



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**NAYARA BARBOSA DOS SANTOS**

**PROJETO CICLONE – ESTUDO DO NÚMERO DE RENOVAÇÕES DO  
VOLUME DE DORNA PARA VIABILIZAÇÃO DO FERMENTADOR COM  
CIRCULAÇÃO DE VINHO**

**João Pessoa - PB  
Maio de 2019**

**NAYARA BARBOSA DOS SANTOS**

**PROJETO CICLONE – ESTUDO DO NÚMERO DE RENOVAÇÕES DO  
VOLUME DE DORNA PARA VIABILIZAÇÃO DO FERMENTADOR COM  
CIRCULAÇÃO DE VINHO**

Trabalho final de curso submetido à  
Coordenação do Curso de Engenharia Química  
da Universidade Federal da Paraíba, como  
requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sharline Florentino de  
Melo Santos.

**João Pessoa - PB  
Maio de 2019**

S237p Santos, Nayara Barbosa dos

Projeto Ciclone: Estudo do número de renovações do volume de dorna para viabilização do fermentador com circulação de vinho./ Nayara Barbosa dos Santos. – João Pessoa, 2019.

59f. il.:

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sharline Florentino de Melo Santos.

Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química) Campus I - UFPB / Universidade Federal da Paraíba.

1. Fermentação alcoólica 2. Hidrociclone 3. Grau de agitação da suspensão I.  
Projeto Ciclone – Estudo do número de renovações do volume de dorna para viabilização do fermentador com circulação de vinho.

**NAYARA BARBOSA DOS SANTOS**

**PROJETO CICLONE – ESTUDO DO NÚMERO DE RENOVAÇÕES DO  
VOLUME DE DORNA PARA VIABILIZAÇÃO DO FERMENTADOR COM  
CIRCULAÇÃO DE VINHO**

Trabalho final de curso submetido à Coordenação do Curso de Engenharia Química da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química.

Trabalho aprovado em: 29 de Abril de 2019.

**Banca Examinadora:**



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sharline Florentino de Melo Santos (UFPB/CT/DEQ)  
(Orientadora)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Flávia Santos Coelho (UFPB/CT/DEQ)  
(Examinadora)



Willyan Araújo da Costa (UFRN/ Engenheiro Químico)  
(Examinador)



À minha mãe.

## AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata ao universo pelas infindáveis oportunidades que foram dispostas a mim. Por esse motivo, dedico agora parte da minha energia na tentativa de retribuir cada uma delas e agradecer as pessoas que me fortaleceram como ser humano e profissional.

Às mulheres da minha vida, que mesmo longe se fizeram perto em todos os momentos dessa jornada, lhes dedico todo o meu amor. Em especial, à mulher mais incrível que eu conheço que sempre me apoiou sonhando comigo todos os meus sonhos, amando e ensinando tudo aquilo que ela tem de melhor dentro de si – Carminha Pati. Obrigada mãe por ser por nós, para mim e para minhas irmãs: Tayná e Yasmin, o maior exemplo de força e garra. Ao Fabinho, gratidão pelo cuidado e paciência. Eu amo vocês!

Agradeço também, mesmo que em espírito, pelo imenso privilégio de ter convivido e aprendido com a alma mais bonita e triiloka que esse mundo já viu, minha Vó Carmem. Obrigada vó, por ter se feito presente nos momentos de colo e liberdade.

À cidade deliciosa de João Pessoa e às pessoas que me ajudaram a achar um lar sob o sol paraibano: Vô Dada e Vó Gorete, Regina Bernardo, Larissa Bagano, Micael Rosendo, Henrique Ramos e Lucas Gonçalves, meu muito obrigada. Também, às irmãs cearenses Adriana e Lídia Bezerra e o neném sorridente Valentin, que me acolheram em Piracicaba.

Ao amor que fez morada em mim, Thiago Sombra, lhe amo por me permitir fazer parte do seu universo e por compartilhar comigo todos os dias da sua plenitude.

De dentro da UFPB, levo comigo os capricas Andressa Aziz e Matheus Caldas, os taurinos Winicius Raniere, Marcos Moraes e Victoria Mochizuki e a leonina Monica Cunha, agradecendo por todo o companheirismo e reciprocidade, desejando que nossa amizade perdure por toda a vida. Carrego também, os amigos “PROJEQuers” que compartilharam comigo da experiência enriquecedora que é o Movimento Empresa Júnior.

Meu muito obrigada à orientadora mais amor do mundo Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sharline Florentino, por me apresentar e inspirar na busca pela área de bioengenharia sempre me adotando nas orientações de projetos de pesquisa, estágio e TFC. Também, à professora Ana Flávia Coelho por todo o empenho em ajudar na conquista do tão desejado estágio e por aceitar, juntamente com o engenheiro químico Willyan da Costa, avaliar o presente relatório.

À Fermentec Ltda, agradeço pelo acolhimento e em especial, aos meus maravilhosos supervisores Silene Paullilo e Marcel Lorenzi, que compraram a ideia da minha presença na empresa e se preocuparam em me inserir na equipe. Assim como os colaboradores: Otávio do Prado, Camila Carazzato, Fernanda Camolese, Teresa Lobão, Crisla Souza e Juliana Nogueira.





“Nolite te bastardes carborundorum”

(O conto da aia - Margaret Atwood)

## RESUMO

O álcool etílico é detentor de uma extensa gama de aplicações sendo a maior parte da sua produção mundial comercializada como combustível desde a I Guerra Mundial. No Brasil, a produção primária deste combustível consiste na fermentação do caldo da cana-de-açúcar por linhagens selecionada de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*. Tal procedimento é caracterizado por uma série de etapas influenciada por inúmeros fatores.

O processo físico-químico em questão envolve um meio de baixa viscosidade com partículas em suspensão, sendo essencial uma adequada homogeneização para a obtenção da máxima eficiência possível. Isto por meio de uma agitação correta e vigorosa da suspensão, o que dificulta a formação indesejada de aglomerados e facilita as reações químicas e bioquímicas da fermentação por meio do desprendimento de inibidores tal como o gás carbônico.

Nesse contexto, o Projeto Ciclone surge em parceria com a Fermentec LTDA propondo inovações quanto à forma de condução do processo fermentativo por meio do uso de um hidrociclone de um protótipo laboratorial inédito de um fermentador com circulação de vinho como forma de avaliar o efeito da agitação ciclônada sobre o tempo de processo e a concentração de levedura no aparato construído. Mediante a resultados parciais otimistas quanto a redução do tempo de fermentação alcoólica, ensaios foram conduzidos em um segundo protótipo (AgiFerm) de fluxo por bombeamento com a finalidade de investigação da influência do número de renovações do volume de dorna (referente ao grau de agitação e circulação do meio fermentativo), como prova de conceito para validação do fermentador citado. Deste modo, através de parâmetros previamente estabelecidos, foram avaliados ensaios (conduzidos em duplicata) com números de renovações de volume de dorna de 1,2; 2,0 e 3,3 renovações/h, tendo como base a faixa de valores aplicados na indústria de 0,9 a 1,2 renovações/h.

Os ensaios de 1,2 renovações/h, tidos como controle fora consoantes com o processo industrial de produção de etanol. Os ensaios com maior grau de circulação de fluído (2,0 e 3,3 renovações/h) apresentaram, por sua vez, uma redução do tempo de

fermentação em 1 hora de processo refletido em um ganho médio de teor alcoólico de cerca de 0,70% (v/v) em comparação ao teor alcoólico alcançado em 5 horas durante o ensaio controle. Possibilitando a afirmação de que a redução do tempo de fermentação pode ser creditada à promoção da movimentação do meio e reafirma a necessidade de continuação de estudos.

**Palavras-chave:** Fermentação alcoólica; Hidrociclone; Grau de agitação da suspensão.

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmula estrutural do etanol .....	16
<b>Figura 2.</b> Processo simplificado da produção de etanol paralelo à produção de açúcar e geração de vapor.....	17
<b>Figura 3.</b> Processo esquemático de fermentação alcoólica em Batelada Alimentada ou Melle-Boinot .....	24
<b>Figura 4.</b> Processo esquemático de fermentação alcoólica em regime contínuo com reciclo de fermento .....	25
<b>Figura 5.</b> Comparação de processos de fermentação por batelada alimentada e fermentação continua quanto ao rendimento geral da destilaria, contaminação bacteriana, consumo de antibióticos e consumo de ácido sulfúrico .....	26
<b>Figura 6.</b> Representação gráfica da transformação fermentativa e parâmetros observados .....	32
<b>Figura 7.</b> Protótipo do fermentador com circulação de vinho atualizado.....	36
<b>Figura 8.</b> Esquema em corte do hidrociclone e suas principais dimensões .....	37
<b>Figura 9.</b> Esquema do escoamento interno do fluido no hidrociclone .....	39
<b>Figura 10.</b> Vista lateral e posterior (respectivamente), do protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm .....	40
<b>Figura 11.</b> Curvas das médias de Etanol (% , v/v) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm... ..	45
<b>Figura 12.</b> Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm... ..	46
<b>Figura 13.</b> Curvas das médias de Etanol (% , v/v), Brix (%) e ART obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm .....	47
<b>Figura 14.</b> Curvas das médias de Etanol (% , v/v) e Brix (%) obtidas durante ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm... ..	48
<b>Figura 15.</b> Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm... ..	48
<b>Figura 16.</b> Curvas das médias de Etanol (% , v/v), Brix (%) e ART obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm .....	49
<b>Figura 17.</b> Curvas das médias de Etanol (°GL) e Brix obtidas durante ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm... ..	50
<b>Figura 18.</b> Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm.. ..	50
<b>Figura 19.</b> Curvas das médias de Etanol (% , v/v), Brix (%) e ART obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm .....	51

## LISTAS DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais leveduras selecionadas disponíveis no mercado .....	29
<b>Tabela 2.</b> Concentração requerida de nutrientes minerais para a boa condução da fermentação alcoólica .....	31
<b>Tabela 3.</b> Médias Semanais dos clientes Fermentec LTDA durante três anos consecutivos .....	34
<b>Tabela 4.</b> Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm. ....	47
<b>Tabela 5.</b> Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm.. ....	49
<b>Tabela 6.</b> Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm .....	51

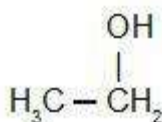
## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. OBJETIVOS .....	19
2.1. Objetivo geral .....	19
2.2. Objetivos específicos.....	19
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1. Breve histórico .....	19
3.2. Condições da fermentação alcoólica.....	20
3.2.1. Condução em batelada.....	21
3.2.2. Condução em batelada alimentada.....	22
3.2.3. Condução contínua .....	24
3.2.4. Recirculação de leveduras .....	26
3.2.5. Tratamentos finais .....	27
3.3. O agente da fermentação alcoólica .....	28
3.4. Fatores que afetam a fermentação alcoólica .....	29
3.5. Estudo cinético da fermentação alcoólica.....	31
3.5.1. Reações da fermentação alcoólica .....	32
3.5.2. Tempo de fermentação .....	33
3.6. Projeto Ciclone – Fermentador com circulação de vinho .....	34
3.6.1. Hidrociclone .....	36
3.6.1.1. Mecanismo de separação do hidrociclone.....	38
3.7. A proposta: AgiFerm para estudo do número de renovações do volume de dorna de fermentação .....	39
4. METODOLOGIA .....	41
4.1. Materiais.....	41
4.2. Procedimento.....	41
4.3. Métodos analíticos.....	42
4.3.1. pH.....	42
4.3.2. Brix.....	42
4.3.3. Viabilidade e brotamento de células .....	42
4.3.4. Teor de etanol.....	42
4.3.5. Teor de levedura .....	43
4.3.6. Determinação de consumo de açúcares.....	43
4.3.7. Eficiência da fermentação.....	43

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	44
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	51
REFERÊNCIAS .....	54
APÊNDICE I – Resultados obtidos em ensaios de 1,2 Renovações/hora .....	57
APÊNDICE II – Resultados obtidos em ensaios de 2,0 Renovações/hora .....	59
APÊNDICE III – Resultados obtidos em ensaios de 3,3 Renovações/hora .....	61

## 1. INTRODUÇÃO

O álcool etílico, cotidianamente conhecido como etanol ou álcool, é uma substância pura da família dos álcoois cuja fórmula molecular é  $C_2H_6O$ . Este, conforme ilustrado na Figura 1, apresenta em sua estrutura química um grupo funcional característico denominado hidroxila (OH) que, em conjunto com o caráter polar da molécula, confere alta afinidade à molécula de água (PRODUÇÃO DE ETANOL, 2013).



**Figura 1.** Fórmula estrutural do etanol. **Fonte:** Autora (2019).

Este composto detém uma extensa gama de aplicações na fabricação de produtos como alimentos, bebidas, tintas, medicamentos, perfumes, dentre outros, sendo a maior parte da sua produção mundial comercializada como combustível desde a I Guerra Mundial. No Brasil, durante o Governo Vargas, a primeira usina produtora de álcool anidro foi instalada paralelamente à obrigatoriedade da mistura de 5% de etanol à gasolina, como medida para a redução das importações de combustível e ampliação das lavouras canavieiras nos anos seguidos à crise de 1929 (SPERLING e GORDON, 2009).

Mais tarde, em 1975, uma nova fase na produção brasileira foi iniciada com o advento do Programa Nacional do Álcool (Proálcool), permitindo investimentos privados no setor e consequente aumento na competitividade do etanol frente à crise internacional do petróleo. Todavia, devido a uma forte retração no consumo de álcool combustível na segunda metade da década de 80, o interesse por novas técnicas, equipamentos e formas de condução do processo é renovado almejando melhor produtividade e maior eficiência (NOVA CANA, 2013).

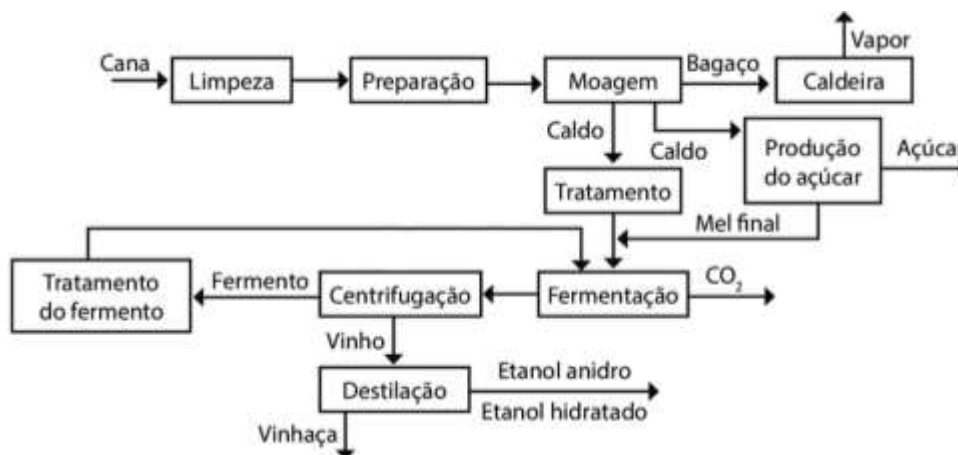
Isso porque o processo industrial para a obtenção de etanol consiste em uma série de transformações de matérias-primas vegetais (como cana-de-açúcar, milho, beterraba, batata, trigo e mandioca) e é caracterizado por várias etapas como de limpeza, preparação da matéria-prima, moagem, eliminação de impurezas, fermentação, centrifugação e destilação, além do armazenamento do produto final. Além disso, tais fases são influenciadas por fatores como temperatura, pH, concentração de oxigênio,



teor de açúcar, aditivos químicos, microrganismos e modo de condução do processo (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2006).

No Brasil, o segundo maior produtor e exportador de etanol do mundo, o álcool é proveniente da cana-de-açúcar e é considerado o combustível alternativo mais bem-sucedido (SPERLING e GORDON, 2009). A produção primária deste combustível consiste na fermentação do caldo da cana-de-açúcar (frequentemente acrescido de mel advindo do processo de produção de açúcar), a qual possui aproximadamente 15% de sacarose e 15% de fibras. Para tanto, o mosto deve ser previamente esterilizado e purificado para só então ser fermentado por linhagens selecionada de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisae* (ZANARDI e ESLY, 2016).

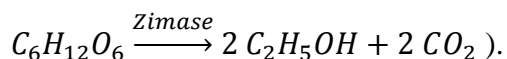
Uma descrição simplificada do processo industrial de produção de etanol utilizado na maioria das destilarias brasileiras é apresentada na Figura 2, a qual ilustra desde a entrada da matéria-prima até a saída do produto final. Nesta, também é representado os processos para produção de açúcar e geração de vapor, paralelos à fermentação alcoólica.



**Figura 2.** Processo simplificado da produção de etanol paralelo à produção de açúcar e geração de vapor. **Fonte:** Zanardi e Esly (2016).

Dentre as etapas apresentadas acima, a fermentação propriamente dita tem duração média de 9 a 10 horas para valores de teor alcoólico entre 8 e 9° GL, segundo levantamento realizado em 2018 pela Fermentec LTDA. Durante a referida fase, transformações bioquímicas se dão basicamente pela sequência de importantes reações como a hidrólise da sacarose (fase extracelular em que moléculas de açúcares da cana-de-açúcar sofrem hidrólise sob a ação de um catalisador produzindo glicose e frutose:

$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \xrightarrow{\text{Invertase}} C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$ ) e fermentação alcoólica (fase intracelular na qual a levedura responsável pelo processo fermentativo converte moléculas de glicose e, em um segundo momento de frutose, em etanol e gás carbônico:



O vinho fermentado advindo da dorna de fermentação prossegue então para a etapa de separação por centrifugação originando o leite de levedura ou fermento (posteriormente tratado e reutilizado) e o vinho delevedurado. Este avança para a destilação a fim de se obter o álcool comercializado na forma de etanol hidratado ou, por meio de processos de desidratação, etanol anidro. Ambos diferentes entre si apenas quanto à concentração de água nas suas composições (5% e 0,5%, respectivamente).

O processo físico-químico de fermentação alcoólica envolve um sistema líquido-sólido caracterizado por um meio de baixa viscosidade com partículas em suspensão e para sua realização é essencial uma adequada homogeneização a fim de se obter a máxima eficiência possível. Deste modo, a agitação correta e vigorosa do referido processo é requerida para proporcionar uniformidade ao meio, dificultando a formação indesejada de aglomerados e facilitando as reações químicas e bioquímicas da fermentação por meio do desprendimento de inibidores tal como o gás carbônico (PROCKNOR, 2008).

Nesse contexto, o Projeto Ciclone surgiu conceitualmente na Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) por meio dos estudos dos Professores Doutores Tadeu Marques e Gil Eduardo Serra. Assim, em parceria com a Fermentec LTDA, essa pesquisa teve como objetivo propor inovações quanto à forma de condução do processo fermentativo por meio do uso de um hidrociclone de um protótipo laboratorial inédito de um fermentador com circulação de vinho. Assim, buscou-se avaliar o efeito da agitação ciclizada sobre o tempo de fermentação e a concentração de levedura no aparato construído.

De frente a resultados parciais otimistas quanto ao tempo de processo, atualizações foram impulsionadas tendo em vista a otimização do protótipo original do fermentador em questão para a validação dos resultados obtidos. Para tanto, ensaios foram conduzidos em um segundo protótipo (AgiFerm) de fluxo por bombeamento, construído com a finalidade de se investigar a influência do número de renovações do volume de dorna (referente ao grau de agitação e circulação do meio fermentativo), sobre a efetiva redução do tempo de fermentação alcoólica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Conduzir e avaliar o processo de fermentação alcoólica em um protótipo laboratorial de fluxo por bombeamento (AgiFerm) para investigar a influência do número de renovações do volume de dorna sobre o tempo de fermentação alcoólica intuindo posterior validação do fermentador com circulação de vinho.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Construir um protótipo laboratorial de fluxo por bombeamento (AgiFerm) que possibilite o controle da vazão de circulação do material em fermentação e, consequentemente, do número de renovações de volume de dorna;
- Conduzir a fermentação alcoólica no protótipo construído avaliando, por meio de diferentes números de renovações do volume de dorna (1,2, 2,0 e 3,3 renovações/h), o efeito do grau de agitação e circulação do meio em fermentação sobre a homogeneização do sistema, o tempo e a velocidade do processo;
- Analisar, mediante os resultados obtidos com os ensaios no AgiFerm, a viabilidade do protótipo do fermentador com circulação de vinho.

## **3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **3.1. Breve histórico**

Alimentos fermentados são conhecidos e registrados pelos sumérios, egípcios antigos, assírios e babilônios desde o ano de 6.000 a.C., com destaque para as bebidas alcoólicas provenientes da fermentação de grãos de cereais como, por exemplo, a cerveja (VILLEN, 2009).

No século XVII, o médico e alquimista Johann Bechner afirmou que apenas líquidos açucarados na presença de ar eram capazes de entrar em fermentação alcoólica para a obtenção de etanol, considerando erroneamente o processo em questão semelhante ao

fenômeno de combustão. Foi somente no século XVIII que o químico escocês Joseph Black postulou o álcool etílico e o gás carbônico como os dois únicos produtos formados durante o processo fermentativo (MENEZES, 1980).

Apesar do longo histórico de uso pela humanidade, o primeiro estudo quantitativo da fermentação alcoólica foi realizado por Antoine Lavoisier em 1789, cabendo a Louis Pasteur, em 1857, uma explicação mais clara sobre o mecanismo do processo atribuído às leveduras como agentes fermentativos. Posteriormente, em 1897, essa afirmação foi constatada pelo químico alemão Eduard Büchner por meio da observação de que extratos livres de células de levedura possuíam a capacidade de produção de álcool (MENEZES, 1980).

Nesse contexto, Lima (2004) definiu o etanol como um subproduto da via metabólica do microrganismo responsável pela fermentação. Assim, a via glicolítica tem por finalidade suprir as necessidades fisiológicas de crescimento e multiplicação celular da levedura, e a metabolização de açúcares em etanol e gás carbônico ocorre de forma anaeróbica sob catálise de enzimas específicas para as reações envolvidas no processo (SANTOS, 2008). Tais reações, por sua vez, são influenciadas por fatores como nutrientes, minerais, vitaminas, inibidores, substâncias do próprio metabolismo, pH e temperatura, afetando diretamente o desempenho do processo fermentativo (WARD, 1991).

### **3.2. Condições da fermentação alcoólica**

Os reatores biológicos consistem em tanques de aço do tipo agitado no qual o processo fermentativo propriamente dito ocorre. Também chamados de biorreatores ou dornas, eles podem operar por inúmeras maneiras dependendo da natureza do mosto a ser fermentado e dos recursos técnicos da indústria. Os regimes descontínuo, semicontínuo, descontínuo alimentado (ou batelada alimentada) e contínuo são as principais formas de condução do processo e podem operar ou não com a recirculação do fermento (SCHIMIDELL e FACCIOITI, 2001). Dentre tais formas de condução, alguns sistemas intermitentes amplamente utilizados pela indústria são os de fermentos individuais, cortes, decantação, Melle-Boinot e Melle-Boinot-Almeida. Vale destacar que os dois últimos são dependentes de centrífugas para a separação de levedo (NOVAES et al., 1974).

Independentemente do tipo, os biorreatores são usualmente mantidos fechados a uma temperatura controlada de 33-35°C até o término do processo de fermentação

industrial que se dá ao atingir a concentração final de etanol entre 7 e 12° GL. Frequentemente, um sistema de lavagem do gás de saída é utilizado para evitar perdas de etanol por evaporação, o que pode corresponder a 1,5% de todo o álcool produzido. Importa ainda para a boa eficiência do processo que haja uma alta concentração inicial de leveduras (cerca de  $10^6$  a  $10^7$  células/mL) que, ao término do processo, pode atingir valores de 10 a 100 vezes maiores do que o valor inicial (DUARTE, LOURENÇO e RIVEIRO, 2006).

Por se tratar de um processo caracterizado por um meio de baixa viscosidade com sólidos em suspensão, acredita-se que uma agitação correta e vigorosa do material em fermentação é fundamental para boa homogeneização do sistema, visando a mais alta eficiência possível. Deste modo, busca-se manter a máxima movimentação nas dornas de fermentação a fim de evitar uma possível deposição da levedura (decorrente da diferença de densidade entre estes microrganismos e o mosto) e aumentar a superfície de contato entre o referido fermento e o ácido sulfúrico (no caso do tratamento ácido para reutilização de células) ou os açúcares (no caso da fermentação alcoólica). Industrialmente, a uniformidade do sistema para fermentadores em batelada de magnitude de 2.500 a 3.000 m<sup>3</sup> de vinho/dia é mantida por bombeamento e/ou misturadores de fluxo (axial/radial *flow impellers*) e hidro-ejetores (*jet mixers*) (PROCKNOR, 2008).

A seleção dos misturadores é feita de acordo com o grau de bombeamento gerado, definido pelo número de renovações por hora do tanque de fermentação. Procknor (2008) recomenda que sejam utilizados 14 a 16 renovações por hora nos tanques de tratamento de levedura e 6 a 8 renovações por hora nos fermentadores. Na prática, em decorrência dos custos operacionais envolvidos, este valor é consoante à necessidade de resfriamento do fluido e permanece entre 0,9 a 1,2 renovações por hora para os fermentadores.

### **3.2.1. Condução em batelada**

Conhecido também como regime intermitente ou descontínuo, o processo fermentativo conduzido em batelada consiste primeiramente no preparo de um meio de cultura adequado à nutrição e ao desenvolvimento do microrganismo e ao acúmulo de etanol. Na prática, este meio é denominado mosto e é composto pelo mel (proveniente do processo da produção de açúcar) e pelo caldo (advindo da moagem da cana-de-açúcar).

O mosto é lentamente adicionado à dorna, por sobre o fermento ou pé (que ocupa cerca de 10 a 15% do volume do tanque), permanecendo assim o tempo necessário para que o processo de fermentação ocorra. Durante este tempo, o controle de temperatura não é muito considerado sendo frequente o rendimento fermentativo em torno de 70 a 75%. O caldo fermentado (ou vinho bruto) é então completamente retirado da dorna e encaminhado para operações específicas com a finalidade de recuperação do produto final (etanol) e do fermento (SCHIMIDELL e FACCIOOTTI, 2001).

Nesta lógica, o processo em questão conta com facilidades de manutenção e assepsia, pois ao término de cada batelada a dorna pode ser higienizada juntamente com um novo mosto preparando-os para o recebimento de um novo inóculo de células. Assim, são garantidos menor risco de contaminação e melhores condições de controle quanto à estabilidade genética do microrganismo (SCHIMIDELL e FACCIOOTTI, 2001).

A fermentação em batelada apresenta ainda grande flexibilidade de operação pela capacidade de utilização dos fermentadores para a fabricação de diferentes produtos em simultâneo (CARVALHO e SATO, 2001). Contudo, são registrados baixos índices de rendimento e produtividade devido aos efeitos inibidores ou de desvio do metabolismo, causados pela adição do substrato de uma só vez e no início da fermentação. Fato este que, além de limitar este tipo de processo à escala laboratorial e em pequenas destilarias de aguardente, estimula o estudo de formas alternativas de condução para a fermentação alcoólica (SCHIMIDELL e FACCIOOTTI, 2001).

### **3.2.2. Condução em batelada alimentada**

A batelada alimentada é eficiente e versátil para a maioria dos processos fermentativos, incluindo a fermentação alcoólica. Por meio do controle da concentração de açúcar e devido ao grande número de células viáveis no meio, esse tipo de processo reflete em alta produtividade de etanol e por sua vez diminuição da vinhaça produzida (MCNEIL e HARVEY, 1990; VIEGAS, 2003). Além destas, outras vantagens como a possibilidade de trabalhar com menor número de dornas, menor risco de contaminação, economia de sais nutritivos e consequente redução de custos, estão a ela relacionadas.

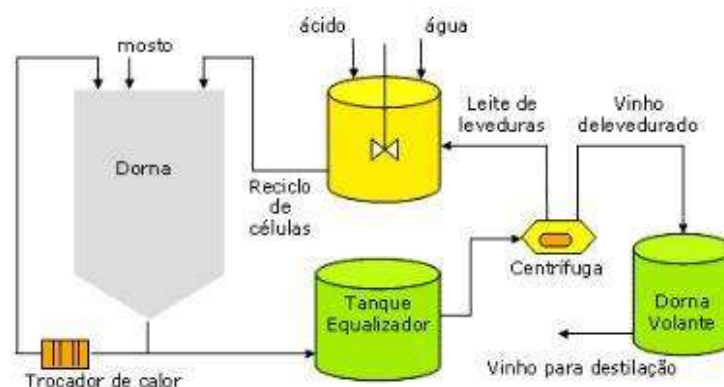
Durante o referido processo que também recebe o nome de Melle-Boinot, o substrato é alimentado sob condições controladas até atingir o volume do biorreator dispondo de flexibilidade quanto à forma e ao tempo de alimentação do mosto. Assim, é possível controlar a concentração de substrato no fermentador e o deslocamento da via

metabólica do microrganismo para a obtenção de um produto específico (ZARPELON e ANDRIETTA, 1992; CARVALHO e SATO, 2001).

Após a fermentação, tendo em vista a reutilização de células, o vinho fermentado passa por um processo de separação por diferença de densidade em turbinas semelhantes às desnatadeiras de leite. Deste modo, através da operação de centrifugação, o vinho que possui menor densidade é arrastado, ao passo que as leveduras ficam retidas formando um leite de levedura altamente puro. O vinho delevedurado segue então para a etapa de destilação enquanto o leite de levedura avança para um processo de tratamento seletivo com ácido sulfúrico. Este tratamento normalmente exige uma diluição prévia em água, seguida da adição do ácido com controle de pH entre 2,5 e 3,0 objetivando a eliminação de células velhas de levedura e possíveis contaminantes como bactérias (NOVAES et al., 1974).

Com o aproveitamento do fermento, observa-se que o consumo de açúcar para o desenvolvimento e multiplicação da levedura é reduzido e o rendimento fermentativo elevado devido também à diminuição do tempo de fermentação e consequentemente de contaminantes. Deste modo, a centrifugação para a recirculação de fermento, quando bem conduzida, proporciona rendimentos médios de safra de 92%, com teores alcoólicos médios de 10 a 11% (v/v) obtidos em 8 a 9 horas de processo (AMORIM, BASSO e ALVES, 1996).

Para tais índices, é necessário um bom controle laboratorial e de equipamentos. Importa a boa assepsia desde a moenda até às dornas, canalizações sem pontos mortos e principalmente a boa qualidade da matéria prima. Deve-se controlar também o tempo de tratamento ácido do fermento, assim como o tempo de alimentação do mosto e a temperatura do processo (33-35°C), os quais dependem do teor alcoólico e da contaminação. Adicionalmente, a agitação do meio em fermentação é aconselhável e pode ser feita por bombeamento ou pás, otimizando processos em que há a floculação do fermento (AMORIM, BASSO e ALVES, 1996). A Figura 3 ilustra o referido processo.



**Figura 3.** Processo esquemático de fermentação alcoólica em Batelada Alimentada ou Melle-Boinot.  
**Fonte:** <http://www.ebah.com.br/unidade-vi-fermentacao-alcoolica-parte-i-doc-a42629.html>.

De modo semelhante, o método Melle-Boinot-Almeida faz uso das vantagens do método Melle-Boinot acrescidas do processo de decantação. Desta maneira, após a fermentação do mosto, a decantação da maior parte das células de leveduras na dorna é aguardada para só então dar prosseguimento à separação por centrifugação. O leite de levedura proveniente desta operação segue para uma cuba de alimentação com mosto corrigido. O pé ou lodo residual, em volume de cerca de 10% da dorna de fermentação, recebe então uma suplementação de nutrientes e, em seguida, retorna ao conteúdo da cuba com as leveduras plenamente ativas. Neste momento, faz-se indispensável o uso de antissépticos para uma marcha regular do processo.

Assim, além das vantagens dispostas para o processo Melle-Boinot, a metodologia Melle-Boinot-Almeida conta também com uma economia de tempo durante o processo, uma vez que o fermento não demanda tratamento. Fato este refletido no aumento da capacidade do setor fermentativo e na redução de custos relacionado ao uso do ácido sulfúrico (NOVAES et al.,1974).

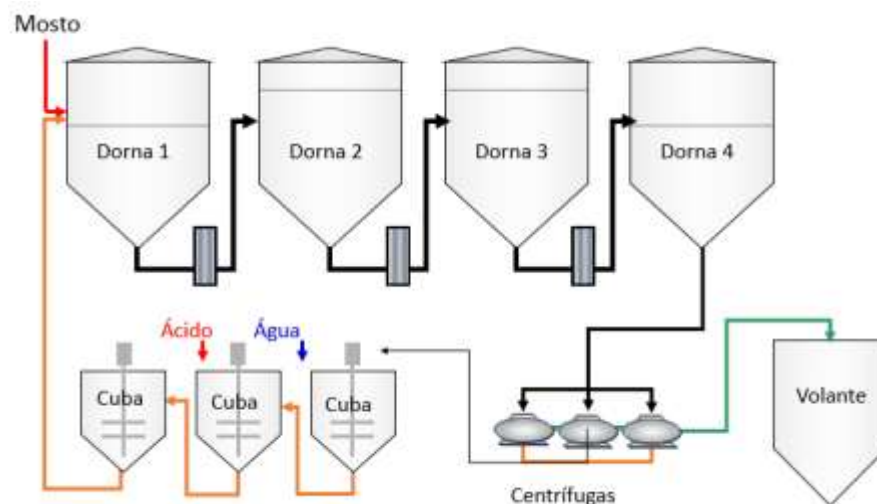
### 3.2.3. Condução contínua

O processo contínuo de fermentação é caracterizado por uma alimentação ininterrupta do mosto a uma determinada vazão, em paralelo à retirada sucessiva do caldo fermentado a fim de manter constante o volume de reação (FACCIOTTI, 2001). Para tanto, é de fundamental importância que o processo seja mantido em regime estacionário para que as propriedades do meio permaneçam constantes com o tempo e em cada ponto da fermentação (MENEZES, 1980).

Semelhantemente aos demais modos de condução, o processo de fermentação contínua (Figura 4), pode ser dividido em três etapas fundamentais: tratamento ácido,



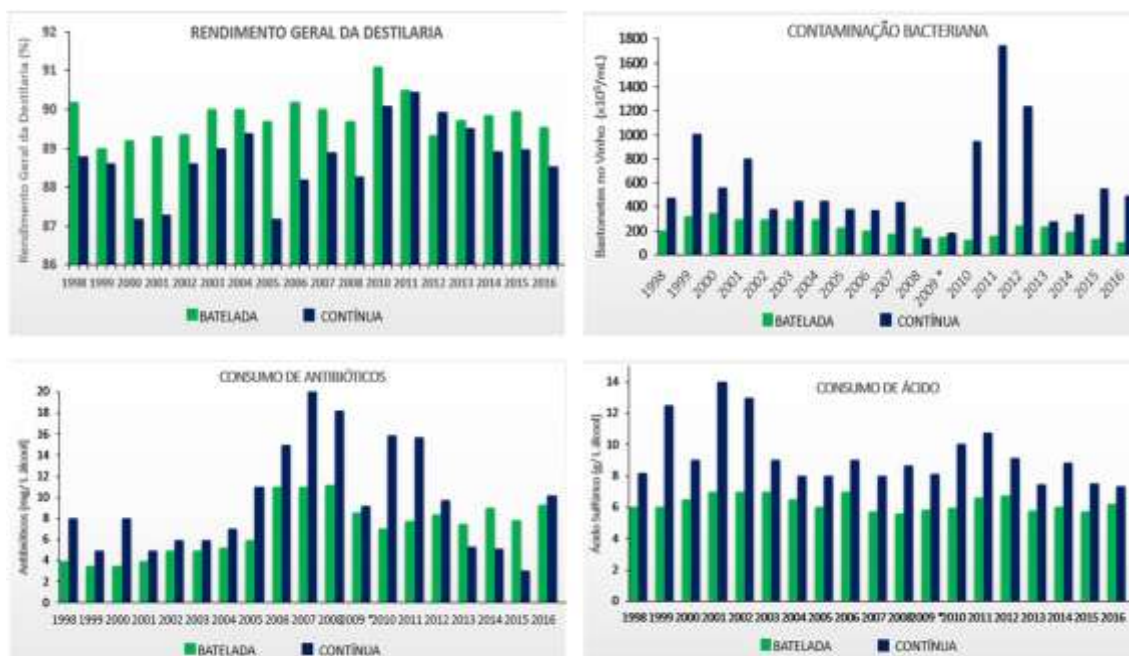
fermentadores e separação de células por centrifugação. Vale destacar que o número total de dornas fermentativas e seus respectivos volumes representam objetos de estudo de vários pesquisadores (VIEGAS, 2003).



**Figura 4.** Processo esquemático de fermentação alcoólica em regime contínuo com reciclo de fermento. **Fonte:** Amorim, Basso e Alves (1996).

O processo pode apresentar vantagens superiores aos demais tipos de condução, pois conta com otimizações refletidas em maior produtividade em longo período de tempo, maior produtividade volumétrica, maior uniformidade do produto, redução dos custos laboratoriais, redução do tempo de limpeza das dornas e maior facilidade de automatização do processo. Contudo, a condução contínua pode apresentar maior suscetibilidade à contaminação bacteriana devido ao longo prazo de exposição (CYSEWSKI e WILKIE, 1978; FACCIOTTI, 2001). Deste modo, fatores como pH, temperatura, concentração de açúcar e álcool, viabilidade celular e vários outros, influenciam diretamente na produtividade do sistema reforçando a necessidade de maior monitoramento da produção (ATALA et al., 2000).

A Figura 5 aponta um levantamento realizado em dois tipos de condução do processo fermentativo em usinas e destilarias clientes da Fermentec, durante 18 safras consecutivas. Observa-se, além de menor índice de contaminação bacteriana, melhor desempenho da fermentação em batelada alimentada em comparação à fermentação contínua quanto ao rendimento geral da destilaria e ao consumo de antibióticos e de ácido sulfúrico durante o tratamento do creme de levedo.



**Figura 5.** Comparação de processos de fermentação por batelada alimentada e fermentação contínua quanto ao rendimento geral da destilaria, contaminação bacteriana, consumo de antibióticos e consumo de ácido sulfúrico. **Fonte:** Fermentec, 2018.

A escolha entre estas duas formas de condução do processo fermentativo para a produção de etanol ainda desencadeia várias discussões. Tradicionalmente, as destilarias e usinas brasileiras usam o sistema descontínuo ou de batelada alimentada, processos que começam a enfrentar a concorrência do modelo contínuo de produção. Para Amorim (2005), o sistema em batelada alimentada apresenta menor risco de contaminação, maior flexibilidade e rendimento do processo, o que se reflete em maior teor alcoólico ao término da fermentação. Por outro lado, o sistema contínuo apresenta maior facilidade de automatização e menor custo de instalação devido ao menor volume de equipamentos requeridos tais como dornas e trocadores de calor.

### 3.2.4. Recirculação de leveduras

Ao término da fermentação alcoólica do mosto, as leveduras devem ser separadas do vinho bruto com a finalidade de serem reutilizadas em processos posteriores. Desta forma, a metodologia para a recirculação de fermento assegura ao processo menor custo para reposição de células e melhores condições de operação, uma vez que os microrganismos reciclados não necessitam consumir substrato para a fase de crescimento visto que estão adaptados ao meio (LIMA, 2004).

Com o objetivo de alcançar melhores valores de conversão ou o aumento da concentração de células no interior da dorna, reatores contínuos com reciclo são

comumente utilizados em processos de fermentação alcoólica e de tratamento residual. Assim, a separação do fermento em quase todas as cerca de 400 usinas brasileiras é feita por meio de centrífugas, originando vinho delevedurado e leite de levedura (BELTER, CUSSTER e HU, 1988).

Segundo Amorim (2005), o desempenho das centrífugas é fator primordial para processos de alto rendimento. Isto é, durante esta operação deve-se concentrar ao máximo a levedura no creme (70-80%), limitando as perdas no vinho centrifugado a 0,05 - 0,1% (v/v) de concentração de levedo ou cerca de 5% do fermento da dorna. Em casos de excesso de fermento na dorna, uma sangria deve ser viabilizada.

O vinho fermentado prossegue então para a etapa final de recuperação de etanol (destilação) enquanto o leite de fermento centrifugado passa por um tratamento ácido. Durante esta fase, a suspensão de fermento diluída e acidificada (conhecida na prática como pé-de-cuba) deve permanecer em agitação por uma a três horas antes de retornar ao processo fermentativo apresentando redução de aproximadamente 44,3% da microbiota bacteriana contaminante (FURTADO e SCANDIFFIO, 2006). Para Procknor (2008), a agitação na cuba de tratamento deve ser mais vigorosa em comparação à agitação no tanque de fermentação. Isto porque a quantidade de material sólido em suspensão é maior na cuba (exigindo uma melhor homogeneização do meio) e devido ao fato de que este processo deve ser mais rápido do que a fermentação alcoólica. Desta forma, o autor recomenda a utilização de 14 a 16 renovações por hora nos tanques de tratamento de levedura.

Assim, a corrente reenviada por reciclo contém maior concentração celular do que a da saída do reator, possibilitando o processamento de maior quantidade de material e maiores taxas de diluição quando comparado ao processo sem a reutilização de fermento (COUTINHO FILHO, 2007). O aumento da taxa de reciclo, dentro de um determinado limite para os processos aeróbios, faz com que a taxa de crescimento celular se torne maior do que a taxa de diluição, gerando mais estabilidade ao processo (BELTER, CUSSTER e HU, 1988).

### **3.2.5. Tratamentos finais**

Concluída a fermentação, o vinho presente na dorna se caracteriza como uma mistura hidroalcoólica que contém principalmente etanol e água, mas também outras substâncias como o dióxido de carbono (dissolvido em pequenas quantidades), células de fermento e outros microrganismos, sais minerais, açúcares não fermentados,

partículas sólidas em suspensão (proveniente da matéria-prima), óleo fúsel, aldeídos, ésteres e ácidos orgânicos.

Após a centrifugação para a separação do fermento, separa-se o etanol pelo processo de destilação-retificação o qual, por meio do controle de temperatura e pressão, decompõe os múltiplos constituintes do vinho de levedurado (BELTER, CUSSTER e HU, 1988). O álcool hidratado assim obtido, apresenta concentração alcoólica de 96 a 97,2% em volume, sendo necessária uma desidratação por processos químicos ou físicos, caso se almeje a comercialização de etanol anidro (MENEZES, 1980).

### **3.3. O agente da fermentação alcoólica**

Relatadas como os agentes de transformação desde 1800, as leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisae* são os microrganismos mais importantes para a fermentação alcoólica (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2006). São definidas como fungos especializados, desclorofilados, unicelulares, com 2 a 8 micrômetros de diâmetros. Sua reprodução ocorre por gemação (brotamento) em que, após um período de união entre os citoplasmas, a célula mãe origina uma nova célula (STECKELBERG, 2001).

O referido microrganismo é dotado de múltiplas habilidades metabólicas, sendo capaz de variar a estequiometria da transformação em resposta à alteração do meio e refletindo em grande impacto no rendimento fermentativo. Assim, é essencial a escolha apropriada da levedura a qual deve ser feita dentre as linhagens de fermento indicadas e aclimadas para a produção industrial de etanol. Para tanto, deve-se tomar por base requisitos como velocidade de fermentação, resistência ao álcool, eficiência de conversão, resistência ao pH e estabilidade genética (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001).

Melhorias quanto às características das leveduras têm sido estudadas com o objetivo de aumentar o rendimento e a produtividade do processo fermentativo, permitindo assim a seleção de cepas industriais com características de produtores superiores de etanol mais tolerantes aos produtos da fermentação. Deste modo, a Tabela 1 aponta as seis principais leveduras industriais selecionadas disponíveis no mercado atual brasileiro, juntamente com seus respectivos anos da safra de seleção e a instituição responsável. Dentre estas (todas pertencentes ao gênero *Saccharomyces*), a levedura de maior comercialização é a PE2 seguida da CAT1, da FT858L e da Fermel (inserida recentemente no mercado).

**Tabela 1.** Principais leveduras selecionadas disponíveis no mercado.

Levedura	Safra	Seleção
Fermel	2011	Fermentec
FT858L	2007	Fermentec
CAT1	1998	Fermentec
PE2	1993	Fermentec
BG1	1991	Copersucar (CTC)
SA1	1990	Copersucar (CTC)

**Fonte:** Autora (2019).

### 3.4. Fatores que afetam a fermentação alcoólica

O rendimento da fermentação alcoólica pode ser afetado por inúmeros fatores físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração celular, contaminação bacteriana) (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). No caso das leveduras responsáveis pela fermentação alcoólica, os fatores de estresse mais frequentemente mencionados incluem temperaturas elevadas, acidez do meio, elevados teores alcoólicos, presença de sulfito, contaminação bacteriana e, mais raramente, contaminação por leveduras de outro gênero que não *Saccharomyces* (BASSO, 1991; BASSO, 2004).

Segundo Menezes (1980), a faixa de temperatura recomendada para a fermentação alcoólica é de 33 a 36°C, a qual deve ser mantida por meio de dispositivos para resfriamento da dorna como trocadores de calor, por exemplo. Estes têm por finalidade evitar o retardo do processo ocasionado por baixas temperaturas, e/ou a evaporação do álcool e o aparecimento de contaminantes devido à elevação desta variável. Todavia, ressalvas são apontadas por pesquisadores (AMORIM, 2005) que afirmam que a temperatura de 35°C pode ser viável desde que a faixa de contaminação bacteriana seja mantida até valores de  $5.10^6$  -  $1.10^7$  bactérias/mL.

Conforme relatado anteriormente, acredita-se que a eficiência do processo em questão também é afetada pela homogeneização do meio em fermentação. Desta forma, o grau de circulação do volume do fluido que se deseja resfriar por meio de trocadores

de calor (definido pelo número de renovações por hora da dorna) pode exercer influência sobre a redução do tempo de fermentação alcoólica.

Outro fator importante a ser controlado durante o processo de fermentação é o pH o qual deve ser mantido na faixa de 4,0 e 5,0 a fim de favorecer o fermento e inibir o desenvolvimento de vários tipos de bactérias (MENEZES, 1980). No entanto, industrialmente, são encontrados na prática valores entre 4,5 e 5,5 sendo comum, para processos com reutilização de células, valores iniciais de pH baixos finalizados na faixa de 3,5 a 4,0 em decorrência do tratamento ácido a que são submetidos (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001).

Ademais, a adequada composição do mosto é também um fator essencial para a boa condução do processo fermentativo uma vez que as leveduras responsáveis por esse fenômeno apresentam necessidades nutricionais influentes na sua multiplicação, crescimento celular e eficiência de produção de etanol. Assim, além de carbono, hidrogênio e oxigênio (constituintes estruturais do microrganismo e fonte de energia química), o mosto deve fornecer ao microrganismo nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em quantidades diminutas (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001).

Segundo Amorim (2005), as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são capazes de utilizar o nitrogênio nas formas amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), amídica (uréia) ou amínica (aminoácidos). No entanto, não possuem habilidade metabólica para aproveitar o nitrato e apresentam pouquíssima ou nenhuma capacidade de utilizar as proteínas do meio. O fósforo por sua vez, é absorvido na forma de íon  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (predominante em pH ácido), enquanto que o enxofre pode ser assimilado do sulfato, sulfito ou tiosulfato.

Além disso, segundo Ratledge e Evan (1989), o monitoramento quantitativo do substrato deve ser feito a fim de se obter concentrações em torno de 10-15% p/v de açúcar redutor total (ART) no mosto. Tal concentração é importante para a indução de uma repressão catabólica da respiração e consequente para o favorecimento da fermentação alcoólica em meio anaeróbico. O principal substrato utilizado no Brasil para a produção de etanol é a sacarose a qual, após uma hidrólise externa, é absorvida pela levedura em forma de glicose e frutose.

Nesse contexto, a Tabela 2 apresenta as concentrações dos principais nutrientes minerais fundamentais para o processo fermentativo. Tais nutrientes, podem ou não estar presente no mosto, havendo a possibilidade ou a necessidade de suplementação dos mesmos (AMORIM, 2005).

**Tabela 2.** Concentração requerida de nutrientes minerais para a boa condução da fermentação alcoólica.

Mineral	Variação no Mosto (mg/L)	Recomendação (mg/L)
N-assimilável ( $\text{NH}_4^+$ R - $\text{NH}_2$ )	7 – 350	100 – 300
Fósforo (P)	20 – 200	50 – 250
Potássio (K)	300 – 1200	700 – 1300
Magnésio (Mg)	80 – 3900	100 – 200
Enxofre (S)	80 – 3900	Menor que 80
Cálcio (Ca)	150 – 2000	Menor que 150
Zinco (Zn)	0,45 – 9	1 – 5
Cobre (Cu)	0,20 – 8	1 – 5
Manganês (Mn)	2 – 8	1 – 5
Alumínio (Al)	5 – 240	<300 (mosto de caldo)

**Fonte:** Amorim (2005).

### 3.5. Estudo cinético da fermentação alcoólica

Diferentemente das transformações químicas, as fermentações são caracterizadas pela alta complexidade do meio reacional e pelo acúmulo de massa microbiana proveniente da multiplicação celular ao longo do processo. O microrganismo acumulado ou as enzimas por ele sintetizadas são considerados catalisadores de reações em condições mais amenas de pressão, temperatura e pH, quando comparadas com as reações advindas de processos químicos.

Nesse contexto, o estudo da cinética microbiana tem por objetivo a quantificação da taxa de crescimento celular, do consumo de substrato, da formação de produtos e demais parâmetros relacionados à velocidade de reações. Dentre estes propósitos, estão também a avaliação de fatores essenciais para a projeção de uma unidade industrial produtora de etanol tais como pH, temperatura, inibidores, dentre outros (VIEGAS, 2003).

Contudo, em decorrência da complexidade do mecanismo fermentativo e sua dependência quanto a situações físicas e aplicações pretendidas, não é possível a formulação de um modelo cinético que englobe todas as características e detalhes celulares do mesmo. Por essa razão, aproximações razoáveis ao processo são consideradas a fim de que sua cinética seja representada (STREMEL, 2001).

Considerando apenas o caso em que os materiais envolvidos nas reações são conhecidos e suas concentrações determinadas por métodos analíticos adequados, determina-se a velocidade média em que há a conversão de substrato em produto





sacarose, glicose, frutose e outros) (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). Tais carboidratos são definidos como Açúcares Redutores Totais (ART) ao se considerar um substrato formado por sacarose e pequenas porcentagens de glicose e frutose, tal como ocorre na indústria brasileira de etanol.

O processo fermentativo envolve 12 reações sequenciais, cada uma com um catalisador específico, as quais podem ser classificadas como simples, simultâneas, consecutivas e *stepwise* (passo a passo) (LIMA e MARCONDES, 2002). A fermentação simples é caracterizada pela conversão de nutrientes em produtos a uma estequiometria fixa e sem acúmulo de intermediários. Possui cinética subclassificada em dois tipos: associado ou não ao crescimento de microrganismos. Fermentações simultâneas, por sua vez, culminam na formação de mais de um produto a uma estequiometria variável e sem o acúmulo de metabólitos intermediários. Esse tipo de cinética possui velocidades relativas de formação dependentes da concentração nutricional do meio.

Diferentemente das anteriores, durante a fermentação consecutiva há acúmulo de intermediários até o momento do processo em que a conversão de substrato em produto se inicia. Por fim, a fermentação *stepwise* (ou por etapas) se caracteriza pela conversão seletiva e total dos nutrientes em metabólitos intermediários antes da obtenção do produto desejado (COPERSUCAR, 1987).

Na prática industrial, o processo bem conduzido de fermentação alcoólica pode contar com valores de 90 a 92% do rendimento estequiométrico e, em caso de contaminação, este rendimento é ainda menor (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001).

### **3.5.2. Tempo de fermentação**

Conforme citado anteriormente, a duração da fermentação alcoólica é influenciada por diversos fatores tais como a composição do mosto, o fermento, a forma de condução do processo, entre outras variáveis controladas a fim de se estipular o tempo em que o referido processo biológico ocorre. Considera-se como regra geral que cada grau de teor alcoólico elevado equivale cerca de 1 hora de processo, com tolerância de mais ou menos duas horas.

A Tabela 3 aponta um levantamento realizado durante três anos consecutivos das médias semanais de teor alcóolico e tempo de fermentação das cerca de 60 destilarias clientes da Fermentec LTDA as quais correspondem a 35% da produção sucroenergética do país. Sua análise permite a observação de que para valores entre 8 e

9 °GL tem-se uma média de 9 a 10 horas de duração, respeitando a relação previamente descrita entre tempo médio de fermentação e teor alcoólico obtido.

**Tabela 3.** Médias Semanais dos clientes Fermentec LTDA durante três anos consecutivos.

	2016	2017	2018
<b>Teor Alcoólico (°GL)</b>	8,54	8,84	9,10
<b>Tempo de Fermentação (h)</b>	9,54	9,76	9,88

**Fonte:** Autora (2019).

Neste sentido, a dilatação exagerada do tempo de fermentação funciona como um importante sinalizador de irregularidades, podendo-se inferir excesso de açúcares no mosto, deficiência quantitativa e/ou qualitativa do levedo, temperaturas inferiores às requeridas pelo processo ou ainda infecção generalizada. Nestes casos, ações preventivas e corretivas ficam ao encargo do responsável técnico da unidade industrial (NOVAES et al.,1974).

### **3.6. Projeto Ciclone – Fermentador com circulação de vinho**

O Projeto Ciclone é caracterizado como um protótipo laboratorial inédito de um fermentador com circulação de vinho o qual, por meio de um hidrociclone, propõe inovações quanto à forma de condução e agitação do processo de fermentação alcoólica.

Inicialmente idealizado pelos professores doutores Tadeu Marques (Unicamp) e Gil Eduardo Serra (Unicamp), foi construído em 2014 pelo então concluinte do curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira pela Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), Samuel Cabral Teixeira, sob a orientação dos referidos professores.

Na ocasião e em parceria com a Fermentec LTDA, ensaios laboratoriais foram realizados em duas etapas consecutivas intuindo avaliar o processo de fermentação para produção de etanol sob consistente agitação ciclizada no aparato construído: Ciclo 1 - alimentação do mosto e estabilização do sistema fermentativo e Ciclo 2 - condução da fermentação alcoólica e concentração de fermento. Durante os referidos ensaios, 4,5 Kg de levedura hidratada em 4,5 L de água foram adicionados no reservatório de número 3, enquanto que 20 L de mosto foi porcionado e alimentado, em um primeiro momento, em regime descontínuo. Logo após a estabilização do sistema fermentativo, uma segunda etapa de alimentação do mosto foi realizada, com sangria de vinho para o reservatório de número 4. Para ambos os ciclo foram acompanhados parâmetros de teor

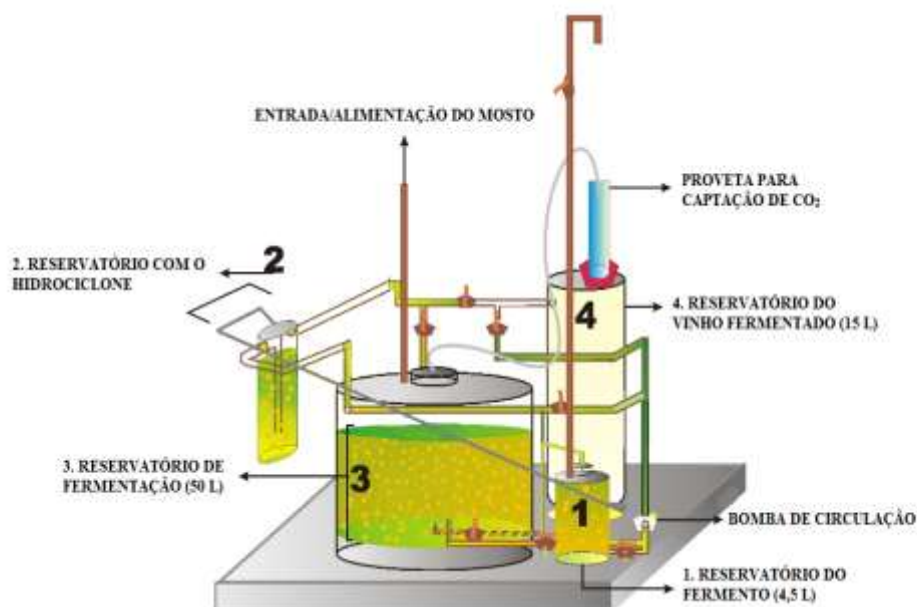
alcoólico, pH, Brix, consumo de açúcares, viabilidade e brotamento de células, assim como a concentração de levedo no equipamento e o tempo de fermentação.

O estudo inicial apresentou como resultados parciais para a etapa de enchimento (Ciclo 1) valores de teor alcoólico de 8,4% e concentração de levedo de 12,67% em um tempo de fermentação de 4 horas e 45 minutos. Na sequência, a condução da fermentação alcoólica em regime contínuo (Ciclo 2) apresentou valores de teor alcoólico de 9,76% e concentração de levedo de 5% em um tempo de fermentação de 8 horas.

Apesar da concentração do levedo não ter ocorrido como esperado, relacionou-se a promoção da movimentação do vinho bruto em fermentação por consistente agitação ciclizada à uma melhor homogeneização do sistema e consequente desprendimento de gás carbônico. Fato este refletido na significativa redução do tempo de fermentação, o que incentivou a continuação das pesquisas em andamento. Todavia, foram necessárias otimizações do projeto original do fermentador com circulação de vinho paralelamente ao estudo do número de renovações do volume de dorna no protótipo AgiFerm, como prova de conceito para validação dos resultados parciais obtidos.

Desta maneira, a bomba de máquina de lavar responsável pelo bombeamento no protótipo inicial do fermentador, foi substituída por uma bomba centrífuga WEG® - CQ500NT de potência 0,5 CV com vazão nominal de 4 m<sup>3</sup>/h, conferindo maior eficiência ao sistema que, devido à alta densidade do mosto e presença de gás (CO<sub>2</sub>), frequentemente causava a cavitação do equipamento anterior. Também foram substituídas as três garrafas de Polietileno Tereftalato (PET), outrora responsáveis pela promoção da agitação ciclizada do meio em fermentação e concentração de levedo, por um hidrociclone sem curvas Cavex® CVX™ de 40 mm de diâmetro com a mesma finalidade.

A Figura 7 ilustra e descreve a versão atualizada do fermentador com recirculação de vinho juntamente com as respectivas capacidades volumétricas dos quatro compartimentos que o compõe.



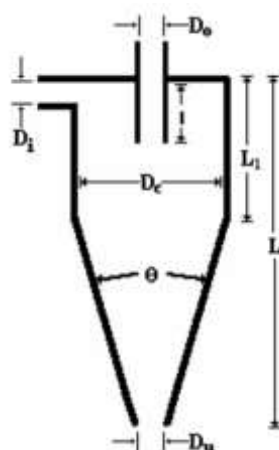
**Figura 7.** Protótipo do fermentador com circulação de vinho atualizado. **Fonte:** Autora (2019).

### 3.6.1. Hidrociclone

Delfos et al. (2004) descreveram os hidrociclones como equipamentos destinados à separação de dois componentes de densidades distintas, por meio de um campo centrífugo originário de um fluxo rotacional. Tais aparatos possuem grande aplicabilidade em processos industriais de separação sólido/líquido e sólido/gás.

Embora sejam conhecidos e patenteados desde o final do século XIX, os hidrociclones eram restritamente empregados na remoção de areia de águas sendo mais tarde, por volta de 1940, expandidos para o processo de extração e processamento mineral. Desde então, inúmeros estudos científicos foram realizados colaborando para a divulgação dos referidos dispositivos.

Os hidrociclones (Figura 8), diferentemente das centrífugas, não possuem partes móveis sendo caracterizados por uma parte cônica ligada a uma parte cilíndrica. Nestes equipamentos, existe uma entrada de alimentação tangencial à porção superior do cilindro e, na extremidade superior da porção cônica, uma das aberturas de saída denominada “*vortex finder*” na qual descarrega-se a suspensão diluída (*overflow*). A segunda abertura de saída é o “*apex*” que descarrega a suspensão concentrada (*underflow*) (CHAVES et al, 1996).



**Figura 8.** Esquema em corte do hidrociclone e suas principais dimensões. **Fonte:** Chaves et al. (1996). **D<sub>i</sub>:** Diâmetro da alimentação. **D<sub>c</sub>:** Diâmetro da seção cilíndrica. **D<sub>o</sub>:** Diâmetro do *vortex finder*. **D<sub>u</sub>:** Diâmetro do apex. **L:** Altura do hidrociclone. **L<sub>1</sub>:** Altura da parte cilíndrica do hidrociclone. **θ:** Ângulo da seção cônica.

O diâmetro da porção cilíndrica do ciclone ( $D_c$ ) é o parâmetro geométrico que determina o diâmetro de classificação de partículas separadas e a vazão que o equipamento suporta. Esta vazão é afetada também, e em menor proporção, pelo diâmetro do *vortex finder* ( $D_o$ ) o qual é decorrente da porção cilíndrica (CHAVES et al, 1996; RIETEMA, 1961). Em consequência, a necessidade de efetuar o corte granulométrico pré-fixado impõe a escolha de um determinado diâmetro, frequentemente insuficiente para a vazão desejada, tornando-se necessária a utilização de vários hidrociclones em paralelo (CHAVES et al, 1996).

Os ciclones podem também ser utilizados como equipamentos de desaguamento ao se variar a abertura do *Apex*: à medida que este diminui (dentro de limites adequados), a porcentagem de sólidos no *underflow* aumenta. Assim, para aplicações industriais a uma dada alimentação e condições operacionais, é desejável saber a taxa de escoamento, a concentração contínua, a distribuição do tamanho das partículas no *underflow* e *overflow* (CHEN et al, 2000).

Segundo Silva (1989), os equipamentos em questão possuem diâmetro entre 1 e 250 cm, com diâmetro de corte para a maioria dos sólidos variando de 2  $\mu\text{m}$  a 250  $\mu\text{m}$ . A vazão de alimentação varia de 0,1 a 7200  $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ , a queda de pressão de 34 a 600 kPa e a concentração máxima de sólidos que pode ser obtida no concentrado é de 45 a 50 % em volume. Deste modo, Svarovsky (2000) afirma que os hidrociclones podem ser extremamente eficientes na separação de partículas com tamanhos de 5 a 400  $\mu\text{m}$ , ressaltando o potencial uso destes equipamentos para a concentração de suspensões

microbiológicas nas quais estão presentes leveduras tipicamente ovais com 5 a 16  $\mu\text{m}$  de comprimento e 3 a 7  $\mu\text{m}$  de largura. Além disso, os referidos aparatos são contínuos, possuem alta capacidade de injeção, requerem baixa manutenção e dispõem do benefício adicional de poderem ser prontamente esterilizados.

#### **3.6.1.1.Mecanismo de separação do hidrociclone**

O funcionamento de um hidrociclone consiste basicamente na separação sólido-líquido e líquido-líquido em campo centrífugo. Para tanto, uma alimentação dotada de energia de pressão é injetada tangencialmente no topo da parte cilíndrica do equipamento, induzindo ao escoamento do fluido e acelerações centrífugas consequentes atuantes diretamente nas partículas presentes no meio em direção à parede do ciclone (SVAROVSKY, 2000). Assim o fluido, ao adentrar a parte cônica do hidrociclone, tem sua velocidade aumentada em decorrência da redução da seção de escoamento.

Ademais, o orifício de *underflow*, que é relativamente pequeno, permite que apenas uma parte da suspensão inicialmente alimentada seja descarregada. Enquanto isso, a outra parcela de suspensão migra para o centro do eixo do equipamento (*vortex breakdown*), formando um vórtice interno direcionado para cima e com movimento rotacional inverso àquele criado pelo primeiro vórtice.

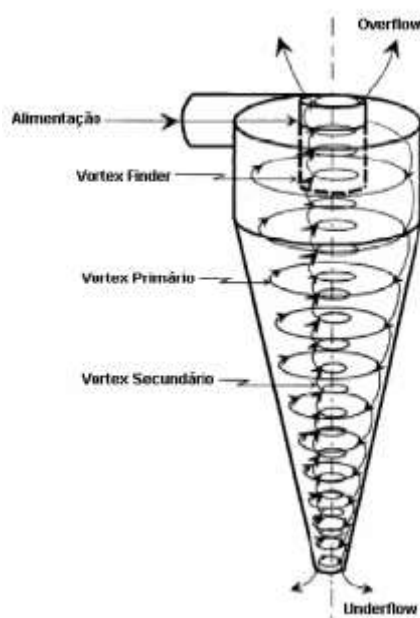
A complexa distribuição de velocidade do escoamento da suspensão em hidrociclones pode ser decomposta em três componentes: axial, radial e tangencial. A componente tangencial é a responsável pela geração das forças centrífugas e de cisalhamento atuantes em um hidrociclone, mantendo a parede ausente de acúmulo de sólidos (torta). Aquelas, dependentes da posição axial e radial no hidrociclone, são diretamente responsáveis pela coleta de uma determinada partícula. A transferência da quantidade de movimento de uma componente para outra é constantemente executada, principalmente quando o fluido se aproxima do orifício de *underflow* no qual cede-se energia rotacional para as componentes radial e axial, simultaneamente (RICKWOOD et al, 1992).

Para que seja coletada uma partícula em um hidrociclone é necessário a atuação de forças como aquelas criadas pelo movimento rotacional do fluido, pelo empuxo (devido à diferença de densidades do fluido e partícula) e pelo arraste (inerente a qualquer escoamento que envolve mais de uma fase). Realizando o balanço destas forças,

determina-se a velocidade terminal da partícula cujo módulo é definido de acordo com o tamanho e forma da mesma.

As partículas que atingem a parede do hidrociclone são consideradas coletadas facilitando assim que partículas maiores (direcionadas à parede devido a uma maior força centrífuga) sejam separadas. Por sua vez, partículas de menores dimensões não terão tempo suficiente para alcançar a parede do equipamento, sendo assim arrastadas para o vórtice interno. Neste, é praticamente certo que as partículas serão descarregadas no *overflow*, ressalvando a possibilidade de uma ou outra ser reclassificada por estar situada próxima às interfaces de escoamento (RICKWOOD et al, 1992).

A Figura 9 apresenta de maneira simplificada a trajetória adquirida pela suspensão no interior de um hidrociclone. A separação ocorre por ação de forças de arraste e de pressão sobre as partículas de diferentes tamanhos e densidades presentes na suspensão alimentada. Neste sistema há ainda a tendência de aparecer um vórtice interno de ar (*air core*) ao longo do eixo central do hidrociclone, mas que geralmente é destruído pela adição de contrapressão ou pela faixa de operação na qual o hidrociclone é manuseado (SVAROVSKY, 2000).



**Figura 9.** Esquema do escoamento interno do fluido no hidrociclone. **Fonte:** Chaves et al. (1996).

### **3.7. A proposta: AgiFerm para estudo do número de renovações do volume de dorna de fermentação**

Frente aos resultados parciais otimistas creditados à promoção da movimentação do meio fermentativo por consistente agitação ciclônica, o protótipo AgiFerm foi

construído. Este, apresentado na Figura 10, teve por finalidade a investigação da influência do número de renovações do volume de dorna (referente ao grau de agitação e circulação do material) sobre a efetiva redução do tempo de fermentação alcoólica.

Para tanto, o referido fermentador contou apenas com a bomba centrífuga, anteriormente citada, para a circulação de um volume total de 20L de fluido em fermentação. A rotação do motor deste equipamento e, conseqüentemente a vazão bombeada pelo mesmo, foi controlada por meio de um inversor de frequência WEG® - CFW300A02P6T2NB20 de potência 0,5 CV. Desta maneira, três ensaios distintos foram conduzidos em duplicata com números de renovações de volume de dorna de 1,2; 2,0 e 3,3 renovações/h. A equação 1 descreve o referido parâmetro avaliado.

$$NR = \frac{Q_{Bombeada}}{V_{\acute{u}til}} \quad (\text{Equação 1})$$

Para a qual:

NR: Número de renovações do volume do tanque de fermentação ( $\text{h}^{-1}$ );

$Q_{Bombeada}$ : Vazão de vinho bombeada para o sistema ( $\text{m}^3$  de vinho. $\text{h}^{-1}$ );

$V_{\acute{u}til}$ : Volume útil do tanque de fermentação ( $\text{m}^3$  de vinho).



**Figura 10.** Vista lateral e posterior (respectivamente), do protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. **Fonte:** Autora (2019).



## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Materiais**

Para cada ensaio de fermentação alcoólica conduzidos no protótipo AgiFerm foram necessários os seguintes materiais:

- Protótipo do fermentador com circulação de vinho por bombeamento - AgiFerm;
- 2 Kg de fermento biológico fresco Itaiquara®;
- 3 L de água.
- 15 L de mosto (18,5% ART);
- Bomba peristáltica Tecnal®;
- Medidor de temperatura;
- Bolsa térmica com gelo;
- Antiespumante.

### **4.2. Procedimento**

A metodologia utilizada para os ensaios de fermentação alcoólica no protótipo de fluxo por bombeamento AgiFerm consistiu primeiramente na preparação e esterilização de 15 L de mosto (18,5% ART) e na adição de 2 Kg de fermento hidratado em 3 L de água no tanque de fermentação (Figura 10). O fermento Itaiquara®, destinado à panificação, foi selecionado na forma de fermento biológico fresco como alternativa à baixa atividade de água (refletida em baixa viabilidade) do fermento desidratado utilizado em ensaios anteriores.

Deste modo, por meio de uma bomba peristáltica, o mosto foi alimentado continuamente em um período de 4,5 horas. A cada hora de ensaio uma amostra de 100 mL foi coletada para análise de parâmetros químicos sendo analisado também, a cada 2 horas, a viabilidade microbiológica da levedura. Os referidos indicadores foram avaliados até o término da fermentação (caracterizada pelo consumo de açúcares - repetição de Brix) e são descritos na próxima seção.

Neste contexto, tendo como base ou controle a faixa de valores aplicados na indústria (0,9 a 1,2 renovações/h), buscou-se avaliar a influência do número de renovações do volume de dorna sobre a efetiva redução do tempo de fermentação por meio de ensaios de 1,2; 2,0 e 3,3 renovações/h, sinalizados pela vazão de 24, 40, 66 L/h ou ainda 150, 280 e 350 RPM, respectivamente. Estes foram realizados em duplicada.

### 4.3. Métodos analíticos

As amostras coletadas durante a fermentação alcoólica conduzida no fermentador AgiFerm, foram analisadas laboratorialmente segundo os parâmetros descritos a seguir.

#### 4.3.1. pH

O pH da suspensão foi determinado através de um medidor de pH digital modelo 601 da Orion Research.

#### 4.3.2. Brix

A leitura do Brix foi feita em densímetro digital Anton-Paar DMA-48. Assim, obteve-se resultado expresso em °Brix correspondente a g de sólidos solúveis em suspensão em 100g de solução (ZAGO et al., 1996).

#### 4.3.3. Viabilidade e brotamento de células

A viabilidade celular (% de células vivas) e o número de brotamento foram avaliados por meio da coloração diferencial com uma solução do corante eritrosina e contagem de células por microscopia óptica utilizando objetiva de imersão (100x) em câmara de Neubauer (OLIVEIRA et al., 1996). O resultado foi expresso em percentual de células vivas e brotos, calculados conforme as equações a seguir:

$$\% \text{ Viabilidade} = \frac{\text{Total de células viáveis}}{\text{Total de células (Viáveis e Não Viáveis)}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

$$n^{\circ} \text{ de Brotamento (\%)} = \frac{\text{Total de brotos}}{\text{Total de células viáveis}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

#### 4.3.4. Teor de etanol

O teor de etanol no vinho foi quantificado pela destilação de uma amostra de 25 mL em um microdestilador Kjeldahl®, recolhendo-se 50 mL do destilado. Do destilado, o grau alcoólico foi determinado por meio de um densímetro digital Anton-Paar DMA-48. O resultado foi expresso em g de etanol por 100 mL do vinho, calculado conforme a Equação 4 onde  $n$  representa o valor da leitura obtida no densímetro e  $d$  representa a densidade do etanol (0,7889 g/100mL) (ZAGO et al., 1996)

$$\% \text{ de etanol} = 2 \times n \times d$$

(Equação 4)

#### 4.3.5. Teor de levedura

O teor de levedura no reservatório fermentativo foi determinado centrifugando-se 10 mL da amostra em centrífuga Excelsa Baby da Fanem® a 700 g ou 3000 rpm por 10 minutos. O precipitado (depois da retirada do sobrenadante) foi então quantificado.

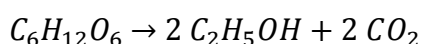
#### 4.3.6. Determinação de consumo de açúcares

A determinação de consumo de açúcares foi feita no Cromatógrafo Líquido de Alta Pressão (DIONEX™) o qual foi acoplado a um microcomputador com o *software* que tem o programa para as análises das leituras das amostras e impressões.

#### 4.3.7. Cálculo de Eficiência da fermentação

A eficiência da fermentação alcoólica ( $\eta(\%)$ ) associa o álcool produzido com aquele teórico que deveria ser produzido em função do teor de açúcares totais existentes no mosto. O referido parâmetro é relacionado ao rendimento, o qual expressa quantitativamente a eficácia com que a levedura transforma o açúcar em etanol.

Por meio da equação de Gay-Lussac, o rendimento teórico dos açúcares redutores totais (ART) do mosto é expresso em glicose:



180 g de ART  $\rightarrow$  92 g de Etanol

100 g  $\rightarrow$  x g de Etanol

Tem-se que:

$$x = 51,11 \text{ g de Etanol/100 g de ART;}$$

Ou ainda:

$$51,11 / 0,78932 = 64,75 \text{ mL de Etanol/100 g de ART;}$$

Onde: 0,78932 g/mL é a densidade do etanol a 20° C.

Logo,

$$R_{\text{Teórico}} = 64,75 \text{ mL de Etanol/100 g de ART, a } 20^\circ \text{C.}$$

A Equação 5 define o rendimento prático calculado a partir do teor alcoólico do vinho expresso em °GL (graus Gay-Lussac).

$$^{\circ}GL = \frac{V_{Etanol}}{V_{Vinho}} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Para a qual:

°GL: Teor alcoólico do vinho;

V<sub>Etanol</sub>: Volume de etanol no vinho;

V<sub>Vinho</sub>: Volume do vinho;

Deste modo, calcula-se a eficiência da fermentação alcoólica:

$$\eta(\%) = \frac{R_{Prático}}{R_{Teórico}} \times 100 = \frac{V_{Prático}}{V_{Teórico}} \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

η: Eficiência da fermentação alcoólica (%);

R<sub>Prático</sub>: Rendimento prático da fermentação alcoólica;

R<sub>Teórico</sub>: Rendimento teórico da fermentação alcoólica;

V<sub>Prático</sub>: Volume de etanol formado na fermentação alcoólica;

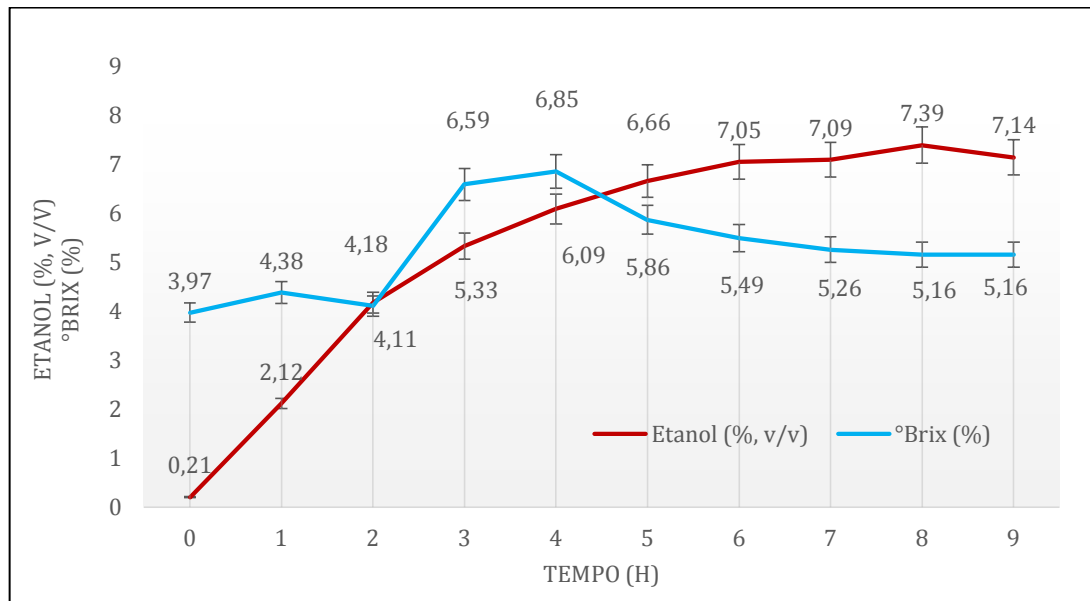
V<sub>Teórico</sub>: Volume de etanol que deveria ter sido formado na fermentação alcoólica.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A investigação da influência do número de renovações do volume de dorna sobre a efetiva redução do tempo de fermentação como prova de conceito para validação do fermentador com circulação de vinho, foi feita por meio de ensaios em duplicata de 1,2; 2,0 e 3,3 renovações/h no protótipo AgiFerm. Para cada amostra obtida durante as referidas fermentações, valores de médias e de desvios médios referentes ao teor alcoólico e brix foram gerados e esboçados graficamente a fim de serem avaliados.

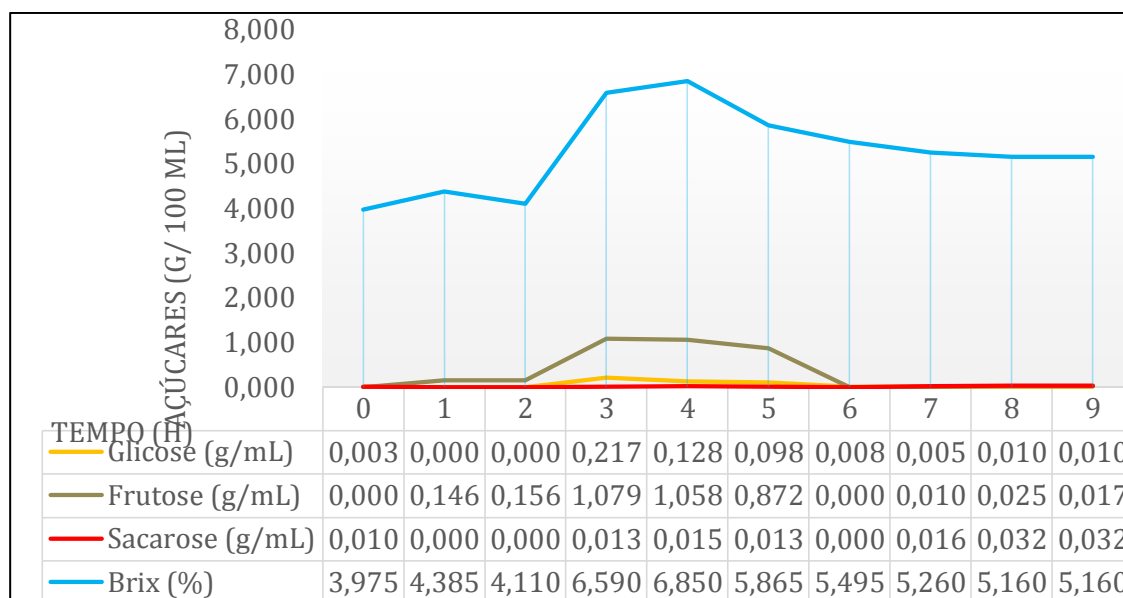
A Figura 11 apresenta os resultados do ensaio tido como controle (1,2 renovações/h), o qual apresentou em um primeiro momento obedecendo como critério de término da

fermentação a repetição de Brix, 81,67% de eficiência. Nesta, pode-se observar um teor alcoólico de 7,39% (v/v) para valor final de 5,16° Brix em um período de 8 horas.



**Figura 11.** Curvas das médias de Etanol (% v/v) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. **Fonte:** Autora (2019).

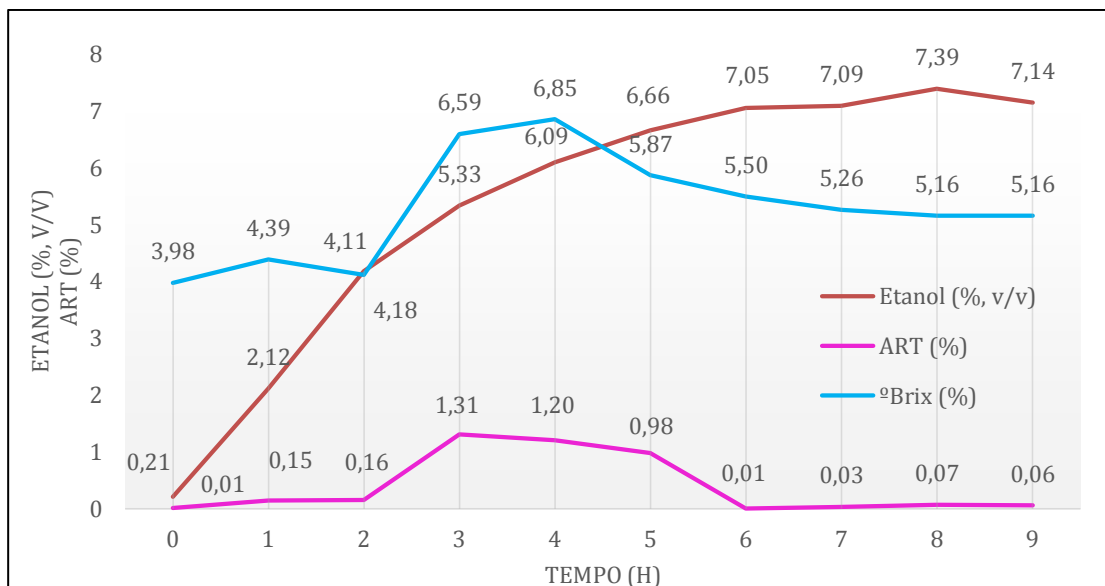
Contudo, mediante a análise de consumo de açúcares (Figura 12) inferiu-se que a fermentação alcoólica do referido ensaio ocorreu duas horas antes do relatado, sendo obtido um teor alcoólico de 7,05% (v/v) para valor final de 5,49° Brix em um período de 6 horas. Fato este relacionado ao esgotamento dos açúcares fermentescíveis do meio (sacarose, glicose e frutose).



**Figura 12.** Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

Importa ainda salientar que após o término da fermentação alcoólica, a variação dos valores de Brix pode ser relacionada à uma série de fatores tais como a presença de açúcares infermentescíveis no mosto, proteínas, teor de etanol, deposição de biomassa, entre outros. Também, para a análise em questão, um erro na casa de 3% pode ser admitido como ruído no equipamento tornando não significativo os valores apresentados na Figura 12 referentes ao incremento das curvas de açúcares logo após os seus respectivos esgotamento.

Neste sentido, a fim de melhor avaliar os resultados obtidos, a Figura 13 é apresentada relacionando as curvas de teor alcoólico e Brix à curva de açúcares redutores totais (ART). A partir desta análise pode-se confirmar o término da fermentação dos açúcares presentes no mosto em 6 horas de processo.



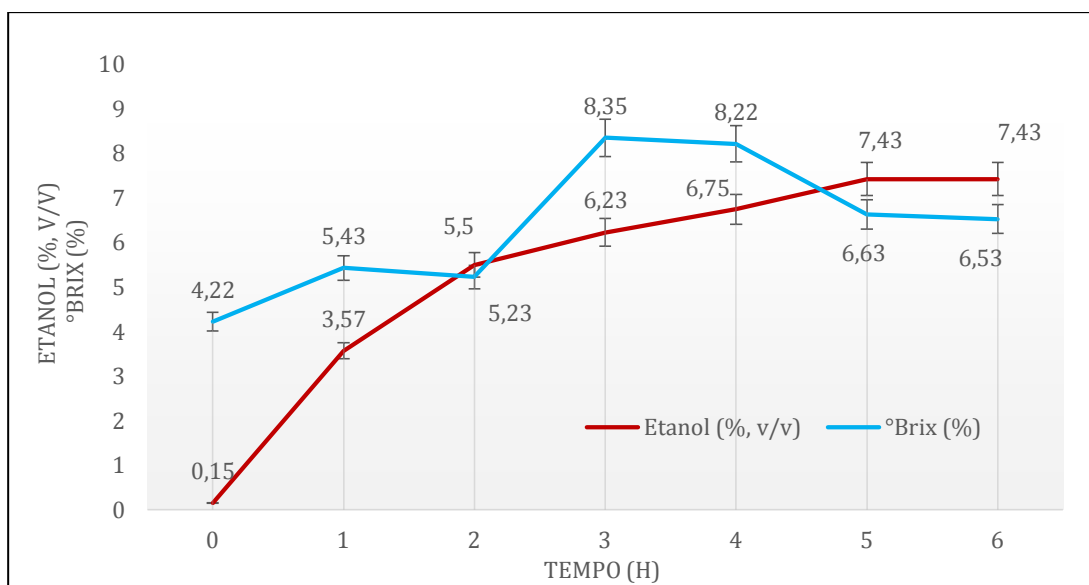
**Figura 13.** Curvas das médias de Etanol (% v/v), Brix (°) e ART obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

Durante o ensaio em questão, o meio em fermentação apresentou um pH médio de 4,15, viabilidade de células entre 100 e 92,8 %, com brotamento médio de 5,44 % e concentração final de levedo de 14 %. A temperatura do processo por sua vez, teve a sua máxima, média e mínima registradas (Tabela 4), tendo sido dispensável o uso da bolsa térmica com gelo para resfriamento do fluido e o uso de antiespumante.

**Tabela 4.** Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 1,2 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

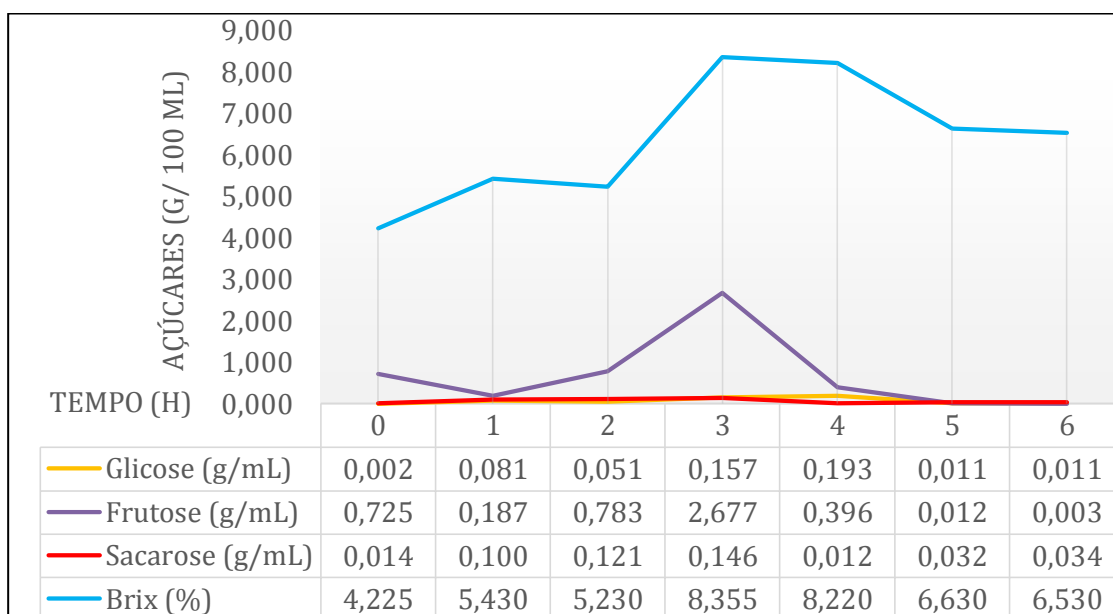
<b>T<sub>Máxima</sub></b>	35,20 °C
<b>T<sub>Média</sub></b>	32,74 °C
<b>T<sub>Mínima</sub></b>	29,30 °C

Dando prosseguimento ao ensaio de 2,0 renovações/h, o número de renovações por volume de dorna foi dobrado apresentando eficiência de 82,28%. Os valores obtidos de médias e desvios médios de teor alcoólico e Brix são apontados na Figura 14, cuja análise permite inferir uma redução do tempo de fermentação em 1 hora de processo, em comparação ao ensaio controle. Assim, mantendo o critério de repetição de Brix para sinalização do término da fermentação alcoólica, um teor alcoólico de 7,43% (v/v) foi alcançado para um valor final de 6,63° Brix em um período total de 5 horas.



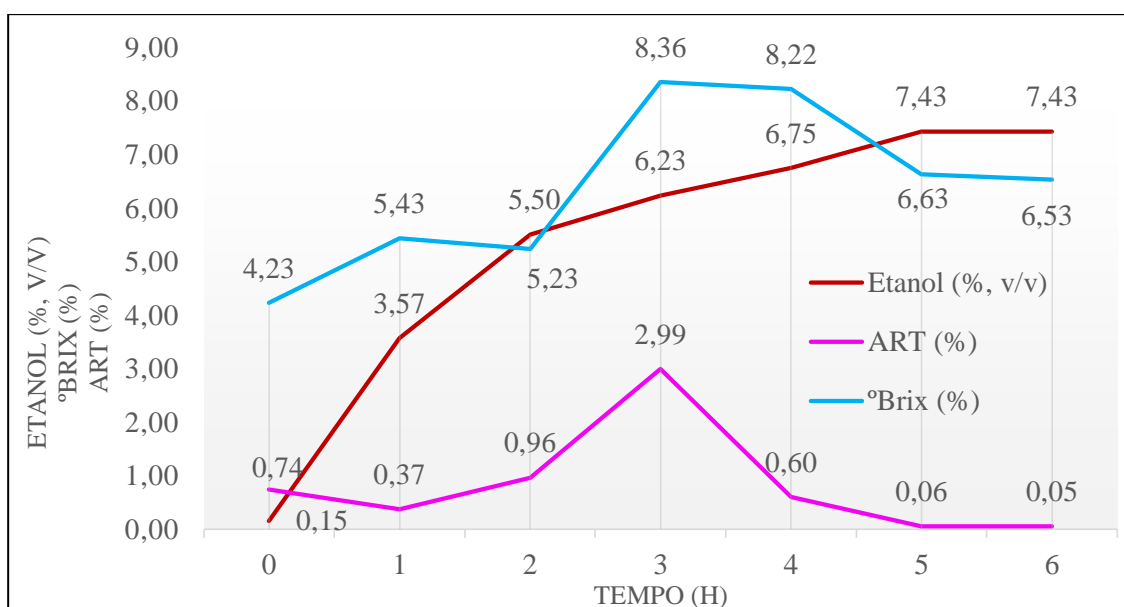
**Figura 14.** Curvas das médias de Etanol (% v/v) e Brix (%) obtidas durante ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

A Figura 15 aponta a análise de consumo de açúcares por meio da qual é possível relacionar o término do processo fermentativo ao esgotamento dos açúcares fermentescíveis do mosto em um período de 5 horas de processo. Fato este confirmado mediante a avaliação da Figura 16 a qual relaciona a curva de açúcares redutores totais às curvas de teor alcoólico e Brix.



**Figura 15.** Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).





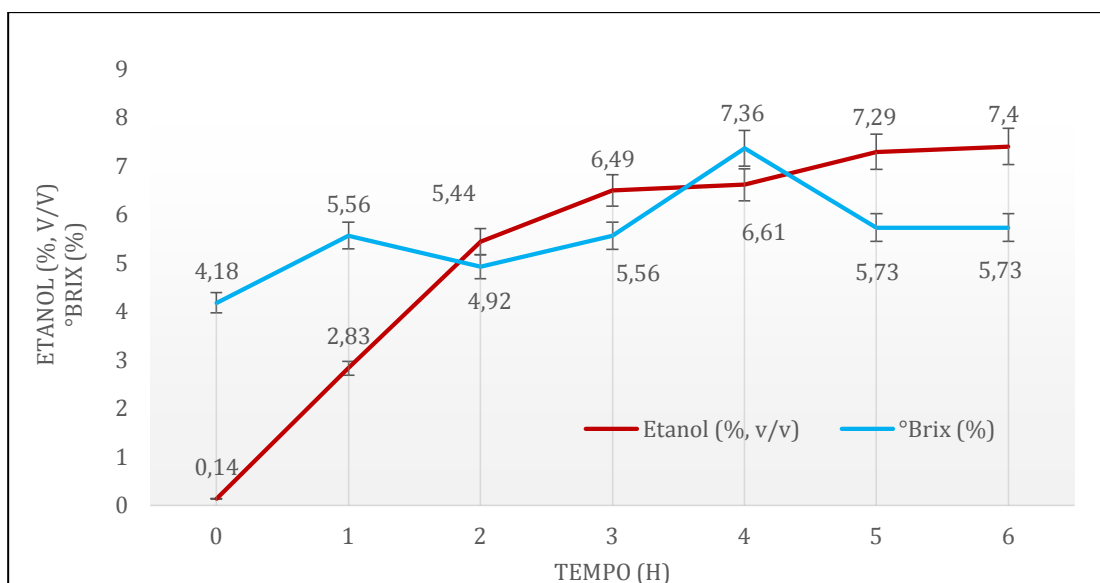
**Figura 16.** Curvas das médias de Etanol (% v/v), Brix (%) e ART obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

O ensaio apresentou ainda pH médio de 4,48, viabilidade de células entre 99,23 e 92,23 %, com brotamento médio de 6,30 % e concentração final de levedo de 16 %. A Tabela 5 registra a temperatura do processo, a qual foi controlada por meio do uso de uma bolsa térmica com gelo. Para o controle da espuma referente à liberação de gás carbônico foi necessário o uso de antiespumante.

**Tabela 5.** Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 2,0 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm. **Fonte:** Autora (2019).

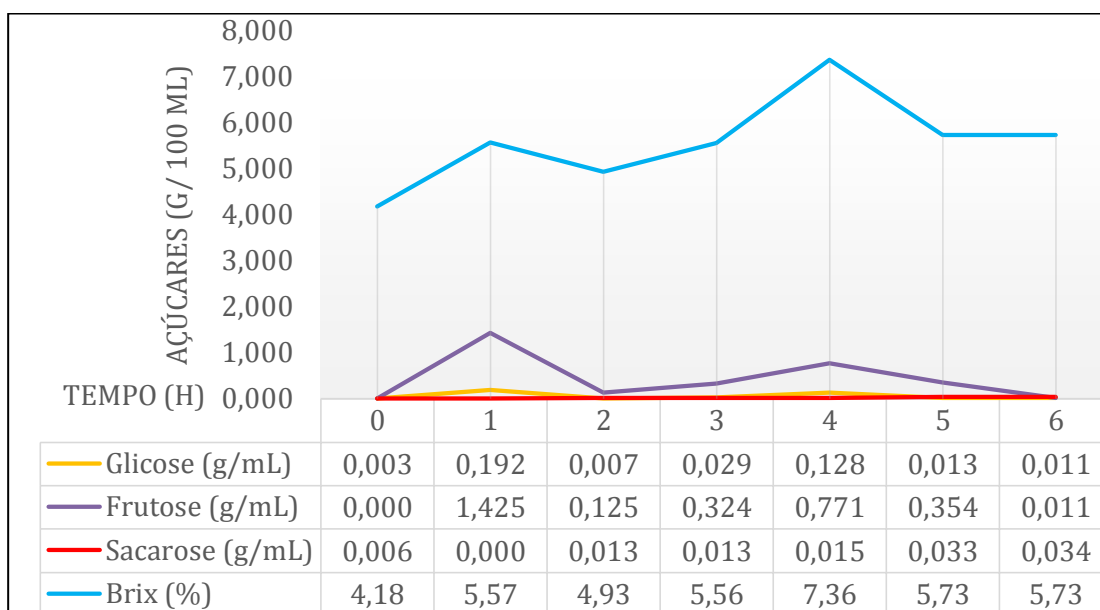
<b>T<sub>Máxima</sub></b>	38,00 °C
<b>T<sub>Média</sub></b>	34,50 °C
<b>T<sub>Mínima</sub></b>	31,90 °C

O terceiro e último ensaio de fermentação alcoólica no fermentador AgiFerm contou com o número de renovações por volume de dorna de 3,3 renovações/h e 80,75% de eficiência. Para este, a Figura 17 é apontada revelando também uma redução do tempo de fermentação em 1 hora de processo em comparação ao ensaio controle. Foi obtido um teor alcoólico de 7,29% (v/v) para o valor final de 5,73° Brix.

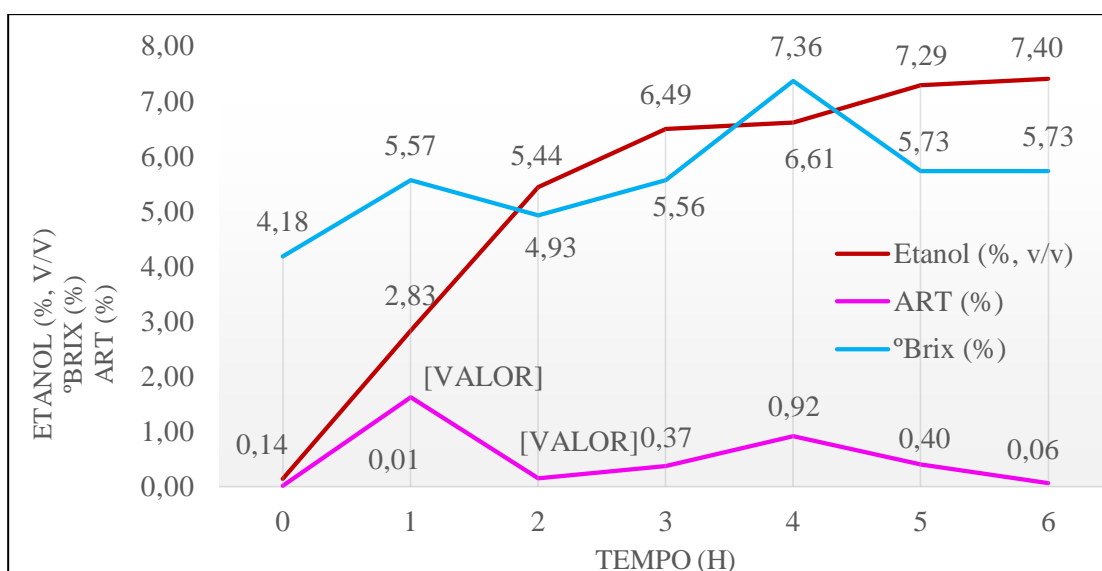


**Figura 17.** Curvas das médias de Etanol (°GL) e Brix obtidas durante ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

Os resultados da determinação do consumo de açúcares são apontados na Figura 18. Por meio da análise desta é possível observar em um período de 5 horas, o término da fermentação alcoólica concomitante ao esgotamento dos açúcares. A figura 19 confirma os resultados obtidos por meio da avaliação das curvas de teor alcoólico Brix e açúcares redutores totais.



**Figura 18.** Curvas das médias de Açúcares (g/mL) e Brix (%) obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).



**Figura 19.** Curvas das médias de Etanol (% v/v), Brix (%) e ART obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento - AgiFerm. Fonte: Autora (2019).

A suspensão em fermentação apresentou pH médio de 4,45, viabilidade de células entre 100 e 88,66 %, com brotamento médio de 3,14 % e concentração final de levedo de 13%. O registro da temperatura do processo fermentativo é apresentado na Tabela 6. Também foi necessário o uso da bolsa térmica com gelo para resfriamento do fluido e o uso de antiespumante desde o início do processo para controle da espuma.

**Tabela 6.** Registro das temperaturas máxima, média e mínima obtidas durante os ensaios de 3,3 renovações/h conduzidos no protótipo do fermentador de fluxo por bombeamento – AgiFerm. **Fonte:** Autora (2019).

<b>T<sub>Máxima</sub></b>	38,80 °C
<b>T<sub>Média</sub></b>	36,55 °C
<b>T<sub>Mínima</sub></b>	32,30 °C

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fermentação alcoólica foi conduzida em um protótipo laboratorial de fluxo por bombeamento (AgiFerm) a fim de se investigar a influência do número de renovações do volume de dorna sobre a efetiva redução do tempo de fermentação, como prova de conceito para validação dos resultados parciais obtidos no fermentador com circulação de vinho. Para tanto, o protótipo AgiFerm foi construído de modo que o volume total de

20L de vinho bruto fosse homogeneizado por meio de uma bomba centrífuga WEG® - CQ500NT de potência 0,5 CV com vazão nominal de 4 m<sup>3</sup>/h, a qual teve sua rotação controlada por um inversor de frequência WEG® - CFW300A02P6T2NB20 de mesma potência. Deste modo, através de parâmetros previamente estabelecidos, foram avaliados ensaios (conduzidos em duplicata) com números de renovações de volume de dorna de 1,2; 2,0 e 3,3 renovações/h, tendo como base a faixa de valores aplicados na indústria de 0,9 a 1,2 renovações/h.

Em consonância com o processo industrial de produção de etanol, os ensaios de 1,2 renovações/h, tidos como controle, apresentaram média de teor alcoólico de 7,05% (v/v) para valor final de 5,50° Brix em um período de 6 horas. Estes apresentaram ainda, temperatura média de 32,74°C sendo dispensável o resfriamento do fluido e o uso de antiespumante para controle de espuma.

Os ensaios com maior grau de circulação de fluido (2,0 e 3,3 renovações/h) apresentaram, por sua vez, uma redução do tempo de fermentação em 1 hora de processo podendo ser observado teores alcoólicos similares de 7,43 e 7,29% (v/v) para valores finais de 6,63 e 5,73° Brix, respectivamente, em um período total de 5 horas. Também foi constatado um aumento das temperaturas médias registradas, proporcional ao aumento do número de renovações de volume de dorna, sendo necessário o uso de uma bolsa térmica com gelo para o controle desta variável. Semelhantemente, a liberação de gás carbônico condizente com a promoção de espuma durante o referido processo foi proporcional à agitação do fluido em fermentação, sendo indispensável o uso de antiespumante em ambos os ensaios.

Neste contexto, é possível afirmar que a redução do tempo de fermentação obtida como resultado dos ensaios de 2,0 e 3,3 renovações/h, em comparação ao ensaio controle, pode ser creditada à promoção da movimentação e consequente homogeneização do meio fermentativo. Este fato foi refletido em aumento da temperatura média do processo e desprendimento de CO<sub>2</sub> proporcional ao número de renovações do volume de dorna. Assim como, um ganho médio de teor alcoólico de cerca de 0,70% (v/v) em comparação ao teor alcoólico alcançado em 5 horas de processo no ensaio de 1,2 renovações/h.

Contudo, ressalvas são evidenciadas mediante à análise dos resultados obtidos para os ensaios de maior grau de circulação quando comparados entre si. Tais ensaios não apresentaram valores significativos de diferenciação sendo portanto, recomendada uma análise financeira cautelosa para viabilização do número de renovações de volume

dorna. Assim, conclui-se que importa reafirmar a necessidade de continuação de estudos específicos referentes ao uso do hidrociclone como forma de inovação do processo de fermentação alcoólica.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, H. V. **Fermentação Alcoólica: Ciência e Tecnologia**. Piracicaba - São Paulo, 2005. Fermentec, 448p.
- AMORIM, H.V., BASSO, L. C., ALVES, D. M. G., **Processos de Produção de Álcool: Controle e Monitoramento**. Fermentec, Piracicaba - São Paulo, 1996.
- ANDRIETTA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S. **Bioetanol – Brasil, 30 anos na vanguarda. MultiCiência**, Universidade de Campinas, 2006.
- ATALA, D. I. P.; COSTA, A. C.; MACIEL FILHO, R. e MAUGERI FILHO, F.; **Fermentação Alcoólica com alta densidade celular: Modelagem cinética e convalidação de parâmetros**; Livro de Resumos do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2000.
- BASSO, L. C. **Fisiologia e ecologia microbiana**, I Workshop Tecnológico sobre Produção de Etanol, Projeto Programa de Pesquisa em Políticas Públicas, ESALQ/USP, 2004.
- BASSO, L.C. 1991. In: ALVES, D.M.G. **Fatores que afetam a formação de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica**. (Tese Doutorado). ESALQ. Piracicaba, 1994, 199 p.
- BELTER, P. A., CUSSTER, E. L., HU, W. S.; **Bioseparation: downstream processing for biotechnologies**. United States of America: John Wiley & Sons, 1988. 368 p.
- CARVALHO, J.C. M.; SATO, S. **Fermentação Descontínua Alimentada**. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blücher, p. 205-222 (Biotechnologia Industrial; v.2), 2001.
- CHAVES, A.P. **Teoria e Prática do Tratamento de Minérios**, vol.1, 1 edição, Signus Editora Ltda - SP, 1996.
- CHEN, W.; ZYDEK, N.; PARMA, F. Evaluation of hydrocyclone models for practical applications. **Chemical Engineering Journal**, vol. 80 (1-3), p. 295-303, 2000.
- Contextualização histórica do etanol. Disponível em: <<https://www.novacana.com/estudos/contextualizacao-historica-do-etanol-120913>>. Acesso em: 10 abril. 2019.
- COPERSUCAR. **FERMENTAÇÃO**. Coordenadoria de Processos, Divisão Centro de Tecnologia Copersucar, v1, p23-35, 1987.
- COUTINHON FILHO, U. **Engenharia Bioquímica**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2007. Apostila.
- CYSEWSKI, G. R.; WILKIE, C. W. Process design and economic studies of fermentation methods for the production of ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**. V. 20, p. 280-287, 1978.
- DELFO, R. A., et al. A design tool for optimizing axial liquid-liquid hydrocyclones. **Minerals Engineering**. vol. 17, p.721-731, 2004.

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

FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação Contínua. In: Schmidell et al. (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blücher, 223-246, 2001.

FURTADO, T. A.; SCANDIFFIO, M. G. **Álcool no Brasil - Uma longa história**. Scientific American Brasil, p. 66-71, Outubro, 2006.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. **Álcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira**. Curitiba: Editora UFRP, 248p., 2002.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: LIMA, U. A. et al. (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo, Edgard Blücher. Biotecnologia Industrial. v. 3, p.1 – 43. 2001.

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

McNEIL, B.; HARVEY, L. M. **Fermentation: A Practical Approach**. 1 ed. IRL PRESS at Oxford University Press, 1990.

MENEZES, T. J. B. **Etanol, o combustível do Brasil**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., p. 141 – 178, 1980.

NOVAES, F. V.; STUOIELO, J. P.; OLIVEIRA, E. R de; VALSECHI, O. **Primeiro Curso de Extensão em Tecnologia de Aguardente De Cana**. PIRACICABA, p.49-79, 1974.

OLIVEIRA, A.J.; GALO, C.R.; ALCARDE, V.E.; GODOY, A.; GARCIA, C.E. **Curso de treinamento em microbiologia**, Piracicaba: FERMENTEC; ESALQ, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1996. 37p.

PROCKNOR, C. **Agitação na Fermentação**. 2008. Disponível em: <<https://www.procknor.com.br/br/artigos/agitacao-na-fermentacao>>. Acesso em: 04 abr. 2019.

Produção de Etanol. Disponível em: < <http://www.tcquimica.com/>>. Acesso em 12 de dezembro de 2018.

RATLEDGE, C.; EVANS, C. T. **Lipids and their metabolism**. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J. S. 2.ed. The Yeast, Academic Press, v.3, cap. 10, p.367-455, 1989.

RICKWOOD, D.; ONIONS, J.; BENDIXEN, B.; SMYTH, I. **Prospects for the Use of Hydrocyclones for Biological Separations**. In: Svarovsky L. and M.T. Thew (eds.), Hydrocyclones: Analysis and Applications, Kluwer, Dordrecht, 109-119 (1992).

RITEMA, K., Performance and design of hydrocyclones - Parts I to IV, **Chemical Engineering Science**, v. 15, 1996.

SANTOS, A. M, dos. **Estudo da Influência da Complementação De Nutrientes no Mosto Sobre o Processo de Fermentação Alcoólica em Batelada**. Dissertação De Mestrado Em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas. p 21, 2008.

SCHMIDELL, W., FACCIOTTI, M. C. R., **Biorreatores e Processos Fermentativos**. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgar Blücher, p. 179 - 192. (Biotecnologia Industrial; v.2), 2001.

SILVA, M.A.P., **Hidrociclones de Bradley: dimensionamento e análise do desempenho**. Rio de Janeiro, 1989. 81p. Dissertação (M.S.) – Coordenação de Pós-graduação e pesquisa de Engenharia. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SPERLING, D.; GORDON, D., **Two billion cars: Driving towards sustainability**. Nova Iorque: Oxford University Press, 2009.

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

STREMEL, D. P. **Desenvolvimento de Modelos Estruturados Alternativos para o Processo de Produção de Etanol**. 283p., 2001.

SVAROVSKY, L. **Solid-Liquid Separation**. 3 ed. London: Butterworths, 2000. 716 p.

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

VILLEN, R. A. **Mauá: Biotecnologia – Histórico e Tendências**. Escola de Engenharia de Mauá. Apostila, 2009.

WARD, O. P. **Biotechnología de la fermentación: principios, procesos y productos**. Zaragoza – Espanha, Ed. ACRIBIA, S.A. 1991, p. 155.

ZAGO, E.A.; SILVA, F.L.F.; BERNARDINO, C.D.; AMORIM, H.V. **Métodos analíticos para o controle da produção de álcool**, Piracicaba: FERMENTEC; FEALQ, ESALQ, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1996. 194p.

ZANARDI, M. S.; ESLY, J., **Tecnologia e perspectiva da produção de etanol no Brasil**. Revista Liberato, 2016. 20 p.

ZARPELLON, F.; ANDRIETTA, S. R. **Fermentação Contínua para Produção de Álcool**. STAB Açúcar e Álcool e Subprodutos, p. 23-28, 1992.



## APÊNDICE I – Resultados obtidos em ensaios de 1,2 Renovações/hora

Replicata 1 - 28/03/2019

Tempo (h)		ETOH (v/v)	ETOH (w/w)	VIABILIDADE	BROTAMENTO	pH	Brix°	Concentração	Temperatura (°C)
<b>0</b>	11:00	0,2	0,16	100,00%	6,50%	4,85	4,42	50%	-
<b>1</b>	12:00	1,7	1,34	-	-	3,76	4,42	26%	-
<b>2</b>	13:00	4,02	3,16	-	-	3,45	4,01	18%	-
<b>3</b>	14:00	5,48	4,36	97,90%	1,50%	4,22	4,89	26%	-
<b>4</b>	15:00	6,3	5	-	-	4,12	5,09	17%	-
<b>5</b>	16:00	6,18	4,9	-	-	4,2	5,9	17%	-
<b>6</b>	17:00	6,96	5,52	96,70%	16,00%	4,23	5,36	14%	31
<b>7</b>	18:00	6,94	5,52	-	-	4,21	5,23	14%	-
<b>8</b>	19:00	7,28	5,8	-	-	4,22	5,16	17%	-
<b>9</b>	20:00	7,14	6,68	95,90%	4,04%	4,24	5,16	15%	-

Tempo (h)		Glicerol (g/ 100 mL)	Manitol (g/ 100 mL)	Glicose (g/ 100 mL)	Frutose (g/ 100 mL)	Sacarose (g/ 100 mL)	ART (%)
<b>0</b>	11:00	0,016	0,002	0,003	0,000	0,000	0,003
<b>1</b>	12:00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>2</b>	13:00	0,570	0,020	0,000	0,095	0,000	0,095
<b>3</b>	14:00	0,681	0,025	0,000	0,087	0,000	0,087
<b>4</b>	15:00	0,719	0,030	0,016	0,118	0,000	0,134
<b>5</b>	16:00	0,696	0,035	0,184	1,341	0,000	1,526
<b>6</b>	17:00	0,832	0,039	0,015	0,000	0,000	0,015
<b>7</b>	18:00	0,740	0,035	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>8</b>	19:00	0,660	0,033	0,010	0,024	0,029	0,065
<b>9</b>	20:00	0,702	0,034	0,010	0,017	0,032	0,060

**Replicata 2 - 02/04/2019**

<b>Tempo (h)</b>		<b>ETOH (v/v)</b>	<b>ETOH (w/w)</b>	<b>VIABILIDADE</b>	<b>BROTAMENTO</b>	<b>pH</b>	<b>Brix (%)</b>	<b>Concentração</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<b>0</b>	09:00	0,22	0,16	98,82%	4,52%	4,97	3,53	50%	29,3
<b>1</b>	10:00	2,54	2,02	-	-	3,88	4,35	32%	32,3
<b>2</b>	11:00	4,34	3,44	-	-	3,44	4,21	25%	33,9
<b>3</b>	12:00	5,18	4,12	96,98%	2,48%	4,1	8,29	17%	34,7
<b>4</b>	13:00	5,88	4,66	-	-	4,16	8,61	14%	35,2
<b>5</b>	14:00	7,14	5,68	-	-	4,18	5,83	15%	33,7
<b>6</b>	15:00	7,14	5,66	92,80%	3,10%	4,23	5,63	13%	32,5
<b>7</b>	16:00	7,24	5,76	-	-	4,27	5,29	14%	31,6
<b>8</b>	17:00	7,5	5,96	-	-	4,26	5,16	14%	31,5
<b>9</b>	18:00	-	-	-	-	-	-	-	-

<b>Tempo (h)</b>		<b>Glicerol (g/ 100 mL)</b>	<b>Manitol (g/ 100 mL)</b>	<b>Glicose (g/ 100 mL)</b>	<b>Frutose (g/ 100 mL)</b>	<b>Sacarose (g/ 100 mL)</b>	<b>ART (%)</b>
<b>0</b>	09:00	0,014	0,002	0,003	0,000	0,021	0,025
<b>1</b>	10:00	0,444	0,016	0,000	0,292	0,000	0,292
<b>2</b>	11:00	0,599	0,021	0,000	0,216	0,000	0,216
<b>3</b>	12:00	0,690	0,029	0,434	2,071	0,026	2,532
<b>4</b>	13:00	0,788	0,039	0,239	1,998	0,030	2,269
<b>5</b>	14:00	0,762	0,039	0,013	0,403	0,025	0,442
<b>6</b>	15:00	0,868	0,045	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>7</b>	16:00	0,751	0,041	0,010	0,020	0,033	0,064
<b>8</b>	17:00	0,820	0,042	0,011	0,025	0,034	0,072
<b>9</b>	18:00	-	-	-	-	-	-

## APÊNDICE II – Resultados obtidos em ensaios de 2,0 Renovações/hora

**Replicata 1 - 29/03/2019**

Tempo (h)		ETOH (v/v)	ETOH (w/w)	VIABILIDADE	BROTAMENTO	pH	Brix (%)	Concentração	Temperatura (°C)
<b>0</b>	06:40	0,14	0,1	92,23%	4,20%	4,82	4,01	50%	-
<b>1</b>	07:40	3,34	2,66	-	-	4,21	4,96	28%	31,0
<b>2</b>	08:40	5,44	4,32	-	-	4,33	5,23	23%	37,0
<b>3</b>	09:40	6,2	4,92	96,65%	5,44%	4,38	8,29	22%	36,2
<b>4</b>	10:40	6,92	5,5	-	-	4,44	8,15	18%	36,0
<b>5</b>	11:40	7,44	5,92	94,97%	5,29%	4,48	6,9	18%	35,2
<b>6</b>	12:40	7,5	5,96	95,90%	4,27%	4,55	6,83	18%	34

Tempo (h)		Glicerol (g/ 100 mL)	Manitol (g/ 100 mL)	Glicose (g/ 100 mL)	Frutose (g/ 100 mL)	Sacarose (g/ 100 mL)	ART (%)
<b>0</b>	06:40	0,007	0,000	0,000	0,012	0,017	0,029
<b>1</b>	07:40	5,596	0,167	0,071	0,304	0,201	0,586
<b>2</b>	08:40	5,942	0,228	0,089	1,002	0,243	1,347
<b>3</b>	09:40	6,978	0,307	0,262	3,631	0,293	4,202
<b>4</b>	10:40	0,864	0,043	0,111	0,787	0,000	0,898
<b>5</b>	11:40	0,772	0,040	0,012	0,004	0,033	0,051
<b>6</b>	12:40	0,790	0,038	0,012	0,003	0,032	0,049

**Replicata 2 - 01/04/2019**

Tempo (h)		ETOH (v/v)	ETOH (w/w)	VIABILIDADE	BROTAMENTO	pH	Brix (%)	Concentração	Temperatura (°C)
<b>0</b>	09:00	0,16	0,12	99,23%	10,42%	4,91	4,44	50%	-
<b>1</b>	10:00	3,8	3,02	-	-	4,16	5,9	30%	33,1
<b>2</b>	11:00	5,56	4,42	-	-	4,41	5,23	20%	35,0
<b>3</b>	12:00	6,26	4,98	98,50%	8,59%	4,41	8,42	20%	34,2
<b>4</b>	13:00	6,58	5,24	-	-	4,5	8,29	18%	34,0
<b>5</b>	14:00	7,42	5,9	-	-	4,56	6,36	14%	34,2
<b>6</b>	15:00	7,36	5,86	98,03%	5,85%	4,61	6,23	14%	34,0

Tempo (h)		Glicerol (g/ 100 mL)	Manitol (g/ 100 mL)	Glicose (g/ 100 mL)	Frutose (g/ 100 mL)	Sacarose (g/ 100 mL)	ART (%)
<b>0</b>	09:00	0,021	0,002	0,003	1,439	0,012	1,454
<b>1</b>	10:00	0,622	0,018	0,092	0,069	0,000	0,161
<b>2</b>	11:00	0,683	0,025	0,013	0,564	0,000	0,577
<b>3</b>	12:00	0,696	0,026	0,051	1,723	0,000	1,775
<b>4</b>	13:00	0,713	0,035	0,275	0,005	0,025	0,306
<b>5</b>	14:00	0,724	0,033	0,010	0,020	0,031	0,063
<b>6</b>	15:00	0,785	0,034	0,010	0,003	0,035	0,049

### APÊNDICE III – Resultados obtidos em ensaios de 3,3 Renovações/hora

**Replicata 1 - 04/04/2019**

Tempo (h)		ETOH (v/v)	ETOH (w/w)	VIABILIDADE	BROTAMENTO	pH	Brix (%)	Concentração	Temperatura (°C)
<b>0</b>	06:00	0,2	0,16	100,00%	3,40%	4,93	4,08	50%	-
<b>1</b>	07:00	2,78	2,2	-	-	4,11	5,9	35%	32,3
<b>2</b>	08:00	5,46	4,32	-	-	4,32	4,96	22%	37
<b>3</b>	09:00	7	4,86	98,88%	1,64%	4,39	6,03	18%	37
<b>4</b>	10:00	7,12	5,66	-	-	4,48	8,09	15%	36,4
<b>5</b>	11:00	7,22	5,74	-	-	4,53	5,63	14%	35,6
<b>6</b>	12:00	7,54	5,98	91,76%	2,56%	4,6	5,63	14%	35,6

Tempo (h)		Glicerol (g/ 100 mL)	Manitol (g/ 100 mL)	Glicose (g/ 100 mL)	Frutose (g/ 100 mL)	Sacarose (g/ 100 mL)	ART (%)
<b>0</b>	06:00	0,015	0,003	0,004	0,000	0,000	0,004
<b>1</b>	07:00	0,453	0,024	0,269	1,672	0,000	1,941
<b>2</b>	08:00	0,752	0,027	0,015	0,106	0,027	0,149
<b>3</b>	09:00	0,763	0,027	0,022	0,314	0,000	0,336
<b>4</b>	10:00	0,780	0,038	0,114	0,635	0,031	0,781
<b>5</b>	11:00	0,768	0,038	0,011	0,189	0,034	0,235
<b>6</b>	12:00	0,804	0,039	0,011	0,021	0,035	0,068

**Replicata 2 - 04/04/2019**

Tempo (h)		ETOH (v/v)	ETOH (w/w)	VIABILIDADE	BROTAMENTO	pH	Brix (%)	Concentração	Temperatura (°C)
<b>0</b>	12:45	0,08	0,06	100,00%	-	4,98	4,28	50%	-
<b>1</b>	13:45	2,88	2,28	-	-	4,00	5,23	35%	33,8
<b>2</b>	14:45	5,42	4,3	-	-	4,25	4,89	22%	38,1
<b>3</b>	15:45	5,98	4,74	95,68%	3,68%	4,32	5,09	20%	38,0
<b>4</b>	16:45	6,1	4,92	-	-	4,45	6,63	13%	38,4
<b>5</b>	17:45	7,36	5,84	-	-	4,46	5,83	13%	38,0
<b>6</b>	18:45	7,26	5,78	88,66%	4,44%	4,54	5,83	13%	38,4

Tempo (h)		Glicerol (g/ 100 mL)	Manitol (g/ 100 mL)	Glicose (g/ 100 mL)	Frutose (g/ 100 mL)	Sacarose (g/ 100 mL)	ART (%)
<b>0</b>	12:45	0,017	0,000	0,002	0,000	0,012	0,014
<b>1</b>	13:45	0,460	0,014	0,114	1,179	0,000	1,293
<b>2</b>	14:45	0,740	0,025	0,000	0,143	0,000	0,143
<b>3</b>	15:45	0,789	0,033	0,036	0,335	0,025	0,398
<b>4</b>	16:45	0,766	0,042	0,143	0,907	0,000	1,050
<b>5</b>	17:45	0,753	0,047	0,015	0,518	0,033	0,568
<b>6</b>	18:45	0,770	0,003	0,012	0,002	0,032	0,048