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

LUIS ANTONIO STEINLE

Sertãozinho

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO MTA - GESTÃO INDUSTRIAL SUCROENERGÉTICA**

TITULO: FATORES QUE INTERFEREM NA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

LUIS ANTONIO STEINLE

Monografia apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Gestão do Setor
Sucroenergético – MTA.

Aluno: Luis Antonio Steinle

Orientador: Prof. Dr. Octávio Antonio Valsechi

**Sertãozinho
2013**

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Agradeço também a minha esposa, Luciana, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades, quero agradecer também as minhas filhas, Isabella , Isadora e Amanda , que embora não tivessem conhecimento disto, mas iluminaram de maneira especial os meus pensamentos me levando a buscar mais conhecimentos. E não deixando de agradecer de forma grata e grandiosa meus pais, Waldorp e Vera, meus irmãos Junior e Marlon a quem eu rogo todas as noites a minha existência.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constantes.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	6
4.1 Fermentação alcóolica	6
4.1.1 Estequiometria da Fermentação	10
4.1.2 Relações da estequiometria.....	11
4.1.3 Fases de fermentação.....	13
4.1.4 Tipos de processos fermentativos	15
4.2 Matéria Prima	18
4.2.1 Cana-de- açúcar	18
4.2.2 Melaço.....	29
4.3 Aeração e Agitação.....	32
4.4 Nutrições das leveduras	35
4.5 Concentrações de açúcares e Concentração de fermento.....	36
4.6 Temperatura	37
4.7 pH e acidez	41
4.8 Contaminações bacterianas.....	42
4.9 Tipos de controle em fermentação alcoólica.....	46
5. CONCLUSÃO.....	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Comparação da matriz energética do Brasil X Mundo.....	1
Figura 2: Matriz energética distribuída por produtos.....	2
Figura 3: Levedura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	6
Figura 4: Metabolismo da levedura.....	8
Figura 5 : Fermentação Etanólica.....	9
Figura 6: Fases da fermentação alcóolica.....	14
Figura 7: Esquema simplificado do processo Melle-Boinot de fermentação.....	15
Figura 8: Esquema do processo de fermentação contínua.....	15
Figura 9: Evolução das variedade de cana.....	20
Figura 10: Cana de açúcar.....	21
Figura 11: Representação da composição tecnológica da cana-de-açúcar.....	22
Figura 12: Esquema das membrana de tilacoides e fotofosforilação.....	23
Figura 13: Corte Manual.....	25
Figura 14: Corte mecanizado.....	25
Figura 15: Pátio de cana.....	26
Figura 16: Lavagem de cana.....	27
Figura 17: Danos da Cigarrinha X Grau Alcoólico.....	28
Figura 18: Danos da Cigarrinha X Viabilidade Celular.....	28
Figura 19: Compostos Fenólicos X Viabilidade do Fermento.....	29
Figura 20: Temperatura ideal para fermentação.....	39
Figura 21: Leveduras envolvidas de Bactérias floculentas.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos de processos fermentativos.....	16
Tabela 2: Composição Média do Caldo de Cana-de-Açúcar.....	19
Tabela 3: Composição do Melaço.....	30
Tabela 4: Padrão técnico de processo fermentativo.....	47

RESUMO

O presente trabalho tem o interesse em demonstrar os vários fatores e situações que dificultam a atividade das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* nas fases existentes nos diferentes tipos de processo da fermentação alcóolica ,causando uma redução na produção de etanol em relação a quantidade esperada estequiometria de Gay-Lussac .Foram estudados como os mais citados interferentes nos processos de fermentação alcóolica a qualidade das matérias primas empregadas tais como a cana-de-açúcar, e o melaço , as diferentes formas de condução da operação unitária aeração e agitação , as necessidades balanceadas das leveduras quanto aos nutrientes , o tempo de fermentação e a viabilidade das leveduras em diferentes meios de concentração de açucares e fermento . Como os fatores físicos e ambientais tais como a temperatura ,pH e acidez impactam no rendimento fermentativo e os principais micro-organismos contaminantes que podem ser encontrados e desenvolvidos no processo de fermentação e o uso de biocidas para tratamentos .

Palavras-chave: Fermentação alcóolica , fatores que interferem na fermentação alcóolica ,cana-de-açúcar,melaço,contaminação bacteriana.

1. INTRODUÇÃO

Segundo Mansor et al. (2009) o panorama mundial está mudando rapidamente, por motivos ligados a três das grandes preocupações da humanidade nesse início de século: meio ambiente, energia e economia global.

Embora à primeira vista possam parecer distintas, estas três áreas estão, na realidade, completamente interligadas. As duas primeiras estão já há mais tempo na percepção do cidadão comum, devido ao efeito estufa e ao aquecimento global associado ao uso de combustíveis fósseis. Quanto à economia, só o tempo dirá quais os efeitos permanentes que esta crise no sistema financeiro internacional terá sobre o setor energético e, mais difícil de se prever, sobre o meio ambiente. A única certeza é de que os três setores serão permanentemente afetados.

Independente da saída adotada, ela necessariamente terá que passar por uma mudança radical na matriz energética mundial, com forte aumento da participação das fontes renováveis, conforme demonstra a figura 1, o Brasil se destaca dos demais países por um motivo bem simples: a matriz brasileira já é cerca de 45% renovável, comparada à média mundial de 13%.

Matriz Energética – Brasil e Mundial
Porque o Prê-sal é importante

	Brasil - 2008	Mundo - 2006
Energias Renováveis	45,1%	12,9%
Biomassa	31,1%	10,1%
Hidráulica	14%	2,2%
Energias Não Renováveis	54,9%	87,1
Petróleo e Gás Natural	47,9	54,9%
Carvão Mineral	5,6%	26%
Nuclear	1,5%	6,2%

Figura 1: Comparação da matriz energética do Brasil X Mundo
Fonte Adaptado Alhanati (2013)

Conforme Magalhães (2007) a matriz energética brasileira está distribuída

conforme ilustra a figura 2 , a cana-de- açúcar representa 13,5 % do total de energia renovável .

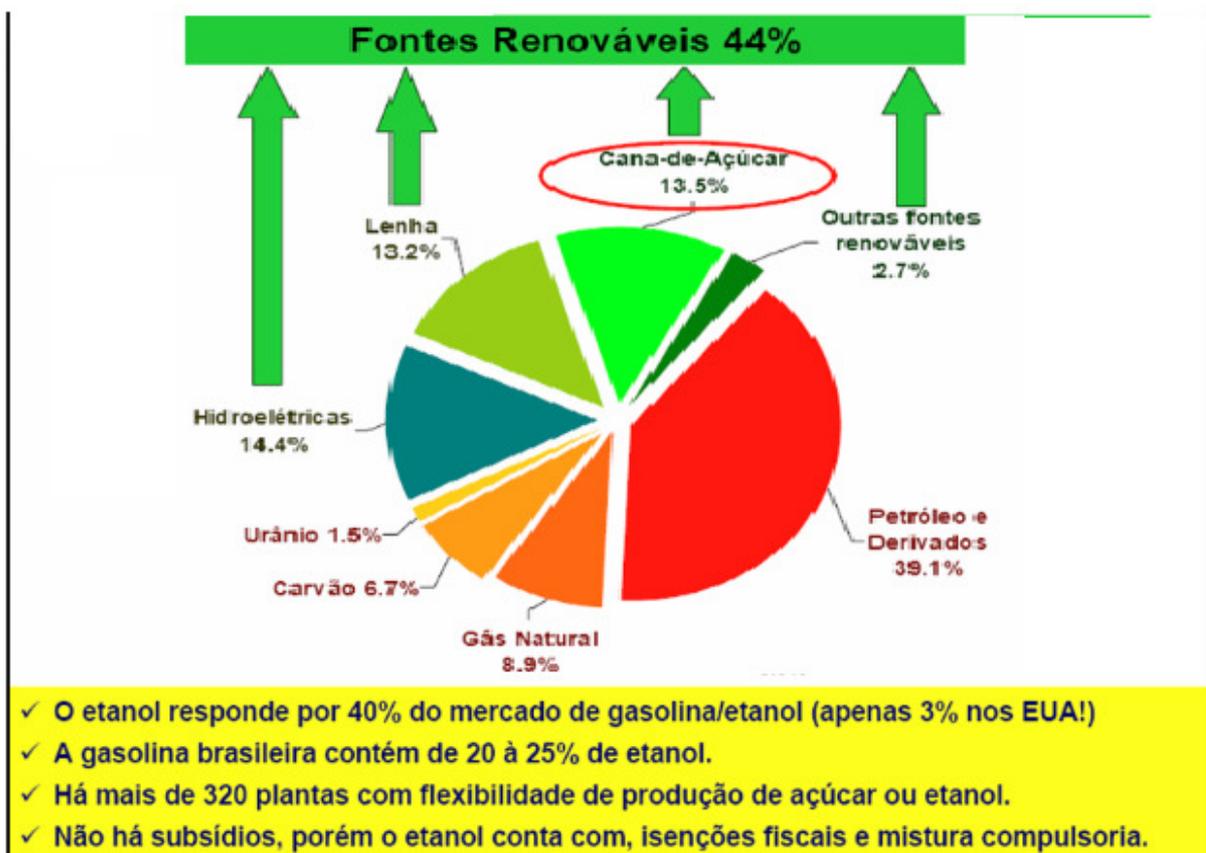


Figura 2: Matriz energética distribuída por produtos
 Fonte Adaptado Magalhães (2007)

Para Caldas; Borém; Santos (2012) este são o processo mais utilizado no Brasil, nos EUA e, de modo geral nos demais países. Brasil é um país com dimensões continentais, com diversidades de clima e solos, portanto a cana-de-açúcar é produzida em 20 estados da federação e durante todo o ano. A safra de cana do nordeste se inicia quando a do centro sul está próxima do fim. Quando a do centro sul está no final, a do nordeste está no início. Este fato é importante, pois se tem produção de etanol o ano inteiro no Brasil.

Para Auston (2008) apud Amaral (2009) a indústria sucroenergética no Brasil é de grande importância para a economia nacional, o etanol é utilizado como combustível alternativo para automóveis, sendo menos poluente que a gasolina e, além disso, é derivado de uma fonte de energia renovável.

Na década de 70, devido à guerra do Oriente Médio e a elevação do preço do barril de petróleo, o governo brasileiro, como alternativa, implantou o Próálcool

(Programa Nacional de Álcool) em 1975. A partir desta data, o Brasil tornou-se o primeiro país do mundo a desenvolver um programa alternativo de substituição da gasolina por outro combustível. A utilização do etanol como combustível carburante mostrou-se uma alternativa adequada a países carentes em reservas petrolíferas e com grandes extensões territoriais adequadas à produção de cana-de-açúcar.

Para Ventorim (2008) apud Carvalho (2011) com o fim do programa Próálcool, e com o aumento da atividade petrolífera no mundo e a redução dos preços internacionais da gasolina na década de noventa houve então uma retração no consumo e produção de etanol. Este cenário mudou nacionalmente, somente a partir de 2003, com a criação dos veículos flexfuel e devido a questões econômicas, políticas e ambientais, elevando novamente o consumo de álcool hidratado no Brasil.

Segundo a Conab (Companhia Nacional de Abastecimento) (2011) apud Carvalho (2011) a produção brasileira neste período saltou dos 3,8 bilhões de litros no ano de 2003, para 19,5 bilhões de litros em 2010.

Conforme Schiavone (2009) apud Lima (2009), para produzir etanol um dos parâmetros principais a ser controlado é a fermentação, para isso necessita-se de um ambiente e meio de fermentação saudável.

Tanto na literatura quanto na prática é sabido que diversos fatores afetam a fermentação, tendo como causa principal o rendimento da fermentação, ou seja, a porcentagem do açúcar que se transforma em álcool, em relação à quantidade máxima teórica da equação de Gay-lussac. Entre os principais fatores que podem vir a afetar na produção de etanol destacam-se:

- Matéria-prima - Cana-de-açúcar e melaço;
- Aeração e agitação;
- Nutrientes;
- Concentração de açúcares e fermento;
- Temperatura, pH e acidez;
- Contaminação bacteriana;

Diante desse contexto, esta pesquisa propõe um estudo sobre os fatores interferentes na fermentação alcoólica e seus limitantes para a produção de etanol e o que pode afetar no rendimento e na qualidade do produto final com possibilidade de propor melhoras no processo a fim de diminuir perdas.

2. OBJETIVOS

O objetivo desta pesquisa foi verificar na literatura no período dos anos 2000 a 2014 baseado nas investigações de outros temas para os estudos científicos existentes sobre os processos de fermentações alcólicas, quais os fatores interferentes que causam a queda de produção de etanol , com a expectativa de preencher as lacunas na formação e de encontro com a relevancia a área de atuação e conseqüentemente adquirir a satisfação pessoal .

3. MATERIAL E MÉTODOS

A busca nos bancos de dados foi realizada utilizando às palavras-chave , “Fermentação”, “Fatores interferentes na fermentação alcóolica”; “cana-de-açúcar”; “etanol”, terminologias comum em português em sites como Google Acadêmico , Scielo, Lilacs, Bibliotecas Digitais , livros de autores reconhecidos no setor sucroenergético, e Workshop . A pesquisa foi realizada no período dos últimos catorze anos .

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Fermentação alcoólica

Conforme Angelis (2012) as leveduras alcoólicas da espécie *Saccharomyces cerevisiae* pertence à família dos fungos, são organismos eucariotos diferentes das bactérias.

As leveduras são heterotróficas isto é, necessitam de matéria orgânica, e tem preferência por carboidratos especialmente açúcares simples, a figura 3 na sequencia ilustra uma célula de levedura e seu broto.

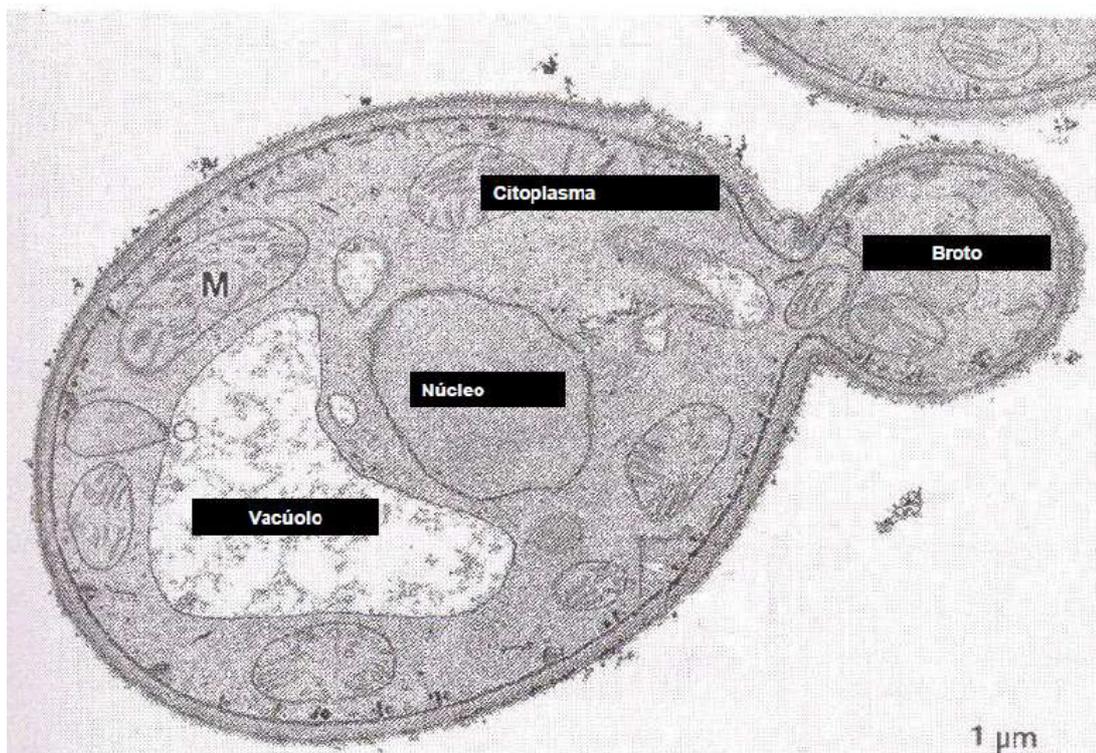
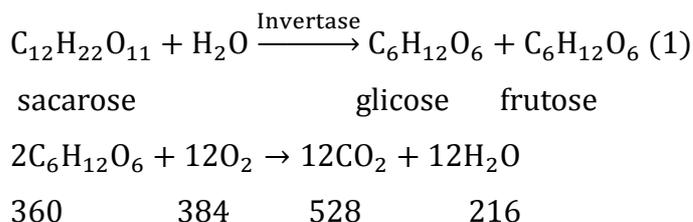


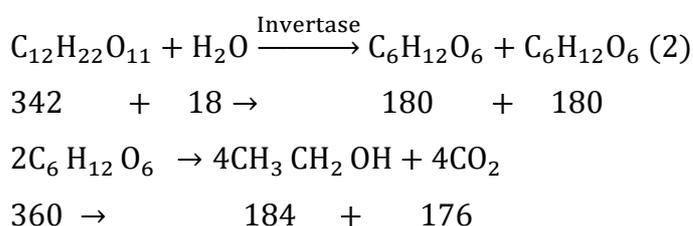
Figura 3: Levedura *Saccharomyces Cerevisiae*

Fonte Adaptado BIOTECNOLOGIA NA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 16, 2012, Sertãozinho, CEISE – Leveduras. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012. p.33

Para Lehninger (2002) apud Novaes et al. (2013) as leveduras são classificadas como micro-organismos facultativos, podem catabolizar açúcares para a produção de energia química celular (ATP) pelas vias aeróbia e anaeróbia. No primeiro caso, conhecido como respiração, uma molécula de sacarose é oxidada na presença de oxigênio, resultando em gás carbônico e água nas quantidades estequiométricas mostradas na equação 1:



No segundo caso, conhecido como fermentação alcoólica, uma molécula de sacarose é oxidada na ausência de oxigênio, resultando em etanol e gás carbônico nas quantidades estequiométricas mostradas na equação 2.



Segundo Ribeiro (2010) apud Monteiro; Carvalho (2011) “A fermentação alcoólica é um processo biológico comum a todos os substratos açucarados, no qual estes são transformados em etanol e dióxido de carbono”.

A espécie de micro-organismo mais utilizada para a fermentação alcoólica é a levedura, organismos eucarióticos que formam uma das classes mais importantes dos fungos.

Segundo Tosetto (2008) apud Bosqueiro (2010) as células de *Saccharomyces cerevisiae* possuem, geralmente, forma unicelular, com diâmetros que variam de 2 a 8 micrômetros. Sua reprodução é feita basicamente por brotamento, dando origem a uma nova célula.

Ventura (2007) apud Monteiro; Carvalho (2011) destaca que, normalmente, são empregadas nas destilarias brasileiras, linhagens selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, com ou sem alteração genética, que possuam características específicas de maior produção de etanol e mais resistentes a ambientes estressantes.

Tosetto (2008) apud Bosqueiro (2010) explica que, devido a sua característica facultativa, a levedura tem a capacidade de utilizar duas vias distintas de transformação do açúcar durante o processo fermentativo. No primeiro denominado glicólise, a sacarose é degradada até ácido pirúvico, por uma

sequência ordenada de reações catalisadas por enzimas específicas. Em anaerobiose há uma tendência para a atuação das enzimas piruvato-descarboxilase e álcool-desidrogenase, produzindo etanol e água a partir do ácido pirúvico.

Quando na presença de oxigênio, a levedura tem a capacidade de transformar parte do açúcar em CO₂ biomassa e água. Esta reação ocorre devida o deslocamento reacional de parte do ácido pirúvico para o Ciclo de Krebs onde será oxidada enzimaticamente, a figura 4 deixa mais claro o processo fermentativo no interior da célula da levedura.

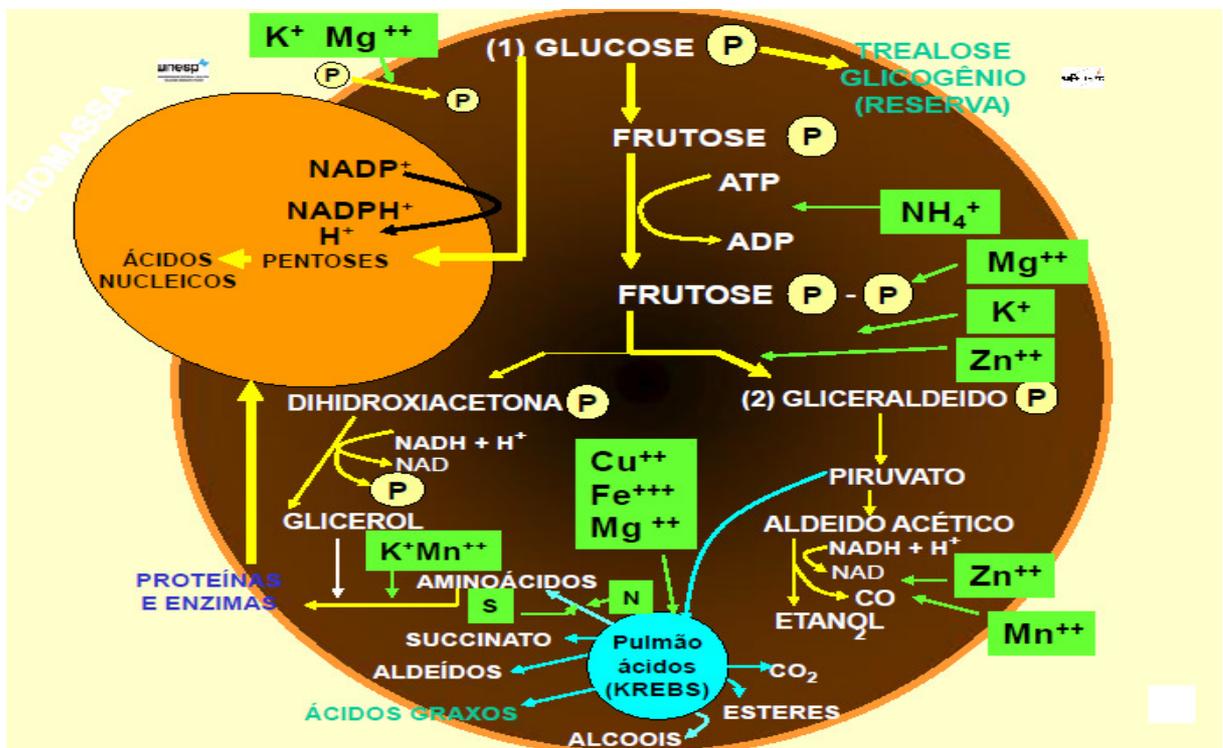
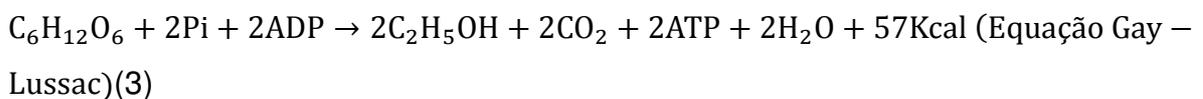


Figura 4: Metabolismo da levedura

Fonte Adaptado TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL, 14, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Fermentação etanólica III. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.50.

Para Campelo (2005) apud Bosqueiro (2010) as enzimas específicas de cada reação podem ter sua atividade influenciada por diversos fatores como: pH, temperatura, inibidores, concentração de substrato, etc.

O balanço global dos dois ciclos pode ser resumido pelas equações 3 e 4:



A figura 5 ilustra a fermentação alcoólica

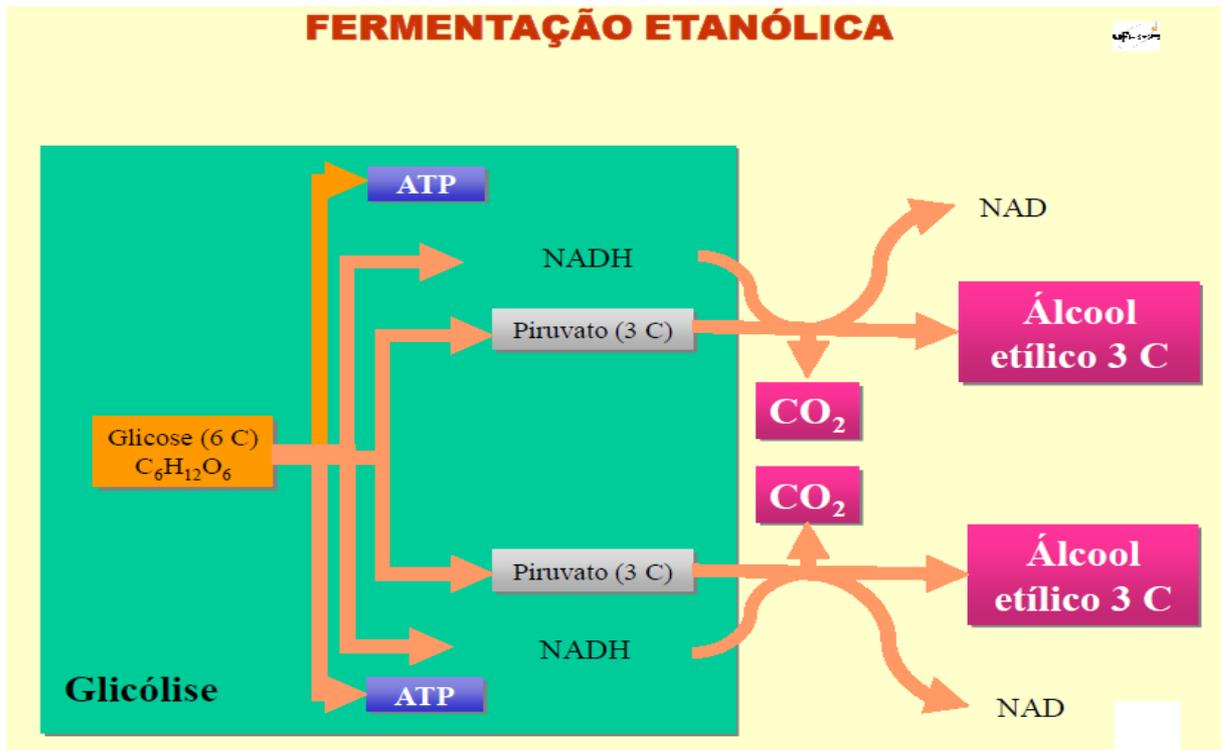
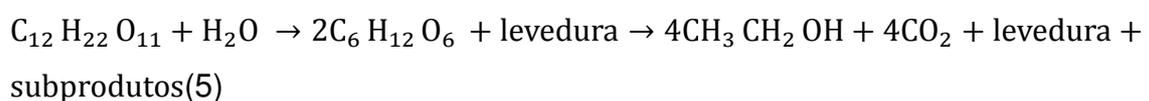


Figura 5 :Fermentação Etanólica

Fonte Adaptado TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL, 14, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Fermentação etanólica III. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.41.

Na sequência das reações enzimáticas aparecem rotas metabólicas alternativas para a formação de outras substâncias necessárias para o desenvolvimento de produtos secundários, relacionados direta ou indiretamente com a adaptação e sobrevivência das leveduras. Estando sujeito à presença de oxigênio ou não, a levedura forma juntamente com o etanol e gás carbônico, produtos como glicerol, ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, alcoóis superiores, ácidos acético, succínico, pirúvico, entre outros, simultaneamente ocorre também o crescimento celular.

Ainda Campelo (2005) apud Bosqueiro (2010) a equação descrita por Gay Lussac, mediante as condições industriais anaeróbicas utilizando sacarose é dada pela equação 5 abaixo:



O rendimento teórico de etanol por grama de glicose consumida é 0,511 gramas, sendo este valor considerado 100% quando o substrato for glicose. Como na condição de fermentação industrial brasileira, o rendimento alcançado é em média 91%, isto corresponde a 0,465 gramas de etanol por grama de “Açúcar Redutor Total” (ART) consumido.

4.1.1 Estequiometria da Fermentação

Os monossacarídeos (açúcares redutores ou açúcar invertido) são diretamente fermentados para produção de etanol através da fermentação alcoólica. A sacarose precisa ser desdobrada pelas leveduras em duas moléculas de açúcar invertido para ser transformada em etanol, através do complexo processo bioquímico.

Para Fernandes (2011) açúcares redutores é o termo empregado para designar os açúcares (glicose e frutose, que apresentam a propriedade de reduzir o óxido de cobre do estado cúprico a cuproso). Os monossacarídeos são opticamente ativos, sendo a rotação específica da glicose a 20°C de + 52,70°, e da frutose - 92,4°. Na situação de proporcionalmente iguais, a rotação específica da mistura passa a ser de 39,7°.

Por ser dextro-rotatória a glicose ou glicose é também é chamada dextrose enquanto que a frutose, que é levógira, também é chamada de levulose.

No caldo de cana foi demonstrado que a relação dextrose / levulose é normalmente maior do que 1,00 decrescendo de 1,6 para 1,1 com o aumento do teor de sacarose nos colmos.

O açúcar invertido é uma mistura equimolecular de glicose e frutose, obtida pela hidrólise da sacarose. A sacarose hidrolisa-se estequiometricamente em partes iguais de glicose e frutose, quando na presença de certos ácidos e temperatura adequada ou, então, pela ação da enzima denominada invertase.

No interior da planta, o desdobramento da sacarose em glicose e frutose é uma reação de duplo sentido, isto é, ocorre a inversão assim como a combinação durante o metabolismo da fotossíntese. Desse modo, ao analisar o caldo da cana recém-cortada, obtêm-se os produtos participantes desse processo bioquímico. O metabolismo da planta altera a relação glicose / frutose. “Técnicamente, “o

“termo” “açúcar invertido” é o mesmo que açúcares redutores “, uma vez que o método de análise não distingue entre os produtos da inversão da sacarose daqueles originários do metabolismo da cana.

Os açúcares redutores totais (ART) representam todos os açúcares da cana na forma de açúcares redutores ou açúcar invertido. O teor de ART pode ser determinado analiticamente por oxirredutometria, colorimetria, cromatografia, após a inversão ácida da sacarose. Para material de alta pureza, como o caldo de cana madura, os ART podem ser estimados pela soma dos açúcares redutores (glicose e frutose) com a sacarose na forma de açúcar invertido (sacarose/0,95) ou, para materiais com pureza >80%, pol/0,95). Além da glicose, frutose e sacarose invertida, outras substâncias redutoras presentes no caldo estar incluídas na determinação.

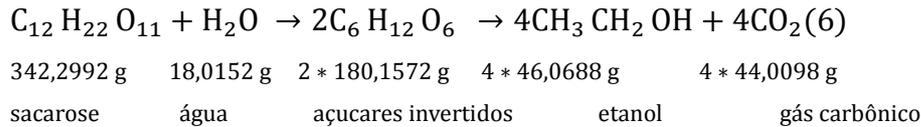
No interior da planta, o desdobramento da sacarose em glicose e frutose é uma reação de duplo sentido, isto é, ocorre a inversão assim como a combinação durante o metabolismo da fotossíntese da cana que será mais bem detalhado no tópico “cana-de-açúcar”.

Depois de queimada e ou cortada, ocorre somente inversão da sacarose, no processo conhecido como deterioração. Desse modo, ao se analisar o caldo da cana, obtém-se os produtos participantes desses processos bioquímicos.

O conhecimento do teor de açúcares redutores totais é importante para a avaliação da qualidade da matéria prima, principalmente aquela destinada á produção do álcool etílico (etanol).

4.1.2 Relações da estequiometria

Ainda Fernandes (2011) um volume conhecido de álcool e correspondente grau alcoólico ou massa específica pode ser convertido em sacarose ou em açúcar de determinada polarização. A fermentação alcoólica é um processo complexo que envolve diversas etapas de transformação dos açúcares do caldo de cana pela ação das leveduras. Após a inversão da sacarose, as duas moléculas de açúcares invertidos podem ser diretamente fermentadas para a conversão em quatro moléculas de etanol e quatro moléculas de gás carbônico, conforme a equação 6 apresenta.



Conforme a equação 7 estequiometricamente, 342,2992g de sacarose produzem 360,3144g (2*180,1572) de açúcares redutores totais (ART) que por sua vez produzem 184,2572g de etanol, ou seja, cada quilograma de sacarose correspondem a 4*46,0688/342,2992= 0,538345 kg de etanol, Essa massa de etanol pode ser transformada em volume de etanol dividindo pelo grau mássico do etanol 789,23 kg/m³.

$$342,2992 \text{ kg} \rightarrow 4 * 46,0688 \text{ kg} \rightarrow \frac{1000 * 4 * 46,0688 \text{ kg}}{789,23 \text{ kg/l}} \rightarrow 0,682115 \text{ l} (7)$$

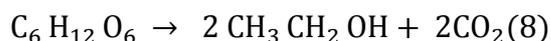
sacarose kg	etanol kg	fórmula conversão	etanol l
-------------	-----------	-------------------	----------

Uma determinada quantidade de sacarose (kg) pode ser convertida estequiometricamente em etanol (L) pela multiplicação pelo fator 0,682115. Esse volume de etanol por sua vez pode ser convertido em álcool hidratado ou álcool Anidro como demonstrado no item anterior.

- Sacarose em Etanol → Multiplicar por 0,6821
- Etanol em sacarose → Dividir por 0,6821

Os valores exatos de massa atômica do carbono (C) igual a 12,011g, hidrogênio (H) 1,0079g e do oxigênio (O) igual a 15,9994g. Com esses valores, a massa molecular do açúcar invertido ou glicose ou frutose C₆H₁₂O₆ é igual 180,1572g, a do etanol CH₃CH₂OH é de 46,0688g e do gás carbônico CO₂ é de 44,0098g.

Dada à equação 8, cada molécula de açúcar invertido (ou açúcares redutores) é fermentada para a conversão em duas moléculas de etanol e duas moléculas de gás carbônico.



Essa equação química mostra que 180,1572 g de açúcar invertido produzem 92,1376 g (2*46,0688) de etanol, ou seja, cada quilograma de ART corresponde a 0,511429 kg de etanol (100*2*46,088/180,1572). A massa de etanol

dividido pela massa específica do etanol (789,23 kg/m³) resulta em 0,648010 L de etanol por kg de ART.

Esse resultado é denominado "rendimento estequiométrico da fermentação, ou seja, o volume em litros de etanol que pode ser produzido por quilograma de ART com eficiência de fermentação de 100%%. Esse é o valor correto para ser utilizado nos cálculos estequiométricos.

ART em Etanol → Multiplicar por 0,6480

Etanol em ART → Dividir por 0,6480

Ou seja, somente um fator para as duas direções, o que evita erros de arredondamento e confusões nos cálculos.

4.1.3 Fases de fermentação

Segundo Lima et al. (2001), a fermentação alcoólica possui três fases principais: fase preliminar, tumultuosa e fase complementar, ao se adicionar o substrato junto às células, inicia-se a fase preliminar. Nesta fase, ocorre multiplicação intensa das células, e o açúcar consumido é usado na reprodução. Há uma pequena elevação da temperatura e baixo desprendimento de dióxido de carbono. A duração da fase preliminar depende das características do sistema de fermentação, e pode ser reduzida quando se emprega células com concentração intensa, ou pela adição de células em um meio mais rico que o original.

Para Paschoalini; Alcarde (2009) a fase tumultuosa é caracterizada pela grande quantidade de liberação de dióxido de carbono. É a fase de maior duração, onde há conversão intensa dos açúcares fermentescíveis, a densidade do mosto diminui o teor alcoólico, acidez e a temperatura aumentam, nesta fase há a formação de espumas. Na fase complementar há diminuição da fermentação devido à redução dos açúcares, nesta fase é notável pela redução da temperatura e da liberação de

CO₂ a figura 6 mostra detalhadamente as fases ao longo do tempo.



Cinética dos processos microbiológicos

Fermentação etanólica

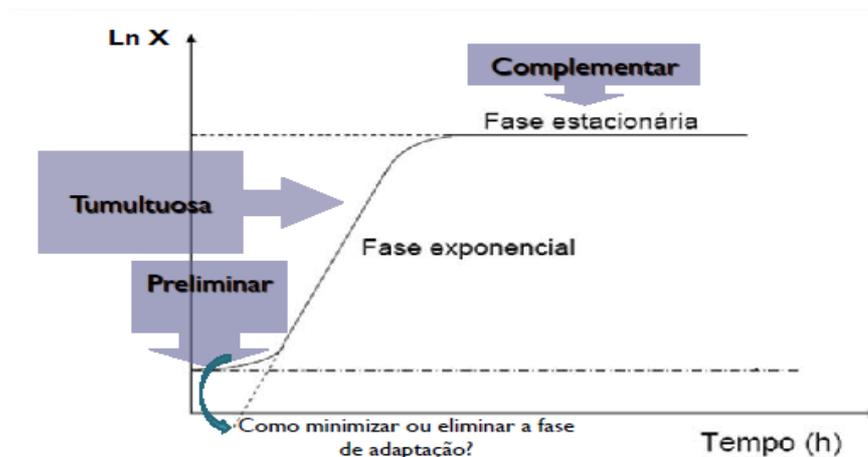


Figura 6: Fases da fermentação alcóolica

Fonte Adaptado BIOTECNOLOGIA NA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 18, 2012, Sertãozinho, CEISE – Bioprocessos do setor sucroenergético - fundamentos de microbiologia industrial. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012. p.53.

Caldas; Borém; Santos (2012) é difícil à determinação precisa dos limites destas fases e na prática industrial, quando a fermentação ocorre por batelada, é comum à adição de fermento tratado na dorna e, em seguida, a adição programada de mosto. Neste caso, a fermentação praticamente já se inicia na fase principal, que, dependendo do perfil de enchimento, pode ser mais uniforme, com elevações moderadas de temperatura e espuma.

Para Pacheco (2010) apud Naves et al. (2010), há várias maneiras de se conduzir a fermentação. O reator biológico pode ser operado de forma descontínua, semicontínua, descontínua alimentada (ou batelada alimentada) ou contínua, todos podendo trabalhar com ou sem recirculação do fermento. Atualmente no Brasil, a maior parte da produção industrial de álcool em grande escala, ocorre em processos fermentativos em batelada e contínuos, representados pelas figuras 7 e 8, sendo que a denominação batelada na prática industrial se refere à batelada alimentada.

4.1.4 Tipos de processos fermentativos

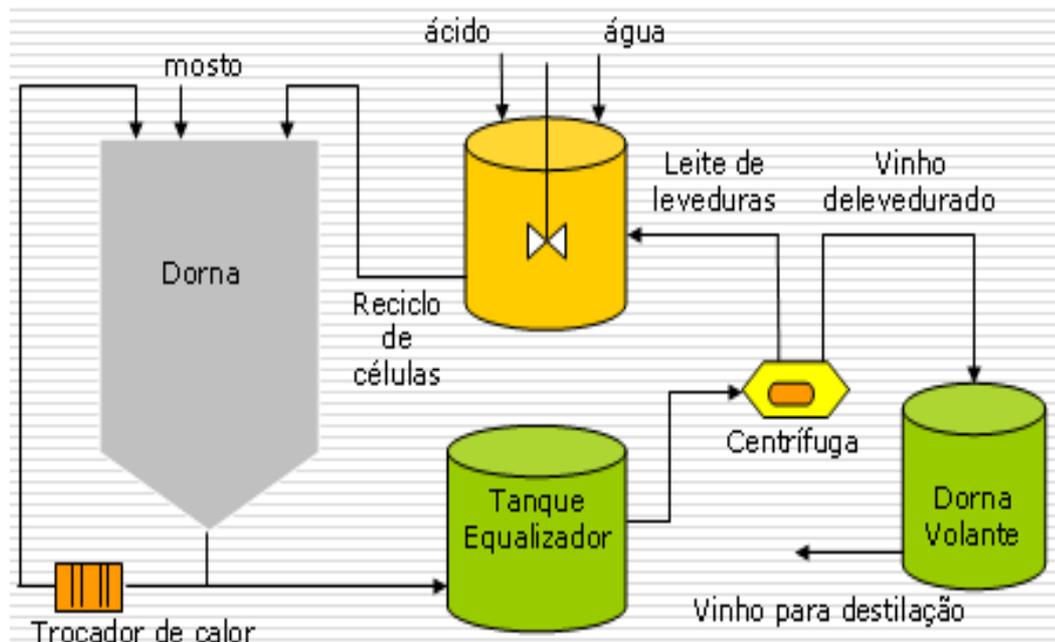


Figura 7:Esquema simplificado do processo Melle-Boinot de fermentação.
Fonte Adaptado Magalhães (2007)

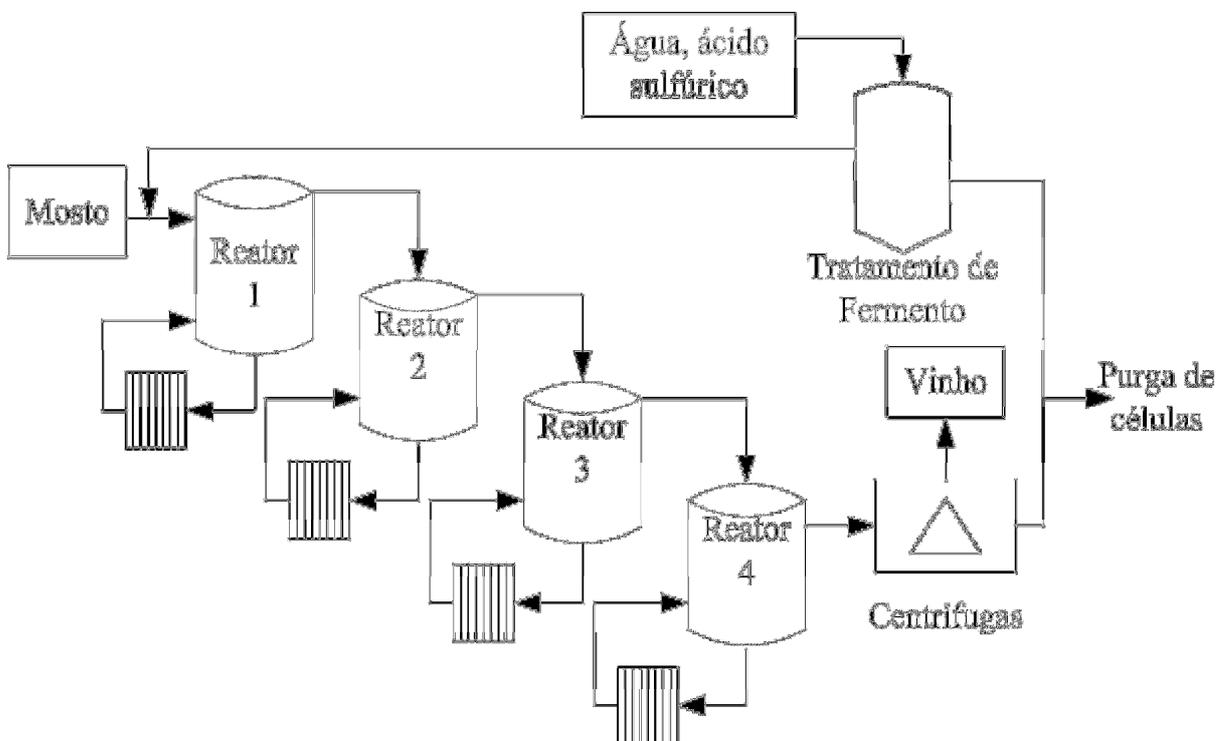


Figura 8:Esquema do processo de fermentação contínua.
Fonte Adaptado Neves et al. (2010)

Na tabela 1, estão identificados os tipos de processos fermentativos, seguidos pelas suas respectivas principais vantagens e desvantagens.

Tabela 1: Tipos de processos fermentativos

Tipo de fermentação	Vantagens	Desvantagens
Descontínua	<p>Processo lento, com um inoculo por tanque e com recirculação de células, ou seja, usando como inoculo o micro-organismo da batelada anterior.</p> <p>Este processo é o mais seguro, quando há problemas de manutenção e condições de assepsia, pois ao final de cada batelada a dorna será esterilizada, recebendo um novo inoculo.</p>	<p>A principal desvantagem da fermentação descontínua é o tempo gasto entre as bateladas.</p> <p>Outra desvantagem são os baixos rendimentos e/ou produtividades, quando o substrato adicionado de uma vez só no início da fermentação exerce efeitos de inibição, repressão ou desvia o metabolismo celular para formação de produtos que não interessam.</p>
Semicontínua	<p>Uma porção da cultura é coletada em intervalos de tempos e o meio fresco é adicionado à dorna. Nesse processo há uma variação no volume da cultura.</p> <p>Não há necessidade de ter uma dorna separada para o inoculo, exceto no início. O tempo também não é desperdiçado para a limpeza e reesterilização.</p> <p>Outra vantagem desta operação é que não é requerido muito controle de lavagem das dornas, utilização de biocidas.</p>	<p>Há um alto risco de contaminação e mutação devido aos longos períodos de cultivos e as operações manuais.</p> <p>Além disso, são necessários reatores de volumes maiores e os custos de investimento são levemente mais</p>

		elevados.
Descontínua Alimentada	<p>Um ou mais nutrientes são adicionados ao fermentador durante o cultivo e em que os produtos aí permanecem até o final da fermentação.</p> <p>O processo Melle-Boinot apresenta vantagens como: a economia de açúcar devido a menor reprodução celular (elevando o rendimento em etanol), a eliminação de contaminantes pela centrifugação do vinho (separação de células de levedura), fermentação mais pura devido ao tratamento de leite de levedura (tratamento ácido), eliminação da necessidade de cultura pura no preparo do pé-de-cuba, prática exigida no processo clássico, diminuindo, portanto a complexidade das operações de planta.</p>	<p>A fermentação descontínua alimentada não reduz os efeitos inibitórios do acúmulo de etanol na cultura.</p>
Contínua	<p>O processo de fermentação contínua caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume de reação mantido constante através da retirada contínua do caldo fermentado.</p> <p>Tal processo pode ser mais vantajoso que o de batelada ou batelada alimentada, pois inclui otimização das condições de processo para uma maior produtividade, período longo de produtividade contínua, maior produtividade volumétrica, maior uniformidade do produto, redução dos custos laboratoriais e sanitização das dornas e maior facilidade de controle automático.</p>	<p>A maior desvantagem é que as fermentações contínuas são mais suscetíveis à contaminação bacteriana por longo prazo de exposição.</p>

Fonte Adaptado Naves (2010)

4.2 Matéria Prima

As matérias-primas usadas para a produção de etanol via fermentação são de origem agrícola (recursos renováveis), dependentes das fotossínteses.

Nem todas as culturas, porém, são economicamente viáveis. Para ser considerada matéria-prima para a produção de etanol, a matéria-prima deve conter glicose, frutose, sacarose, amido, celulose etc.

Caldas; Borém; Santos (2012) a adoção de determinada matéria-prima para a produção de etanol depende de uma série de fatores: disponibilidade e facilidade de transporte custos de produção; rendimento industrial em etanol; conter o substrato adequado (e em concentrações economicamente viáveis) ao microrganismo agente da fermentação etanoica; custo industrial da transformação em etanol; ser de fácil obtenção, não exigindo tratamentos prévios onerosos; não contribuir para complicar os processos de separação de produtos do meio fermentado; e ser economicamente vantajosa e de fácil estocagem.

No Brasil, as matérias-primas utilizadas para a produção de etanol são a cana de açúcar e o melaço, subproduto da fabricação do açúcar. Por serem as únicas matérias-primas de utilização comercial atuais, serão feitas considerações mais detalhadas apenas sobre elas.

4.2.1 Cana-de- açúcar

Caldas; Borém; Santos (2012) a cana-de-açúcar chegou ao Brasil em 1532, trazida da Ilha da Madeira por Martim Afonso de Souza. Foi plantada inicialmente na Capitania de São Vicente, onde foi implantado o primeiro engenho de açúcar do Brasil, cujo nome era São Jorge dos Erasmos.

O segundo engenho, fundado dois anos depois, na Capitania de Pernambuco, foi denominado Engenho Nossa Senhora da Ajuda. A cultura passou a expandir-se, a partir destas duas capitanias, para a Bahia, Sergipe, Alagoas, Espírito Santo e Rio de Janeiro. A maior região produtora, durante mais de quatro séculos, foi a Zona da Mata do Nordeste, especialmente o Estado de Pernambuco. posteriormente, expandiu-se para a Região Sudeste, tendo como maior produtor o Estado de São Paulo, que atualmente responde por 62,50% da produção nacional.

A cana-de-açúcar é atualmente cultivada em 20 estados brasileiros, com destaque para São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Alagoas e Pernambuco.

A composição da cana-de-açúcar depende da variedade, do estágio de maturação, das condições climáticas, da adubação, da altura do desponte, da fertirrigação com vinhaça, do estado de sanidade da cultura, do tempo entre o corte e o processamento (deterioração), das propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, da idade, entre outros fatores.

A Tabela 2 traz a composição média do caldo de cana-de-açúcar.

Tabela 2: Composição Média do Caldo de Cana-de-Açúcar

Componente	Valor Percentual
Brix	19,50
Água	81,00
Sacarose	16,00
Glicose	0,30
Frutose	0,10
Açúcares Totais	18,0
Substâncias redutoras Infermentescíveis	0,02
Matéria Nitrogenada	0,03
Acidez Sulfúrica	0,50
pH	5,50
Cinzas	0,40
P2O5	0,02
K2O	0,15
CaO	0,02
MgO	0,02
SiO2	0,02
Vitaminas	Variável

Fonte Araújo (1982) adaptado Caldas et al.(2012)

Conforme Oliveira Filho (2010) apud Carvalho (2011) de acordo com o primeiro levantamento trimestral realizado pela CONAB, (2011), a previsão de produção de cana-de-açúcar para a safra de 2011/2012, deve chegar a 641.942 milhões de toneladas, de uma área estimada de 8,44 milhões de hectares. Com

grandes investimentos em pesquisa, trabalhos com cruzamento de espécies e processos de seleção de linhagens tornou-se possível criar variedades de cana mais adaptadas ao clima e solo das diversas regiões produtoras do Brasil.

Com o advento da biotecnologia também foi possível desenvolver variedades mais resistentes a pragas e doenças, contribuindo ainda mais para a redução no uso de defensivos agrícolas e, conseqüente, aumento da produtividade.

A figura 9 demonstra a evolução das variedades ao longo das décadas.

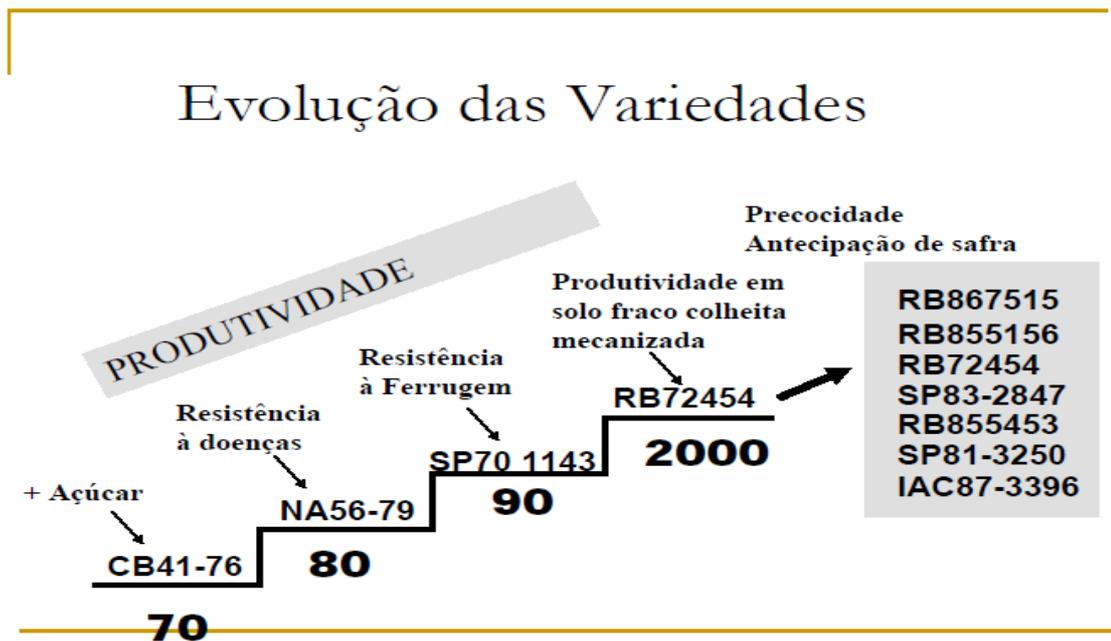


Figura 9: Evolução das variedade de cana

Fonte Adaptado MATÉRIA PRIMA PARA AÇÚCAR E ÁLCOOL, 2, 2012, Sertãozinho, CEISE – A CANA- DE- AÇÚCAR. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.4.

Segundo Stupiello (1987) apud Carvalho (2011), a cana-de-açúcar como matéria-prima é definida como “colmos em estágio adiantado de maturação, sadios, recém-cortados, normalmente despontados e livres de matérias estranhas”. Com uma matéria-prima de qualidade é possível então obter melhores resultados industriais. A figura 10 ilustra o produto cana-de-açúcar.

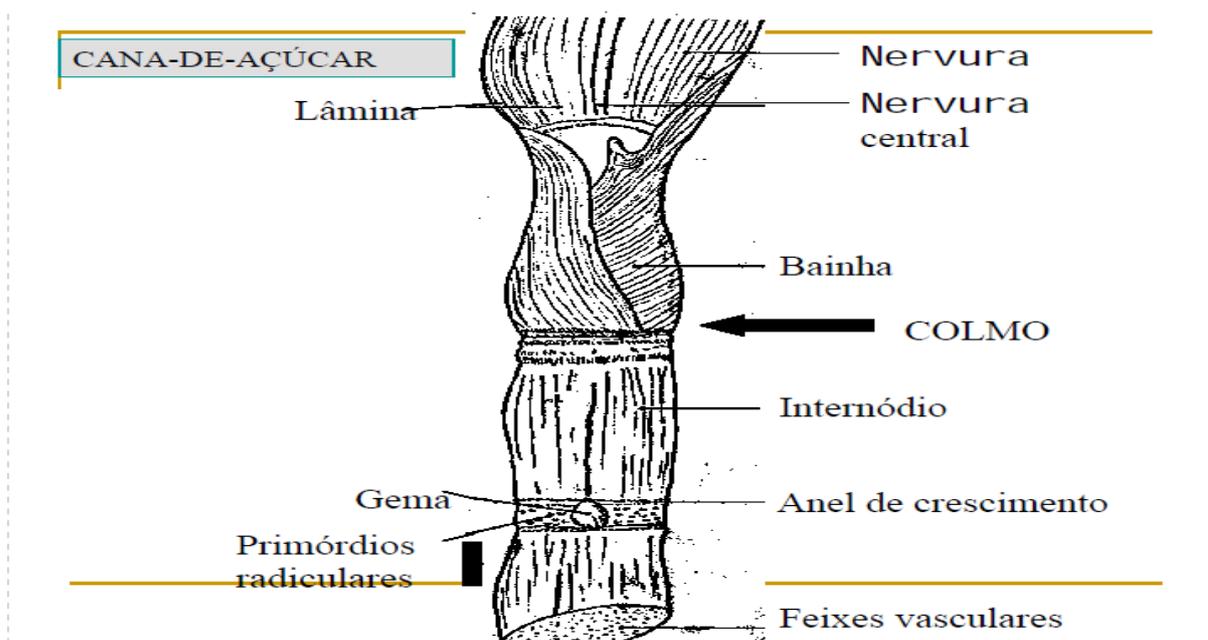


Figura 10 : Cana de açúcar

Fonte Adaptado MATÉRIA PRIMA PARA AÇÚCAR E ÁLCOOL, 2, 2012, Sertãozinho, CEISE – A CANA- DE- AÇÚCAR. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012,p.13.

Para Fernandes (2011) a qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima industrial pode ser definida como uma série de características intrínsecas da própria planta que definem seu potencial para produção de açúcar e álcool. Essas características são influenciadas pelas condições do solo e clima e podem ser significativamente alteradas pelo manejo de produção.

Do ponto de vista tecnológico, os colmos são constituídos de caldo mais sólidos insolúveis em água, conforme representa a equação 9;

$$\text{CANA} = \text{SÓLIDOS INSOLÚVEIS} + \text{CALDO}(9)$$

O caldo contém a água e os sólidos solúveis totais, que correspondem aos açúcares e não açúcares, representada pela equação 10;

$$\text{CALDO} = \text{SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS} + \text{ÁGUA}(10)$$

A partir das duas equações citadas anteriormente, temos a equação 11;

$$\text{CANA} = \text{SÓLIDOS INSOLÚVEIS} + \text{SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS} + \text{ÁGUA}(11)$$

Os sólidos insolúveis em água são representados pela fibra da cana. A medida dos sólidos solúveis aparentes é denominada brix. Os sólidos solúveis são classificados em açúcares (sacarose, glicose e frutose, principalmente) e em não açúcares orgânicos e não açúcares inorgânicos. A natureza dos não açúcares pode explicar as diferenças de comportamento durante o processamento de uma matéria-prima em relação à outra de composição tecnológica similar. A "água" da última

equação representa a umidade da cana, o que resulta em termos percentuais na "primeira equação fundamental da tecnologia açucareira", representada aqui pela equação 12:

$$\text{CANA} = \text{FIBRA} + \text{BRIX} + \text{UMIDADE} \quad (12)$$

Ainda Fernandes (2011) em quantidade, a água é o principal componente da cana-de-açúcar, assim como para todas as plantas. No período da safra na região centro-sul do Brasil a umidade % cana varia normalmente de 76% (cana não madura em área com muita umidade no solo) e decresce até 67% ou menos (após longa estiagem ou déficit hídrico acentuado. Durante o período da colheita, com a cana madura, a umidade% cana situa-se normalmente entre 68 % a 72% %%%, sendo a média da safra em torno de 70%. Abaixo de 67% de umidade a planta poderá estar entrando em estresse hídrico e acima de 73% pode significar que foi colhida fora do ponto de maturação ideal ou então necessária checar a qualidade dos resultados das análises, a figura 11 ilustra a composição tecnológica média de duas variedades de cana-de-açúcar colhidas em cana-planta e cana-soca.

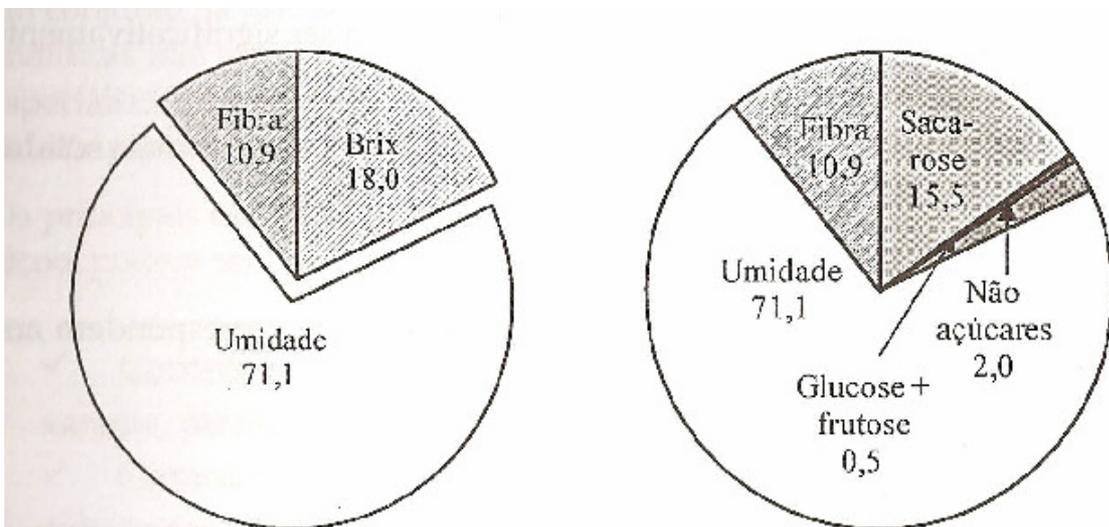
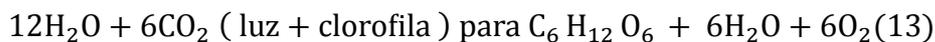


Figura 11: Representação da composição tecnológica da cana-de-açúcar
Fonte Adaptado Fernandes(2011)

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) a formação fisiológica e todos seus constituintes depende da Fotossíntese da cana que constitui um aparato fotossintético localizado nos cloroplastos, mais especificamente em membranas especializadas chamadas de tilacoides. Este sistema de dupla membrana está disposto em regiões de alta densidade, o grana, e de baixa densidade, a lamela; e

alocado por uma matriz externa, o estroma, e uma interna, o lúmen. A fotossíntese acontece nos tilacoides, devido à presença de pigmentos fotossintéticos, ou seja, as clorofilas, que absorvem luz na faixa de 400-700 nm. Essa faixa do espectro, que é utilizada pelos vegetais como fonte de energia para as suas atividades metabólicas, é comumente identificada como Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR, do inglês Photosynthetically Active Radiation), cuja unidade de medida é $\mu\text{mol de fótons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. O processo fotossintético pode ser representado pela equação 13 simplificada de redução, em que o CO_2 recebe elétrons e CH é reduzido.



Conforme a figura 12 demonstra a H_2O é oxidada, liberando O_2 , pois a luz promove a oxidação da água,

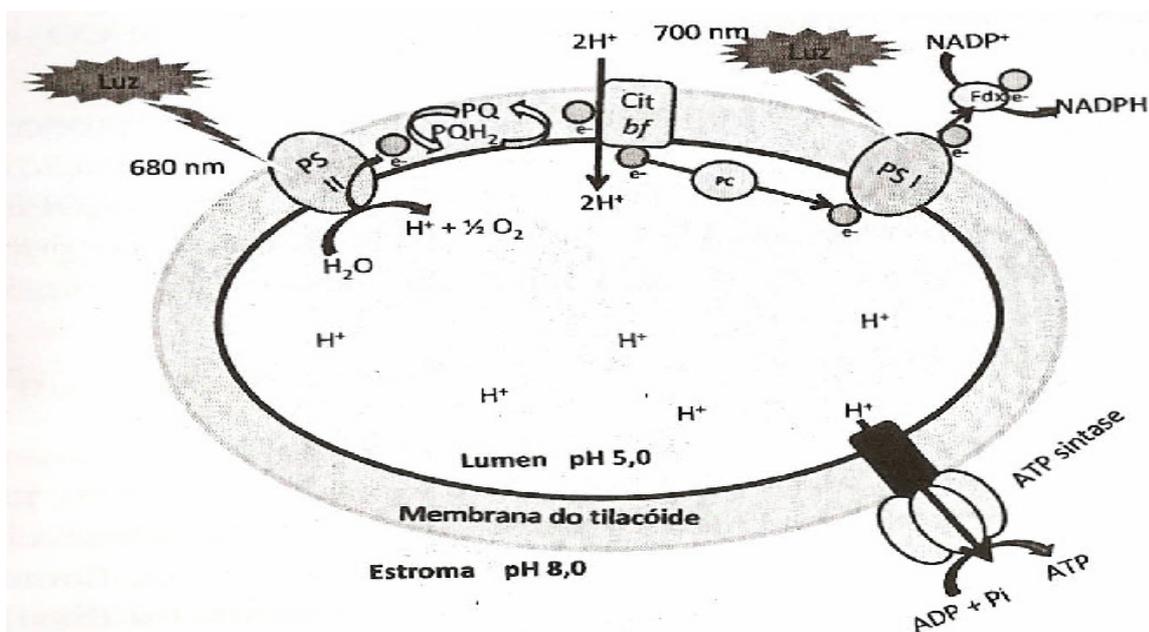
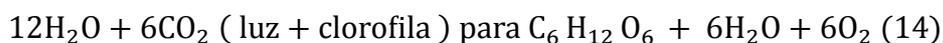


Figura 12: Esquema das membrana de tilacoides e fotofosforilação
Fonte Adaptado Caldas ; Borém ;Santos (2012)

O processo fotossintético pode ser representado pela equação 14 simplificada de redução, em que o CO_2 recebe elétrons e CH é reduzido. A H_2O é oxidada, liberando O_2 , pois a luz promove a oxidação da água:



A fotossíntese refere-se a uma série de reações, as quais envolvem absorção da luz, conversão de energia, transferência de elétrons e múltiplos

processos dos quais participam enzimas para a conversão de CO₂ e água em carboidratos.

Há duas fases nesse processo : reações de luz – com a produção de O₂ , ATP e NADPH e C sintetizados a partir da energia radiante; e reação do escuro – o ciclo da redução do C (ciclo de Calvin) , que consome ATP e NADPH e produz carboidratos. As duas fases ocorrem em diferentes regiões, à primeira nas membranas do tilacoide e a segunda no estroma , mediada por enzimas.

Para Fernandes (2011) maiores teores de sacarose por tonelada de cana resultam numa maior produção de etanol e açúcar, além de uma melhor valorização no momento do pagamento ao fornecedor ao contrário processar uma cana de baixa qualidade, reduz a velocidade de trabalho da indústria, aumento no consumo de insumos, maior desgaste dos equipamentos, obtendo produtos de menor qualidade, refletindo na queda do rendimento industrial, e maiores custos com manutenção industrial .

Segundo Alquati (1990) apud Naves et al. (2010) a planta de cana-de-açúcar, como todo organismo vivo, encerra uma microbiota característica distribuída tanto no sistema vascular como em sua camada periférica .

Conforme Mutton (2011) a presença maciça de micro-organismos tem origem no campo, estes adentram nos colmos através da ocorrência de infestação de pragas, danos provocados nos colmos pelas operações de corte/carregamento/transporte, facilitando assim a infecção. O corte da cana contribui significativamente neste contexto, sendo que o corte manual deixa menor área exposta para penetração de micro-organismos , conforme é ilustrado na figura 13 abaixo.



Figura 13: Corte Manual
Fonte Adaptado Andrietta (2012)

enquanto que o corte mecanizado aumenta esta área . As canas saudáveis podem conter de 10¹ a 10⁸ bactérias/g e 10¹ a 10³ bolores e leveduras/g.

A figura 14 ilustra o corte mecanizado.



Figura 14: Corte mecanizado
Fonte Adaptado Andrietta (2012)

Ainda conforme Mutton (2011) esta microbiota é levada juntamente com o caldo bruto no momento de sua obtenção através da moagem das plantas. O número total de bactérias presentes no caldo bruto de cana-de-açúcar pode ser aumentado sensivelmente tanto por períodos prolongados entre o corte e a moagem da planta como por insipiente assepsia na moenda, filtros, bombas e tubulações que entram em contato direto com o referido material, necessitando muitas vezes do emprego de antissépticos para o controle da carga bacteriana.

Além do mais, normalmente, encontra-se nas unidades industriais o “pátio de cana”, que funciona como um estoque para atender as flutuações de entrega da matéria prima, no qual esta reserva deve ser obrigatoriamente renovada em até 24 horas, pois além desse tempo há uma deterioração acentuada da cana e conseqüentemente, um aumento do nível de contaminantes, a figura 15 ilustra o pátio com cana estocada .



Figura 15: Pátio de cana
Fonte Adaptado Andrietta (2012)

Segundo Angelis (2010) apud Naves et al. (2010) por outro lado, durante a lavagem da cana pode-se haver a remoção parcial dos contaminantes, se a qualidade da água e os cuidados operacionais forem adequados, mas também pode ocorrer um aumento drástico desses contaminantes, quando os cuidados não são assumidos corretamente.

Para Stroppa (1998) apud Naves et al. (2010) o pH da água de lavagem determina o nível de sua contaminação, sendo que um pH em torno de 10 a 11 em circuitos fechados, possui contagem de bactérias mais baixas. Assim com o controle adequado de matéria-prima, da água de lavagem e do processo de extração, pode-se obter um caldo misto com pH ao redor de 5,5 e com números de contaminantes inferiores a 10^7 ufc/mL , a figura 16 ilustra o sistema fechado de lavagem de cana .



Figura 16: Lavagem de cana
Fonte Adaptado Andrietta (2012)

Para Mutton (2011) a deterioração microbiológica, é consequência da atividade metabólica de microrganismos, que resulta na formação de compostos nocivos à planta e substâncias prejudiciais aos processos industriais como: ácidos orgânicos, gomas e polissacarídeos. E a deterioração tecnológica causada principalmente pelas impurezas minerais (pedra e terra) e vegetais (palmito, palha,

folha, colmos secos), abaixo se apresenta as figuras 17,18 e 19 com exemplos da cana-de-açúcar com baixa qualidade e causas na fermentação etanoica.

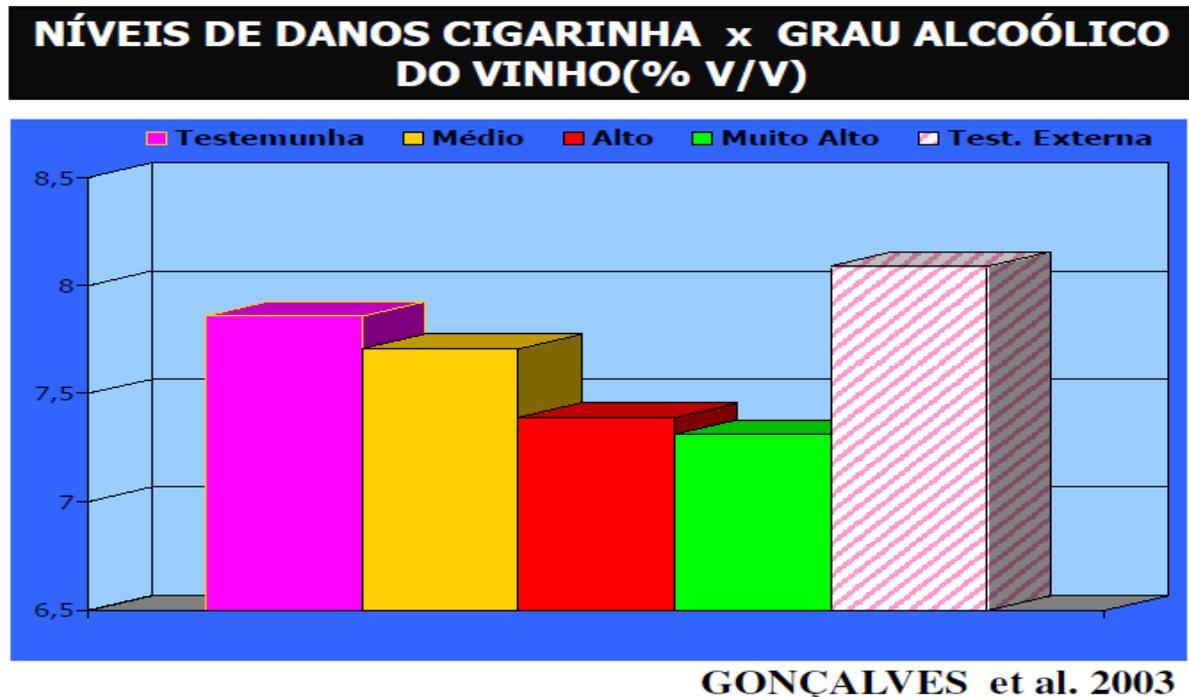


Figura 17: Danos da Cigarrinha X Grau Alcoólico
Fonte Adaptado Mutton (2011)

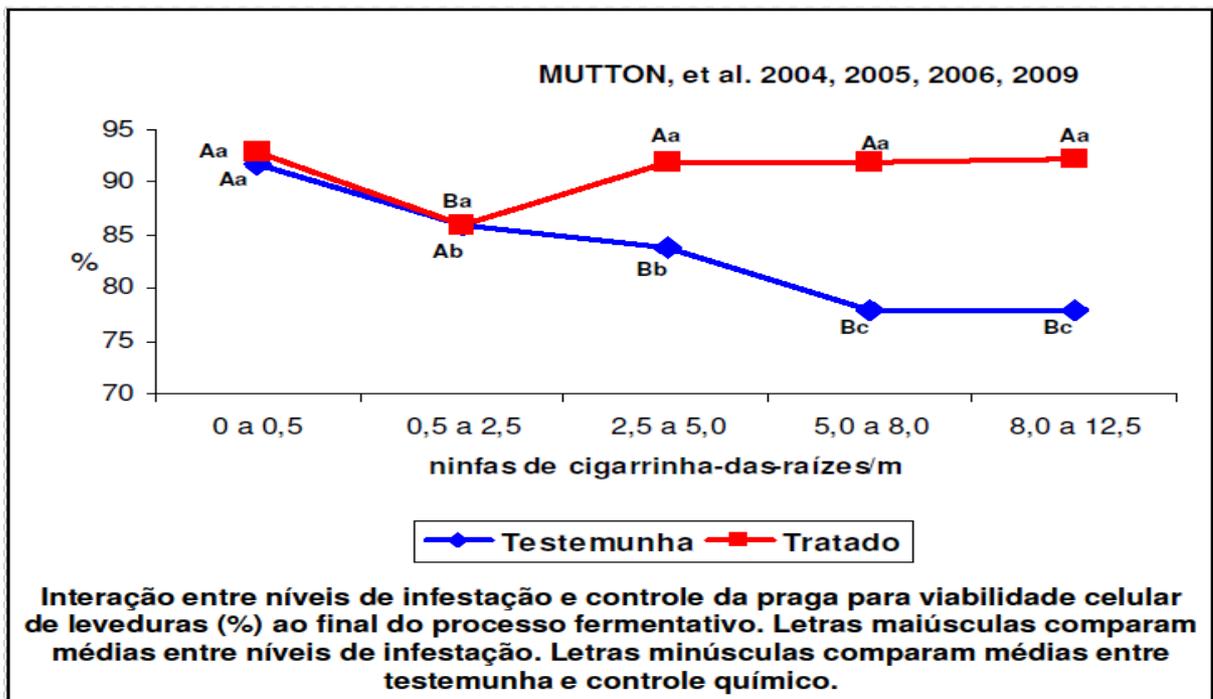


Figura 18: Danos da Cigarrinha X Viabilidade Celular
Fonte Adaptado Mutton (2011)

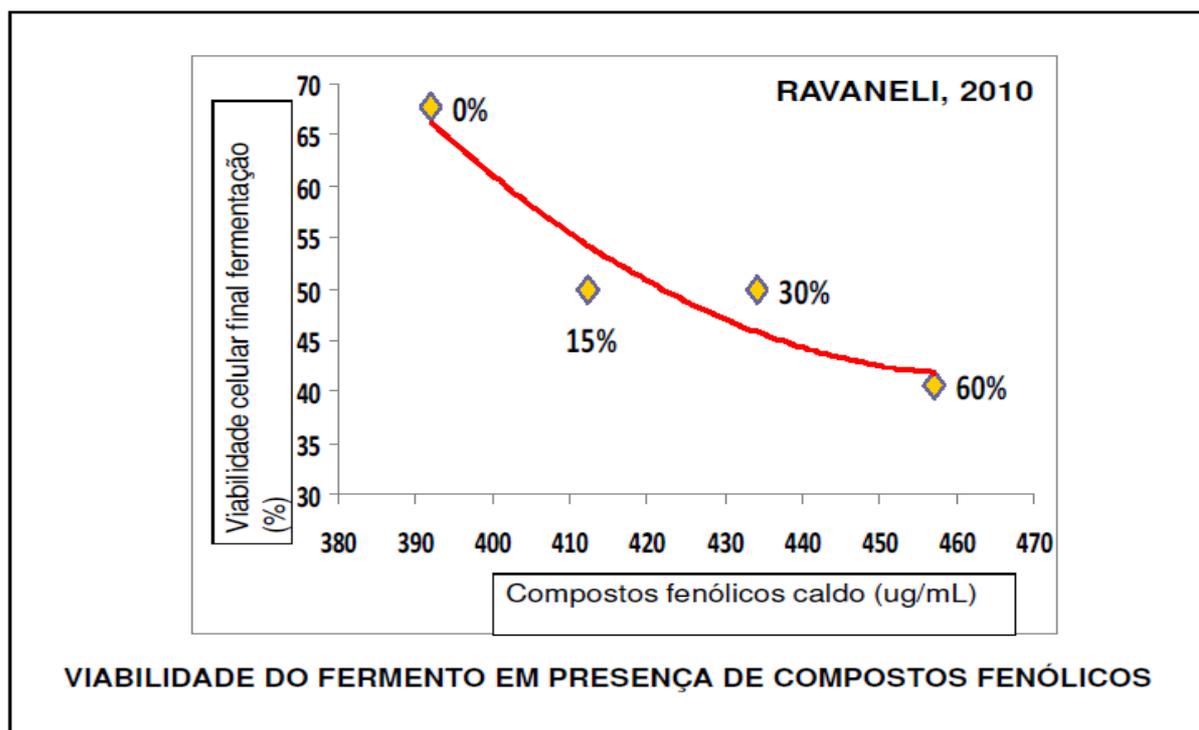


Figura 19: Compostos Fenólicos X Viabilidade do Fermento
 Fonte Adaptado Mutton (2011)

4.2.2 Melaço

Para Caldas; Borém; Santos (2012) o melaço, subproduto da fabricação de açúcar, é um líquido denso viscoso, de cor parda escura, rico em açúcares, contendo pequeno percentual de água. Recebe denominações regionais, como mel esgotado, mel pobre, mel final, mel residual ou simplesmente melaço. Sua densidade varia de 1,4 a 1,5 g/ml e é produzido à razão de 40 kg/t de cana. O rendimento em etanol é de 280 a 320 litros/tonelada.

Sua composição depende da variedade, da idade, do estado de sanidade da maturação, do sistema de cultivo, da adubação e dos tratamentos culturais da cana-de-açúcar, bem como das condições climáticas, dos processos de fabricação do açúcar, se a cana foi colhida queimada ou crua, das condições e do tempo de armazenamento da cana etc. O melaço não pode ser processado diretamente, devendo ser diluído com água de boa qualidade e/ou caldo de cana-de-açúcar na preparação do mosto. Apesar de sua riqueza em açúcares, é deficiente em outras fontes nutricionais, sendo necessária a suplementação, principalmente de sais de fósforo e nitrogênio, a tabela 3 apresenta a composição do melaço a partir do processo de fabricação dos açúcares cristal e demerara.

Tabela 3: Composição do Melaço

Determinação	Melaço proveniente de:	
	Açúcar Cristal	Açúcar Demerara
C(%)	23,66(a) ± 1,21(b)	22,26 ± 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
K₂O(%)	3,51 ± 0,21	3,80 ± 0,13
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 (1983) adaptado Caldas et al (2012)

Segundo Fernandes (2011) o melaço é o material final em uma usina de açúcar ou refinaria, após o cozimento em sistema de três massas ,cristalização e centrifugação do açúcar. O açúcar que permanece no mel final pode ser recuperado economicamente.

As usinas que produzem açúcar e álcool na mesma fábrica chamam o melaço, o que pode ser somente mel "B", uma vez que trabalham normalmente com sistema de duas massas. O melaço é enviado à fermentação para produção de etanol ,neste aspecto a esgotamento das massas não é de fundamental importância

A composição tradicional do melaço em sistema de três massas é percentualmente dividida em brix de 82% a 88%, teor de sacarose de 28% a 34%, pureza real de 32% a 38% ,açúcares redutores de 12% a 16%, cinzas de 10% a 14%, água de 12% a 18% açúcares diversos, gomas e 16% de ácidos. As cinzas incluem o cálcio ,potássio, silício, ferro, fósforo e outros elementos na forma de sais inorgânicos .

As cinzas no processo de fabricação do açúcar, onde se pretende esgotamento do melaço, as cinzas sempre foram consideradas contraditórias, por terem efeito melassigênico, isto é, aumentam a quantidade de melaço, assim como conduzem à formação de falsos núcleos de cristais, sob o ponto de vista da fabricação de álcool, as cinzas presentes no caldo de cana podem ter efeitos benéficos, até certos limites, uma vez que alguns de seus componentes representam nutrientes para o processo fermentativo.

Para Reis ; Ribeiro (2009) o sulfito é um dos componentes do melaço que pode afetar o desenvolvimento da fermentação alcoólica. Desde 1990, o uso de melaço na formulação dos mostos para fermentação alcoólica tem crescido e conseqüentemente a concentração de sulfito no mesmo.

Conforme Dorta (2006) apud Reis ; Ribeiro (2009) o sulfito é normalmente utilizado no processo de clarificação do açúcar e está presente em altas concentrações no melaço da cana-de-açúcar, contribuindo para a diminuição do rendimento alcoólico e viabilidade das células das leveduras. As respostas aos diferentes tipos de estresse é uma característica fundamental na adaptação dos organismos vivos às condições adversas do ambiente.

Para Estruch (2000) apud Reis ; Ribeiro (2009) as células de *Saccharomyces cerevisiae*, quando submetidas a condições de estresse, desenvolvem uma rápida resposta molecular para reparar danos e proteger as estruturas. Essa resposta é caracterizada pela síntese de proteínas específicas, aumento do nível celular de trealose, alteração da composição lipídica da membrana plasmática, dentre outros fatores.

Segundo Thevelin (1984) apud Guilman et al. (2000), a trealose é importante para a manutenção da viabilidade celular da levedura, contudo, é utilizada como carboidrato de reserva durante períodos em que a sobrevivência da célula depende do nível de trealose e de glicogênio.

Para Aranda et al. (2003) apud Guilman et al. (2000) no estudo do acúmulo de trealose em células de *Saccharomyces cerevisiae*, afirmaram que a capacidade da levedura estocar trealose está relacionada com um melhor estado fisiológico que esta se encontra, já que exerce proteção contra os fatores de estresse do meio fermentativo.

Segundo Amorim (2005), na fermentação industrial, a levedura se acha continuamente exposta a situações estressantes e que de acordo com a

intensidade, tais situações podem acarretar a exaustão de seu conteúdo de trealose, o que, gera segundo ele, queda da viabilidade da célula.

Para Hodge ; Hildebrandt (1954) apud Gutierrez (1988) ,a utilização do melão em maior proporção para a produção de álcool etílico pode afetar a fermentação alcoólica devido a alguns componentes presentes nesta matéria prima, o ácido fórmico pode ser encontrado no melão em consequência da degradação térmica de açúcares durante o processamento do caldo de cana.

Segundo Dierssen et al. (1956) apud Gutierrez (1988) o ácido fórmico pode ser encontrado em concentrações de até 4000 ppm e o ácido propionico em até 3000 ppm no melado. Os mesmos autores salientaram que dos ácidos orgânicos, o mais prejudicial foi o ácido butírico em concentrações acima de 1500 ppm, entretanto não fizeram referências aos efeitos dos ácidos fórmicos e propionico sobre a fermentação alcoólica .

Conforme Samson et al. (1955) apud Gutierrez (1988) trabalhando com extratos livres de células de leveduras, verificaram que o ácido propionico inibiu a produção de gás carbônico anaerobicamente a partir de glicose , concluindo que a inibição da fermentação em células intactas não foi consequência da ação deste ácido sobre as membranas, verificou também que concentrações de 800 mg/l de ácido fórmico afetou a produção de etanol de um strain de levedura (LK 01) enquanto o strain 03/26 foi mais sensível. O diferente comportamento das leveduras em relação a ácidos orgânicos durante a fermentação levou a verificar que o ácido propionico inibiu a formação fermentativa do etanol pelas leveduras enquanto que dose de 1500 miligramas de propionato por litro inibiu o crescimento de leveduras levando ao acúmulo de cetoácidos.

Para Amorim (2005) muito ainda tem que ser feito para a verificação dos efeitos de fatores estressantes às leveduras durante a produção etanoica visando maior otimização do processo.

4.3 Aeração e Agitação

Para Chaves (2006) apud Souza ; Monteiro (2012), a aeração é uma pratica que consiste em introduzir ar no mosto no inicio da fermentação, a fim de favorecer o desenvolvimento de leveduras e, conseqüentemente, favorecer a transformação completa dos açúcares fermentáveis.

O oxigênio é necessário ao desenvolvimento das leveduras em seu processo de multiplicação, principalmente na fase inicial da fermentação sendo que as condições de anaerobiose induzem a formação de etanol e de gás carbônico. Em condições de aeração ocorre grande reprodução das leveduras, conseqüentemente o aumento do fermento.

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) a aeração mecânica é uma das operações mais importantes na condução da fermentação etanoica industrial, trazendo uma série de benefícios, como: menor gradiente de temperatura; impedimento da formação de "fundos de dornas de fermentação"; menor tempo de fermentação (menor tempo de residência); maior produtividade em etanol; maiores eficiências fermentativa e de processo; maior uniformidade do produto; melhor desempenho das centrífugas; amostragem representativa; e maior viabilidade celular.

A aeração é um fator importante para que se obtenha uma maior formação de massa celular viável durante o processo fermentativo. A injeção do ar serve para agitar e aerar, eliminando o gasto de energia para agitação, e promovendo um aumento na capacidade de transferência de massa e calor.

Para Cardoso (2007) apud Souza ; Monteiro (2012), a aeração do mosto melhora a multiplicação do fermento. Isso pode ser feito pela formação de uma espécie de chuveiro para a entrada do mosto na dorna , a levedura possui dois tipos de metabolismo celular: oxidativo e fermentativo. O metabolismo oxidativo ocorre na presença de oxigênio, em que a levedura pode apresentar o efeito "pasteur" oxidando os carboidratos por respiração e estimulando a multiplicação intensa , entretanto na ausência de oxigênio o metabolismo passa a ser fermentativo, ocorre assim à produção de etanol e gás carbônico. O gás carbônico formado na aeração de transformação de sacarose em etanol contribui para a manutenção da anaerobiose na dorna de fermentação.

Segundo Ribeiro (2010) apud Monteiro ; Carvalho (2011) a aeração é necessária na fase de propagação, facilitando o aumento do número de células.

Já para Cardoso et. al (2007) apud Souza ; Monteiro (2012), deve-se evitar durante a fermentação a aeração do mosto, já que o aumento de oxigênio faz com que o lêvedo transforme o açúcar em ácido acético em vez de etanol.

Conforme Borzani et al. (2001) apud Naves et al. (2010) os micro-organismos se comportam de diferentes maneiras na presença de oxigênio livre, ou

seja, alguns micro-organismos exigem a presença de oxigênio para sua sobrevivência não tolerando nem sequer pressões normais de O₂ atmosférico (aeróbios), outros não toleram a presença de oxigênio (anaeróbios) e há aqueles que podem se desenvolver tanto na presença como na ausência do oxigênio livre (facultativos) .

Conforme Lima et al. (1986) apud Naves et al. (2010) a *Saccharomyces cerevisiae* tem características facultativas respeito à utilização do oxigênio, podendo seguir rotas metabólicas tanto na ausência como na presença de oxigênio. Porém quando há altas concentrações de açúcares ocorre à inibição da atividade de enzimas respiratórias e a formação de mitocôndrias, levando a produção de álcool na presença de oxigênio, processo denominado Efeito Crabtree .

Para Steckelberg (2001) apud Naves et al. (2010) a fermentação alcoólica é inibida na presença de grandes concentrações de oxigênio, fenômeno este denominado “Efeito Pasteur”. Este efeito está intimamente associado ao estado fisiológico da célula, sendo que se manifesta principalmente nas leveduras que não estão na fase de crescimento (fase estacionária) nas quais ocorre nítida diminuição do consumo específico de glicose. Nas células em crescimento (fase exponencial), por outro lado, não se observa diferença significativa quanto à velocidade de consumo de glicose entre uma célula aeróbia e outra anaeróbia .

Para Souza (2009) apud Naves et al. (2010) embora pareça contraditório, sabe-se hoje que a completa falta de oxigênio não é benéfica ao processo de produção de álcool. Níveis mais altos de rendimentos alcoólicos e menos glicerol formado foram obtidos em culturas nas quais havia certa quantidade de oxigênio disponível.

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) a aeração , se adequada, é a melhor forma de homogeneização do meio em fermentação, tanto no processo em batelada como no contínuo, conduzidos com células livres. Isso promove uniformização do meio em fermentação, mantendo as leveduras em suspensão proporcionando contato eficiente do microrganismo agente da fermentação etanoica com o substrato.

Um dos fatos mais importantes do uso da agitação mecânica na fermentação etanoica (como em qualquer processo fermentativo) é que, se esta operação for bem conduzida, o meio se torna homogêneo, a amostragem é representativa e poderá ser feita em qualquer local da dorna.

4.4 Nutrições das leveduras

Segundo Lima et al. (2001) a nutrição balanceada das leveduras é um fator que interfere no rendimento. Estes seres necessitam de fonte de carbono (açúcares), vitaminas, nitrogênio, fósforo, magnésio, cálcio, ferro e outros elementos.

Muitos dos nutrientes podem estar presentes no mosto, sendo desnecessária sua adição.

É necessário usar produtos específicos para cada fase do processo. No começo da fermentação, devem ser utilizados nutrientes que ajudem no desenvolvimento da levedura.

Os nutrientes compostos, produzidos pelas indústrias químicas, possuem fórmula balanceada que segue as recomendações dos fornecedores de leveduras selecionadas. O emprego desses produtos reduz o custo de mão de obra na destilaria.

De acordo com Caldas; Borém; Santos (2012) a concentração de nutrientes no mosto é um dos fatores mais importantes para a boa condução da fermentação etanoica. Se presentes em quantidades inadequadas, maiores ou menores que as necessárias, os nutrientes podem proporcionar reflexos negativos sobre o desempenho da fermentação etanoica, afetando a multiplicação celular e a velocidade da fermentação. As leveduras necessitam de meio contendo fonte de carbono, como glicose e frutose; além disso, o meio deve ser fonte de vitaminas, nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, ferro, cobre, cobalto, iodo e outros em menor quantidade.

Células de *Saccharomyces cerevisiae* utilizam o fósforo na forma H_2PO_4 , predominante em pH 4,5. O enxofre pode ser assimilado de sulfato, sulfito ou tiosulfato. O enxofre é adicionado no tratamento do inoculo (adição de ácido sulfúrico) e na sulfitação do caldo (adição de enxofre), na fabricação de açúcar branco.

O nitrogênio é absorvido pela levedura nas formas amoniacal, amídica (ureia) ou amínica. Fontes adequadas de nitrogênio são importantes para a síntese de aminoácidos e proteínas, o crescimento e a fisiologia das leveduras.

Ressalte-se que, como o mosto contém em parte ou em sua totalidade vários destes nutrientes em quantidades adequadas, é sempre conveniente

determinar a composição média dos mostos para que a complementação seja a mais adequada.

4.5 Concentrações de açúcares e Concentração de fermento

Para Steckelberg (2001) apud Naves et al. (2010) a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é capaz de fermentar os açúcares que compõem a cana-de-açúcar, que são basicamente a glicose, a frutose, e a sacarose .

Para Souza (2009) apud Naves et al. (2010) essas linhagens de levedura normalmente utilizadas nos processos industriais apresentam uma osmotolerância limitada .

O aumento da concentração de açúcares, conseqüentemente eleva a velocidade de fermentação, resultando em perdas da atividade de transporte de açúcar, produzindo menos álcool. O estresse induzido pelo aumento da osmolaridade externa leva a redução em crescimento e perda da viabilidade das células das leveduras, devido às perturbações no gradiente osmótico através da membrana plasmática. Isto leva, por sua vez, a perdas em volume das células que se contraem por causa de diferenças em pressão osmótica entre o exterior e o interior das células .

Para Caldas; Borém; Santos (2012) sabe-se que os açúcares redutores totais (ART) e o etanol, em determinadas concentrações, exercem efeito de inibição sobre o metabolismo das leveduras e que o efeito deles é sinérgico, o controle da adição de açúcares é de fundamental importância, não só para controlar ou mesmo minimizar efeitos inibitórios, mas, também, para aumentar a eficiência fermentativa e a produtividade.

A adoção de um perfil de alimentação adequado reduz o tempo de fermentação e aumenta a eficiência fermentativa, não exigindo, necessariamente investimentos e modificações na engenharia do processo. Também, dependendo do perfil de enchimento adotado, diminui-se o consumo de antiespumante. Nesta etapa, o mosto é adicionado à dorna de forma programada, em conjunto com a velocidade de adição de açúcares (mosto) com o seu consumo pelo microrganismo agente da fermentação.

A concentração de açúcares pode afetar tanto o crescimento das leveduras quanto a produção de etanol. Se o objetivo for à produção de biomassa é

conveniente que o processo seja conduzido com baixas concentrações de açúcares e aeração, para se evitar que, mesmo em presença de oxigênio, a respiração seja reprimida em concentrações elevadas de açúcares.

No caso da fermentação etanoica, cujo objetivo é a produção de etanol o efeito repressivo da frutose e da glicose sobre a cadeia respiratória é benéfico.

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

Excesso de açúcares promove estresse osmótico na levedura, podendo ocasionar inibição do metabolismo. Mesmo que não houvesse este efeito, haveria produção de maior quantidade de etanol, que exerceria inibição do metabolismo da levedura.

Conforme Lima et al.(2001) apud Naves et al. (2010) elevadas concentrações de inoculo na dorna permitem fermentações mais rápidas, seguidas pelo aumento da temperatura, assim com maior produtividade e maior controle sobre as bactérias contaminantes, além de restringir o crescimento da própria levedura. Por outro lado, o elevado teor de levedura exige energia de manutenção maior, isto é, maior consumo de açúcar para manter as células vivas.

Como consequência, resulta em maior competição pelos nutrientes do meio, minerais e vitaminas, diminuindo a viabilidade do fermento. Portanto, é importante existir um teor ótimo de levedura na dorna, dependendo das condições especiais do processo industrial.

4.6 Temperatura

De acordo com Batista (2001) apud Naves et al. (2010) a temperatura é uma das condições ambientais que mais afetam a atividade de micro-organismos,

influenciando no crescimento, metabolismo, capacidade fermentativa e viabilidade celular em leveduras .

Para Nogueira et. al, (2005) apud Souza ; Monteiro (2012), o mosto é colocado na dorna com uma temperatura que corresponde a ambiente. No início da safra, que coincide com o inverno, sua temperatura é baixa, chegando acerca de 14°C a 15°C requerendo o aquecimento para atingir a temperatura de 28°C a 30°C, favorável à atividade da levedura alcoólica. No decorrer da safra, com o aumento da temperatura ambiente, esta medida se faz desnecessária.

Como a fermentação alcoólica é um processo exotérmico, a temperatura do mosto pode ultrapassar os limites admitidos para uma fermentação normal.

Para Moraes (2001) apud Souza ; Monteiro (2012) a temperatura do mosto é um dos fatores que afetam a atividade microbiana e, conseqüentemente, a eficiência e produtividade do processo de fermentação. A faixa ideal de temperatura para fermentação alcoólica, está entre 26º e 32ºC. Para manter essa faixa de temperatura, a indústria deve aquecer o mosto em épocas frias e possuir um sistema de resfriamento quando a temperatura estiver elevada.

Segundo Cabral et.al. (2006) apud Souza ; Monteiro (2012), para se obter uma boa fermentação a temperatura do mosto deve ser a 30 °C conforme demonstra a figura 20 na página seguinte.

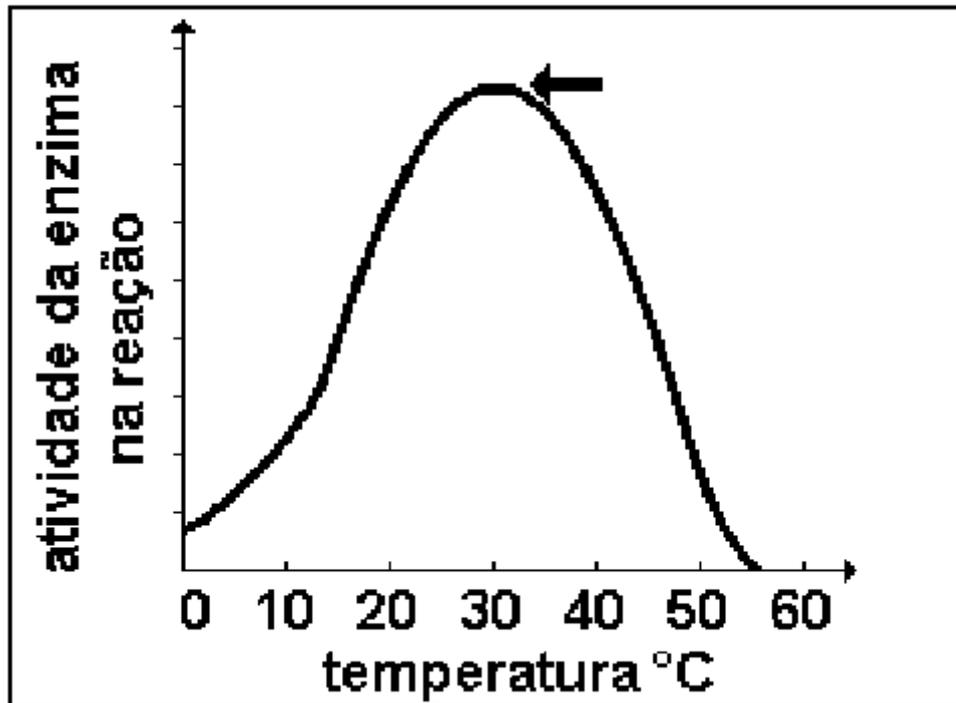


Figura 20: Temperatura ideal para fermentação
 Fonte Adaptado Souza ; Carvalho (2012)

Conforme Reis ; Ribeiro (2009) as temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26 a 35°C, mas, não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38°C. À medida que a temperatura aumenta, a contaminação bacteriana é favorecida e a levedura fica mais sensível à toxidez do etanol .

Segundo Torija et al.(2003), apud Reis ; Ribeiro (2009) quando a temperatura do biorreator é maior que 35°C decresce a viabilidade celular. As linhagens industriais de *S. cerevisiae* são normalmente resistentes à alta temperatura, mas este fator interfere na viabilidade celular quando em sinergia com a presença de etanol ou meio com baixo pH .

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) as leveduras são microrganismos mesófilos e as temperaturas mais adequadas na prática industrial variam de 30 a 35°C, podendo chegar a 38-40°C, quando não há controle eficiente da temperatura do meio em fermentação . Como o processo é exotérmico, a temperatura é controlada utilizando-se, normalmente trocadora de calor de placas, instalados fora dos fermentadores. Temperaturas elevadas favorecem o crescimento de bactérias e a evaporação do etanol (no caso dos fermentadores que operam abertos). A temperatura exerce influência sobre o tempo de fermentação (e a produtividade em

etanol) e o aparecimento de infecções indesejadas. A temperatura ótima para as leveduras é de 26 a 35 °C .

Conforme Baruffaldi ; Oliveira (1998) apud Lima et al. (2009) a aplicação do tratamento térmico tem como objetivo a inativação enzimática, diminuição da carga microbiana e destruição de bactérias patogênicas, visando à conservação dos nutrientes do meio. A intensidade do tratamento térmico depende principalmente do valor do pH, da composição e das características físicas dos alimentos e é o resultado da combinação de parâmetros tempo-temperatura.

Segundo Amorim et al. (1989) apud Reis ; Ribeiro (2009) uma das principais preocupações na indústria sucroalcooleira é combater os microrganismos contaminantes do processo de produção de álcool, representados pelas bactérias e leveduras selvagens que se instalam no processo. Estes contaminantes são causadores de problemas tais como: o consumo de açúcar, a queda de viabilidade de células de levedura devido às toxinas excretadas no meio, a floculação do fermento, o que acarreta perda de células de levedura pelo fundo de dorna ou na centrífuga e a queda no rendimento industrial.

Segundo Valsechi (2005) apud Lima et al. (2009), em pesquisa visando aplicar uma metodologia que propiciasse o controle das contaminações microbianas, especialmente as bactérias produtoras de ácido láctico (BAL), submeteu as linhagens CCT4143; CCT4144; CCT4145; CCT4146 e FT038B de Lactobacilos fermento ao aquecimento provocado por radiações eletromagnéticas (micro-ondas) e aquecimento convencional. Nessa condição foi verificada a eliminação total de L. fermento quando irradiadas com micro-ondas (2450 MHz), em 9 s quando a temperatura atinge 58,3 °C, ao passo que quando submetidas ao aquecimento convencional nesta mesma temperatura a diminuição foi de 80% após 10 min.

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.”

4.7 pH e acidez

Conforme Reis; Ribeiro (2009), sabe-se que as fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo adequada a faixa entre 4 e 5. Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5 .

Para Ribeiro (2010) apud Souza ; Monteiro (2012) na maioria dos processos fermentativos o pH do meio afeta tanto o crescimento, como a formação do produto.

A maioria dos microrganismos apresenta uma faixa estreita de pH, na qual crescimento e formação de produto ocorrem a altas velocidades e desta forma ele é controlado na maioria das fermentações. Embora haja exceções, bactérias usualmente crescem de no intervalo de pH de 4 a 8, leveduras de 3 a 6, mofos de 3 a 7 e células superiores na faixa de 6,5 a 7,5.

Como uma consequência, o pH pode ser usado para selecionar preferencialmente as leveduras sobre as bactérias e diminuir a susceptibilidade á contaminação bacteriana. Por exemplo, uma fermentação a pH 3 é bem menos sujeita à contaminação.

Segundo Cardoso (2005) apud Souza ; Monteiro (2012) como o pH do caldo de cana é normalmente em torno de 5,5, a acidificação realizada antes da inoculação favorece a fermentação alcoólica e também previne crescimento das bactérias contaminantes. Durante as fermentações o pH pode variar por diversas razões, como variações devido ao consumo de fontes de nitrogênio e também formação de ácidos, tais como acético, láctico, pirúvico, succínico .

Para Jones et al. (1981) apud Amaral (2009) o processo fermentativo, ocorre na faixa mais elevada de pH nas indústrias, acaba beneficiando a Integridade Fisiológica da levedura em fermentações com altas concentrações de SO₂, sacarose e etanol .

Para Lima et al. (2001) apud Naves et al. (2010) a tolerância à acidez é outra característica importante para as leveduras industriais , porém, sabe-se valores muito baixos de pH, além de ocasionarem perda de nutrientes como nitrogênio e potássio, aumentam a sensibilidade ao etanol, aos ácidos orgânicos e ao SO₂.

Para Caldas; Borém; Santos (2012) as leveduras são microrganismos acidófilos e trabalham bem em ampla faixa de pH. Os melhores resultados são obtidos, porém, para valores entre 4,0 a 4,5. 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, e 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.

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) nos processos onde as leveduras são reutilizadas, o inóculo é tratado nos pré-fermentadores (cubas de tratamento), com ácido sulfúrico até pH entre 2,2 e 3,0 permanecendo em repouso por uma a três horas, antes de serem utilizados em novo ciclo de fermentação. Este procedimento proporciona redução da carga bacteriana. A combinação de valores de pH do inóculo de cerca de 2,5 e 20 a 30% do volume de trabalho dos fermentadores com mosto com pH de cerca de 5,5 e 80 a 70% do volume de trabalho dos fermentadores e a influência de outros produtos produzidos durante a fermentação resulta em meio fermentado com pH próximo de 4,0.

Adiciona-se o ácido sulfúrico em quantidade suficiente para favorecer a ação das leveduras e impedir o desenvolvimento de bactérias. Por outro lado, a adição do ácido sulfúrico favorece a inversão da sacarose, que não é, metabolizada diretamente. A levedura possui a invertase, porém o emprego do ácido, ativando esta inversão, torna as fermentações mais fáceis e mais ativas.

4.8 Contaminações bacterianas

Para Angelis (2010) apud Naves et al. (2010) durante o processo industrial de produção de álcool podem estar presentes micro-organismos oriundos da cana-de-açúcar no campo que sobrevivem aos tratamentos do caldo e condições como pH, temperatura e produtos inibitórios no meio fermentativo e se estabelecem nas dornas de fermentação.

Para Andrietta et al. (2006) apud Naves et al. (2010) as leveduras da fermentação alcoólica competem pelo substrato com bactérias que normalmente habitam as dornas. Um processo de fermentação considerado relativamente sadio apresenta níveis de bactéria próximos a 10⁵ células/mL.

A fermentação industrial, pela dimensão do processo não é conduzida em condições ideais de assepsia, a contaminação bacteriana, principalmente de Lactobacilos e Bacilos, 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, embora não haja uma confirmação definitiva sobre a causa da floculação da levedura, considera-se, na indústria, que esta contaminação é a principal responsável pelos problemas encontrados na fermentação alcoólica .

Para Steckelberg (2001) apud Naves et al. (2010) como as bactérias são distintas das leveduras, existem alguns antimicrobianos seletivos que são usados para o controle bacteriano, os quais podem minimizar os prejuízos causados por estes contaminantes sobre a fermentação.

Para Amorim et al. (1996) apud Paschoalini ; Alcarde (2009) uma das principais perdas no processo de fermentação está relacionada à contaminação bacteriana, afetando diretamente a produção de álcool .

Conforme Altherthum et al. (1984) apud Paschoalini ; Alcarde (2009) a floculação de leveduras é uma das consequências dessa contaminação, na qual as células de levedura aglomeram-se formando flocos que dificultam o contato com o substrato, reduzindo o rendimento e aumentando o tempo de fermentação. Além disso, ocorrem dificuldades operacionais relacionadas principalmente ao entupimento de canalizações e problemas na separação do fermento nas centrífugas .

Conforme Martins (1997) apud Paschoalini ; Alcarde (2009) a eficiência do processo fermentativo é dada em função direta da manutenção das células ativas dispersas no mosto em contato com o substrato. A remoção precoce das células devido à floculação provoca redução do rendimento e aumenta o tempo de fermentação, com perdas econômicas significativas. Mas, se a floculação ocorrer num ponto desejável na fermentação, atuará eficientemente na remoção das células do mosto, contribuindo na diminuição do custo do processo e aumentando sua produtividade, a figura 21 representa leveduras envolvidas por bactérias floculentas .

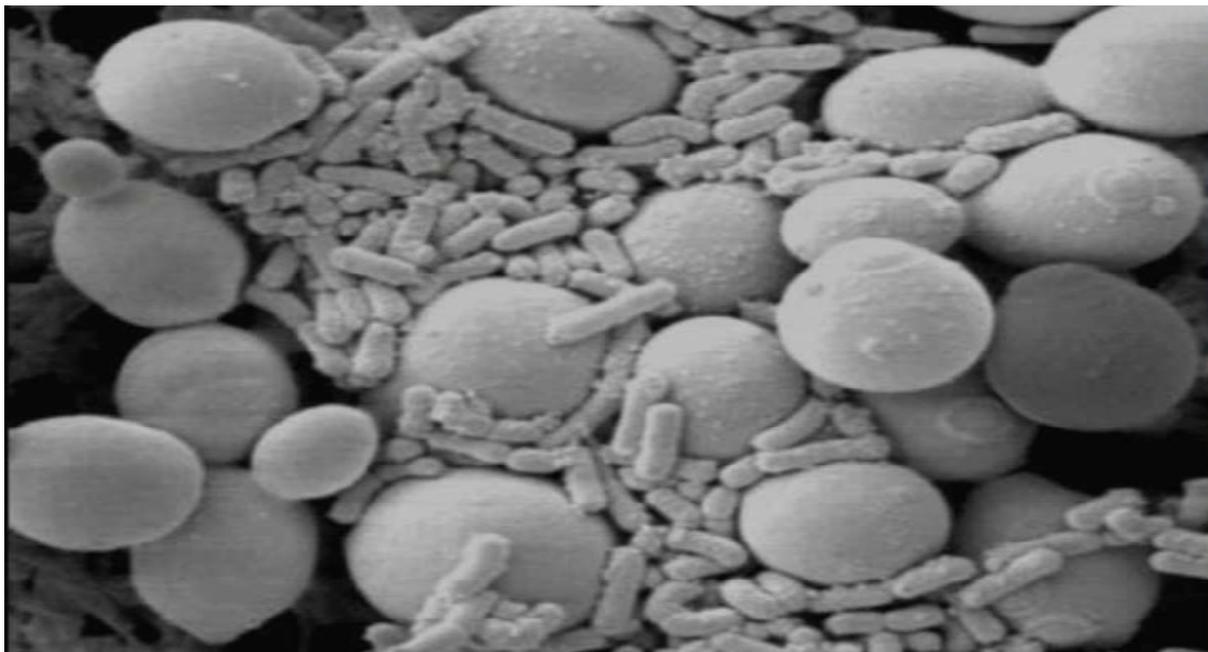


Figura 21: Leveduras envolvidas de Bactérias flocculentas
Fonte Adaptado BIOTECNOLOGIA NA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 16, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Flocculação_III. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.14.

Segundo Ribeiro (2010) apud Carvalho ; Monteiro (2011) para se reduzir o nível de contaminação bacteriana do mosto é necessário manter uma boa assepsia dos trocadores de calor, eliminando os pontos mortos nas tubulações, realizando adequadamente os processos de filtração, decantação, clarificação, evaporação e um tratamento térmico do caldo.

Para Gallo (1990) apud Carvalho ; Monteiro (2011) durante o processamento da cana na indústria,devem-se ter certos cuidados para evitar a multiplicação excessiva de bactérias. Para isso, deve-se empregar o uso de produtos químicos e bactericidas que preservem a composição natural do caldo. O uso do tratamento térmico também auxilia nesse processo e também a limpeza adequada em tubulações, trocadores de calor, ternos da moenda, peneiras e tanques , nas dornas de fermentação, há uma predominância de 98,52% de bactérias do grupo Gram + sendo na sua maioria do gênero Lactobacilos (59,75) e Bacilos (26,58). Os metabólitos excretados por essas bactérias causam sérios danos às leveduras como a sua intoxicação e até a inibição de sua atividade principal, a produção de etanol.

Conforme Cebalhos ; Schiavone (2009) apud Carvalho ; Monteiro (2011) mesmo a utilização de antibacterianos e o próprio tratamento térmico não minimizam a ação negativa desses compostos, que agem diretamente nas leveduras, causando prejuízos ao processo de fermentação.

Conforme Caldas; Borém; Santos (2012) no Brasil, são utilizados mostos de caldo, misto (caldo mais melaço) e melaço. Em nenhum dos casos, o mosto resultante é estéril. A adição de antibióticos é prática generalizada para criar ambiente favorável ao desenvolvimento das leveduras e desfavorável aos microrganismos indesejáveis

ao processo fermentativo. Cada produto age de forma diferente, atuando sobre determinado grupo de microrganismos. A avaliação, tanto da carga microbiana quanto da eficácia dos antibióticos comerciais, é que determinará a melhor opção de agente antimicrobiano.

Segundo Gallo (1989) apud Naves et al. (2010), entre os problemas encontrados na fermentação alcoólica podem-se mencionar as fermentações indesejáveis, entre as quais se tem a acética, láctica, butírica, da dextrana e da levana. A fermentação acética é atribuída principalmente às espécies *Acetobacter acetii*, *A. pasteurianum*, *A. acetosum*, *A. kuntzeianum* e *A. suboxydans*; a fermentação láctica principalmente às espécies *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* e *L. leischmanii* e *Streptococcus lactis*; a fermentação butírica às espécies *Clostridium pasteurianum* e *C. saccharobutyricum*; a fermentação da dextrana a *Leuconostoc mesenteroides* e a fermentação da levana às espécies dos gêneros *Bacillus*, *Aerobacter* e *Streptococcus*.

Para Cherubin (2003) apud Naves et al. (2010) a contaminação bacteriana identificada em amostras de processos industriais de fermentação alcoólica mostrou-se predominantemente como bacilos gram-positivos não esporulantes. Os gêneros mais frequentes nas amostras foram *Lactobacillus* e *Bacillus*. Em relação às espécies predominantes destacaram-se *B. coagulans*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *B. stearothermophilus*, *L. plantarum*, *L. animalis*, *L. buchneri*.

Para Steckelberg (2001) apud Naves et al. (2010) às vezes é necessário optar entre dois fatores estressantes, como caso do tratamento ácido, que exerce um efeito estressante à levedura, mas acaba sendo benéfica por controlar a contaminação. E outro que acaba sendo muito mais prejudicial à levedura e ao processo que é a contaminação, podendo levar a redução da eficiência fermentativa, e assim prejudicando o rendimento de todo o processo.

Para Cherubin (2003) apud Naves et al. (2010) nas análises em amostras de creme de leveduras sem tratamento ácido identificaram-se as espécies predominantes e relatou-se a presença de *L. fermentum*, *L. murinus*, *L.*

vaccinostercus, *L. plantarum* e *Leuconostoc* sp. O gênero *Lactobacilos* desenvolve-se em meio ligeiramente ácido, com pH entre 4,4 e 6,4 e em condições microaerófilas e anaeróbias .

Para Neto (1995) apud Naves et al. (2010) atualmente a lavagem ácida do fermento continua sendo o principal método de controle não só dos contaminantes, mas principalmente, da floculação do fermento. O tratamento com ácido sulfúrico é feito reduzindo o pH do fermento diluído em água a uma faixa entre 2,0 e 3,0 e, às vezes até inferior a 2,0 com prejuízo na viabilidade das células de leveduras. O fermento é mantido na cuba e são adicionados ácido sulfúrico e água, em constante agitação. O tempo de permanência do fermento durante o tratamento é variado (até três horas). Quanto maior for esse tempo maior será a redução da viabilidade celular. Os biocidas tem sido usados na produção de álcool para a desinfecção de moendas. Porém, vários produtos químicos são utilizados no controle biológico da fermentação, geralmente associados à lavagem ácida do fermento e, as vezes, também a antibióticos , que são agentes quimioterapêuticos especiais, geralmente obtidos a partir de metabólitos de micro-organismos que, em quantidades muito pequenas, podem matar ou inibir outros micro-organismos . Os mais utilizados na fermentação alcoólica são a tetraciclina, cloranfenicol, penicilina e virginiamicina.

4.9 Tipos de controle em fermentação alcoólica

Conforme Ribeiro, Blumer e Horii (1999), apud Paschoalini ; Alcarde (2009) alguns parâmetros de monitoramento contribuem para uma maior eficiência (rendimento) do processo de fermentação alcoólica, como análise de densidade ou °Brix, temperatura, pH, contaminação bacteriana, velocidade de alimentação e açúcares residuais, a eficiência do processo de fermentação alcoólica pode ser avaliada por meio do método de rendimento de subproduto (análises de ART, glicerol, ART residual, % de álcool, acidez, teor de levedo e floculação do fermento) e rendimento convencional (balanço de massa).

Na pagina seguinte é apresentada a tabela 4 onde é descrito as diversas etapas do processo de fermentação onde pretende verificar as análises físico-químicas e microbiológicas realizadas em uma unidade industrial, sua importância para o processo de fabricação do álcool , alguns parâmetros de qualidade e a

frequência de monitoramento para avaliação do rendimento do processo fermentativo.

Tabela 4: Padrão técnico de processo fermentativo

ETAPA / ATIVIDADE	QUALIDADE ASSEGURADA			MONITORAMENTO				
	Parâmetro	Unidade de Medida	Valor	Retirada da Amostra			Análise da Amostra	
				Contínua	Pontual	Frequência	Responsável	Frequência
	Acidez Total	mg/L	----		X	1 x turno	Laboratório	1 x turno
	pH	-	----					
	% Sólidos	%	----					
	Brix	%	19 a 24	X		2 x turno	Laboratório	2 x turno
	ART	%	16 a 19					
	Nitrogênio Assimilável	-	----	X		2 x turno	Laboratório	1 x dia composta
	P ₂ O ₅	ppm	----					
	Microscopia	bast/mL	Max 2,0x10 ⁵		X	1 x dia	Laboratório	1 x dia
	Plaqueamento	UFC	----		X	1 x semana	Laboratório	1 x semana
Micronutrientes (Ca, Zn, Mg, Mn, N, P, K)	ppm	----	X		2 x turno	Laboratório	Mensal	
	°GL	%	----		X	Cada 4 horas	Laboratório	2 x turno
	% Levedo	%	----					
	pH	-	2,2 a 3,0					
	Glicerol	%	----				Laboratório	1 x dia composta
	Acidez	mg/L	----		X	1 x turno	Laboratório	1 x turno
	pH	-	4,0 a 5,0		X	1 x turno	Laboratório	1 x turno
	% Levedo	%	8,0 a 10,0	X		Cada 4 horas	Laboratório	1 x turno
	Brix	%	máx.3,0					
	°GL	%	8,0 a 11,0					
	Glicerol	%	----	X		Cada 4 horas	Laboratório	1 x dia
	P ₂ O ₅	ppm	50 a 100					
	Nitrogênio Amoniacal	%	70 a 150					
	Brotamento	%	5 a 15					
	Viabilidade	%	60 a 80		X	2 x dia	Laboratório	2 x dia
	Contaminação	%	Max 5,0x10 ⁷					
Floculação	°C	máx.10						

5. CONCLUSÃO

Com base nos estudos realizados, foi possível concluir que o processo de fermentação alcoólica a partir da cana-de-açúcar é muito complexo, pois a fermentação é um processo bioquímico que está diretamente relacionado com outros tipos de processos, desde o processo da fotossíntese da cana, os tratamentos culturais, também o corte, carregamento, transporte e armazenamento, o subproduto melaço com concentração de sulfito a partir de 345ppm pode promover uma redução na produtividade de etanol e na viabilidade celular. O controle da temperatura é considerado o mais impactante combinado com o pH, altas temperaturas ($T > 45^{\circ}\text{C}$) considerado estresse térmico e baixos valores de pH (< 2) influenciam negativamente no rendimento e na produtividade de etanol. Altos níveis de contaminação bacteriana e ácidos produzidos pela síntese dessas bactérias também afetam diretamente a conversão de açúcar em etanol pelas leveduras, comprometendo o rendimento fermentativo final. Sendo assim, o controle microbiológico e a quantificação dos níveis de acidez do mosto, tornam-se ferramentas indispensáveis para o controle e prevenção de tais problemas.

Após os estudos de vários fatores e condições que podem interferir na fermentação alcoólica, é sabido que muita tecnologia vem sendo pesquisada e desenvolvida e nota-se também que existe uma carência em inovação dentro dos processos que rodeiam o assunto fermentação alcoólica, ou seja, o setor sucroenergético perde uma enorme quantidade de açúcar que poderia ser convertido em etanol, atendendo melhor o mercado energético que necessita de materiais sustentáveis e o ganho para empresários e para todos os stakeholders aumentaria os lucros pois de forma direta ocorre a diminuição dos custos de produção, e maior movimentação de mercado da cadeia de suprimentos envolvida no setor sucroenergético.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHANATI, Lucien. **Em Missão_ disparos contra disparates, pautas contra despautérios etc.** 2013. Disponível em: <http://missaoemissao.blogspot.com.br/2013/07/sobre-o-crescimento-economico-brasileiro.html>. Acesso em : 20 jan. 2014.

AMARAL, Flávia. **Influência conjunta do pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose**, 2009. Disponível em: http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/548/1/Influ%C3%Aancia_Conjunta_Ph.pdf. Acesso em 15 jan 2014.

AMORIM, H.V. **Fermentação alcoólica: ciência & tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005. 434p.

ANGELIS, Dejanira. **Floculação em leveduras**, 2012. Disponível em: <http://www.Moodle.ufscar.br/login/index.php>. Acesso em : 25 jan. 2014.

ANDRIETTA, S.R. **Processo de produção de etanol**. Bio Contal_ tecnologia de processos. 5º Congresso Nacional da Bioenergia .UDOP, Araçatuba, SP, Brasil, 2012.

BIOTECNOLOGIA NA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 16, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Floculação_III. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012.p.14.

BIOTECNOLOGIA NA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 16, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Leveduras. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012.p.33.

BIOTECNOLOGIA NA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA, 18, 2012, Sertãozinho ,CEISE – Bioprocessos do setor sucroenergético - fundamentos de microbiologia industrial. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012.p.53.

BOSQUEIRO, Angelo. **Composição química da aguardente de Cana-de-açúcar ao longo do processo de dupla destilação em alambique simples**, 2010. Disponível em: http://www.livrosgratis.com.br/arquivos_livros/cp_1_24103.pdf. Acesso em 01 fev. 2014.

CALDAS, C; BORÉN, A; SANTOS, F. **Cana-de-açúcar_ Bioenergia, Açúcar e Etanol _ tecnologias e Perspectivas** .2. ed. Viçosa MG , 2012. 637p.

FERNANDES,C.Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar.3. ed. Piracicaba.STAB – Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil,2011. 416p.

GUILMAN,Francielle;BUZATO,João.**Comparação da produção de etanol por *Zymomonas mobilis* em meio de melaço de cana-de-açúcar puro e pré-tratado com invertase.**Seminário de ciência ,biologia e saúde. Londrina, v 20/21, n. 2 , p. 39-43 ,jun. 1999/2000.Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semi-nabio/article/viewFile/7116/6308>. Acesso em: 10 mar. 2014.

GUTIERREZ, L.E. **Efeito da adição de sulfito sobre a produção de álcoois superiores durante a fermentação alcoólica.** Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, v.45, n.2, p.359-368, 1988. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/aesalq/v45/23.pdf>.Acesso em 25 fev. 2014.

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. Acesso em 15 jan. 2014.

LIMA,U.A.;BASSO,L.C.;AMORIN,H.V.2001.Produção de etanol.In:LIMA,U.A.; AQUARONE,E.;BORZANI,W.;SCHMIDELL,W.Biotecnologia Industrial.Processos Fermentativos Enzimáticos.São Paulo:Editora Edgard Blucher LTDA.v.3,p.1-43.

MAGALHÃES,Andollinni.**UnidadeVII-Fermentação Alcoólica ? Parte I,**2007. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAApoQAE/unidade-vii-fermentacao-alcoolica-parte-i>. Acesso em 10 jan. 2014.

MATÉRIA PRIMA PARA AÇÚCAR E ÁLCOOL, 2, 2012, Sertãozinho ,CEISE – A CANA- DE- AÇÚCAR. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.4.

MATÉRIA PRIMA PARA AÇÚCAR E ÁLCOOL, 2, 2012, Sertãozinho ,CEISE – A CANA- DE- AÇÚCAR. Sertãozinho: MTA UFSCAR,2012.p.13.

MANSOR,Maria et al.**Energia, meio ambiente e economia: o Brasil no contexto mundial,** Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, 757-767, 2009.Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a19v32n3.pdf> . Acesso em 10 jan. 2014.

MONTEIRO,Gleidson;CARVALHO,Romilda.**A influência do teor de acidez e da contaminação bacteriana do mosto no rendimento fermentativo industrial para a produção de etanol,** FAZU em Revista, Uberaba, n. 8, p. 47-54, 2011.Disponível

em: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/fazuemrevista/article/viewFile/377/261>. Acesso em: 15 jan 2014.

MUTTON, M.J.R. Perdas de açúcar do campo ao produto final. **Workshop sobre: “Perdas determinadas e indeterminadas de açúcar”**. UDOP, Araçatuba, SP, Brasil, 2011.

NAVES, Plínio. **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, p.1.2010. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010c/contaminacao%20microbiana.pdf>. Acesso em 13 fev. 2014.

NOVAES, Fernando et al. **Método simples para quantificar o metabolismo aeróbio e anaeróbio de levedura alcoólica**, B.CEPPA, Curitiba, v. 31, n. 2, p. 227-236, 2013. Disponível em: http://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0,5&q=mela%C3%A7o+como+%22materia+prima%22++para+a+fermenta%C3%A7%C3%A3o&scisbd=1. Acesso em : 25 jan. 2014.

PASCHOALINI, Glauce; ALCARDE, Valmir. **Estudo do processo fermentativo de usina sucroalcooleira e proposta para sua otimização**. Revista de Ciência & Tecnologia • v.16, n. 32, p. 59-68, 2009. Disponível em: <https://www.metodista.br/revistas/revistasunimep/index.php/cienciatecnologia/article/view/781/318>. Acesso em 05 fev. 2014.

RIBEIRO, Eloizio; REIS, Hávala. **Influência conjunta do Ph, temperatura e concentração de sulfito em fermentação alcoólica de mostos de sacarose**. IX Encontro interno & XIII Seminário de Iniciação Científica. UFU, 2009. Disponível em: <https://ssl4799.websiteseuro.com/swge5/seg/cd2009/PDF/IC2009-0129.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2014.

SOUZA, José; CARVALHO, Romilda. **Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol**. Universidade federal de Viçosa, MG, 2012. Disponível em: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/471/363>. Acesso em: 25 fev. 2014.

TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL, 14, 2012, Sertãozinho, CEISE – Fermentação etanólica III. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012. p.50.

TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL, 14, 2012, Sertãozinho, CEISE – Fermentação etanólica III. Sertãozinho: MTA UFSCAR, 2012. p.41.