



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA SUCROALCOOLEIRA
CURSO DE TECNOLOGIA EM PRODUÇÃO SUCROALCOOLEIRA



PEDRO ANDRÉ DE SIQUEIRA SEGUNDO

**INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA NA SACARIFICAÇÃO E
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ETANOL DE MILHO**

JOÃO PESSOA
2025

PEDRO ANDRÉ DE SIQUEIRA SEGUNDO

**INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA NA SACARIFICAÇÃO E
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ETANOL DE MILHO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Tecnologia Sucroalcooleira, da
Universidade Federal da Paraíba, como
requisito para a obtenção do título de
Tecnólogo em Tecnologia em Produção
Sucroalcooleira.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Solange Maria de
Vasconcelos

JOÃO PESSOA

2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S456i Segundo, Pedro Andre de Siqueira.

Influência da granulometria na sacarificação e
fermentação na produção de etanol de milho / Pedro
Andre de Siqueira Segundo. - João Pessoa, 2025.
48 f. : il.

Orientação: Prof^a Dr^a Solange Maria de Vasconcelos
Vasconcelos.

TCC (Graduação) - UFPB/CTDR.

1. Milho. 2. Etanol. 3. Granulometria. 4. Enzimas.
5. Fermentação alcoólica. I. Vasconcelos, Prof^a Dr^a
Solange Maria de Vasconcelos. II. Título.

UFPB/CTDR

CDU 633.15:663.15

PEDRO ANDRÉ DE SIQUEIRA SEGUNDO

INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA NA SACARIFICAÇÃO E
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ETANOL DE MILHO

TCC aprovado em 29/09/25 como requisito para a conclusão do curso de Tecnologia em
Produção Sucroalcooleira da Universidade Federal da Paraíba.

BANCA EXAMINADORA:

Solange Maria de Vasconcelos.

Profa. Dra. Solange Maria Vasconcelos - (UEPB – Orientador)

Angela Lucinia U. Vasconcelos

Profa. Dra. Angela Lucinia Urtiga Vasconcelos - (UEPB – Membro interno)

Márcia Helena Pontieri

Profa. Dra. Márcia Helena Pontieri - (UEPB – Membro interno)

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho à minha perseverança na superação de desafios.

Aos meus pais, Lucinéa Soares Mota Neves e José Emanuel Siqueira Neves por sempre acreditarem em mim.

A minha esposa Dr.(a) Ana Cláudia Firmino Alves por estar ao meu lado e sempre me incentivar.

A minha professora e orientadora Dr.(a) Solange Maria de Vasconcelos por todo seu esforço em me conceder um trabalho de muita importância na indústria sucroalcooleira e por toda sua dedicação, profissionalismo e incentivo. Também dedico aos outros professores que foram muito importantes na minha formação acadêmica.

À empresa Prozyn BioSolutions for Life, por viabilizar este estudo, através da doação das enzimas.

A Usina Central Olho D'água por disponibilizar seus equipamentos para colaborar com meus resultados e a seu colaborador e companheiro de sala Edivaldo Alexandre Bezerra da Silva por ser o intermediário para que esse experimento pudesse ser concluído.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da granulometria do milho na produção de etanol, considerando etapas de liquefação, sacarificação e fermentação alcoólica. Para isso, foram utilizadas amostras de milho moído em granulometria peneirada (20 Meshes) e não peneirada, submetidas à adição de 0,32mL da enzima α -amilase em 90°C e 0,32mL da enzima glucoamilase em 60°C, seguidas de fermentação com levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT858L) na temperatura de 30°C à 150 rpm em agitador Shaker durante 24 horas. Os experimentos foram realizados em escala laboratorial, monitorando-se parâmetros como teor de amido, sólidos solúveis (°Brix) e teor alcoólico. Os resultados mostraram que a variação da granulometria não promoveu diferenças significativas na sacarificação e fermentação, uma vez que ambas as amostras apresentaram teores de sólidos solúveis (expressos em °Brix) muito próximos, no processo de sacarificação, assim como os teores alcoólicos (°GL) e produtividades bem próximas com o valor médio entre 1,33 e 1,55 g/L para amostra peneirada e 1,91 e 1,98 g/L para amostra não peneirada. A eficiência média dos processos quanto a produção de etanol em função da massa seca de amido processada, foi calculada ficando entre 43,97 e 47,27%. Nas condições estudadas neste trabalho, o emprego do milho com granulometria padronizada ou com heterogênea não representou fator limitante para a obtenção de etanol de milho, reforçando a relevância do uso de enzimas comerciais e da padronização do processo fermentativo como determinantes para o rendimento.

Palavras-chave: Milho. Etanol. Granulometria. Enzimas. Fermentação alcoólica.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of corn particle size on ethanol production, considering the liquefaction, saccharification, and alcoholic fermentation stages. Ground corn samples with sieved granulometry (20 Mesh) and unsieved granulometry were used, subjected to the addition of 0.32 mL of α -amylase at 90°C and 0.32 mL of glucoamylase at 60°C, followed by fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* (FT858L) at 30°C, 150 rpm, in a shaker incubator for 24 hours. The experiments were carried out on a laboratory scale, monitoring parameters such as starch content, soluble solids (°Brix), and alcohol content. The results showed that particle size variation did not promote significant differences in saccharification or fermentation, since both samples presented very similar soluble solids (°Brix) during saccharification, as well as close alcoholic content (°GL) and productivity, with mean values between 1.33 and 1.55 g/L for the sieved sample and 1.91 and 1.98 g/L for the unsieved sample. The average efficiency of the processes, regarding ethanol production based on processed starch dry mass, ranged from 43.97 to 47.27%. Under the conditions evaluated in this work, the use of standardized or heterogeneous corn particle size was not a limiting factor for ethanol production, reinforcing the importance of commercial enzymes and fermentation process standardization as key determinants for yield.

Keywords: Corn. Ethanol. Particle size. Enzymes. Alcoholic fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia do grão de milho.	18
Figura 2 - Estrutura da amilose.....	19
Figura 3 - Estrutura da amilopectina.....	20
Figura 4 - Fluxograma geral do processo de obtenção de etanol de milho (via úmida).....	22
Figura 5 - Fluxograma geral do processo de obtenção de etanol de milho (via seca).	23
Figura 6 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de liquefação e sacarificação (amostra peneirada 20 Meshes).	38
Figura 7 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de liquefação e sacarificação (amostra não peneirada).	38
Figura 8 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de fermentação (amostra peneirada - 20 Meshes).....	40
Figura 9 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de fermentação (amostra não peneirada).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teor de umidade em triplicata (Amostra peneirada 20 Meshes e não peneirada).....	36
Tabela 2 - Determinação da porcentagem de amido em triplicata (Peneirada 20 Meshes)	37
Tabela 3 - Determinação da porcentagem de amido em triplicata (Não peneirada).....	37
Tabela 4 - Resultados da destilação (Amostra peneirada - 20 Meshes)	41
Tabela 5 - Resultados da destilação (Amostra Sem peneirar)	41
Tabela 6 – Massa e produtividade de etanol, após fermentação do caldo obtido no processo de sacarificação da amostra peneirada (20 Mesh)	42
Tabela 7 - Massa e produtividade de etanol, após fermentação do caldo obtido no processo de sacarificação da amostra não peneirada	43
Tabela 8 – Média de rendimento e de eficiência do processo.	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DDG – Grão secos de destilaria (Dried Distillers Grains).

DDGS – Grãos secos de destilaria com solúveis (Dried Distillers Grains with Soluble).

° GL – Grau Gay Lussac.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
1.2 Objetivos	15
1.2.1 Objetivo geral.....	15
1.1.2 Objetivos específicos	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Etanol	15
2.2 Matérias-primas para a Produção de Etanol	15
2.2.1 Cana-de-açúcar.....	16
2.2.2 Beterraba Açucareira e Trigo	16
2.2.3 Biomassa Lignocelulósica	16
2.2.4 Milho.....	16
2.3 Processo industrial de produção de etanol a partir do milho	20
2.3.1 Preparo do milho	23
2.3.2 Liquefação e sacarificação.....	23
2.3.3 Fermentação.....	25
2.3.4 Destilação	27
2.3.5 Processamento de subprodutos do etanol de milho	27
2.4 Rendimento de etanol a partir do milho	27
2.5 Influência da granulometria	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 Obtenção e preparo da matéria-prima	29
3.2 Liquefação.....	29
3.3 Sacarificação.....	29
3.4 Fermentação	30
3.5 Destilação.....	30
3.6 Metodologias Analíticas.....	30
3.6.1 Determinação da Umidade	30
3.6.2 Determinação do percentual de amido.....	31
3.6.3 Determinação do °Brix.....	33
3.6.4 Determinação do teor alcoólico e da densidade	33
3.6.5 Determinação da produtividade	33
3.6.6 Determinação do rendimento.....	34
3.6.7 Determinação da eficiência.....	34

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Umidade (%)	35
4.2 Teor de Amido (%).....	36
4.3 Liquefação e Sacarificação.....	37
4.4 Fermentação Alcoólica	39
4.5 Destilação.....	40
4.6 Cálculos de produtividade, rendimento e eficiência	41
5. CONCLUSÃO	44
6. REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

O etanol é um biocombustível renovável que tem ganhado destaque crescente no Brasil e no mundo como alternativa aos combustíveis fósseis, contribuindo para a redução dos diversos impactos ambientais causados pelas emissões de gases do efeito estufa oriundos dos combustíveis fósseis (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2024)

O Brasil é o maior produtor de etanol a partir da cana-de-açúcar, porém nos últimos anos vem ocorrendo um crescimento significativo na produção de etanol a partir do milho, principalmente na região Centro-Oeste que possui maior a quantidade de plantações desta cultura, consequentemente possuem mais grãos, permitindo a diversificação na produção industrial deste biocombustível (Silva *et al.*, 2023; Almeida *et al.*, 2024)

O crescimento da produção de etanol de milho é impulsionado por novas implantações de usinas que processam milho durante a entressafra da cana, as denominadas de usinas *Flex*. Outro modelo de usina é denominado de usinas tipo *Full*, voltadas para a produção exclusivamente de etanol de milho. Essas usinas não produzem apenas etanol de milho, a produção desse etanol gera, assim como na produção de etanol de cana, subprodutos denominados de DDG e DDGS que são os grãos secos de destilaria com solúveis e sem solúveis (Lima, 2021; Souza *et al.*, 2022).

Conforme Nova Cana (2025), o aumento esperado na produção de etanol de milho no Nordeste tem grandes chances de mudar todo o mercado de biocombustíveis no Brasil, pois, vários projetos devem injetar bilhões de litros a mais à oferta anual. O avanço do etanol de milho no Nordeste promete mudar a dinâmica do mercado de biocombustíveis no país. Novos projetos na região devem adicionar 1,3 bilhão de litros à oferta anual, hoje sustentada por 2,3 bilhões de litros de etanol de cana-de-açúcar, o que tende a reduzir custos logísticos e ampliar a autossuficiência regional. As estimativas apresentadas fornecem projeções na qual deixam o estado do Maranhão e Bahia como líderes dessa expansão com a construção de novas usinas, além de gerar

competitividade para os subprodutos do milho, os grãos secos de destilaria (DDGS) que são amplamente utilizados como produto de nutrição animal.

O Maranhão, especialmente a cidade de Balsas, destaca-se como um polo estratégico na produção de etanol de milho. Em 2024/2025, o estado registrou uma safra estimada em 2,9 milhões de toneladas de milho, consolidando-se como o principal produtor no Nordeste e na região do Matopiba (Cana Online, 2024)

O Piauí também tem se destacado no setor de biocombustíveis, com pelo menos duas usinas de etanol de milho em fase de implantação. Uma delas, localizada em Baixa Grande do Ribeiro, está em fase de projeto e visa atender à crescente demanda por etanol na região (Movimento Econômico, 2024).

Outro projeto significativo é o da Brasbio Bioenergia, que está investindo R\$ 1,18 bilhão na construção de uma planta com capacidade para processar 1.500 toneladas de milho por dia, produzindo 620 mil litros de etanol e 420 toneladas de DDGS (grãos secos de destilaria com solúveis) diariamente que será destinado à alimentação animal (Jornal Cana, 2025).

Em Alagoas, a Cooperativa Pindorama tem se destacado como pioneira na produção de etanol flexível, utilizando tanto milho quanto cana-de-açúcar como matérias-primas. Com a ampliação de sua destilaria, a cooperativa estima produzir 35 milhões de litros de etanol e 40 mil toneladas de grãos úmidos de destilaria até junho de 2026 (Movimento Econômico, 2025).

De acordo com o Portal do Agronegócio (2025) a produção do etanol de milho na região nordeste está em alta expectativa visto que há vários projetos em operação que se estima um crescimento de oferta em 1,3 bilhão de litros, fazendo aumentar ainda mais a produção desse biocombustível que já é de 2,3 bilhões de litros por ano a partir da cana-de-açúcar, ou seja, a produção no Nordeste saltará para 3,6 bilhões com o crescimento do etanol a partir do milho. Esse avanço permitirá o Nordeste sair da dependência do centro-sul fazendo ampliar o consumo desse biocombustível.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a produção de etanol de milho de acordo com a granulometria do grão (peneirado e não peneirado), utilizando enzimas e levedura comerciais.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a umidade e o teor de amido nas amostras (farelo de milho);
- Realizar a liquefação e sacarificação do farelo de milho, utilizando enzimas alfa-amilase e glucoamilase;
- Realizar a fermentação dos caldos obtidos, utilizando uma linhagem industrial da levedura *Saccharomyces cerevisiae*;
- Determinar a produtividade do etanol em função do tempo de fermentação.
- Calcular o rendimento de etanol em relação à massa seca de amido, inicialmente processada e eficiência do processo;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etanol

O etanol é um biocombustível renovável amplamente utilizado com o objetivo de reduzir o consumo dos combustíveis fósseis que são responsáveis pelo aumento dos gases de efeito estufa (Eckert *et al.*, 2018).

Segundo a Agência Internacional de Energia (2021), o etanol responde por cerca de 60% dos biocombustíveis consumidos no mundo, sendo o milho e a cana-de-açúcar as principais matérias-primas.

2.2 Matérias-primas para a Produção de Etanol

A escolha da matéria-prima é um dos pontos principais que caracterizam a economia na produção e viabilidade técnica na produção do etanol, pois, 60% do custo final do etanol é originado do custo da biomassa (Goldemberg; Lucon, 2007).

Segundo a Agência Internacional de Energia (2021), as matérias-primas mais utilizadas mundialmente são cana-de-açúcar, milho, beterraba, trigo, sorgo e mandioca, além de biomassa lignocelulósica.

2.2.1 Cana-de-açúcar

De acordo com Macedo *et al.*, (2008), o Brasil se destaca mundialmente pela produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. Essa matéria-prima possui alta concentração de sacarose, o que permite uma conversão direta para etanol após a fermentação, sem necessidade de hidrólise enzimática.

2.2.2 Beterraba Açucareira e Trigo

Na Europa, a beterraba açucareira é amplamente utilizada para a produção de etanol. Ela possui elevada concentração de açúcares, semelhante à cana-de-açúcar, embora com menor rendimento por hectare (Iea, 2021). O trigo também é uma matéria-prima importante em países de clima temperado, servindo como fonte de amido para fermentação (Souza; Gomes, 2022).

2.2.3 Biomassa Lignocelulósica

O chamado etanol de segunda geração (2G) é produzido a partir de resíduos agrícolas, como palha de cana, bagaço, cascas de arroz, palha de milho e resíduos florestais. Essa rota tem o potencial de aumentar significativamente a produção sem demandar expansão de áreas agrícolas (Carvalho *et al.*, 2020).

2.2.4 Milho

O milho é a principal fonte de etanol nos Estados Unidos, responsável pela maioria da sua produção nacional com mais de 90%. A presença de amido exige o aumento de processos até chegar à etapa de fermentação, processos esses chamados de liquefação e sacarificação. O milho apresenta maior custo energético de conversão em comparação à cana, mas sua abundância nos EUA

e políticas de incentivo tornam o processo economicamente mais viável (Eckert *et al.*, 2018; Goldemberg, 2008)

2.2.4.1 Estrutura anatômica do grão de milho

O milho (*Zea mays L.*) é uma planta monocotiledônea pertencente à família das gramíneas (Poaceae), cujo principal interesse industrial está no grão, classificado como cariopse. Este grão é constituído por quatro estruturas principais: endosperma, gérmem, pericarpo e ponta (Watson *et al.*, 2003).

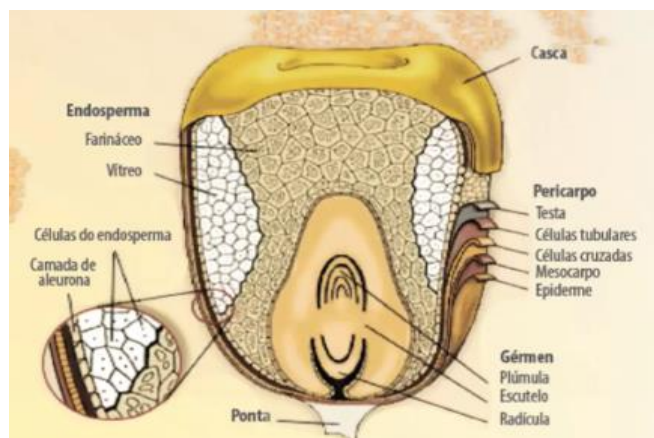
O endosperma corresponde a aproximadamente 83% do peso seco do grão e é formado, majoritariamente, por amido (cerca de 88%), armazenado em grânulos, além de proteínas de reserva conhecidas como zeínas. Estruturalmente, o endosperma pode ser classificado em dois tipos: farináceo e vítreo, os quais diferem pela disposição dos grânulos de amido e pela matriz proteica (Silva *et al.*, 2019).

O gérmem, que constitui em torno de 11% do grão, concentra a maior parte dos lipídios, vitaminas, minerais e açúcares, além de proteínas essenciais, sendo a porção responsável pelo desenvolvimento embrionário da planta (Watson, 2003).

O chamado pericarpo do milho faz constituir a camada de fora do grão e é composto na sua maior parte por fibras. Na produção do etanol, ele é importante no processo de moagem, permitindo a liberação do amido, o principal substrato utilizado para obtenção do biocombustível (Silva *et al.*, 2020).

Por fim, a ponta do grão que corresponde à sua menor estrutura física, fazendo estabelecer uma ligação com o sabugo. Essa parte é formada essencialmente por um tecido lignocelulósico e, apesar de representar baixa proporção, desempenha função estrutural relevante (Silva *et al.*, 2019).

Figura 1 - Anatomia do grão de milho.



Fonte: Paes, 2006, *apud* Ribeiro, 2014.

Dessa forma, compreender a composição anatômica do milho é fundamental para avaliar seu aproveitamento em diferentes processos industriais, como a produção de amido, óleo, ração animal e biocombustíveis, em especial o etanol.

2.2.4.2 Amido

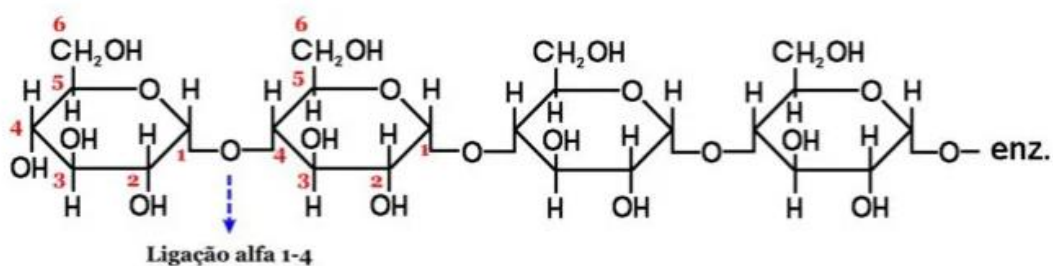
Segundo Smith (2019), o amido é um polissacarídeo constituído principalmente por amilose e amilopectina, que diferem em sua estrutura molecular. A amilose apresenta uma cadeia linear de glicose com ligações α -(1,4), enquanto a amilopectina é altamente ramificada, possuindo ligações α -(1,4) na cadeia principal e α -(1,6) nos pontos de ramificação. Essa composição faz do amido um importante reserva energética em plantas e uma matéria-prima de ampla utilização industrial.

De acordo com Lima (2019), o amido possui fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$ no qual n é um número variável.

Amilose

Ferreira e Almeida (2022) descrevem que a amilose é um polímero linear do amido formado por unidades de α -D-glicopiranosil que são ligadas por ligações (1 $\rightarrow$ 4) e poucas ramificações (1 $\rightarrow$ 6). Possui um grau de polimerização que pode variar de 600 até 18.000 e com peso molecular médio entre 10^5 e 10^6 Dalton (Da) de acordo com o grau de maturação ou da sua fonte botânica. A amilose representa 20 a 30% do total, podendo chegar até 70% em amidos que são mais ricos em amilose. Ainda não existe uma função totalmente conhecida, porém acredita-se que tenha contribuído para o chamado empacotamento das moléculas de glucano que fica na amilopectina.

Figura 2 - Estrutura da amilose.



Fonte: Batista, [s.d.]. Amido. Toda Matéria.

Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/amido/>. Acesso em: 15 set. 2025.

Amilopectina

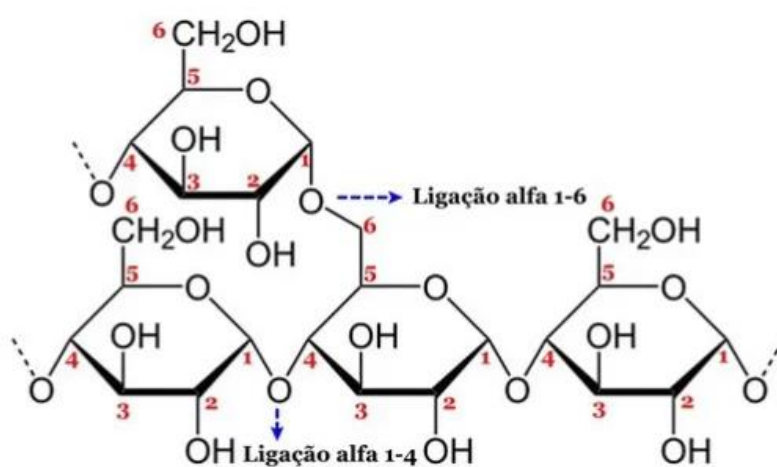
É um polissacarídeo que possui altos números de ramificações que são formadas por cadeias de glicose ligadas por α -D-(1 $\rightarrow$ 4) e ramificações α -D-(1 $\rightarrow$ 6) que chegam a representar 4 a 5% do total das ligações. Suas várias ramificações podem ser curtas, médias ou até mesmo longas o que torna a molécula com elevado peso molecular entre 50 e 500×10^6 Dalton (Da). Esse polissacarídeo constitui a maior parte do amido nativo com cerca de 70 a 75% e quase a totalidade dos amidos chamados de cerosos que constituem 98 a 99% (Ferreira; Almeida, 2022)

De acordo com Sales *et al.*, (2013) o amido nativo é um tipo de amido que é extraído própria da planta para diferenciá-lo do amido modificado. Já o amido

ceroso é encontrado em uma planta que sofre autofecundação e destinge-se por ter uma quantidade máxima de 5% de amilose e o restante de amilopectina.

A amilopectina difere da amilose principalmente por sua estrutura ramificada, composta por unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e α -1,6, formando uma rede complexa. Essa configuração confere ao amido maior solubilidade em água e maior viscosidade quando gelatinizado, características essenciais em processos industriais e alimentícios (Santos, 2009).

Figura 3 – Estrutura da amilopectina.



Fonte: Batista, [s.d.]. Amido. Toda Matéria.

Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/amido/>. Acesso em: 15 set. 2025.

2.3 Processo industrial de produção de etanol a partir do milho

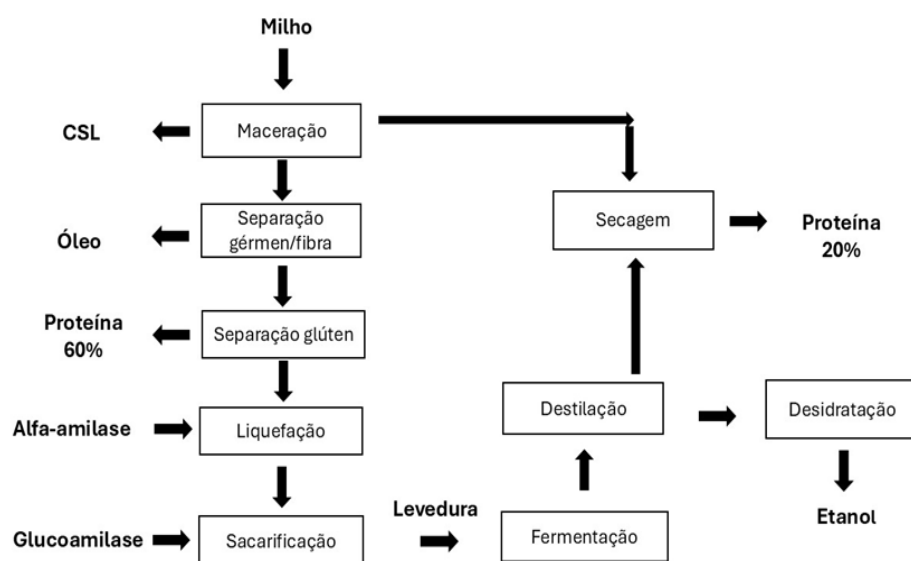
A produção industrial de etanol a partir do milho envolve diversas etapas, desde o preparo do grão até o processamento dos subprodutos, garantindo eficiência e sustentabilidade do processo (Lynd *et al.*, 2008; Embrapa, 2025).

O processo pode ser adaptado para usinas especializadas em milho ou usinas Flex, que processam tanto cana-de-açúcar quanto milho, aproveitando a entressafra da cana para manter a produção de etanol (Embrapa, 2025). A eficiência energética, o reaproveitamento de coprodutos e o controle rigoroso das etapas contribuem para a produtividade e sustentabilidade da produção de etanol (Carmo *et al.*, 2016).

De forma geral, o etanol de milho pode ser produzido através de dois processos principais: por moagem úmida e por moagem seca.

Moagem úmida: Os grãos passam por um processo de maceração em uma solução de 0,1N de ácido sulfúrico ou ácido clorídrico por um tempo de 24 a 48 horas para que o endosperma amoleça, facilitando a separação dos constituintes do grão. Na próxima etapa o milho macerado passa por moinho em moagem úmida para sofrer a chamada degerminação. Após essa etapa os germes são separados e o endosperma moído é encaminhado para uma nova moagem úmida e à centrifugação com presença de água limpa com função de separar as cascas. Esse material centrifugado é submetido a uma nova centrifugação para eliminar o glúten passando a ser um concentrado centrifugo com o objetivo de obter o leite de amido que será direcionado à um cozedor a jato até a uma temperatura de 90°C onde será adicionado a enzima α -amilase no qual passará a agir aproximadamente 60 minutos no reator. Após essa etapa da adição enzimática da α -amilase o material é resfriado até 60°C para que possa ser adicionada a enzima glucoamilase que vai concluir o processo de conversão do amido em glicose em aproximadamente 40 horas. Por fim, esse material sacarificado é resfriado até a temperatura adequada para ação das leveduras que é de 30°C a 32°C onde o bioprocessamento para a produção de etanol terá início. Neste processo da produção de álcool de milho, aproveitam-se subprodutos como: farelo de cascas para ração animal, glúten para xaropes, óleo dos germes (Lima, 2019). Processo representado na figura 4.

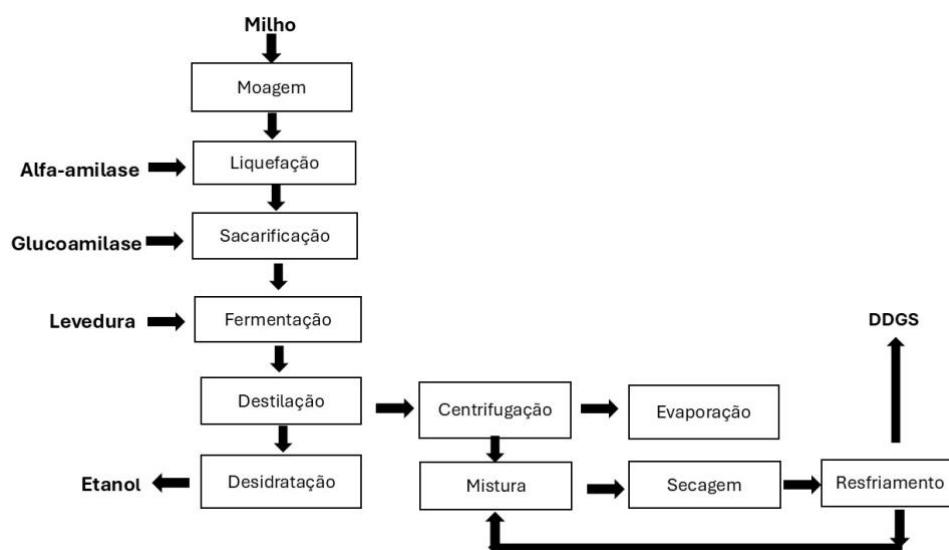
Figura 4 - Fluxograma geral do processo de obtenção de etanol de milho (moagem úmida).



Fonte: Autor, 2025 (Adaptado de BNDES, 2008).

Moagem seca: Neste método os grãos são moídos em moinho de martelo com o objetivo de obter um fubá integral que será misturado com água para formar uma pasta fluida que terá a adição das enzimas para converter o amido em glicose. O pH nessa etapa é ajustado a 5,5 a 5,7 e a massa obtida é aquecida a aproximadamente 90°C para liquefazer e reduzir a ação microbiana, contaminantes e bactérias principalmente. Em seguida essa temperatura é reduzida a cerca de 60°C e adicionado a enzima para realizar e concluir o processo de sacarificação. Realizada a sacarificação, o meio passa por resfriamento a 32°C a 35°C e é transferido para fermentadores e adicionado as leveduras onde terá início a conversão dos açúcares em etanol, etapa conduzida sob controle por um tempo de aproximadamente 40 a 50 horas. O vinho (mosto fermentado) passa por prensas ou peneiras finas para remover impurezas sólidas que poderiam causar entupimentos e reduzir a eficiência dos equipamentos. Em seguida, é destilado para obtenção de etanol, que pode ser retificado ou anidro (Lima, 2019). Processo representado na figura 5.

Figura 5 - Fluxograma geral do processo de obtenção de etanol de milho (moagem seca).



Fonte: Autor, 2025 (Adaptado de BNDES, 2008).

2.3.1 Preparo do milho

Os grãos podem ser recolhidos ou armazenados e passam por moagem, que pode ser realizada por via seca ou via úmida. Na moagem seca, o milho é limpo, seco, degerminado (separando o germe) e o endosperma é triturado, facilitando a extração do amido (Lynd *et al.*, 2008).

2.3.2 Liquefação e sacarificação

De acordo com Eckert *et al.*, (2018), o processo para produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas como o milho exige etapas adicionais quando comparado à cana-de-açúcar, visto que o amido não é diretamente fermentescível, sendo necessário submetê-lo a processos de liquefação e sacarificação para convertê-lo em açúcares simples.

O amido passa pelo processo liquefação por aquecimento em água acidulada e tratado com enzimas, principalmente α -amilase e glucoamilase, que são responsáveis pela quebra do amido em açúcares fermentescíveis, especialmente glicose (Carmo *et al.*, 2016).

A eficiência das etapas de liquefação e sacarificação é determinante para o rendimento alcoólico final. Diversos fatores interferem na taxa de conversão do

amido em glicose, incluindo a dosagem enzimática, a granulometria do milho, o pH e a temperatura de reação (Souza *et al.*, 2022).

2.3.2.1 Liquefação

A liquefação corresponde ao aquecimento do amido em presença de água acidulada, promovendo a ruptura dos grânulos e resultando em uma pasta viscosa. Em seguida, adiciona-se a enzima α -amilase, que atua quebrando as cadeias de polissacarídeos em fragmentos menores denominados dextrinas. Esse processo tem como objetivo reduzir a viscosidade da mistura e preparar a solução para a etapa seguinte (Kumar, 2018).

2.3.2.2 Sacarificação

De acordo com Lima (2019) a sacarificação é o primeiro passo para o bioprocessamento em materiais amiláceos onde nesse processo uma molécula de cadeia complexa de um carboidrato é convertida em açúcares simples por enzima, acompanhada por aquecimento.

Na etapa de sacarificação, ocorre a hidrólise das dextrinas obtidas na etapa anterior, a liquefação. Essa etapa é conduzida principalmente pela enzima glucoamilase, que é responsável por quebrar as ligações α -1,4 e α -1,6, liberando moléculas de glicose. Essa glicose é a principal fonte de carbono que será utilizada pelas leveduras na etapa de fermentação alcoólica (Chen *et al.*, 2021).

2.3.2.3 Enzimas α -amilase e Glucoamilase

A produção do bioetanol a partir de vegetais que contém amido requer etapas básicas de liquefação e sacarificação que após essas duas etapas convencionais tem seu mosto sacarificado levado para a fermentação com uso de leveduras. Devido a sua complexibilidade molecular, o amido necessita de várias enzimas hidrolíticas para que sua conversão em açúcares simples seja realizada (Pervez *et al.*, 2014).

A α -amilase é responsável por catalisar a quebra inicial das moléculas de amido durante a liquefação. Trata-se de uma endoenzima que atua sobre as ligações glicosídicas α -1,4, presentes nas cadeias lineares de amilose e nas ramificações da amilopectina, resultando na formação de oligossacarídeos e dextrinas. Essa etapa é fundamental para reduzir a viscosidade da solução amilácea, permitindo maior eficiência na etapa subsequente de hidrólise (Kumar, 2018).

De acordo com Shigechi *et al.*, (2006) e Yu *et al.*, (2019), a glucoamilase desempenha papel essencial na produção de etanol a partir do milho, catalisando a quebra das ligações glicosídicas α -1,4 e α -1,6 do amido e oligossacarídeos, liberando glicose (β -D-glicose), que é o substrato principal para a fermentação pelas leveduras. Após a ação da α -amilase na etapa de liquefação, que fragmenta o amido em dextrinas e oligossacarídeos menores, a glucoamilase atua na sacarificação dessas moléculas em glicose simples.

O uso combinado dessas enzimas permite a conversão quase completa do amido em glicose, garantindo elevados rendimentos na fermentação. A eficiência desse processo, entretanto, depende de fatores como pH, temperatura e concentração enzimática. Em geral, a α -amilase atua de forma mais eficiente em temperaturas elevadas (80 – 90 °C), enquanto a glucoamilase apresenta melhor desempenho em temperaturas moderadas (50–60 °C) e pH ácido (entre 4,0 e 4,5) (Souza *et al.*, 2022).

Além das aplicações tradicionais, estudos recentes têm investigado o uso de enzimas geneticamente modificadas e de complexos multienzimáticos capazes de atuar de forma mais estável em diferentes condições de processo. Essas inovações buscam reduzir os custos de produção, diminuir a necessidade de etapas separadas de liquefação e sacarificação, e aumentar a competitividade do etanol de milho em relação ao etanol de cana-de-açúcar (Carvalho *et al.*, 2020).

2.3.3 Fermentação

Os açúcares solúveis são fermentados por leveduras, geralmente *Saccharomyces cerevisiae*, que convertem os açúcares em etanol e dióxido de

carbono, em fermentadores com controle de temperatura e pH (Lynd *et al.*, 2008). A eficiência do processo de fermentação alcoólica é influenciada por diversos fatores, dentre os quais estão os agentes de fermentação, concentração de inóculo, concentração de açúcares, temperatura, exigências nutricionais, contaminação bacteriana (Lima, 2019).

Agentes de fermentação: o desempenho do processo fermentativo depende do tipo de levedura e quando se refere à fermentação alcoólica, as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* têm se destacado (Lima, 2019). As leveduras industriais devem apresentar características como alta velocidade de fermentação, tolerância ao etanol, rendimento elevado e estabilidade genética (Lima; Felipe, 2020).

Concentração de inóculo: para que o processo seja eficiente, é necessário inocular o mosto ou substrato (material açucarado a ser fermentado) com uma quantidade adequada de leveduras, denominada inóculo, de modo a garantir a rápida conversão dos açúcares e minimizar riscos de contaminação (Basso; Rocha, 2011).

A concentração de leveduras tem influência direta no rendimento ou na produtividade do etanol. Teoricamente, um maior número de células acelera a produção, diminui o efeito dos contaminantes e a reprodução celular. Por outro lado, maior número de células também leva a um maior consumo de açúcares para manter a vitalidade das células (Lima, 2019).

Concentração de açúcares: o aumento da concentração de açúcares leva a um aumento do rendimento de etanol e, até certo ponto, da velocidade do processo, menor multiplicação das leveduras e de formação de glicerol. Entretanto, há um limite, pois, um aumento muito acentuado nessa concentração pode provocar um estresse osmótico na levedura. Dessa forma, dependendo do tipo de matéria-prima há uma faixa ideal de concentração. Nas destilarias brasileiras, as concentrações de açúcares, são comumente expressas em graus Brix. Quando o mosto é composto por melaço, a recomendação é trabalhar com médias de 16 °Brix a 18 °Brix. Para o caldo de cana-de-açúcar a recomendação é que se tenha uma concentração entre 15 e 18 °Brix (Lima, 2019).

Temperatura: a temperatura considerada ótima para a produção de etanol varia entre 26 °C e 35 °C, com média de 30 °C. Algumas destilarias podem alcançar temperaturas mais elevadas de até 38 °C. Importante destacar que temperaturas muito elevadas podem favorecer a contaminação bacteriana, além de deixar a levedura mais sensível à toxicidade pelo etanol (Lima, 2019).

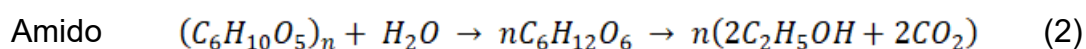
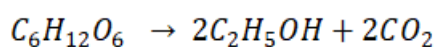
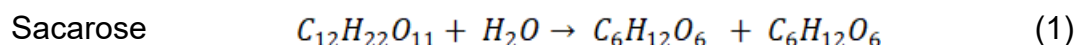
Exigências nutricionais: Os nutrientes essenciais para o preparo do mosto incluem fontes de carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio e elementos-traço, como manganês e zinco. A levedura *Saccharomyces* utiliza o nitrogênio nas formas amoniacal, amídica ou amínica. O fósforo é absorvido na forma de íon $H_2PO_4^-$ (Lima; Felipe, 2020; Amorim *et al.*, 2011; Lima, 2019).

Contaminação bacteriana: A contaminação bacteriana representa um dos principais desafios da fermentação alcoólica. Microrganismos como bactérias lácticas podem reduzir o rendimento e comprometer a qualidade do etanol. Para reduzir este risco, recomenda-se o uso de matéria-prima de qualidade, correto preparo do mosto, controle de pH, sanitização adequada e, em alguns casos, o uso de antibióticos (Lima; Felipe, 2020).

2.3.1.1 Estequiometria do processo fermentativo

A sacarose e o amido possuem rendimentos práticos e teóricos diferentes, ou seja, possuem uma diferente relação estequiométrica no qual o amido possui um rendimento maior quando comparado à sacarose (Reguly, 1998).

As reações 1 e 2 referem-se à hidrólise da sacarose e do amido, em glicose, respectivamente. Na etapa seguinte, glicose é convertida a etanol e dióxido de carbono, por via fermentativa (Reguly, 1998; Lima, 2019).



Assim, com base na estequiometria, a cada 100 g de amido processado, o rendimento teórico é de 56,79 g de etanol a 100%, enquanto a cada 100 g de sacarose, o rendimento de etanol é igual a 53,80 g.

2.3.4 Destilação

O etanol é separado do mosto fermentado, obtendo-se inicialmente uma mistura azeotrópica com cerca de 96% v/v de etanol, que pode ser desidratada para atingir pureza comercial de 99,5% v/v.(Embrapa, 2025).

2.3.5 Processamento de subprodutos do etanol de milho

Os sólidos residuais da fermentação, como os grãos de destilaria secos (DDGs), são utilizados como suplemento proteico na alimentação animal, enquanto o germe extraído pode ser processado para obtenção de óleo de milho (Lynd, 2008).

2.4 Rendimento de etanol a partir do milho

De acordo com Lynd, (2008) e Carmo *et al.*, (2016), o rendimento teórico de etanol produzido por hectare de milho depende tanto da produtividade da cultura quanto da eficiência da conversão do amido em etanol. Considerando uma produtividade média de 4.800 kg de milho por hectare, com uma conversão média de 415 litros de etanol por tonelada de grãos, estima-se um rendimento de aproximadamente 2.000 litros de etanol por hectare.

Segundo dados de outras fontes, a produção de etanol por tonelada de milho pode variar entre 370 e 460 litros, o que resulta em um rendimento teórico por hectare em torno de 2.500 litros, dependendo das condições de produtividade do milharal (Lynd *et al.*, 2008; DOE, 2019).

Em comparação, o rendimento de etanol obtido a partir da cana-de-açúcar é significativamente superior, podendo ultrapassar 6.000 litros por hectare (Goldemberg, 2008).

O rendimento final do etanol a partir do milho também é influenciado pela variedade cultivada, pelas técnicas de manejo agrícola e pelas condições do processo industrial de fermentação e destilação, demonstrando que fatores biológicos e tecnológicos são determinantes para a eficiência da produção (Lynd *et al.*, 2008).

2.5 Influência da granulometria

De acordo com Moya *et al.*, (2017) quanto maior a granulometria do grão, maior será a sobra de amido, pois, um grão muito grande forma uma barreira física no grão que impede a ação das enzimas e consequentemente atua de forma negativa na hidrólise resultando significativamente no rendimento final do processo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram desenvolvidos nos Laboratórios de Tecnologia Sucroalcooleira, de Processos e Operações Unitárias, de Físico-Química e de Microbiologia do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR) da UFPB.

O desenvolvimento experimental deste trabalho foi realizado em escala laboratorial contendo seis etapas principais: preparo da matéria-prima, liquefação, sacarificação, fermentação, destilação em micro destilador, determinações analíticas. Os ensaios experimentais referentes à liquefação, sacarificação e fermentação foram realizados em duplicata.

3.1 Obtenção e preparo da matéria-prima

O milho utilizado foi adquirido no mercado público do bairro de Mangabeira localizado no município de João Pessoa - PB. Em seguida, foi submetido ao processo de trituração em farrageira. O farelo de milho obtido foi dividido em duas frações, uma sem ser peneirada, isto é, mantendo-se uma granulometria heterogênea, e outra fração que passou por um conjunto de peneiras, no Laboratório de Processos e Operações Unitárias, sendo

selecionada a granulometria de 20 Meshes, na qual foi escolhida por proporcionar uma quantidade considerável de matéria-prima após passar pelas peneiras vibratórias e oferecendo uma granulometria intermediária.

3.2 Liquefação

A liquefação do amido presente nas amostras, tanto da amostra sem peneirar (granulometria heterogênea) quanto da amostra com granulometria de 20 Meshes, foi realizada com a utilização da enzima α -amilase (LiqueMax® Super), gentilmente cedida pela Prozyn Biosolutions for Life. A solução foi preparada com 32% de sólidos, utilizando 57,6 g (base úmida) de amostra de milho em 180 mL de água acidulada a pH 5,0, ajustado com solução de H_2SO_4 0,01 M. O processo foi conduzido em banho-maria a 90 °C por 2 horas (LIMA, 2019), com adição de 0,32 mL da preparação enzimática, conforme adaptação do protocolo de Murthy *et al.* (2009).

3.3 Sacarificação

Após a etapa de liquefação, a solução foi resfriada até 60 °C e adicionaram-se 0,32 mL da enzima glucoamilase (Max® GA), também fornecida pela Prozyn Biosolutions for Life. O processo foi conduzido entre 48 e 60 horas, com monitoramento periódico do teor de sólidos solúveis (°Brix), de acordo com metodologia adaptada de Murthy *et al.*, (2009).

3.4 Fermentação

Após a etapa de sacarificação, a pasta obtida foi resfriada até temperatura ambiente e filtrada em kitassato com papel filtro de diâmetro 12,5cm e gramatura 80g/m². Em seguida, o teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado em refratômetro digital AKSO, a fim de caracterizar o mosto a ser fermentado.

A linhagem de levedura utilizada no processo de fermentação foi a *Saccharomyces cerevisiae* – FT858L (LNF – Latino Americana). A levedura encontrava-se seca (liofilizada), sendo preparada antes de ser inoculada no mosto. Este preparo (ativação) foi denominado de pré-inóculo, sendo preparados 15mL, na seguinte composição: glicose - 20 g/L; extrato de levedura - 5 g/L; -

peptona - 3 g/L. O pré-inóculo foi preparado com a adição de 1,5 g da levedura e mantido na temperatura de 30 °C, sob agitação a 150 rpm em incubadora Shaker (LUCA-223), por 24 horas.

Após o período de ativação, o inóculo foi adicionado ao mosto, que foi previamente diluído a 16 °Brix. As fermentações ocorreram em frascos de Erlenmeyer de 25 mL, a 30 °C, 150 rpm incubadora Shaker (LUCA-223). O acompanhamento da fermentação foi realizado por meio do monitoramento periódico da redução do teor de sólidos solúveis (°Brix).

3.5 Destilação

A destilação do mosto fermentado (vinho obtido) foi realizada na Usina Central Olho D'água, em microdestilador de álcool (TECNAL - TE-012).

3.6 Metodologias Analíticas

3.6.1 Determinação da Umidade

Antes do processamento, as amostras de milho já trituradas (peneirada 20 Meshes e não peneirada) foram submetidas à análise de umidade. A umidade foi determinada na temperatura de 105 °C, utilizando a metodologia adaptada de Caldas (2012). Para isso, cápsulas de alumínio foram previamente secas em estufa por 3 horas, resfriadas em dessecador e pesadas. Em seguida, aproximadamente 5,0 g de milho triturado foram adicionados à cápsula, obtendo-se a massa inicial úmida. As amostras foram então mantidas em estufa a 105 °C por 3 horas, resfriadas em dessecador e pesadas novamente para obtenção da massa seca.

O teor de amido, em cada amostra, foi calculado através da Equação 1:

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{(P_{cf} - P_{cs})}{(P_{cf} - P_c)} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

P_{cf} = Peso do cadinho + amostra fresca (g)

Pcs = peso do cadinho + amostra seca (g)

Pc = peso do cadinho vazio (g)

3.6.2 Determinação do percentual de amido

Para a determinação do amido foi utilizado o método titulométrico (método Fehling) adaptado do Instituto Adolfo Lutz. As análises foram realizadas em ambas as amostras trituradas de milho (não peneirada - amostra A e peneirada 20 Meshes - amostra B), pesando aproximadamente 5 g cada.

O procedimento experimental está listado abaixo.

- Colocou-se um erlenmeyer de 250 mL em uma balança analítica, para pesar 5 g de amostra de milho triturado.
- Em seguida, foram adicionados 50 mL de água destilada ao erlenmeyer contendo a amostra para que fosse completamente dissolvida.
- Sob capela de exaustão, foram adicionados 5 mL de ácido clorídrico concentrado à solução contida no erlenmeyer.
- O erlenmeyer foi levado para banho-maria a 100 °C por 1 h e 30 min.
- Após esfriar, adicionou-se hidróxido de sódio 40–50% gota a gota, controlando o pH até atingir 6–8.
- A solução foi transferida para um balão volumétrico de 250mL, sem completar o volume.
- Com uma pipeta, foram adicionados 5 mL de ferrocianeto de potássio a 15% e 5mL de acetato de zinco a 30% ao balão volumétrico. Agitou-se bem e o volume foi completado até a marca com água destilada.
- Esperou-se a sedimentação por aproximadamente 15 minutos.
- Em seguida, foi realizada filtração à vácuo com papel filtro qualitativo de 80g/m² e diâmetro de 12,5cm em um funil de Büchner, acoplado ao kitassato e conectado à bomba a vácuo. A solução foi obtida, recebendo o filtrado no kitassato, e transferida para um béquer.
- O filtrado foi transferido para uma bureta.

- Em um balão de fundo chato, foram adicionados 5mL da solução de Fehling A e 5mL da solução de Fehling B, acrescentado de 40 mL de água destilada e cacos de porcelana.
- O balão foi aquecido em chapa aquecedora até a ebulição.
- Em seguida, realizou-se a titulação da amostra, gotejando da bureta, até o início do descoramento da solução. Adicionou-se 1 gota de azul de metileno a 1% e deu-se continuidade à titulação até o descoramento completo do indicador e formação do precipitado vermelho-tijolo. Com isso, foi anotado o volume gasto ($V_{\text{titulação}}$) para a obtenção do resultado do teor de amido presente na amostra.

O teor de amido, em cada amostra, foi calculado através da Equação 2:

$$\% \text{ Amido} = \frac{\left(\frac{\text{Fator de Correção}}{2} \times \text{Volume do Balão} \right)}{\text{Valor gasto na titulação} \times \text{Peso da amostra}} \quad (2)$$

A amostra A (não peneirada) apresentou pH 6,89 e a amostra B (peneirada) pH 6,02. Para a quantificação do amido, utilizou-se a titulação com solução de Fehling, cujo fator de correção foi de 0,0551. O volume gasto na titulação foi de 2mL, permitindo determinar o teor de açúcares redutores presentes, a partir dos quais foi possível calcular o teor de amido em cada amostra.

3.6.3 Determinação do °Brix

Os processos de sacarificação e de fermentação foram monitorados através da determinação da percentagem de sólidos dissolvidos em solução, expressos em °Brix. Para isto, durante os processos foram retiradas amostras, cerca de 1mL, colocadas em tubos tipo Falcon e em seguida, centrifugadas em centrífuga de bancada (NOVA/Ni-1811) com uma rotação de 4000 rpm/5 min. Após a centrifugação, foram colocadas algumas gotas do sobrenadante no refratômetro digital de bancada AKSO e anotou-se o valor do °Brix.

3.6.4 Determinação do teor alcoólico e da densidade

A destilação do mosto fermentado (vinho obtido) foi coletada uma amostra para a leitura do teor alcoólico (°GL) e da densidade, realizada em um medidor de densidade digital (DMA 1001 - Anton Paar).

A massa de etanol obtida foi determinada a partir da Equação 3 (Cardoso *et al.*, 2020), dada por:

$$m = \frac{t * V * d}{100} \quad (3)$$

Onde:

m = Massa de etanol (g)

t = Teor alcoólico (% - °GL)

V = Volume de vinho destilado (mL)

d = Densidade do destilado (g/mL)

3.6.5 Determinação da produtividade

A determinação da produtividade obtida foi calculada a partir da concentração final de etanol de acordo com o tempo de fermentação. Essa análise foi determinada a partir da equação 4.

$$Produtividade = \frac{P - P_0}{t} \quad (4)$$

Onde:

P = concentração final do produto (g/L)

P₀ = Concentração inicial do produto (g/L)

t = Tempo do processo (h)

3.6.6 Determinação do rendimento

O rendimento partiu da massa seca (g) de amido inicialmente processado dividido pela média da massa (g) de etanol de etanol obtido. O rendimento foi calculado pela equação 5.

$$\text{Rendimento real } (Y_{p/s}) = \frac{\text{Massa de etanol}}{\text{Massa seca de amido}} \quad (5)$$

3.6.7 Determinação da eficiência

A eficiência do processo partiu do rendimento do produto/substrato em com relação ao rendimento teórico. O rendimento foi obtido pela equação 6.

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\left(\frac{Y_p}{S}\right)_{Real}}{\left(\frac{Y_p}{S}\right)_{Teórico}} * 100 \quad (6)$$

Onde:

$Y_{p/s}$ = Rendimento de produto em relação ao substrato (amido)

$(Y_{p/s})_{teórico}$ = Rendimento estequiométrico - 56,79 g_{etanol}/100 g_{amido}

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Umidade (%)

Os resultados referentes aos percentuais de umidade, incluindo as médias e desvios padrões estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Teor de umidade em triplicata (Amostra peneirada 20 Meshes e não peneirada)

Repetição	Peneirada 20 Meshes	Não Peneirada
1	12,60	12,10
2	12,80	13,00
3	13,00	12,60
Média	12,80	12,57
Desvio Padrão	0,13	0,31

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

Em relação ao grão de milho, a literatura relata que o teor de umidade fica entre 9 e 16%, com uma média de 11,70 % (Lima, 2019).

Eckert (2016), avaliou a umidade de diferentes híbridos de grãos de milho obtidos de dois locais distintos. Os resultados evidenciaram teores máximos de umidade de 29% a 34%.

As amostras moídas utilizadas no presente trabalho, apresentaram umidades médias próximas às indicadas por Lima (2019). Vale ressaltar que o milho obtido no comércio local não passou por qualquer processo de secagem nos laboratórios.

Com base na média de umidade determinada para ambas as amostras, foi possível determinar a massa em base seca que foi inicialmente processada, sendo neste caso de 50,2 g para amostra peneirada e 50,4 g para a amostra não peneirada.

4.2 Teor de Amido (%)

Os resultados referentes aos percentuais de amido estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Determinação da porcentagem de amido em triplicata (Peneirada 20 Meshes)

Repetição	Peso (g)	Volume gasto (mL)	% Amido
1	5,0204	2,0	68,59
2	5,0204	2,0	68,59
3	5,0204	2,0	68,59

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

Tabela 3 - Determinação da porcentagem de amido em triplicata (Não peneirada)

Repetição	Peso (g)	Volume gasto (mL)	% Amido
1	5,0109	2,0	68,72
2	5,0109	2,0	68,72
3	5,0109	2,0	68,72

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

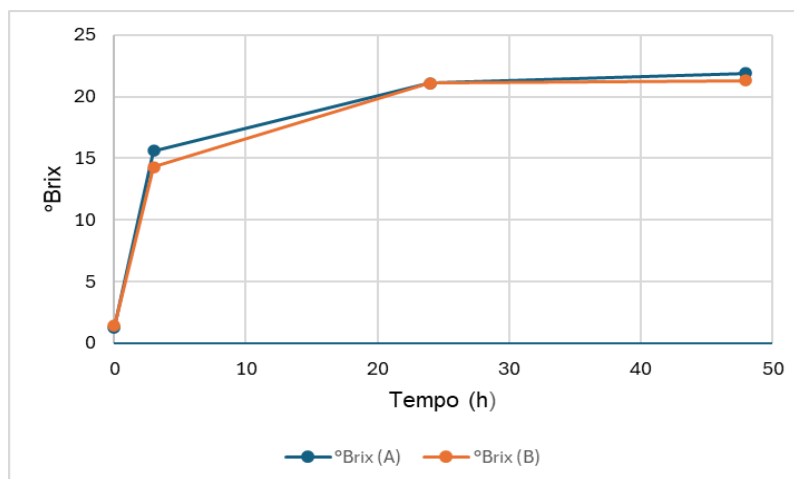
Em relação ao teor de amido, observa-se que praticamente não houve diferença entre a farinha de milho peneirada (20 Meshes) e não peneirada. Estes valores se aproximam dos teores de amido determinados no estudo realizado por Eckert (2016), em diferentes híbridos de grão de milho, cujos resultados variaram de 60,77 % a 69,04%.

Considerada a massa seca de milho inicialmente processada, com valores apresentados no item 4.1 e sabendo-se o percentual médio de amido nas amostras, foi possível determinar a massa seca de amido inicialmente submetida aos processos de liquefação e sacarificação, sendo os seguintes: 34,43 g de amido seco (amostra peneirada) e 34,63 g de amido seco (amostra não peneirada).

4.3 Liquefação e Sacarificação

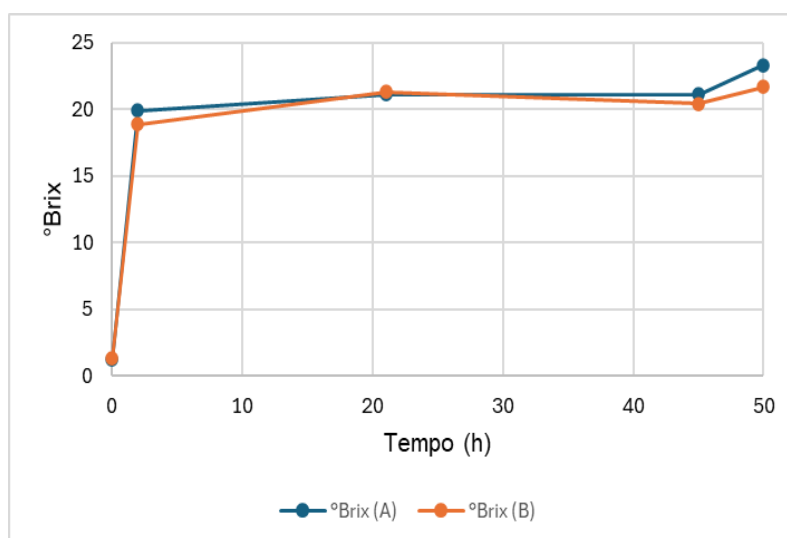
Os resultados referentes à etapa de liquefação e sacarificação, obtidos em função da evolução do teor de sólidos dissolvidos, expressos em °Brix em função do tempo, estão apresentados nas figuras 6 e 7.

Figura 6 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de liquefação e sacarificação (amostra peneirada 20 Meshes).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Figura 7 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de liquefação e sacarificação (amostra não peneirada).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Através das Figuras 6 e 7, é possível observar que em ambos os casos, as duplicatas apresentaram o mesmo perfil de concentração de açúcares, expressa em °Brix no qual os resultados obtidos de A e B são dos processos de liquefação e sacarificação respectivamente. Os resultados obtidos nessa etapa foram positivos, visto que com poucas horas da adição das enzimas foi possível obter um aumento significativo do °Brix, o que se concretizou ainda mais com o passar do tempo da sacarificação, etapa esta que forneceu um Brix superior a 20° Brix e que posteriormente foi diluído para fornecer a levedura condições adequadas para a fermentação.

A diferença entre as granulometrias não apresentou uma diferença significativa em relação ao teor de Brix obtido ao final da sacarificação, portanto, é possível afirmar, indicando que neste experimento a granulometria não teve influência sobre o processo.

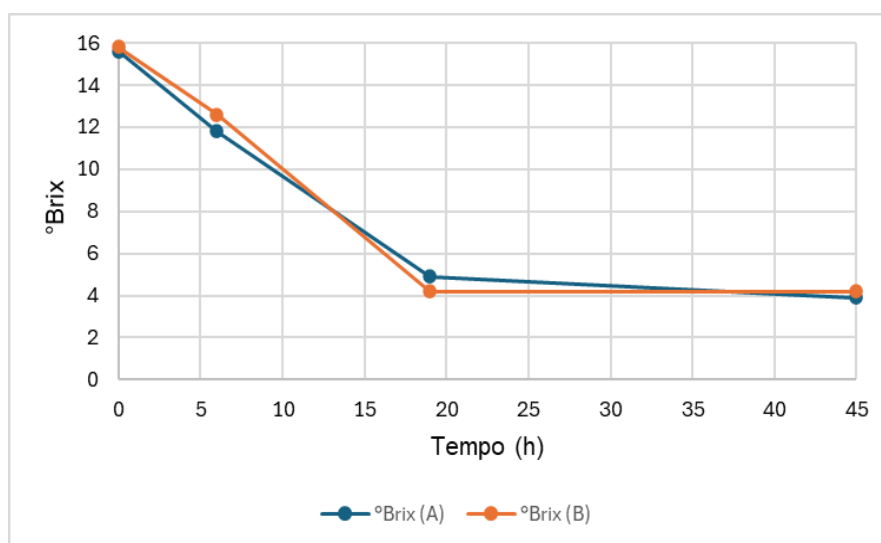
Segundo Moya *et al.*, (2017), a granulometria de 0,6 mm mostrou maior eficiência na extração de açúcares do milho com Brix entre 14 e 18,4%, pois, verificou-se que ao usar uma granulometria maior, conseqüentemente maior será a barreira que impede a ação da enzima com o amido, o que conseqüentemente dificultará a hidrólise fazendo o amido liberar menos açúcares.

Para o estudo apresentado neste trabalho, foi usada uma granulometria de 20 Mesh o que nos fornece 0,84 mm de diâmetro, ou seja, partículas menores que 0,84 mm passaram pela peneira. A fim de elevar a capacidade de conversão do amido em açúcares simples, foi adicionado a enzima glucoamilase.

4.4 Fermentação Alcoólica

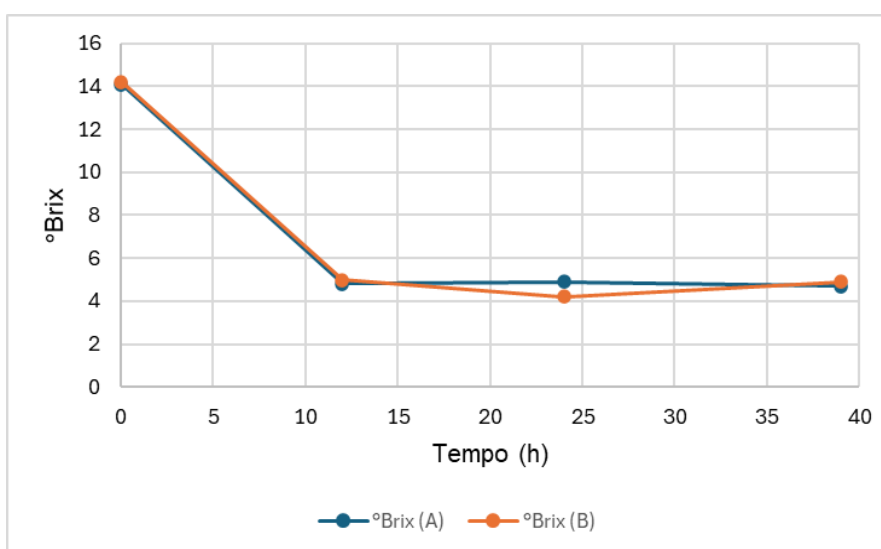
Os resultados referentes à etapa de fermentação, de acordo com a redução do °Brix em diferentes granulometrias e em função do tempo, estão apresentados nas figuras 8 e 9.

Figura 8 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de fermentação (amostra peneirada - 20 Meshes).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Figura 9 - Determinação do °Brix em função do tempo na etapa de fermentação (amostra não peneirada).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

A partir com os resultados obtidos, foi possível verificar que a levedura utilizada consumiu maior parte dos açúcares fermentescíveis que foram convertidos do amido através das enzimas alfa amilase e glucoamilase. Nota-se

que, com o tempo a levedura consumiu os açúcares, causando a redução do °Brix com o passar das horas. O tempo de fermentação do mosto obtido da amostra peneirada foi de 45 horas, fornecendo um °Brix final entre 3,9 e 4,2. Já na fermentação do mosto proveniente da sacarificação da amostra não peneirada, o tempo foi de 39 horas com °Brix final entre 4,7 e 4,9. Em ambas as fermentações, ao final do processo ainda havia a presença de açúcar residual.

4.5 Destilação

Após a etapa de destilação realizada em micro destilador, foram realizadas as leituras (em duplicata) do teor alcoólico (°GL) e da densidade, cujos resultados estão apresentados nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Resultados da destilação (Amostra peneirada - 20 Meshes)

Amostra	Repetição	Teor alcoólico (°GL)	Densidade(g/mL)
A	1	8,48	0,99211
	2	8,23	0,98685
B	1	8,22	0,98687
	2	8,45	0,98658

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

Tabela 5 - Resultados da destilação (Amostra Sem peneirar)

Amostra	Repetição	Teor alcoólico (°GL)	Densidade(g/mL)
A	1	7,59	0,99211
	2	8,08	0,98685
B	1	7,62	0,98687
	2	7,44	0,98658

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

Através das tabelas 4 e 5, observa-se que os teores alcoólicos foram maiores após a fermentação do caldo proveniente da amostra peneirada quando comparado à amostra não peneirada.

4.6 Cálculos de produtividade, rendimento e eficiência

Através da Equação 3 (item 3.6.4), considerando o volume de vinho obtido após a fermentação e utilizando os dados obtidos na destilação (Tabelas 4 e 5), foi possível calcular a massa de etanol obtida ao final dos processos fermentativos. Considerando os tempos de fermentação, calcularam-se as produtividades (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 – Massa e produtividade de etanol, após fermentação do caldo obtido no processo de sacarificação da amostra peneirada (20 Mesh)

V _{vinho} (mL)	M _{Etanol} (g)	Média M _{Etanol}	DP	Conc. Etanol (g/L)	Prod.(g/L.h)	Média _{Prod.}	DP
140,62	12,42	10,27	2,15	84,13	1,87	1,55	0,33
140,62	8,12			55,02	1,22		
130	8,11	8,22	0,12	59,21	1,32	1,34	0,02
130	8,34			60,85	1,35		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

DP: Desvio Padrão; Prod.: Produtividade

Tabela 7 - Massa e produtividade de etanol, após fermentação do caldo obtido no processo de sacarificação da amostra não peneirada

V _{vinho} (mL)	M _{Etanol} (g)	Média M _{Etanol}	DP	Conc. Etanol (g/L)	Prod.(g/L.h)	Média _{Prod.}	DP
97,5	7,83	8,08	0,25	74,96	1,92	1,98	0,06
97,5	8,33			79,75	2,04		
116,7	9,31	9,20	0,11	75,25	1,93	1,91	0,03
116,7	9,10			73,49	1,88		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

DP: Desvio Padrão; Prod.: Produtividade

A massa média de etanol obtida da fermentação (amostra a 20 Meshes) variou de 8,22 a 10,27 g, e produtividades médias ficaram entre 1,34 e 1,55 g/L.h. Em relação a fermentação do caldo proveniente da sacarificação da amostra não peneirada, as massas médias de etanol e produtividades média de etanol ficaram entre 8,08g e 9,20 g e, entre 1,91 g/L.h e 1,98 g/L.h, respectivamente.

Através das massas secas de amido inicialmente processadas (já calculadas no item 4.2 e com os resultados das massas médias de etanol, foi possível calcular o rendimento médio de etanol em função do amido seco processado. Ainda foi possível calcular a eficiência do processo relação ao rendimento teórico (estequiométrico). Os resultados estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 – Média de rendimento e de eficiência do processo.

Granulometria da amostra	Rendimento (g _{etanol} /g _{amido})	Rendimento teórico (g _{etanol} /g _{amido})	Eficiência (%)
20 Meshes	0,2685 ± 0,0298	0,5679	47,28 ± 5,24
Sem peneirar	0,2496 ± 0,0161		43,94 ± 2,84

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu avaliar a influência da granulometria do milho sobre o rendimento de etanol obtido a partir de processos de liquefação, sacarificação e fermentação alcoólica. Os ensaios laboratoriais demonstraram que, nas condições aplicadas, a variação da granulometria entre amostras peneiradas (20 Meshes) e não peneiradas não ocasionou diferenças significativas no desempenho fermentativo. Ambas apresentaram valores próximos de teor alcoólico e eficiência de conversão, confirmando que a granulometria, dentro da faixa analisada, não é um fator determinante para o rendimento do processo. Por outro lado, os resultados evidenciaram a importância de parâmetros como pH, temperatura, dosagem enzimática e dosagem das leveduras, que se mostraram mais relevantes para a eficiência do processo de produção de etanol. A utilização das enzimas α -amilase e glucoamilase confirmou sua eficácia na hidrólise do amido, possibilitando uma conversão adequada em açúcares fermentescíveis, condição essencial para o desenvolvimento do bioprocessamento de produção de etanol a partir de vegetais amiláceos. Conclui-se, portanto, que os objetivos do trabalho foram atingidos, comprovando que a granulometria, embora relevante em algumas situações, não comprometeu a eficiência do processo nas condições testadas. O estudo evidencia, ainda, a necessidade de maior controle das variáveis operacionais e abre caminho para pesquisas futuras em escala piloto ou industrial, visando otimizar a conversão de amido em etanol e ampliar a competitividade do etanol de milho no Brasil.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. P.; COSTA, M. A.; PEREIRA, D. S. Expansão da produção de etanol de milho no Brasil: desafios e oportunidades. *Biofuels Journal*, v. 10, n. 1, p. 22-35, 2024.
- AMORIM, H. V.; LEÃO, R. M. Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia. Piracicaba: Fermentec, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10520:2024 – Informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2024.
- BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. Ethanol production in Brazil: the industrial process and its impact on yeast fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, n. 2, p. 449–461, 2011.
- CALDAS, C. Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros. Piracicaba. STAB – Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2012.
- CARDOSO, W. S.; PAES, M. C. D.; DIAS, S. R.; CAMPOREZI, J. D.; MODOLO, M. U.; PINHEIRO, F. A. Metodologia científica: determinação do rendimento de produção de etanol de grãos de milho por via seca em escala laboratorial. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. (Comunicado Técnico, 246). Disponível em: <https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>. Acesso em: 24 set. 2025
- CARMO, L. S. do; MATTOS, J. C.; SILVA, A. Produção de etanol a partir do milho. *Revista Brasileira de Bioenergia*, v. 12, n. 2, p. 45-52, 2016.
- CARVALHO, J. P. et al. Perspectivas do etanol de segunda geração no Brasil. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 9, n. 3, p. 122-140, 2020.
- CHEN, H.; DIXON, R. Enzymatic hydrolysis in bioethanol production: glucoamylase and beyond. *Biotechnology Advances*, v. 53, p. 107-125, 2021.
- DOE – Department of Energy. Corn Ethanol Production Data. Washington, 2019. Disponível em: <https://www.energy.gov/eere/bioenergy/corn-ethanol>. Acesso em: 10 set. 2025.

ECKERT, C. T.; FRIGO, E. P.; ALBRECHT, L. P.; ALBRECHT, A. J. P.; CHRIST, D.; SANTOS, W. G.; BERKEMBROCK, E.; EGEWARTH, V. A. Maize ethanol production in Brazil: characteristics and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 82, p. 3907-3912, 2018.

EMBRAPA. Etanol de milho. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agroenergia/alcool/materias-primas/milho>. Acesso em: 10 set. 2025.

FERREIRA, P. S.; ALMEIDA, E. L. Amido: uma abordagem acerca da composição, estrutura, propriedades, modificação e aplicação. In: Congresso Brasileiro de Produção Animal e Vegetal, Rio de Janeiro, 2022

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energia e Meio Ambiente. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2007.

JORNAL CANA. Etanol de milho no Piauí ganha investimento de R\$ 1,18 bilhão. Disponível em: <<https://jornalcana.com.br/mercado/etanol-de-milho-no-piaui-ganha-investimento-de-r-118-bilhao/>>. Acesso em: 19 set. 2025.

KUMAR, R. Starch liquefaction and saccharification for bioethanol production. *Renewable Energy*, v. 122, p. 109-118, 2018.

LIMA, U. A. Biotecnologia industrial, processos fermentativos e enzimáticos. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2019.

LYND, L. R. Fuel Ethanol: Current Production and Future Prospects. *Biotechnology Progress*, v. 24, n. 5, p. 852–860, 2008.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A.; SILVA, J. E. A. R. Greenhouse gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. *Biomass and Bioenergy*, v. 32, n. 7, p. 582-595, 2008.

MOYA, S. M.; ALCANTARA, G. U.; NOGUEIRA, L. C.; COSTA, G. H. G. Diferentes granulometrias do grão de milho sobre a quantidade de açúcares extraídos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2017, São Carlos. Anais. São Carlos: UFSCar, 2017.

MOVIMENTO ECONÔMICO. Com 2 projetos de usinas, Piauí quer liderar produção de etanol de milho no NE. Disponível em: <<https://movimentoeconomico.com.br/agronegocio/2024/08/20/com-2-projetos-de-usinas-piaui-quer-liderar-producao-de-etanol-de-milho-no-ne/>>. Acesso em: 19 set. 2025.

MURTHY, G. S.; SALL, E. D.; METZ, S. G.; FOSTER, G.; SINGH, V. Avaliação de um processo de fracionamento seco do milho para produção de etanol com diferentes híbridos. *Industrial Crops and Products*, v. 29, p. 67–72, 2009.

NOVA CANA. Brasil deve produzir 10 bilhões de litros de etanol de milho nos próximos anos. NovaCana, 23 set. 2025. Disponível em: <https://www.novacana.com/noticias/brasil-deve-produzir-10-bilhoes-litros-etanol-milho-proximos-anos-230925>. Acesso em: 23 set. 2025.

PERVEZ, S.; AMAN, A.; IQBAL, S.; SIDDiqui, N. N.; UL QADER, S. A. Sacarificação e liquefação de amido de mandioca: uma fonte alternativa para a produção de bioetanol utilizando enzimas amilolíticas por processo de dupla fermentação. *BMC Biotechnology*, v. 14, n. 49, 2014.

PORTAL DO AGRONEGÓCIO. Expansão do etanol de milho no Nordeste deve aumentar autossuficiência e consumo regional. Portal do Agronegócio, 23 set. 2025. Disponível em: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/energias-renovaveis/etanol/noticias/expansao-do-etanol-de-milho-no-nordeste-deve-aumentar-autossuficiencia-e-consumo-regional>. Acesso em: 23 set. 2025.

REGULY, J. C. *Biotecnologia dos processos fermentativos*. 2. ed. Pelotas: Ed. Universitária, 1998.

SALES, A. C.; SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, L. A.; OLIVEIRA, E. J. Avaliação da qualidade do amido em clones S1 de mandioca. In: *JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA*, 7., 2013, Cruz das Almas. Anais. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013.

SANTOS, M. L. C. Caracterização do amido de milho e suas propriedades reológicas. 2009. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

SILVA, J. R.; OLIVEIRA, A. F.; SOUZA, L. M. Produção de etanol a partir do milho: aspectos tecnológicos e econômicos. *Revista Brasileira de Bioenergia*, v. 15, n. 2, p. 45-58, 2023.

SILVA, J. R.; PEREIRA, M. A.; OLIVEIRA, L. F. Estrutura do grão de milho e suas implicações na produção de etanol. *Revista Brasileira de Agroenergia*, v. 25, n. 3, p. 45-56, 2020.

SMITH, A. M. Starch in plant biology and technology: structure, properties, and applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 223, p. 115–128, 2019.

SOUZA, E. C.; GOMES, F. R. Potencial do trigo e outras culturas amiláceas na produção de etanol. *Revista de Bioenergia*, v. 14, n. 2, p. 33-45, 2022.

SOUZA, E. C.; GOMES, F. R.; MARTINS, T. L. Coprodutos da produção de etanol de milho: potencial de uso na alimentação animal. *Journal of Animal Science*, v. 32, n. 4, p. 101-110, 2022.

SOUZA, E. C.; MARTINS, T. L.; GOMES, F. R. Influência da granulometria e do uso de enzimas na produção de etanol a partir de milho. *Revista de Bioenergia*, v. 15, n. 1, p. 45-57, 2022.