

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Kaio César da Silva Rodrigues

**FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA EXTRATIVA COM REMOÇÃO DE
ETANOL POR ARRASTE COM CO₂ E RECUPERAÇÃO POR
ABSORÇÃO**

SÃO CARLOS - SP
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Kaio César da Silva Rodrigues

**FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA EXTRATIVA COM REMOÇÃO DE
ETANOL POR ARRASTE COM CO₂ E RECUPERAÇÃO POR
ABSORÇÃO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior

Coorientador: André Bernardo

SÃO CARLOS - SP

2019

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE KAIO CÉSAR DA SILVA RODRIGUES APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 28 DE FEVEREIRO DE 2019.

BANCA EXAMINADORA:



Alberto Colli Badino Junior
Orientador, UFSCar



André Bernardo
Co-orientador, UFSCar



Antonio José Gonçalves da Cruz
UFSCar



Marcus Bruno Soares Forte
UNICAMP



Marcel Otávio Cerri
UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha
família e à Janaína.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos recebidas ao longo de toda minha vida.

À Janaina por todo amor, carinho e companheirismo, e que mesmo distante se fez presente em todos os momentos, sendo fundamental para a finalização desta etapa na minha vida.

Aos meus pais e ao meu irmão pelo amor, apoio, incentivo e valores ensinados, os quais contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Alberto Colli Badino pela orientação, ensinamentos, dedicação, amizade, conselhos, apoio e incentivo nos momentos difíceis durante o desenvolvimento de todo o trabalho.

Aos professores André Bernardo, Antonio José Gonçalves Cruz e Marcelo Ribeiro, que sempre se mostraram dispostos a ensinar e contribuir com sugestões.

A todos os colegas e amigos de laboratório e da pós-graduação, em especial, Diego, Ivan, Jorge, Mateus, Rauber e Ricardo pela amizade e companheirismo ao longo desses quatro anos.

À Universidade Federal de São Carlos e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química pela oportunidade e estrutura para realização do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro através do processo n° 2014/26854-9.

RESUMO

A remoção de etanol por arraste gasoso com CO₂ durante a fermentação alcoólica é uma forma de contornar o problema de inibição pelo etanol. Contudo, a falta de métodos eficientes para recuperar o etanol removido ainda inviabiliza a aplicação desta técnica. No presente trabalho foi desenvolvido um processo inovador de produção de etanol integrando a fermentação extrativa por arraste gasoso com CO₂ e a recuperação por absorção. Inicialmente, a remoção de etanol de soluções hidroalcoólicas por arraste gasoso com CO₂ foi estudada com o intuito de obter um modelo para descrever o processo. Em seguida, metodologias analíticas baseadas na combinação da espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS) foram desenvolvidas para o monitoramento da absorção de etanol em glicóis e da fermentação alcoólica. Na sequência, a absorção foi avaliada como método de recuperação do etanol removido por arraste com CO₂. As capacidades de absorção de etanol dos solventes água, monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG) foram avaliadas com o intuito de selecionar o absorvente mais adequado. Ensaio empregando o melhor solvente foram conduzidos para estudar as influências do volume inicial de solvente no absorvedor, da vazão volumétrica de recirculação do solvente e da utilização de um ou dois absorvedores conectados em séries sobre a absorção. Foi desenvolvido um modelo para descrever o processo baseando-se nas equações de balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água, CO₂, absorvente), incorporando as cinéticas de arraste gasoso e absorção e os conceitos de equilíbrio-líquido vapor. Foi também realizada uma fermentação convencional em batelada alimentada para obtenção de parâmetros cinéticos de crescimento para a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Por fim, fermentações extrativas em batelada alimentada sem recirculação de CO₂ (empregando CO₂ comercial) e com recirculação de CO₂ (sistema fechado empregando apenas o CO₂ produzido na fermentação) foram integradas à recuperação de etanol por absorção e conduzidas utilizando diferentes concentrações de substrato na alimentação. O modelo desenvolvido para o arraste gasoso com CO₂, considerando a remoção de etanol e água descreveu de forma precisa o comportamento do processo. Os modelos de calibração PLS obtidos apresentaram excelente desempenho no monitoramento de ambos os processos, absorção e fermentação. No processo de fermentação, a técnica FT-MIR/PLS possibilitou monitorar precisamente as concentrações dos principais analitos envolvidos no processo (sacarose, frutose, glicose, etanol, glicerol e células). No que se refere ao estudo da absorção, o MEG foi selecionado como o absorvente mais adequado. A utilização de dois absorvedores conectados em série, contendo 0,8 L de MEG em cada, possibilitou a recuperação de 93,1% do etanol arrastado. No processo integrado de fermentação extrativa e recuperação por absorção sem recirculação de CO₂, foram consumidos 300 g L⁻¹ de substrato com produção total de etanol de 135,2 g L⁻¹ e recuperação de 91,6% do etanol removido por arraste. A modelagem desenvolvida para ambas as etapas, fermentação extrativa e absorção, descreveu adequadamente os processos. Quanto ao processo integrado com recirculação de CO₂, foi possível consumir 280 g L⁻¹ de substrato e produzir um total de etanol de 126 g L⁻¹ (57% maior que na fermentação convencional). A eficiência de recuperação de etanol foi de 98,3%, valor similar à encontrada em instalações industriais considerando a perda de etanol arrastado pelo CO₂ produzido nas dornas. O processo alternativo de produção de etanol proposto se mostrou promissor, podendo oferecer melhorias ao processo convencional no sentido de reduzir o volume de vinhaça e o consumo energético na destilação, reduzindo os custos globais de produção de etanol.

Palavras-chave: produção de bioetanol, fermentação extrativa, arraste gasoso com CO₂, recuperação de etanol, absorção gasosa, integração de processos.

ABSTRACT

Ethanol removal by CO₂ stripping during alcoholic fermentation is one way of overcoming the problem of inhibition by the ethanol. However, the lack of efficient methods to recover the removed ethanol still makes the use of stripping unviable. In this work, an innovative process for ethanol production was developed based on the integration of the extractive fermentation with CO₂ stripping and with the recovery of ethanol by absorption. Firstly, the ethanol removal from hydro alcoholic solutions by CO₂ stripping was evaluated in order to obtain a model to describe this process. Subsequently, techniques based on the combination of Fourier transform mid-infrared (FT-MIR) spectroscopy and partial least-squares (PLS) regression were developed for monitoring of the ethanol absorption and the alcoholic fermentation. In sequence, gas absorption was evaluated as a technique for the recovery of ethanol from the gas mixture generated by CO₂ stripping. Water, monoethylene glycol (MEG), and diethylene glycol were evaluated in terms of their performance in ethanol absorption in order to choose the most appropriate absorbent. Subsequent assays using the best absorbent were conducted to investigate the influence of the initial MEG volume in the absorber, the recirculation volumetric flow rate of solvent, and the use of two absorbers connected in series on the absorption process. A modeling procedure was developed based on mass balance equations for the species involved (ethanol, water, CO₂, and absorbent), and incorporating stripping and absorption kinetics, and vapor-liquid equilibrium concepts. A conventional fed-batch fermentation was performed in order to estimate kinetic parameters of growth for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Lastly, extractive fermentations without CO₂ recirculation (using commercial CO₂) and with CO₂ recirculation (using only the CO₂ produced in the fermentation), integrated to ethanol recovery by absorption, were carried out using different feed substrate concentrations. The proposed CO₂ stripping model considering the removal of ethanol and water was able to accurately describe the process behavior. The PLS calibration models presented excellent performance in monitoring both, absorption and fermentation. In the fermentation, the FT-MIR/PLS technique was able to provide accurate monitoring of the major components involved in the process (sucrose, glucose, fructose, ethanol, glycerol, and yeast cells). With respect to the evaluation of the absorption process, the MEG was selected as the most appropriate absorbent. The modeling developed was able to accurately describe the absorption behavior. The use of two absorbers, each with 0.80 L of MEG, enabled recovery of up to 93.1% of the ethanol from the stripping gas mixture. The integrated process of extractive fermentation with CO₂ stripping and recovery by absorption without CO₂ recirculation provided conversion of 300 g L⁻¹ substrate feed, ethanol total production of 135.2 g L⁻¹ and recovery of 91,6 % of the ethanol from the stripping gas mixture. The modelling proposed for both extractive fermentation and absorption recovery adequately described the two stages. In the integrated process with CO₂ recirculation, it was possible to consume 280 g L⁻¹ of substrate feed, producing an amount of 126 g L⁻¹ of ethanol (57% higher than in conventional fermentation). The recovery efficiency of ethanol was 98.3%, similar to that found for distilleries considering the loss of ethanol removed by the CO₂ produced in the fermenters. The alternative process proposed for ethanol production is promising and could offer improvements for the conventional process, reducing volume of vinasse and energy consumption in the distillation and, consequently, reducing overall costs.

Keywords: Bioethanol production, extractive fermentation, CO₂ stripping, ethanol recovery, gas absorption, processes integration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Esquema ilustrativo da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura <i>S. cerevisiae</i>	19
Figura 2.2 - Desenho esquemático de uma coluna de recheio.	30
Figura 2.3 - Desenho esquemático de uma coluna de pratos.	32
Figura 2.4 - Desenho esquemático de um absorvedor do tipo coluna de bolhas.....	33
Figura 2.5 - Perfis de concentração do componente A nas fases gasosa líquida segundo a teoria das duas películas estagnadas. P_{AG} representa a pressão parcial de A no seio da fase gasosa, P_{Ai} a pressão parcial de A na interface, C_{AL} a concentração de A no seio da fase líquida e C_{Ai} a concentração de A na interface.....	36
Figura 2.6 - Fluxograma representativo do princípio de aplicação da técnica de espectroscopia de infravermelho (IR) associada à calibração multivariada para monitoramento de processos.....	45
Figura 3.1 - Desenho ilustrativo do aparato experimental utilizado nos ensaios de arraste com CO_2	50
Figura 3.2 - (a e b) Biorreator pneumático e (c) aspersor (medidas em mm).	50
Figura 3.3 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de etanol (C_E , quadrados) e água (C_W , círculos) e volume da fase líquida (V , triângulos) ao longo do tempo no ensaio de arraste gasoso 12 ($\phi_{CO_2} = 2,50$ vvm, $T_{sol} = 34,0$ °C e $C_{E0} = 55,0$ g L ⁻¹)...53	53
Figura 3.4 - Diagramas de Pareto das constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{WS}) adotando nível de confiança de 90%.....	55
Figura 3.5 - Valores preditos e observados das constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{WS}).	57
Figura 3.6 - Superfície de reposta para as constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{WS}) em função da temperatura da solução (T_{sol}) e vazão específica de CO_2 (ϕ_{CO_2}).	58
Figura 4.1 - Combinações das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) utilizadas na calibração para cada solvente (MEG ou DEG).	62
Figura 4.2 - Espectrofotômetro FT-MIR utilizado para obtenção dos dados espectrais.	63
Figura 4.3 - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado no monitoramento do processo de absorção.	65
Figura 4.4 - Espectros FT-MIR brutos dos componentes puros: água, etanol, monoetilenoglicol (MEG), dietilenoglicol (DEG) e CO_2 . O quadrado mostra a região usada para calibração (5580-8700 nm).	67
Figura 4.5 - Espectros FT-MIR adquiridos para as soluções de (a, b e c) MEG e (d, e e f) DEG. Os espectros foram pré-processados usando (a e d) SMM, (b e e) SMM e 1 ^a D, e (c e f) SMM e 2 ^a D.	68
Figura 4.6 - Valores preditos e de referência das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) em (a) monoetilenoglicol (MEG) e (b) dietilenoglicol (DEG), para validação cruzada (símbolos vazios) e validação externa (símbolos preenchidos). As linhas pontilhadas representam correlações perfeitas. As predições foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para cada analito.	70

- Figura 4.7** - Dados de concentração de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) em (a) monoetilenoglicol (MEG) e (b) dietilenoglicol (DEG), obtidos pelos modelos PLS (linhas sólidas) e por HPLC (símbolos fechados) durante os ensaios de absorção. As linhas pontilhadas representam 2 vezes o RMSEP, que é uma aproximação dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão obtidos para as análises de HPLC. 72
- Figura 5.1** - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado nos ensaios de absorção e das correntes (números circulos) e volumes de controle (VC: linhas pontilhadas) utilizados na modelagem do processo. 1: corrente de entrada de CO_2 puro no biorreator; 2: corrente de saída do biorreator; 3: corrente que entraria no primeiro absorvedor (A) como gás a 25 °C; 4: corrente que entraria no primeiro absorvedor como líquido condensado, devido à redução de temperatura de 34 para 25 °C; 5: corrente de saída do primeiro absorvedor; 6: corrente de saída do segundo absorvedor (B), quando aplicável..... 76
- Figura 5.2** - Valores experimentais das concentrações de etanol (C_{EA} , símbolos preenchidos) e água (C_{WA} , símbolos vazios) ao longo do tempo nos ensaios de absorção com água (A1, quadrados), DEG (A2, triângulos) e MEG (A3, círculos)..... 87
- Figura 5.3** - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de (a) etanol (C_{EA}) e (b) água (C_{WA}) ao longo do tempo nos ensaios de absorção com volumes de MEG de 0,40 (A4, quadrados), 0,60 (A5, círculos) e 0,80 L (A6, triângulos), sem recirculação de MEG. Esses volumes representaram 20, 30 e 40% do volume de trabalho do biorreator, respectivamente. 90
- Figura 5.4** - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentrações de (a) etanol (C_{EA} e C_{EB}) e (b) água (C_{WA} e C_{WB}) ao longo do tempo nos ensaios de absorção utilizando dois absorvedores com volumes de MEG de 0,40 (A10, quadrados), 0,60 (A11, círculos) e 0,80 L (A12, triângulos), sem recirculação de MEG. Os símbolos preenchidos e vazios representam o primeiro (A) e o segundo (B) absorvedor, respectivamente..... 92
- Figura 5.5** – Valores dos coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol (K_{yAE}) e água (K_{yAE}) ao longo do tempo nos ensaios: (a e b) sem recirculação de MEG, para V_{MEG} de 0,40 (A4), 0,60 (A5) e 0,80 L (A6); (c e d) com recirculação de MEG, para Q_{MEG} de 0,30 (A7), 0,60 (A8) e 0,90 $L\ min^{-1}$ (A9) (A6, sem recirculação de MEG, também é mostrado para comparação); (e e f) usando dois absorvedores conectados em série, para V_{MEG} de 0,40 (A10), 0,60 (A11) e 0,80 L (A12) (os símbolos preenchidos e vazios representam o primeiro e o segundo absorvedor, respectivamente). 93
- Figura 5.6** - Gráfico de resíduos (diferença entre os dados experimentais e simulados) para as concentrações de etanol e água nas soluções dos absorvedores..... 94
- Figura 6.1** - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado no monitoramento das fermentações..... 99
- Figura 6.2** - Espectros FT-MIR brutos adquiridos da água pura e de soluções aquosas de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol ($100\ g\ L^{-1}$). O quadrado destaca a região utilizada para calibração (8000-11000 nm) contendo as bandas características de absorção 102
- Figura 6.3** - Espectros FT-MIR adquiridos dos caldos das fermentações F1 (sacarose comercial), F2 (melaço diluído com água), F3 (caldo de cana-de-açúcar concentrado), F4 (caldo de sorgo sacarino concentrado) e F5 (melaço diluído com caldo de cana-de-açúcar) e das soluções aquosas de células. Os espectros foram pré-tratados utilizando (a) SMM e (b) SMM e primeira derivada..... 103
- Figura 6.4** - Valores preditos versus valores de referência das concentrações de: (a) sacarose, (b) glicose, (c) frutose, (d) etanol, (e) glicerol e (f) células para validação cruzada (quadrados

vazios) e validação externa (quadrados preenchidos). As linhas sólidas representam a correlação perfeita. As predições foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para cada analito. 106

Figura 6.5 - Espectros FT-MIR adquiridos (7930-10990 nm) das suspensões aquosas de células (concentrações de 26 a 45 g L⁻¹) e do inóculo (50 g L⁻¹)..... 107

Figura 6.6 - Valores de concentração de (a) sacarose, glicose, frutose, (b) etanol, glicerol e células obtidas em tempo real usando os melhores modelos PLS (linhas sólidas) durante a fermentação alcoólica com mosto contendo melaço diluído com caldo de sorgo sacarino (F6). As linhas pontilhadas representam os valores de RMSEP e os símbolos fechados são os dados de referência (HPLC)..... 109

Figura 7.1 - Aparato experimental utilizado nas fermentações extrativas em batelada alimentada sem recirculação de CO₂. 115

Figura 7.2 - Aparato experimental utilizado nos ensaios de fermentação extrativas com arraste gasoso e recuperação por absorção com recirculação de CO₂..... 119

Figura 7.3 - Bancada de trabalho dos experimentos de fermentação extrativa com arraste gasoso e recuperação por absorção empregando sistema fechado com recirculação de CO₂. 119

Figura 7.4 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S, círculos), células viáveis (C_X, quadrados) e etanol (C_E, triângulos) ao longo do tempo na fermentação convencional em batelada alimentada (FC, C_{SA} = 180 g L⁻¹). 122

Figura 7.5 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S, círculos), células viáveis (C_X, quadrados) e etanol (C_E, triângulos) ao longo do tempo na fermentação extrativa FE1 (C_{SA} = 180 g L⁻¹) do processo integrado sem recirculação de CO₂. 124

Figura 7.6 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S, círculos), células viáveis (C_X, quadrados) e etanol (C_E, triângulos) ao longo do tempo na fermentação extrativa FE2 (C_{SA} = 300 g L⁻¹) do processo integrado sem recirculação de CO₂. 125

Figura 7.7 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de etanol (quadrados pretos) e água (círculos vermelhos) ao longo do tempo nos absorvedores (1° absorvedor - símbolos preenchidos, 2° absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FE1 (C_{SA} = 180 g L⁻¹). 128

Figura 7.8 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de (a) etanol (b) e água ao longo do tempo nos absorvedores (1° absorvedor - símbolos preenchidos, 2° absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FE2 (C_{SA} = 300 g L⁻¹). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados. 128

Figura 7.9 - Comparação das massas removida por arraste gasoso e recuperada por absorção ao longo do tempo para as fermentações extrativas: (a) FE1 (C_{SA} = 180 g L⁻¹) e (b) FE2 (C_{SA} = 300 g L⁻¹). 130

Figura 7.10 - Valores experimentais das concentrações de substrato (C_S, círculos vermelhos), células viáveis (C_X, quadrados pretos) e etanol (C_E, triângulos azuis) ao longo do tempo na fermentação extrativa FER1 (C_{SA} = 180 g L⁻¹) do processo integrado com recirculação de CO₂. 133

Figura 7.11 - Valores experimentais das concentrações de substrato (C_S, círculos vermelhos), células viáveis (C_X, quadrados pretos) e etanol (C_E, triângulos azuis) ao longo do tempo na

fermentação extrativa FER2 ($C_{SA} = 280 \text{ g L}^{-1}$) do processo integrado com recirculação de CO_2 133

Figura 7.12 - Valores experimentais das concentrações de etanol (quadrados pretos) e água (círculos vermelhos) ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FER1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$). 134

Figura 7.13 - Valores experimentais das concentrações de (a) etanol e (b) água ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FER2 ($C_{SA} = 280 \text{ g L}^{-1}$). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados. 135

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Valores reais e codificados das variáveis independentes utilizadas no DCCR.	51
Tabela 3.2 - Faixas e níveis das variáveis independentes (unidades codificadas e originais) utilizadas no DCCR e resultados para as constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e água (k_{WS}).	54
Tabela 3.3 - Análise de variância para o modelo de regressão da constante de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}).	56
Tabela 3.4 - Análise de variância para o modelo de regressão da constante de velocidade de remoção de água (k_{WS}).	57
Tabela 4.1 - Análise de desempenho dos modelos PLS obtidos com diferentes pré-processamento de dados.	69
Tabela 5.1 - Propriedades físicas dos solventes monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG).	77
Tabela 5.2 - Condições experimentais e resultados de porcentagem de recuperação de etanol (ER) e coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol (K_{yAE}) e água (K_{yAW}) nos ensaios de absorção A1 a A12.	88
Tabela 6.1 - Valores de concentração utilizados nos métodos de validação cruzada (conjunto de calibração) e validação externa (conjunto de validação) dos modelos PLS.	100
Tabela 6.2 - Análise de desempenho dos modelos PLS obtidos considerando diferentes pré-processamento de dados.	104
Tabela 7.1 - Parâmetros cinéticos da fermentação convencional em batelada alimentada (FC, $C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$).	122
Tabela 7.2 - Principais resultados das fermentações extrativas em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado de 180 g L^{-1} (FE1) e 300 g L^{-1} (FE2) e da fermentação convencional (FC).	123
Tabela 7.3 - Valores de RSD para concentração de células viáveis (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) mostrando o desempenho do modelo para as fermentações extrativas FE1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$) e FE2 ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$) antes e após a correção do parâmetro “n”.	127
Tabela 7.4 - Principais resultados das fermentações convencional (FC) e extrativas com recirculação de CO_2 e concentrações totais de substrato alimentado de 180 (FER1) e 280 g L^{-1} (FER2).	131

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT.....	II
LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE TABELAS.....	VII
CAPÍTULO 1. Introdução e objetivos.....	12
1.1. Introdução	13
1.2. Objetivos.....	14
1.3. Estrutura da tese.....	15
CAPÍTULO 2. Revisão bibliográfica.....	16
2.1. Produção de etanol no Brasil	17
2.1.1. Características gerais do processo	17
2.1.2. Bioquímica da fermentação alcoólica.....	19
2.1.3. Cinética e modelagem da fermentação alcoólica.....	19
2.1.4. O efeito inibitório do etanol na fermentação alcoólica.....	22
2.2. Fermentação extrativa.....	23
2.2.1. Arraste gasoso.....	23
2.2.2.1. Produção de etanol do milho	24
2.2.2.2. Fermentações ABE e IBE	25
2.2.2.3. Produção de etanol da sacarose	26
2.3. Métodos para recuperação de etanol.....	27
2.4. Absorção	28
2.4.1. Equipamentos de absorção	28
2.4.1.1. Colunas de recheio.....	29
2.4.1.2. Colunas de pratos.....	31
2.4.1.3. Colunas de bolhas	32
2.4.1.4. Colunas de paredes molhadas	34
2.4.2. Seleção do absorvente.....	35
2.4.3. Transferência de massa em processos de absorção	36
2.4.4. Equilíbrio líquido vapor (ELV)	38
2.4.4.1. Regra das fases de Gibbs	38
2.4.4.2. Cálculo ELV	39
2.5. Espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada	43

2.5.1. Fundamentos e aplicação em bioprocessos	43
2.5.2. Pré-processamento de dados espectrais	46
CAPÍTULO 3. Avaliação da remoção de etanol de soluções hidroalcoólicas por arraste gasoso com CO₂.....	48
3.1. Introdução	49
3.2. Materiais e métodos	49
3.2.1. Procedimento experimental	49
3.2.2. Planejamento experimental.....	50
3.2.3. Modelo de remoção de etanol e água	51
3.2.4. Método numérico.....	52
3.2.5. Métodos analíticos	52
3.3. Resultados e discussão.....	53
3.4. Conclusões.....	59
CAPÍTULO 4. Monitoramento da absorção de etanol em glicóis por espectroscopia de infravermelho médio.....	60
4.1. Introdução	61
4.2. Materiais e métodos	61
4.2.1. Amostras sintéticas	61
4.2.2. Espectroscopia FT-MIR.....	62
4.2.3. Pré-processamento dos dados e calibração multivariada.....	63
4.2.4. Experimentos de absorção	65
4.2.4.1. Geração da corrente gasosa por arraste com CO ₂	65
4.2.4.2. Procedimento de absorção	65
4.2.5. Análises de referência.....	66
4.3. Resultados e discussão.....	66
4.3.1. Região espectral de calibração.....	66
4.3.2. Processamento dos dados	67
4.4. Conclusões.....	73
CAPÍTULO 5. Recuperação de etanol da mistura gasosa de arraste por absorção.....	74
5.1. Introdução	75
5.2. Materiais e métodos	75
5.2.1. Geração da corrente gasosa por arraste com CO ₂	75
5.2.2. Ensaio de absorção	76
5.2.2.1. Procedimento experimental	76

5.2.2.2. Seleção do absorvente.....	76
5.2.2.3. Ensaio com MEG	78
5.2.2.4. Métodos analíticos	78
5.2.3. Modelagem do processo	79
<i>Volume de controle 1 (VC1) - biorreator</i>	<i>79</i>
<i>Volume de controle 2 (VC2) - resfriador hipotético.....</i>	<i>80</i>
<i>Volume de controle 3 (VC3) - primeiro absorvedor (A).....</i>	<i>81</i>
<i>Volume de controle 4 (VC4) - resfriador hipotético + primeiro absorvedor (A).....</i>	<i>83</i>
<i>Volume de controle 5 (VC5) - segundo absorvedor (B)</i>	<i>84</i>
5.2.4. Procedimentos numéricos	85
5.3. Resultados e discussão.....	85
5.3.1. Remoção de etanol e água por arraste com CO ₂	85
5.3.2. Seleção do absorvente.....	86
5.3.3. Ensaio utilizando MEG como absorvente	88
5.4. Conclusões	95
CAPÍTULO 6. Monitoramento da fermentação alcoólica por espectroscopia de infravermelho médio.....	96
6.1. Introdução	97
6.2. Materiais e métodos	97
6.2.1. Fermentações	97
6.2.1.1. Microrganismo e meios de cultura	97
6.2.1.2. Procedimento experimental	98
6.2.2. Análises de referência.....	99
6.2.3. Espectroscopia FT-MIR.....	99
6.2.4. Pré-processamento dos dados e calibração multivariada.....	100
6.3. Resultados e discussão.....	101
6.3.1. Seleção da região espectral de calibração.....	101
6.3.2. Processamento dos dados	102
6.4. Conclusões	109
CAPÍTULO 7. Fermentação alcoólica extrativa com remoção de etanol por arraste gasoso com CO₂ e recuperação por absorção.....	111
7.1. Introdução	112
7.2. Materiais e métodos	112
7.2.1. Microrganismo e meio de cultura	112
7.2.2. Fermentação convencional	112

7.2.2.1. Procedimento experimental	112
7.2.2.2. Modelagem matemática.....	113
7.2.3. Fermentações extrativas integradas à absorção sem recirculação de CO ₂	114
7.2.3.1. Procedimento experimental	114
7.2.3.2. Modelagem matemática.....	116
7.2.4. Fermentações extrativas integradas à absorção com recirculação CO ₂	118
7.2.5. Métodos analíticos	120
7.2.6. Procedimentos numéricos	120
7.3. Resultados e discussão.....	121
7.3.1. Parâmetros cinéticos de crescimento celular	121
7.3.2. Processo integrado de fermentação extrativa e absorção sem recirculação de CO ₂	122
7.3.3. Processo integrado de fermentação extrativa e absorção com recirculação de CO ₂	131
7.4. Conclusões.....	135
CAPÍTULO 8. Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros.....	137
Referências Bibliográficas.....	140

Capítulo 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. Introdução

As preocupações com os problemas ambientais, juntamente com a crescente demanda energética global e a necessidade de reduzir a dependência de derivados do petróleo têm impulsionado a busca por fontes de energia mais limpas e renováveis. Neste cenário, o bioetanol surge como alternativa para substituição dos combustíveis fósseis (BAEYENS *et al.*, 2015). Na safra de 2017/2018, a produção de etanol no Brasil alcançou 26,5 bilhões de litros (26% do fornecimento mundial), ficando atrás apenas da produção dos Estados Unidos (RENEWABLE FUELS ASSOCIATION, 2017). A base da indústria sucroalcooleira no Brasil foi o Programa Nacional do Alcool (Proálcool) criado nos anos 70. Desde então, novos programas do governo de incentivos à produção e consumo de etanol e o surgimento do carro *flexfuel* possibilitaram a consolidação do setor (AMORIM *et al.*, 2011). E a tendência é que o setor cresça e se fortaleça ainda mais com a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio). O RenovaBio foi criado recentemente para estimular o aumento da produção e da participação de biocombustíveis na matriz energética do país, visando mitigar a emissão de gases do efeito estufa em cumprimento aos compromissos estabelecidos no âmbito do Acordo de Paris (ANP, 2019).

As destilarias brasileiras utilizam cana-de-açúcar como matéria-prima. O processo é baseado na fermentação de mostos de caldo de cana concentrado ou melaço diluído com água ou caldo de cana. As hexoses (frutose e glicose) resultantes da hidrólise da sacarose são convertidas em etanol pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O processo é conduzido no modo batelada alimentada ou contínuo. Em ambos os casos as células são recicladas para reutilização na fermentação (BASSO *et al.*, 2011). Embora já consolidado, o processo ainda pode ser melhorado com o desenvolvimento e implantação de novas tecnologias para redução de custos. A principal limitação do processo fermentativo é o baixo teor de etanol alcançado no vinho ao final da fermentação (8-12% v v⁻¹), que é resultado da inibição da levedura pelo próprio etanol (MAIORELLA *et al.*, 1983). Como consequência, os custos associados com a utilização de dornas de grande volume e a demanda energética para recuperação do etanol por destilação (até 2,6 kg de vapor por litro de etanol produzido) se tornam elevados. Além disso, há a geração de grande quantidade de vinhaça (até 12,4 L por litro de etanol produzido) (MOHANA *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2011; RUIZ, 2015).

A aplicação de arraste gasoso com CO₂ para remoção do etanol durante a fermentação é uma forma de minimizar esta inibição. A técnica permite a remoção seletiva de compostos voláteis (EZEJI *et al.*, 2003). Ademais, trata-se de um método atraente para utilização em larga escala na fermentação alcoólica devido a sua simplicidade e com a possibilidade de utilização

do próprio CO₂ produzido durante a fermentação. O arraste gasoso tem sido utilizado com sucesso em processos fermentativos para produção de etanol a partir do milho (TAYLOR *et al.*, 2010), cana-de-açúcar (SONEGO *et al.*, 2018) e sorgo sacarino (THANI *et al.*, 2018), além de fermentações acetona-butanol-etanol (CHEN *et al.*, 2018). No entanto, embora possa trazer benefícios para a fermentação alcoólica, é necessário encontrar métodos eficientes e economicamente viáveis para a recuperação do etanol removido, a fim de tornar a aplicação da técnica viável.

Operações que podem ser aplicadas para este fim incluem condensação (PONCE *et al.*, 2016), adsorção (HASHI *et al.*, 2010), permeação de vapor (SUN *et al.*, 2017) e absorção (CARDOSO *et al.* 2018), entre outros. Os dois primeiros não são viáveis para aplicação em escala industrial devido aos altos custos com adsorventes e energia para operação dos condensadores. A permeação de vapor, embora seja eficiente, apresenta custos com membranas e produção de vácuo que ainda inviabilizam a técnica (GAYKAWAD *et al.*, 2017). Dentre estas operações, a absorção demonstra ser a opção mais atraente para utilização em grande escala, com equipamentos de fácil instalação e operação (TREYBAL, 1980a). No Brasil, algumas destilarias já utilizam dispositivos para lavagem com água do gás de saída das dornas de fermentação para evitar perdas de etanol. De forma análoga, unidades de absorção poderiam ser instaladas para recuperar o etanol removido durante a fermentação com arraste gasoso. Glicóis, tais como o monoetilenoglicol (MEG) e o dietilenoglicol (DEG) são solventes atrativos para esta aplicação, pois impedem a formação do azeótropo etanol-água (BLACK e DITSLER, 1972). O MEG, particularmente, já é usado em algumas destilarias na destilação extrativa para obtenção de etanol anidro. Dessa forma, estaria prontamente disponível para uso no processo e a solução resultante da absorção poderia ser alimentada diretamente na coluna de destilação extrativa.

1.2. Objetivos

Diante das informações expostas, o objetivo geral da presente tese foi desenvolver um processo alternativo de produção de etanol integrando a fermentação extrativa por arraste gasoso com CO₂ e a recuperação por absorção. Para alcançar o objetivo proposto, as seguintes etapas foram executadas:

- Modelagem do processo de arraste gasoso com CO₂.
- Avaliação da influência das variáveis temperatura, vazão de CO₂ e concentração inicial de etanol sobre o arraste gasoso com CO₂.
- Desenvolvimento de uma metodologia analítica baseada na espectroscopia de

infravermelho médio para monitorar o processo de absorção de etanol.

- Avaliação da capacidade de absorção de etanol dos solventes MEG e DEG.
- Modelagem matemática da etapa de absorção de etanol.
- Avaliação das influências do volume inicial de solvente, da vazão volumétrica de recirculação de solvente e da utilização de um ou dois absorvedores conectados em série no processo de absorção de etanol.
- Desenvolvimento de uma metodologia analítica baseada na espectroscopia de infravermelho médio para o monitoramento da fermentação alcoólica.
- Modelagem matemática das fermentações convencional e extrativa em batelada alimentada.
- Integração da fermentação extrativa com arraste gasoso com a recuperação de etanol por absorção sem e com recirculação de CO₂ no processo.

1.3. Estrutura da tese

A tese está dividida em oito capítulos, a saber:

- **Capítulo 1.** Introdução e objetivos
- **Capítulo 2.** Revisão Bibliográfica
- **Capítulo 3.** Avaliação da remoção de etanol de soluções hidroalcoólicas por arraste gasoso com CO₂
- **Capítulo 4.** Monitoramento da absorção de etanol em glicóis por espectroscopia de infravermelho médio.
- **Capítulo 5.** Recuperação de etanol da mistura gasosa de arraste por absorção.
- **Capítulo 6.** Monitoramento da fermentação alcoólica por espectroscopia de infravermelho médio
- **Capítulo 7.** Fermentação alcoólica extrativa com remoção de etanol por arraste gasoso com CO₂ e recuperação por absorção.
- **Capítulo 8.** Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros.

Os capítulos 3, 4, 5, 6 e 7 compreendem as etapas executadas durante o desenvolvimento do trabalho. Em cada um, foram apresentados uma breve introdução, materiais e métodos, resultados e discussão e conclusões.

Capítulo 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção de etanol no Brasil

2.1.1. Características gerais do processo

A produção de etanol pode envolver a utilização de diferentes matérias-primas. O etanol obtido da fermentação direta de açúcares mais simples, como a sacarose da cana-de-açúcar (GELLER, 1985) e o amido do milho (TAYLOR *et al.*, 2000), é conhecido como etanol de primeira geração (etanol 1G). Quando proveniente de biomassa lignocelulósica (LASER *et al.*, 2002), o etanol é referido como de segunda de geração (etanol 2G). Mais recentemente, estudos têm mostrado que é possível produzir etanol a partir da biomassa de algas, sendo este denominado etanol de terceira geração (KIM *et al.*, 2011). A produção do etanol no Brasil é majoritariamente de primeira geração utilizando a cana-de-açúcar como matéria-prima (BASSO *et al.*, 2011). Comparado aos processos que utilizam outros tipos de matéria-prima, o processo de produção de etanol 1G nacional apresenta o melhor balanço energético, já que toda a energia (vapor e eletricidade) usada na produção do etanol vem do bagaço da cana usado como combustível nas caldeiras, ao invés da queima de combustíveis fósseis (AMORIM *et al.*, 2011; MACRELLI *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2018).

O processo é baseado na fermentação de mostos contendo caldo de cana, melação ou uma mistura de ambos. A composição de açúcares do mosto é principalmente sacarose e uma pequena quantidade de glicose e frutose livres. O montante total de açúcares, incluindo frutose e glicose livres e potenciais resultantes da hidrólise da sacarose, é denominado açúcares redutores totais (ART). Todos os balanços de massa do processo industrial são calculados com base neste parâmetro (PEREIRA *et al.*, 2018). A maioria das destilarias brasileiras são anexas a plantas produtoras de açúcar. Neste caso, o melação resultante do processo de cristalização do açúcar é diluído com o próprio caldo da cana ou com água para alcançar a concentração de ART no mosto adequada para a fermentação. Nas plantas industriais que produzem apenas etanol (destilarias autônomas), o caldo da cana-de-açúcar é aquecido para redução de contaminação bacteriana, decantado e, na maioria das vezes, concentrado por evaporação, para depois ser utilizado como mosto na fermentação (WHEALS *et al.*, 1999). Mais recentemente, algumas destilarias têm empregado o caldo de sorgo sacarino como alternativa para a produção de etanol durante o período não produtivo da cana, uma vez que o sorgo pode ser cultivado duas vezes ao ano e, assim como a cana, contém os açúcares glicose, frutose e, majoritariamente, sacarose (CASTRO *et al.*, 2017; ROCHON *et al.*, 2017).

No Brasil, o etanol é produzido por processos em batelada alimentada ou contínuos, sendo o primeiro utilizado por cerca de 85% das destilarias (GODOY *et al.*, 2008). Em ambos

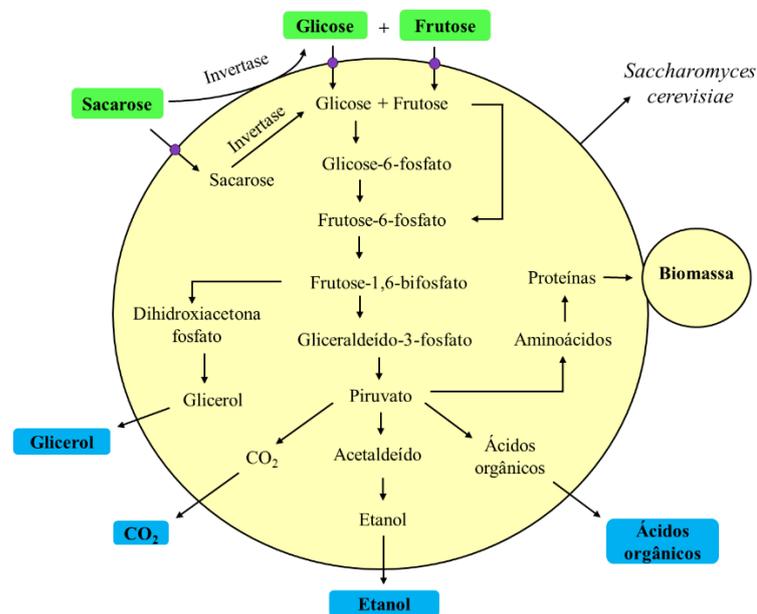
os casos, as células de levedura são recicladas para reutilização no processo, procedimento este repetido várias vezes ao longo da safra (processo Melle-Boinot). Tal estratégia garante alta densidade de células no processo, resultando em um curto tempo de fermentação (6 a 10 h). O processo é exotérmico e deve ser mantido entre 32 e 35°C necessitando, portanto, de resfriamento para o controle da temperatura do caldo (WHEALS *et al.*, 1999; BASSO *et al.*, 2011). Na fermentação em batelada alimentada, o processo é iniciado alimentando mosto a uma suspensão de células de *S. cerevisiae*, denominada “pé de cuba”, que representa cerca de 10 a 30% do volume de trabalho final da dorna de fermentação. A concentração de ART no mosto pode variar de 150 a 250 g L⁻¹, dependendo do estágio da safra. A alimentação dura, normalmente, de 4 a 6 h. Após o enchimento da dorna, o processo continua por cerca de 2 a 4 h no modo batelada até o consumo completo dos açúcares (BASSO *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2018). No modo contínuo, as destilarias costumam empregar sistemas em cascata com múltiplas dornas de fermentação em série para melhorar a conversão do substrato e a produtividade em etanol em comparação a dornas simples. Cerca de 70% do volume de fermentação é distribuído nas duas primeiras dornas e 30% em duas a quatro dornas finais, empregadas para evitar a saída de substrato não convertido do processo (CAMARGO *et al.*, 1990; Grellet *et al.*, 2016).

Ao final do processo, o caldo fermentado também conhecido como vinho, composto de água (majoritariamente), etanol na concentração de 8 a 12 °GL (Gay-Lussac ou % v v⁻¹) e levedura é centrifugado para separação das células. A suspensão de levedura resultante (creme) é tratada com solução de ácido sulfúrico para controle de contaminação e diluída com água antes de retornar ao processo. O vinho de levedurado é bombeado para as colunas de destilação, onde é concentrado a fim de obter o etanol hidratado, uma mistura azeotrópica com aproximadamente 95 % (v v⁻¹) de etanol (BASSO *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2018). Para obtenção do etanol anidro é necessária a remoção completa da água, que pode ocorrer por destilação azeotrópica com ciclohexano, destilação extrativa com monoetilenoglicol ou adsorção com peneiras moleculares (WHEALS *et al.*, 1999; MORANDIN *et al.*, 2011). Na primeira coluna de destilação (retificação) é gerada a vinhaça, um resíduo com elevada demanda bioquímica de oxigênio e rico em minerais, como potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio e fósforo. A vinhaça tem sido utilizada como fertilizante nas lavouras de cana. No entanto, tal aplicação requer cuidados especiais para evitar a contaminação de lençóis freáticos e a lixiviação de nutrientes importantes para o solo (MOHANA *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2011).

2.1.2. Bioquímica da fermentação alcoólica

Na fermentação alcoólica, as hexoses glicose e frutose são convertidas em etanol e CO₂ pela levedura *S. cerevisiae* sob condições anaeróbicas. A **Figura 2.1** ilustra um esquema simplificado da via metabólica da fermentação alcoólica. Inicialmente, a sacarose é convertida em glicose e frutose na reação de hidrólise catalisada pela enzima invertase (BAEYENS *et al.*, 2015). Em seguida, glicose e frutose são convertidas em piruvato em uma série de reações durante a glicólise. Por fim, o piruvato é convertido em etanol e CO₂ em um processo de duas etapas (HAMER, 1965). Na primeira etapa, o piruvato é descarboxilado, formando acetaldeído. Na segunda etapa, o acetaldeído é reduzido a etanol (NELSON e COX, 2008). Durante o processo também são produzidos biomassa celular e outros compostos orgânicos como glicerol, ácidos e álcoois superiores (RAMON-PORTUGAL *et al.*, 1999; KUTYNA *et al.*, 2012). Pela estequiometria da reação, o coeficiente de rendimento teórico de etanol é 0,511 g_{etanol} g_{substrato}⁻¹. No entanto, na prática é possível alcançar apenas 92-93% desse valor, visto que parte do substrato é utilizada para crescimento e manutenção celular e produção de subprodutos (AMORIM *et al.*, 2011; BAEYENS *et al.*, 2015), como mostrado na **Figura 2.1**.

Figura 2.1 - Esquema ilustrativo da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura *S. cerevisiae*.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

2.1.3. Cinética e modelagem da fermentação alcoólica

O estudo cinético de processos fermentativos consiste em avaliar as transformações

consumo de substrato, crescimento celular e formação de produtos ao longo do tempo de fermentação, e então definir perfis para quantificar velocidades de transformação e fatores de conversão. Os perfis também podem ser relacionados com modelos matemáticos para quantificação de outros parâmetros relacionados, o que caracteriza uma análise mais completa do processo. O estudo cinético também é importante para a compreensão da influência de fatores como pH, temperatura, agitação, inibidores, entre outros sob o processo (HISS, 2001; SHULER e KARGI, 2002). O conhecimento da cinética e a modelagem de um processo fermentativo são ferramentas fundamentais para o desenvolvimento tecnológico do mesmo, uma vez que permitem a correção de falhas e a determinação das condições operacionais ótimas, e servem como base para elaboração de estratégias mais eficientes de controle (BONOMI e SHIMIDELL, 2001).

O crescimento celular é considerado uma reação auto catalítica. A velocidade de crescimento está diretamente relacionada com a concentração de células que, por sua vez, está relacionada com a concentração das enzimas responsáveis pela transformação do substrato em produtos. Conseqüentemente, quando a concentração celular aumenta, as velocidades de consumo de substrato e formação de produtos também aumentam, sendo conveniente em estudos cinéticos e modelagem de processos expressá-las em termos da concentração celular. Matematicamente, o crescimento celular é caracterizado pela velocidade específica de crescimento celular (μ), definida pela Equação 2.1. Este parâmetro é fundamental na modelagem das fermentações. Similarmente, as velocidades específicas de consumo de substrato (μ_S) e formação de produto (μ_P) são definidas pelas Equações 2.2 e 2.3, respectivamente.

$$\mu = \frac{1}{C_X} \frac{dC_X}{dt} \quad (2.1)$$

$$\mu_S = \frac{1}{C_X} \left(- \frac{dC_S}{dt} \right) \quad (2.2)$$

$$\mu_P = \frac{1}{C_X} \frac{dC_P}{dt} \quad (2.3)$$

onde C_X , C_S e C_P são as concentrações de células, substrato e produto, respectivamente.

Os produtos microbianos podem ser classificados em três categorias: 1) associados ao crescimento, 2) parcialmente associados ao crescimento e 3) não associados ao crescimento. O primeiro grupo compreende os produtos cuja formação está diretamente relacionada com as

reações de catabolismo, sendo μ_P proporcional à μ (Equação 2.4). A produção de etanol pela levedura *S. cerevisiae* se enquadra nesta definição. No segundo grupo são observadas duas fases distintas: uma em que a formação do produto é associada ao crescimento e outra em que a formação do produto independe do crescimento do microrganismo. As produções de goma xantana e ácido lático por fermentação se encaixam neste grupo. Neste caso, μ_P é dada pela Equação 2.5. Os produtos não associados ao crescimento são aqueles cuja formação ocorre quando a velocidade de crescimento é zero, sendo μ_P constante (Equação 2.6).

$$\mu_P = \alpha\mu \quad (2.4)$$

$$\mu_P = \alpha\mu + \beta \quad (2.5)$$

$$\mu_P = \beta \quad (2.6)$$

Os modelos cinéticos de processos fermentativos podem ser classificados quanto ao número de componentes usados na representação celular, em não estruturados e estruturados, e quanto à heterogeneidade da população microbiana, em não segregados e segregados. Nos modelos não estruturados, o material celular é representado por uma única variável, como por exemplo a massa celular, enquanto nos modelos estruturados, as células são descritas com mais detalhes considerando, por exemplo, componentes intracelulares ou a estrutura da célula. Com relação à segunda classificação, modelos não segregados consideram a população de células homogênea, enquanto modelos segregados consideram as células como indivíduos de uma população heterogênea (BONOMI e SHIMIDELL, 2001). A maioria dos modelos cinéticos encontrados na literatura para descrever o crescimento celular em fermentações alcoólicas são não estruturados e não segregados (MOULIN *et al.*, 1980). Embora possam ser menos precisos quando comparados modelos estruturados e segregados, são mais simples por apresentarem menor número de parâmetros cinéticos e exigem menor esforço computacional (BONOMI e SHIMIDELL, 2001).

Na literatura estão disponíveis diversos modelos cinéticos para a velocidade específica de crescimento celular não estruturados e não segregados. O tipo e a complexidade do modelo a ser utilizado dependerá dos fenômenos que ocorrem durante o processo, como limitações por substrato, número de substratos limitantes, inibições por substrato, produto ou ambos, número de inibidores, tipo de produto gerado (associado ou não ao crescimento celular), entre outros (BONOMI e SHIMIDELL, 2001). Um dos modelos que tem sido utilizado com sucesso em fermentações alcoólicas (LEMOS *et al.*, 2018; SONEGO *et al.*, 2018; VELOSO *et al.*, 2019) é

o modelo híbrido de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), que considera as inibições por substrato e produto, dado pela seguinte equação:

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \left(1 - \frac{C_P}{C_{Pmax}}\right)^n \quad (2.7)$$

onde μ_{max} é a velocidade específica máxima de crescimento celular (h^{-1}), K_S é a constante de saturação ($g L^{-1}$), K_{IS} é a constante de inibição pelo substrato ($g L^{-1}$), C_{Pmax} é a concentração máxima de produto a partir da qual o crescimento celular é cessado ($g L^{-1}$), e “n” é uma constante adimensional relacionada ao potencial tóxico do produto (μ é expresso em h^{-1} e C_S e C_P em $g L^{-1}$).

2.1.4. O efeito inibitório do etanol na fermentação alcoólica

A concentração de etanol é um dos fatores que pode afetar negativamente a fermentação, agindo como inibidor direto não competitivo do metabolismo da levedura. A inibição se inicia na concentração de $25 g L^{-1}$ de etanol e é completa em concentrações em torno de $95 g L^{-1}$ (~ 12 °GL) (MAIORELLA *et al.*, 1983). O mecanismo por trás da inibição está ligado à capacidade do etanol de alterar as propriedades mecânicas e estruturais da bicamada lipídica, causando a perda da atividade metabólica nas células (LY *et al.*, 2002). Durante o processo fermentativo, o etanol se acumula no caldo e o efeito inibitório se torna cada vez mais pronunciado, de modo que as velocidades de crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol diminuam, limitando a produtividade no processo.

Dessa forma, o efeito inibitório do etanol limita o teor alcoólico alcançado no vinho após a fermentação (8 a 12 °GL). Portanto, é necessário iniciar o processo utilizando uma solução relativamente diluída de açúcar, geralmente não ultrapassando $250 g L^{-1}$ de ART no mosto (PEREIRA *et al.*, 2018), visando alcançar conversão completa em um intervalo de tempo razoável. Conseqüentemente, um grande volume de água é transportado ao longo do processo, o que acarreta em outras conseqüências como, necessidade de utilização de equipamentos de grandes volumes para assegurar alta produção temporal de etanol, elevada demanda energética para a recuperação do etanol na destilação (até 2,6 kg de vapor por litro de etanol produzido) e geração de grande quantidade de vinhaça (até 12,4 L de vinhaça por litro de etanol produzido). A vinhaça, particularmente, tem sido o principal problema nas destilarias. Os custos associados com seu armazenamento, transporte e disposição no campo são elevados, podendo chegar a R\$ 7,80 por m^3 de vinhaça (RUIZ, 2015). E mesmo a aplicação na fertirrigação requer cuidados

para evitar danos ambientais devido ao seu potencial poluidor (MOHANA *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2011; RUIZ, 2015).

2.2. Fermentação extrativa

Uma forma de minimizar o efeito de inibição pelo produto é a utilização de fermentação extrativa, que consiste em remover o composto inibitório presente no caldo fermentativo durante o próprio processo. Existem diferentes métodos que podem ser aplicados em fermentações extrativas, os quais incluem sistemas baseados em membrana, tais como pervaporação (O'BRIEN *et al.*, 2000), perstracção (QURESHI *et al.*, 1992) e osmose reversa (GARCIA *et al.*, 1986); além de adsorção (CARTON *et al.*, 1998), extração líquido-líquido (QURESHI e MADDOX, 1995), arraste gasoso (GROOT *et al.*, 1989), entre outros.

2.2.1. Arraste gasoso

O arraste gasoso, também conhecido como *stripping*, dessorção ou esgotamento, é uma operação de separação que consiste na aspersão de um gás numa solução líquida, de modo que ocorra a passagem de um ou mais compostos da solução para a fase gasosa. O fenômeno é regido pelo princípio termodinâmico de vaporização (equilíbrio líquido-vapor) o que permite a remoção seletiva de compostos orgânicos voláteis (HAMER, 1965; KUJAWSKA *et al.*, 2015). Em comparação a outros métodos de separação, o arraste gasoso apresenta vantagens como simplicidade de operação e viabilidade econômica devido à possibilidade de utilização do próprio CO₂ produzido durante a fermentação (geração de 425 litros de CO₂ para cada litro de etanol produzido), o que o torna atrativo para aplicações em larga escala. Ademais, o arraste gasoso não remove os nutrientes do caldo e não causa danos às células durante a fermentação (EZEJI *et al.*, 2003; SONEGO *et al.*, 2014).

Macroscopicamente, a remoção de solventes de soluções aquosas por arraste gasoso pode ser representada pelo modelo cinético de primeira ordem, proposto por Truong e Blackburn (1984), descrito pela Equação 2.8. Este modelo tem sido utilizado para avaliação de arraste gasoso em diferentes tipos de fermentação (DE VRIJE *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2014; SONEGO *et al.*, 2016).

$$R = \frac{dC}{dt} = k_s a C \quad (2.8)$$

onde R representa a velocidade de remoção de solvente (g L⁻¹ h⁻¹), C a concentração de solvente

na fase líquida (g L^{-1}), t o tempo (h) e k_{sa} a constante de velocidade de remoção do solvente (h^{-1}).

O arraste gasoso para remoção de compostos inibitórios tem sido utilizado em diferentes processos fermentativos, os quais incluem a produção de etanol a partir do milho, fermentações ABE (acetona-butanol-etanol) e IBE (isopropanol-butanol-etanol) e, mais recentemente, produção de etanol a partir da sacarose da cana-de-açúcar. Na sequência são apresentados alguns estudos encontrados na literatura.

2.2.2.1. Produção de etanol do milho

Pham et al. (1989) desenvolveram um processo fermentativo com reciclo de células e arraste gasoso integrado a uma coluna de retificação recheada com carvão de casca de coco. Foi utilizada glicose como fonte de carbono e fermentador do tipo coluna de bolhas com volume de trabalho de 1,15 L. Empregando CO_2 a uma vazão de 4 L min^{-1} ($\sim 3,5 \text{ vvm}$), foi possível eliminar a inibição por etanol e alcançar a produtividade de $13,2 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (27% maior que na fermentação convencional, sem arraste gasoso) e consumo de glicose de 292 g L^{-1} .

Taylor et al. (1995) utilizaram o CO_2 gerado na fermentação em biorreator contínuo de 2 L para remoção de etanol por arraste gasoso em um sistema de coluna empacotada. Em contraste com o fermentador contínuo simples, no sistema integrado fermentação/arraste gasoso foram alcançadas conversões de 100, 95 e 90% com alimentação de 200, 400 e 600 g L^{-1} de glicose, respectivamente. Os autores relataram o surgimento de incrustações causadas pelo crescimento de leveduras na coluna utilizada no arraste gasoso, o que ocasionou obstrução e diminuição da vazão de gás. A limitação do fluxo gasoso na coluna limitou a velocidade de arraste de etanol e, portanto, a velocidade de fermentação. Posteriormente, Taylor *et al.* (1996) utilizaram fermentadores contínuos de volumes maiores e realizaram lavagem da coluna empacotada com o objetivo de solucionar o problema de obstrução. O desempenho do sistema melhorou significativamente com a lavagem *in situ*. Foi alcançada conversão completa de 600 g L^{-1} de glicose. O sistema foi mantido em operação por 60 dias com produtividade de $15 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Taylor *et al.* (1997) avaliaram os efeitos da concentração de etanol e da temperatura do arraste gasoso na velocidade específica de crescimento (μ) e no coeficiente de rendimento celular ($Y_{X/S}$) em fermentador contínuo de 14 L. Os autores relataram que a produtividade em etanol no fermentador variou de 14 a $17 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e o coeficiente de rendimento em etanol foi igual ao máximo teórico possível ($0,511 \text{ g}_{\text{etanol}} \text{ g}^{-1}_{\text{glicose}}$). O coeficiente de rendimento celular diminuiu com o aumento da concentração de etanol. Foram propostos modelos lineares

empíricos que descreveram os efeitos sobre μ e $Y_{X/S}$ dentro dos intervalos de 46 a 60 g L⁻¹ para o etanol e de 35,1 a 38,3°C para a temperatura do arraste gasoso.

Taylor *et al.* (1998) operaram por 185 dias uma planta piloto com fermentador de 30 L integrado a coluna empacotada para arraste gasoso de etanol. Foram realizadas lavagens *in situ* durante a fermentação com o próprio etanol condensado do processo (45% v v⁻¹) para controle de incrustações. Foram obtidos consumo de glicose de 800 g h⁻¹, produção de etanol condensado de 26 L dia⁻¹ e coeficiente de rendimento em etanol de 0,50 g g⁻¹. A combinação dos resultados do fermentador de 30 L com os resultados do fermentador de 14 L, previamente obtidos por Taylor *et al.* (1997) permitiu a obtenção de um modelo não linear que descreveu o efeito da concentração de etanol até 65 g L⁻¹ sobre o coeficiente de rendimento celular. Em outro trabalho, Taylor *et al.* (2010) avaliaram o desempenho de um fermentador contínuo de 70 L alimentado com xarope de amido de milho com alto teor de sólidos acoplado a uma coluna para arraste gasoso de etanol com CO₂. O sistema foi operado durante 60 dias, alcançando conversão de 95% de amido e rendimento em etanol de 88% do máximo teórico.

2.2.2.2. Fermentações ABE e IBE

Ezeji *et al.* (2003) estudaram a fermentação acetona-butanol-etanol (ABE) por *Clostridium beijerinckii* BA101 em biorreator de 2 L. Foi utilizado um sistema integrado de produção em batelada e recuperação por arraste gasoso com CO₂ e H₂. No ensaio em que não foi utilizado arraste foi reportada produção total de ABE de 17,7 g L⁻¹, produtividade de 0,29 g L⁻¹ h⁻¹ e consumo de glicose de 45,4 g L⁻¹. No processo integrado foram consumidos 161,7 g L⁻¹ de glicose e a produção total de ABE alcançou 75,9 g L⁻¹ com produtividade de 0,60 g L⁻¹ h⁻¹.

Xue *et al.* (2012) empregaram arraste gasoso com CO₂ e H₂ produzidos na fermentação ABE em biorreator de leito fibroso para obtenção de altas concentrações de butanol utilizando *Clostridium acetobutylicum* JB200. Na fermentação em batelada sem arraste, foi produzido o montante final de 19,1 g L⁻¹ de butanol com consumo de 86,4 g L⁻¹ de glicose em 78 h. A produtividade e o coeficiente de rendimento em butanol alcançados foram 0,24 g L⁻¹ h⁻¹ e 0,21 g g⁻¹, respectivamente. Por outro lado, quando foi aplicado arraste em batelada alimentada, 113,3 g L⁻¹ de butanol foram produzidos com consumo de 474,9 g L⁻¹ de glicose. Nesta condição foram obtidos rendimento de 0,24 g g⁻¹ e produtividade de 0,35 g L⁻¹ h⁻¹ de etanol. Comparado ao processo convencional, os autores concluíram que o sistema utilizado tem o potencial de reduzir em pelo menos 90% o consumo de energia e água. Em outro trabalho, Xue *et al.* (2013) melhoraram o sistema de recuperação de butanol empregando sistema de arraste

gasoso de dois estágios. O primeiro estágio resultou em um condensado contendo $175,6 \text{ g L}^{-1}$ de butanol ($227,0 \text{ g L}^{-1}$ de ABE). Após a separação das fases, a fase orgânica foi coletada e a fase aquosa contendo $101,3 \text{ g L}^{-1}$ de butanol foi submetida ao segundo estágio, resultando em um produto final com $420,3 \text{ g L}^{-1}$ de butanol ($532,3 \text{ g L}^{-1}$ de ABE). Esta concentração foi 20 vezes maior que a alcançada na fermentação ABE convencional.

De Vrije *et al.* (2013) estudaram a remoção de isopropanol, butanol e etanol (IBE) durante fermentação com *Clostridium beijerinckii* utilizando arraste gasoso com N_2 . Foi utilizada como substrato uma mistura de glicose/xilose, simulando hidrolisados lignocelulósicos. A remoção dos compostos foi suficiente para aliviar os efeitos de inibição nos cultivos contínuos e em batelada, resultando em maior produtividade.

2.2.2.3. Produção de etanol da sacarose

Os estudos de arraste gasoso aplicados em processos fermentativos para produção de etanol a partir da sacarose da cana-de-açúcar são mais recentes. Sonogo *et al.* (2014) estudaram a produção de etanol a partir da sacarose por fermentação extrativa em batelada aplicando CO_2 como gás de arraste em biorreator coluna de bolhas de 5 L. Inicialmente, utilizando soluções hidroalcoólicas contendo 80 g L^{-1} ($10\% \text{ v v}^{-1}$), foi investigada a influência da vazão específica de CO_2 e da temperatura da solução na remoção de etanol e água. A condição de $2,0 \text{ vvm}$ e $34 \text{ }^\circ\text{C}$ foi a que proporcionou o melhor resultado em termos de remoção de etanol. Na fermentação extrativa foi obtida produtividade 25% maior em comparação com a convencional. No modelo utilizado pelos autores para representar a fermentação extrativa foi levada em consideração a remoção de água e etanol do caldo fermentativo. Em outro estudo, Sonogo *et al.* (2016) avaliaram a produção de etanol por fermentação extrativa com CO_2 em batelada alimentada empregando diferentes condições de concentração de sacarose no mosto de alimentação ($180, 200, 220$ e 240 g L^{-1}), tempo de enchimento (3 e 5 h) e tempo de início do arraste gasoso (3 e 5 h). Iniciando o arraste após 3 h e com tempo de enchimento de 5 h foi possível reduzir consideravelmente os efeitos inibitórios tanto pelo etanol quanto pelo substrato e alcançar conversão completa de 240 g L^{-1} de açúcar após 12 h. A produção total de etanol alcançou $110,3 \text{ g L}^{-1}$ ($\sim 14\% \text{ v v}^{-1}$), valor 33% superior que o da fermentação convencional. Recentemente, Sonogo *et al.* (2018) otimizaram a fermentação extrativa com CO_2 em batelada alimentada empregando mosto com concentração de sacarose de 300 g L^{-1} . Foram alcançadas produtividade de $8,6 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e produção total (etanol presente na dorna somado ao etanol removido por arraste) de etanol de $136,9 \text{ g L}^{-1}$ ($17,2 \text{ }^\circ\text{GL}$), valor 65% maior que na fermentação convencional, sem arraste.

Utilizando melação, substrato utilizado nas destilarias brasileiras, Ponce *et al.* (2016) avaliaram o emprego do arraste gasoso na fermentação em batelada em reator com volume útil de 2 L impondo diferentes concentrações iniciais de substrato (170 e 250 g L⁻¹) e vazão de gás (4 e 6 L min⁻¹). A concentração de etanol foi mantida abaixo dos níveis tóxicos nas fermentações, não ultrapassando 60 g L⁻¹ e o açúcar foi consumido quase completamente, até mesmo na condição de maior concentração inicial.

De modo geral, os estudos abordados anteriormente mostraram que o emprego do arraste gasoso em processos fermentativos reduz os efeitos inibitórios do produto, trazendo benefícios para o processo, como aumento da produtividade em produto e conversão completa de maiores quantidades de substrato. Portanto, no contexto das destilarias brasileiras, o arraste gasoso é uma tecnologia promissora uma vez que possibilita a alimentação de mostos mais concentrados de ART, permitindo a redução de custos energéticos com a destilação, a utilização de dornas de menores volume e, principalmente, a redução do volume de vinhaça gerada. Por outro lado, para que a utilização do arraste gasoso na fermentação alcoólica seja viabilizada, é necessário buscar métodos eficientes e economicamente viáveis para recuperar o etanol removido pelo CO₂. O foco principal da presente tese foi preencher esta lacuna, avaliando a utilização da absorção como método de recuperação de etanol e viabilizando a sua integração com a etapa de fermentação extrativa.

2.3. Métodos para recuperação de etanol

Diferentes métodos podem ser empregados para recuperação do etanol da mistura gasosa resultante do arraste gasoso, os quais incluem adsorção, condensação, permeação de vapor e absorção. Na literatura são encontrados poucos estudos com esta abordagem. Adsorção foi utilizada por Hashi *et al.* (2010), que avaliaram o desempenho de diferentes adsorventes. O carvão ativado (WV-B 1500) apresentou alta capacidade de adsorção (~0,5 g_{etanol} g_{adsorvente}⁻¹) e foi o mais seletivo ao etanol em relação à água e CO₂. Ponce *et al.* (2016) recuperaram o etanol removido por arraste com CO₂ durante fermentações extrativas utilizando um simples condensador. Embora possam apresentar boa eficiência na recuperação do etanol, os métodos de adsorção e condensação não são viáveis para implementação em larga escala, devido aos custos elevados com adsorventes e consumo de energia durante a operação dos condensadores para manutenção de temperaturas abaixo de zero. Outra alternativa poderia ser a utilização de membranas para permeação do vapor. Gaykawad *et al.* (2017), por exemplo, mostraram que a técnica é eficiente para recuperar o etanol arrastado pelo CO₂ produzido na fermentação alcoólica. No entanto, custos com membranas e produção de vácuo ainda inviabilizam a

aplicação da técnica em larga escala. Por fim, a absorção demonstra ser a opção mais atraente para aplicação em escala industrial, uma vez que os equipamentos são, normalmente, de simples instalação e operação (TREYBAL, 1980a). Ademais, algumas destilarias brasileiras utilizam dispositivos para lavagem do gás de saída dos fermentadores, a fim de evitar perdas de etanol arrastado pelo CO₂ produzido durante a fermentação. De forma análoga, uma unidade de absorção poderia ser instalada em uma planta industrial para recuperar o etanol removido durante a fermentação por arraste gasoso.

2.4. Absorção

Absorção é uma operação na qual uma mistura gasosa entra em contato com um líquido absorvente de modo que ocorra, preferencialmente, a dissolução de um ou mais componentes (soluto) do gás no líquido. Richardson *et. al* (2002) destaca que esta é a segunda maior operação unitária da Engenharia Química, sendo baseada na transferência de massa na interface, controlada pela difusão. Usualmente, a absorção é aplicada visando apenas a recuperação ou remoção do soluto de interesse. A posterior separação do soluto do absorvente pode demandar técnicas mais elaboradas, como destilação fracionada, ou simplesmente ser feita borbulhando um gás inerte no absorvente. A absorção é similar ao arraste gasoso, diferenciando apenas na direção do transporte de massa, que ocorre do gás para o líquido (TREYBAL, 1980b).

Processos de absorção podem ser convenientemente divididos em dois grupos: aqueles em que o fenômeno é puramente físico (absorção física) e aqueles em que o soluto reage quimicamente com o absorvente (absorção química). Nos casos mais simples de absorção, o gás contém apenas um constituinte solúvel e o absorvente líquido não se vaporiza. Isto ocorre, por exemplo, na lavagem da mistura gasosa ar-amônia utilizando água à temperatura ambiente. A amônia é solúvel na água, enquanto o ar é praticamente insolúvel. Assim, a amônia é transferida da mistura gasosa para a fase líquida até que sua concentração entre em equilíbrio com a da fase gasosa. Alcançado o equilíbrio, não há mais transferência efetiva de massa (MCCABE *et al.*, 1998). No entanto, a maioria das aplicações práticas são casos mais complexos, nos quais as fases são constituídas de mais de um componente e parte do absorvente pode se vaporizar (TREYBAL, 1980b).

2.4.1. Equipamentos de absorção

Os equipamentos para absorção são geralmente torres cilíndricas, denominadas absorvedores ou colunas, que proporcionam o contato entre gás e líquido. O desempenho destes

equipamentos depende da eficiência com que eles promovem o contato entre as duas fases. Os absorvedores mais comuns são as colunas de pratos e de recheio, que possuem elementos internos para promover melhor transferência de massa. Embora menos frequentes, existem também colunas de bolhas, de paredes molhadas e rotativas (RICHARDSON *et al.*, 2002; PERRY e GREEN, 2008a).

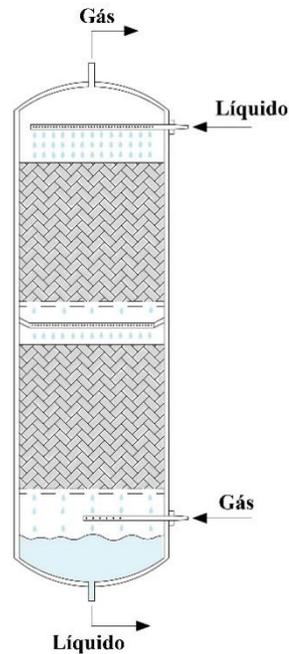
2.4.1.1. Colunas de recheio

A **Figura 2.2** apresenta um desenho ilustrativo de uma coluna de recheio. O líquido absorvente é introduzido no topo da coluna por um distribuidor, proporcionando um escoamento uniforme e formando um filme sobre a superfície do recheio. O gás é introduzido na parte inferior e flui de forma ascendente através do recheio molhado, entrando em contato com o líquido. A coluna pode apresentar uma ou mais seções de recheio, dependendo da altura da mesma. Cada seção é suportada por um prato projetado para ter pelo menos 75% de área livre para a passagem do gás. Antes de passar pela próxima seção, o líquido da coluna é misturado com líquido fresco e passa por um redistribuidor, o que é essencial para otimizar o uso do recheio (RICHARDSON *et al.*, 2002; PERRY e GREEN, 2008a). A altura das seções de recheio também é um importante parâmetro a ser considerado no projeto de colunas. Segundo Seader *et al.* (2011), se a altura do recheio for superior a 6 m, o líquido tende a escoar próximo à parede e o gás pelo centro da coluna, reduzindo significativamente a área interfacial de contato gás-líquido e a eficiência do processo.

Segundo Treybal (1980a), o recheio deve apresentar as seguintes características: elevada área superficial específica (área superficial por unidade de volume) a fim de maximizar a área interfacial gás-líquido; elevada fração de espaço vazio, reduzindo a resistência ao escoamento ascendente do gás e, assim, melhorando a capacidade de empacotamento e reduzindo a perda de carga; estrutura resistente, permitindo fácil manuseio e instalação; quimicamente inerte em relação aos fluidos utilizados e; baixo custo. Convenientemente, eles podem ser divididos em três classes: aleatórios, estruturados e grades. Os recheios aleatórios são peças com forma geométrica específica distribuídas de forma aleatória no interior da coluna. Historicamente, existem três gerações na evolução desses recheios. Na primeira geração, foram produzidos os anéis de Rashing e selas de Berl. Apesar de não serem especificados nas práticas atuais, eles serviram como base para a elaboração dos recheios da segunda geração, os anéis de Pall e as selas de Intalox, ainda comumente empregados. As várias formas geométricas (anéis de Nutter, minianéis, Hy-Paks) que têm surgido desde então, constituem a terceira geração (PERRY e GREEN, 2008a). A maioria destes recheios estão disponíveis na forma de diversos materiais,

tais como cerâmicos, metais, vidros, plásticos e borracha (RICHARDSON *et al.*, 2002).

Figura 2.2 - Desenho esquemático de uma coluna de recheio.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

O tamanho do recheio empregado influencia a altura e diâmetro da coluna, a perda de carga e os custos. A utilização de recheios de tamanhos maiores pode reduzir o custo por unidade de volume de recheio e a perda de carga por unidade de altura de recheio. Em contrapartida, a transferência de massa pode ficar comprometida, o que demandaria uma coluna de maior altura e aumentaria os custos globais. Assim, é importante avaliar as variáveis principais a fim de encontrar a configuração que proporcione o melhor custo benefício. Normalmente, em colunas com recheios aleatórios, o tamanho do recheio não deve exceder $1/8$ do diâmetro da coluna (RICHARDSON *et al.*, 2002).

Os recheios estruturados são constituídos de lâminas metálicas corrugadas dispostas verticalmente. O tamanho da ranhura, define a abertura entre as lâminas adjacentes. Pequenas ranhuras originam aberturas mais estreitas, o que aumenta o número de lâminas por unidade de volume e melhora a eficiência do recheio. Por outro lado, a resistência ao escoamento de gás é aumentada e a coluna se torna mais susceptível a problemas de entupimento. Em cada elemento de recheio, as lâminas corrugadas são, geralmente, inclinadas em 45° em relação à vertical. Este ângulo é grande o suficiente para a boa drenagem do líquido, evitando zonas estagnadas e de acumulação de líquido, e pequena o suficiente para garantir o contato do gás com toda a superfície metálica. Ademais, as lâminas podem conter orifícios que servem como canais de

acesso entre as superfícies superior e inferior de cada lâmina, proporcionando um escoamento uniforme de líquido em ambos os lados e melhorando a transferência de massa gás-líquido (RICHARDSON *et al.*, 2002; PERRY e GREEN, 2008a).

Na prática, recheios aleatórios e estruturados são mais empregados. Os recheios de grade, embora sejam menos usuais, podem ser utilizados em colunas de seção quadrada como, por exemplo, torres de resfriamento, podendo ser confeccionados em madeira, plásticos ou materiais cerâmicos. Estes recheios proporcionam baixas perdas de carga, são fáceis de confeccionar e permitem o emprego de fluidos com sólidos suspensos. A principal limitação é a dificuldade de obter boa distribuição de líquido em vazões elevadas, uma vez que o líquido tende a escorrer de uma grade para a outra sem a formação de gotas finas, que são desejáveis para o alcance de elevadas áreas interfaciais (RICHARDSON *et al.*, 2002).

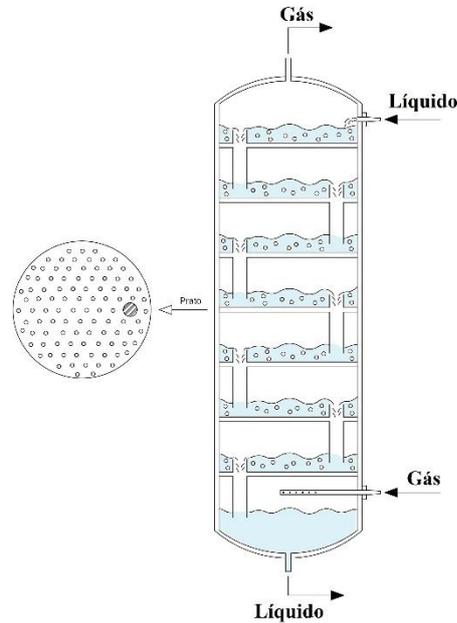
Chiang *et al.* (2009) estudaram a absorção de etanol em soluções aquosas de glicerol utilizando coluna de recheio rotativa. O coeficiente volumétrico de transferência de massa na fase gasosa (k_{GA}) aumentou com o aumento da velocidade de rotação e vazão de gás e solvente, mas diminuiu com o aumento da viscosidade do líquido. Os autores compararam os valores de k_{GA} obtidos para o dispositivo rotativo com valores de k_{GA} para colunas de recheio convencionais estimados com base em correlações. Os resultados mostraram que o k_{GA} pode ser aumentado em até 193 vezes com o emprego da coluna rotativa, especialmente para líquidos mais viscosos. Heymes *et al.* (2006) empregaram diferentes tipos de solventes orgânicos para avaliar a absorção de tolueno em coluna de recheio. Foram testadas quatro classes de compostos: polietileno glicóis, ftalatos, adipatos e óleo de silicone. O composto di(2-etilhexil) adipato foi o que apresentou as melhores características para a absorção: menor viscosidade, menor pressão de vapor, menor coeficiente de atividade e maior coeficiente de difusão para o tolueno.

2.4.1.2. Colunas de pratos

Na **Figura 2.3** é apresentado um esquema ilustrativo de uma coluna de pratos. Neste tipo de absorvedor, o líquido absorvente entra pela parte superior do dispositivo e o gás pela parte inferior, formando um escoamento em contracorrente. O contato gás-líquido ocorre em discos perfurados, denominados pratos. O gás flui ascendentemente através dos orifícios, formando uma zona de borbulhamento no líquido presente nos pratos. O líquido, por sua vez, escoar de um prato a outro por gravidade através de uma saída lateral. A velocidade do gás impede que o líquido escoar através dos orifícios. O líquido enriquecido com o soluto absorvido é retirado da coluna pela parte inferior (RICHARDSON *et al.*, 2002; PERRY e GREEN,

2008a).

Figura 2.3 - Desenho esquemático de uma coluna de pratos.

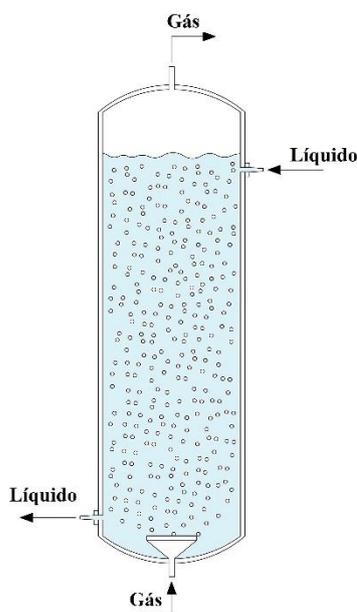


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

2.4.1.3. Colunas de bolhas

Absorvedores do tipo coluna de bolhas consistem, basicamente, de um vaso cilíndrico vertical preenchido com líquido absorvente no qual gás é borbulhado por meio de um aspersor, como é mostrado na **Figura 2.4**. Gás e líquido, normalmente, fluem em contracorrente. Estes equipamentos são capazes de fornecer elevadas áreas de contato e são de fácil construção e operação (NAKANO e YOSHIDA, 1980). Por outro lado, a perda de carga na coluna costuma ser alta devido à altura do líquido, além de serem alcançados apenas um ou dois estágios teóricos de equilíbrio. Este absorvedor é utilizado em situações onde são requeridos tempos de residência altos, como por exemplo em reações químicas lentas ou quando o soluto apresenta baixa solubilidade no líquido (SEADER *et al.*, 2011). Além de absorvedores, as colunas de bolhas podem ser empregadas como reatores e fermentadores em processos químicos, petroquímicos e bioquímicos (KANTARCI *et al.*, 2005).

Figura 2.4 - Desenho esquemático de um absorvedor do tipo coluna de bolhas.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A maioria dos estudos de absorvedores do tipo coluna de bolhas avalia a influência das propriedades físicas (viscosidade, densidade e tensão superficial) do absorvente na transferência de massa. Nakanoh e Yoshida (1980) utilizaram um absorvedor coluna de bolhas de 18 L para obtenção de dados experimentais de absorção do oxigênio em líquidos Newtonianos e não-Newtonianos. A partir dos resultados, os autores propuseram correlações empíricas para o coeficiente volumétrico de transferência de massa na fase líquida (k_{LA}).

Álvarez *et al.* (2000) investigaram a absorção de CO_2 em soluções aquosas de sacarose e lauril sulfato de sódio (surfactante) em coluna de bolhas de 10 L. Foi estudada a influência da vazão de CO_2 e das propriedades físicas da fase líquida. Variações na viscosidade e tensão superficial foram alcançadas manipulando as concentrações de sacarose ($0-85,7 \text{ g L}^{-1}$) e do surfactante ($0-0,005 \text{ \% m m}^{-1}$). Os resultados mostraram que a transferência de massa melhorou com o aumento da velocidade superficial do gás. No entanto, o processo foi influenciado de forma negativa pelo aumento nas concentrações de sacarose e surfactante, que ocasionou aumento na viscosidade e redução na tensão superficial da fase líquida. Os autores também propuseram uma correlação para o coeficiente volumétrico de transferência de massa na fase líquida (k_{LA}) baseada nos parâmetros estudados. O modelo proposto reproduziu os valores de k_{LA} experimentais com erro inferior a 10%.

Álvarez *et al.* (2008), estudaram a absorção de CO_2 em soluções aquosas contendo surfactante em coluna de bolhas de 10 L. No estudo foi levada em consideração a influência das vazões de gás e líquido, tamanho da bolha e concentração de surfactante. As vazões de gás

e líquido influenciaram de forma positiva, aumentando os valores do coeficiente volumétrico de transferência de massa. Os efeitos do tamanho da bolha foram avaliados empregando três tipos de aspersores de gás com orifícios de diferentes diâmetros. O aspersor com orifícios menores melhorou a transferência de massa com a produção de bolhas menores e consequente aumento da área interfacial. Com relação a influência do surfactante, os autores observaram dois efeitos opostos. A presença do surfactante em concentrações baixas melhorou a transferência de massa devido ao aumento da turbulência interfacial. Por outro lado, em concentrações elevadas o surfactante influenciou de forma negativa, afetando a formação e a coalescência de bolhas e aumentando a resistência à transferência de massa.

Gómez-Díaz *et al.* (2009) investigaram a absorção de CO₂ em soluções não-Newtonianas do polímero carragenina empregando coluna de bolhas. O aumento da vazão de CO₂ provocou maior turbulência próximo à interface, melhorando a transferência de massa para a fase líquida. Em contrapartida, o aumento na concentração da carragenina influenciou negativamente na transferência de massa. A presença do polímero aumentou a viscosidade na fase líquida, reduzindo a área interfacial e aumentando a resistência ao transporte de massa.

2.4.1.4. Colunas de paredes molhadas

A coluna de paredes molhadas consiste em um tubo vertical, no qual o absorvente flui de forma descendente pela parede, formando um filme. O gás por sua vez, escoar de forma ascendente pelo espaço no centro da coluna. A velocidade de transferência de massa na fase líquida é altamente dependente das condições da superfície do filme. Na condição de escoamento laminar, a transferência de massa pode ser deficiente. Por outro lado, quando ondas são formadas no filme, a velocidade de regeneração do líquido na superfície do filme é elevada, resultando no melhoramento da transferência de massa. A principal vantagem destes absorvedores são as grandes áreas superficiais abertas disponíveis para transferência de calor para baixas velocidades de transferência de massa (PERRY e GREEN, 2008a). Apesar de não serem comuns em aplicações industriais, estas colunas têm sido utilizadas em alguns trabalhos para avaliar a influência de importantes fatores, sendo úteis como base para o desenvolvimento de correlações aplicáveis para colunas de recheio (RICHARDSON *et al.*, 2002). Cardoso *et al.* (2018) avaliaram a absorção de etanol em soluções aquosas de MEG, DEG e glicerol empregando coluna de paredes molhadas e obtiveram elevadas eficiências de recuperação.

2.4.2. Seleção do absorvente

Os absorventes mais utilizados são água, óleos e soluções aquosas de ácidos e bases (SEADER *et al.*, 2011). Geralmente, utiliza-se água para gases com solubilidade alta em água e óleos para hidrocarbonetos leves. Para gases ácidos, tais como CO₂, SO₂ e H₂S são empregados solventes químicos mais específicos (PERRY e GREEN, 2008a). Segundo Treybal (1980b), as características mais importantes a serem consideradas na seleção do absorvente são:

- a) solubilidade para o soluto: é desejável que seja elevada, resultando no aumento da velocidade de absorção e na redução da quantidade de solvente requerido. Solventes quimicamente similares ao soluto, frequentemente, proporcionam boa solubilidade. Na absorção com reação química, a solubilidade tende a aumentar e caso seja necessária a reutilização do solvente, a reação deve ser reversível;
- b) volatilidade: deve ser baixa a fim de minimizar perdas por arraste pelo gás de saída. A perda de solvente pode ser onerosa além de ocasionar problemas de contaminação ambiental. Em alguns casos, é necessária a aplicação de um segundo líquido menos volátil para recuperar o primeiro. Acredita-se que sejam necessários absorventes com pontos de ebulição de cerca de 250°C para minimizar a contaminação do gás de saída (SMALLWOOD, 2002);
- c) corrosividade: deve ser baixa para não danificar o sistema. Os materiais empregados para a construção do equipamento devem, preferencialmente, ser resistentes à corrosão.
- d) custo: o solvente deve apresentar baixo custo para que o impacto econômico da reposição frente a eventuais perdas seja minimizado.
- e) viscosidade: a utilização de solventes com baixa viscosidade proporciona velocidades de absorção mais elevadas, minimiza problemas de afogamento (acumulo excessivo de líquido no interior da coluna), melhora a transferência de calor e massa e resulta em menor perda de carga ao longo da coluna.

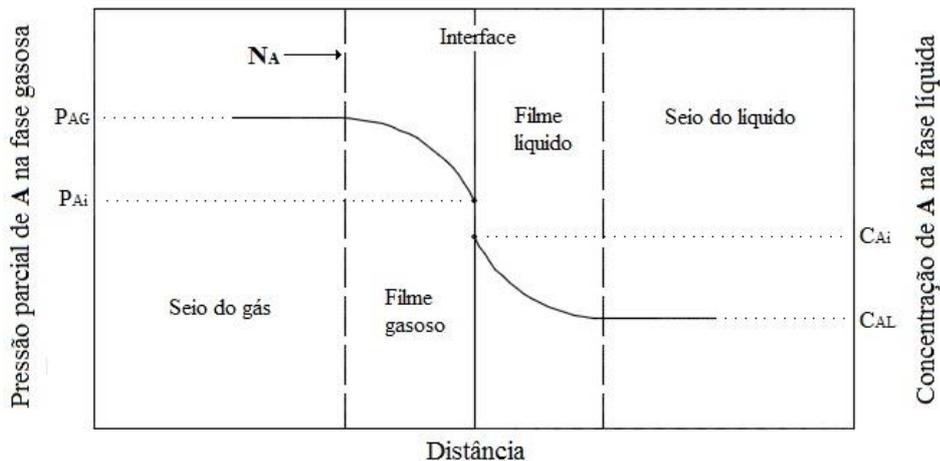
Seader *et al.* (2011) ainda destacam que o absorvente ideal deve ser quimicamente estável, inerte, não-inflamável, não-tóxico, facilmente disponível (se possível, dentro do processo) e apresentar baixa formação de espuma. Na prática não é simples encontrar um solvente que apresente todas as características mencionadas. Treybal (1980b) acrescenta que em operações de absorção cujo objetivo é produzir alguma solução específica, como na produção do ácido clorídrico, a escolha do solvente está atrelada à natureza do produto. Quando o propósito é a remoção de alguns dos constituintes do gás, alguma escolha é frequentemente possível. Nesta situação, deve ser dada prioridade àqueles solventes com alta solubilidade para

o soluto, visando reduzir a quantidade de solvente circulado no processo. Mas ao mesmo tempo deve-se optar por solventes de baixo custo, visto que o gás de saída, normalmente, está saturado com solvente, o que pode implicar em perdas onerosas (PERRY e GREEN, 2008a).

2.4.3. Transferência de massa em processos de absorção

A teoria das duas películas estagnadas de Whitman (1962) é a mais utilizada para representar o mecanismo de transferência de massa de um soluto da fase gasosa para a fase líquida. De acordo com esta teoria, em ambos os lados da interface gás-líquido existe um filme fino de fluido estagnado, através do qual a transferência de massa ocorre puramente por difusão molecular. Os perfis de concentração do componente A dentro de cada fase são ilustrados na **Figura 2.5**. A pressão parcial de “A” no seio do gás (P_{AG}) decresce até alcançar a pressão parcial na interface (P_{Ai}). No líquido, a concentração de “A” na interface (C_{Ai}) é reduzida até a concentração no seio do líquido (C_{AL}). A teoria ainda estabelece que a resistência à transferência de massa está toda centrada nos filmes. Na interface a resistência é desprezível e, conseqüentemente, P_{Ai} e C_{Ai} podem ser consideradas composições de equilíbrio.

Figura 2.5 - Perfis de concentração do componente A nas fases gasosa líquida segundo a teoria das duas películas estagnadas. P_{AG} representa a pressão parcial de A no seio da fase gasosa, P_{Ai} a pressão parcial de A na interface, C_{AL} a concentração de A no seio da fase líquida e C_{Ai} a concentração de A na interface.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Assumindo estado estacionário, a velocidade com que o soluto A alcança a interface a partir do seio do gás deve ser igual à velocidade com que ele se difunde para o seio do líquido. O fluxo molar de A (N_A) em cada fase pode ser escrito em termos de coeficientes de transferência de massa e variações de concentração apropriados de acordo com as Equações 2.9 e 2.10.

$$N_A = k_G(P_{AG} - P_{Ai}) \quad (2.9)$$

$$N_A = k_L(C_{Ai} - C_{AL}) \quad (2.10)$$

onde k_G e k_L são os coeficientes individuais baseados nos filmes gasoso e líquido, respectivamente.

Experimentalmente é possível obter amostras e determinar a concentração do soluto no seio dos fluidos (P_{AG} e C_{AL}). No entanto, não existem metodologias de amostragem que permitam a obtenção de dados da composição na interface (P_{Ai} e C_{Ai}). Dessa forma, o fluxo molar de A pode ser, convenientemente, expresso em termos dos coeficientes globais de transferência de massa, conforme as Equações 2.11 e 2.12.

$$N_A = K_G(P_{AG} - P_A^*) \quad (2.11)$$

$$N_A = K_L(C_A^* - C_{AL}) \quad (2.12)$$

onde K_G é o coeficiente global baseado no filme gasoso, P_A^* a pressão parcial de A no gás em equilíbrio com C_{AL} , K_L o coeficiente global baseado no filme líquido e C_A^* a concentração de A no líquido em equilíbrio com P_{AG} .

De forma análoga, o fluxo molar de A pode ser expresso em termos de frações molares e de coeficientes globais de transferência de massa apropriados, conforme as Equações 2.13 e 2.14 (RICHARDSON *et al.*, 2002).

$$N_A = K_y(y_A - y_A^*) \quad (2.13)$$

$$N_A = K_x(x_A^* - x_A) \quad (2.14)$$

onde K_y representa o coeficiente global baseado no filme gasoso definido em termos de frações molares, y_A a fração molar de A na fase gasosa, y_A^* a fração molar de A no gás em equilíbrio com x_A , K_x o coeficiente global baseado no filme líquido, definido em termos de frações molares, x_A^* a fração molar de A no líquido em equilíbrio com y_A e x_A a fração molar de A na fase líquida.

Na maioria das aplicações industriais que envolvem transferência de massa gás-líquido a área interfacial é irregular e desconhecida. Nessas situações é conveniente definir um coeficiente volumétrico de transferência de massa, incorporando a ele a área interfacial (a) por unidade de volume. Assim, a velocidade com que o soluto A é transferido para cada fase (r_A)

pode ser definida de acordo com as Equações 2.15 e 2.16, ou em termos de frações molares, conforme as Equações 2.17 e 2.18 (DORAN, 1995; BIRD *et al.*, 2007).

$$r_A = K_G a (P_{AG} - P_A^*) \quad (2.15)$$

$$r_A = K_L a (C_A^* - C_{AL}) \quad (2.16)$$

onde K_{GA} e K_{LA} representam os coeficientes volumétricos globais baseados nos filmes gasoso e líquido, respectivamente.

$$r_A = K_y a (y_A - y_A^*) \quad (2.17)$$

$$r_A = K_x a (x_A^* - x_A) \quad (2.18)$$

onde K_{ya} e K_{xa} representam os coeficientes volumétricos globais baseados nos filmes gasoso e líquido, respectivamente, definidos em termos de frações molares.

2.4.4. Equilíbrio líquido vapor (ELV)

É comum na Engenharia Química situações onde é necessário a aplicação de conceitos de equilíbrio líquido vapor. Absorção é um exemplo clássico de operação unitária em que esses conceitos são fundamentais. A absorção tem como princípio a separação de componentes de uma mistura através do contato entre as fases líquida e vapor. Obviamente, se as fases estiverem em equilíbrio termodinâmico não haverá transferência de massa entre as fases. No entanto, a quantificação deste equilíbrio é necessária, pois a velocidade de transferência de massa depende da distância para o equilíbrio em cada fase, como mostra as equações baseadas na teoria das duas películas (WHITMAN, 1962) descritas anteriormente. Portanto, é conveniente considerar os fenômenos de difusão e equilíbrio ao mesmo tempo. Quanto maior o gradiente de concentração, maior a distância para o equilíbrio e mais rápida é a transferência de massa.

2.4.4.1. Regra das fases de Gibbs

A regra das fases de Gibbs (SMITH *et al.*, 2005) é representada pela seguinte equação:

$$GL = 2 - \pi + N \quad (2.19)$$

onde GL representa o número de graus de liberdade, π o número de fases do sistema e N o número de componentes do sistema.

Esta é uma equação muito útil para cálculos de equilíbrio de fases, pois indica o número

de variáveis que precisam ser especificadas (entre T, P e composições) para que o problema a ser resolvido tenha solução. No caso do equilíbrio líquido vapor π será sempre igual a 2 (uma fase vapor e outra líquida). Portanto, supondo um sistema com 3 componentes, segundo a Equação 2.19, 3 variáveis precisarão ser especificadas para o cálculo do equilíbrio líquido vapor. A regra das fases de Gibbs é extremamente útil, principalmente para situações mais complexas que envolvem sistemas multifásicos e multicomponentes.

2.4.4.2. Cálculo ELV

A base teórica para os cálculos de equilíbrio líquido vapor são os critérios de equilíbrio de Gibbs, que postulam que em um sistema multifásico e multicomponente em equilíbrio termodinâmico a energia livre de Gibbs deve ser mínima. Isto é o mesmo que dizer que temperatura (T) e pressão (P) são uniformes em todo sistema e o potencial químico (μ) é igual em todas as fases (TESTER e MODELL, 1997). Para o equilíbrio líquido vapor, estes critérios podem ser representados pelas seguintes expressões:

$$T^L = T^V = T \quad (2.20)$$

$$P^L = P^V = P \quad (2.21)$$

$$\mu_i^L = \mu_i^V; i = 1, N \quad (2.22)$$

onde N representa o número de componentes, os sobescritos “L” e “V” representam as fases líquida e vapor e o subscrito “i” representa o componente i.

O problema a ser resolvido no equilíbrio consiste em relacionar T, P e a composição das fases do sistema. Para isto é necessário relacionar μ_i^L com T, P e a fração molar do componente “i” na fase líquida (x_i) e μ_i^V com T, P e a fração molar do componente “i” na fase gasosa (y_i). Na prática, ao invés de usar potencial químico, o cálculo de equilíbrio é feito usando a definição de outra grandeza, a fugacidade (f_i) (TESTER e MODELL, 1997; POLING *et al.*, 2001), conforme a Equação 2.23, que é equivalente à Equação 2.22.

$$f_i^L = f_i^V; i = 1, N \quad (2.23)$$

Para relacionar a fugacidade com P, T e composição, é útil definir outra propriedade, o coeficiente de fugacidade (ϕ), dado pela Equação 2.24. Para gases ideais ou misturas de gases ideais $\phi = 1$. Para fluidos reais ϕ deve ser calculado integrando alguma Equação de Estado (PVT) adequada da pressão zero até a pressão do sistema.

$$\varphi_i^L = \frac{f_i^\alpha}{y_i^\alpha P} \quad (2.24)$$

onde o sobrescrito α representa a fase (líquida ou vapor).

Portanto, o cálculo do equilíbrio passa a ser a resolução da Equação 2.25. Na realidade, esta é uma das abordagens utilizadas, conhecida como método φ - φ (“fi-fi”). O principal inconveniente deste método é a dificuldade em encontrar uma Equação PVT que represente bem a mistura desde a pressão zero até a pressão do sistema para o cálculo de φ_i^L (integração deve ir do estado do gás ideal até o líquido saturado passando pelo vapor saturado e transição de fases). Poucas equações são precisas em toda esta faixa.

$$\varphi_i^V y_i = \varphi_i^L x_i \quad (2.25)$$

Dessa forma, é mais comum empregar outra abordagem para a fase líquida baseada na definição de coeficiente de atividade (γ), dado pela equação 2.26.

$$\gamma_i = \frac{f_i^L}{x_i f_i^0} \quad (2.26)$$

onde a_i é a atividade do componente i na mistura e f_i^0 é a fugacidade de referência.

Para obter f_i^0 devem ser adotadas referências para T , P e x_i . A referência para T é a temperatura do sistema. No caso de P , há três opções de referência: a) pressão do sistema; b) pressão de saturação do componente i à temperatura do sistema (P_{Si}); c) uma pressão fixa (geralmente 0 ou 1 atm). É comum adotar pressão do sistema como referência quando a temperatura do sistema não excede a temperatura crítica dos componentes do sistema (grande parte das aplicações). Para a composição existem duas referências: a) convenção simétrica ($\gamma_i \rightarrow 1$ quando $x_i \rightarrow 1$), na qual todos os componentes são condensáveis. A referência é a solução ideal de Lewis-Randall e f_i^0 é igual a fugacidade do componente i puro; b) convenção assimétrica ($\gamma_i \rightarrow 1$ quando $x_i \rightarrow 0$), na qual um ou mais componentes são incondensáveis (T de saturação muito menor que T do sistema). A referência é a solução ideal de Henry e f_i^0 é igual à constante de Henry do componente incondensável à diluição infinita no outro componente ($H_{i,j}$).

Quando a referência é a solução de Lewis-Randall e T e P do sistema, a fugacidade de referência pode ser determinada a partir da Equação 2.27, baseada na pressão de saturação para o componente i puro. O fator de correção de Pointing (FC) é uma expressão exponencial usado

para correção do efeito da pressão na fugacidade. A menos que a pressão seja muito elevada este efeito pode ser desprezado.

$$f_i^0 = P_{Si} \varphi_i^S(FC) \quad (2.27)$$

onde φ_i^S é o coeficiente de fugacidade do componente i no estado de vapor saturado.

O cálculo do equilíbrio passa a ser então a resolução da Equação 2.28. Este procedimento é conhecido como método γ - φ (“gama-fi”). É importante ressaltar que γ é função de T , P e x_i . No entanto, a influência de P pode ser desconsiderada na maioria das aplicações práticas, visto que se trata de uma fase líquida cuja compressibilidade é muitas vezes desprezada e as pressões de trabalho são geralmente baixas. Para casos extremos, existe um fator de correção de Pointing para γ .

$$y_i \varphi_i^V P = x_i \gamma_i P_{Si} \varphi_i^S(FC) \quad (2.28)$$

Quando a referência é a solução de Henry, a fugacidade de referência é determinada pela Equação 2.29 e o cálculo do equilíbrio pode ser então representado pela Equação 2.30.

$$f_i^0 = H_{i,j}(FC) \quad (2.29)$$

$$y_i \varphi_i^V P = x_i H_{i,j} \gamma_i^*(FC) \quad (2.30)$$

onde γ_i^* é o coeficiente de atividade do componente i segundo à convenção assimétrica (normalmente é considerado igual a 1).

Equações simplificadas para o cálculo ELV

Para a referência da solução de Lewis-Randall, supondo que a pressão do sistema seja baixa, ou seja, $FC = 1$, a Equação 2.28 pode ser simplificada para a Equação 2.31. Esta é a forma mais habitual de representar o equilíbrio líquido-vapor.

$$y_i \varphi_i^V P = x_i \gamma_i P_{Si} \varphi_i^S \quad (2.31)$$

Além de desprezar o efeito da pressão, outra situação consiste em supor que a fase vapor é ideal ($\varphi_i^V = 1$) e que o componente i puro no estado de vapor saturado se comporta como gás ideal ($\varphi_i^S = 1$). Neste caso a Equação 2.31 é simplificada para a Equação 2.32, conhecida como Lei de Raoult modificada (REID *et al.*, 1977; SMITH *et al.*, 2005).

$$y_i P = x_i \gamma_i P_{Si} \quad (2.32)$$

Lei de Raoult: se a fase líquida é considerada como a solução ideal de Lewis ($\gamma = 1$), pode ser dito que o sistema obedece à lei de Raoult (POLING *et al.*, 2001), representada pela Equação 2.33. Na prática nenhuma mistura real tem este comportamento, mas algumas podem aproximar dele como, por exemplo, quando os componentes da mistura são muito similares (benzeno e tolueno).

$$y_i P = x_i P_{Si} \quad (2.33)$$

Lei de Henry: a lei de Henry (POLING *et al.*, 2001; SMITH *et al.*, 2005) representada pela Equação 2.34 é utilizada para componentes incondensáveis, sendo uma simplificação da Equação 2.30, considerando que a fase vapor é ideal ($\phi_i^V = 1$), que o componente *i* apresenta baixa solubilidade ($\gamma_i^* = 1$) e desprezando a influência da pressão (pressões baixas, $FC = 1$).

$$y_i P = x_i H_{i,j} \quad (2.34)$$

Métodos para o cálculo de coeficientes de atividade (γ)

Da termodinâmica de soluções sabe-se que γ é por definição função do excesso da energia livre de Gibbs (G^E , diferença entre a energia livre de Gibbs da mistura e a energia livre de Gibbs que a mistura teria se fosse ideal). Portanto γ pode ser obtido a partir de um modelo para G^E para a fase líquida da mistura em questão. Os modelos mais usuais se baseiam neste princípio, apresentando parâmetros empíricos binários obtidos a partir de dados experimentais. Margules, van Laar, Wilson, NRTL (POLING, 2001) e UNIQUAC (ANDERSON e PRAUSNITZ, 1978) são exemplos de modelos que usam esta abordagem.

Outra abordagem são os modelos baseados em contribuições de grupo. O método UNIFAC é um exemplo clássico (FREDENSLUND *et al.*, 1977). Neste método, a molécula de cada componente é construída a partir de grupos funcionais tabelados, aos quais são atribuídos parâmetros característicos. Uma regra combinatória permite obter os parâmetros binários dos coeficientes de atividade para cada par de componentes. A grande vantagem deste método é que qualquer molécula pode ser representada, desde que se tenham seus grupos funcionais tabelados, o que reduz consideravelmente esforços experimentais.

2.5. Espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada

2.5.1. Fundamentos e aplicação em bioprocessos

Os métodos de análise espectroscópicos são baseados na quantificação da radiação eletromagnética (pacotes discretos de energia - fótons), emitida ou absorvida por moléculas ou espécies atômicas de interesse. Eles podem ser classificados de acordo com as regiões do espectro eletromagnético, que incluem raios γ , raios X, ultravioleta, visível, infravermelho (*infrared*, IR), micro-ondas e radiofrequência. Cada região cobre uma determinada faixa de comprimentos de onda ou frequência. Quanto maior a frequência, maior a energia que o fóton carrega. Um fóton de raio X, por exemplo, é 10.000 vezes mais energético que um fóton emitido por uma lâmpada comum (SKOOG *et al.*, 2006). A região do infravermelho compreende a faixa de comprimento de 780 a 1.000.000 nm e pode ser subdividida em três outras regiões, definidas como infravermelho próximo (*near infrared* - NIR, 780-2.500 nm), infravermelho médio (*mid infrared* - MIR, 2.500-25.000 nm) e infravermelho distante (*far infrared* - FIR, 25.000-1.000.000 nm) (TURKER-KAYA e HUCK, 2017).

As espécies moleculares presentes em amostras frequentemente se encontram no nível de energia mais baixo (fundamental). Quando a radiação eletromagnética emitida por uma determinada fonte incide sobre a amostra, as moléculas sofrem transição para um estado de energia maior (excitado). Assim, informações de interesse a respeito dessas moléculas podem ser obtidas medindo a radiação absorvida por elas decorrente da excitação ou a radiação emitida quando elas retornam ao estado fundamental. A espectroscopia IR em particular é baseada na medida da absorção. Cada molécula é capaz de absorver em frequências ou comprimentos de onda característicos, fazendo com que cada amostra tenha sua identidade. Os resultados dessas medidas são geralmente expressos por meio de espectros, que são gráficos da radiação absorvida (absorbância) em função do comprimento de onda (SKOOG *et al.*, 2006).

Os espectros de misturas que contém muitos compostos são conjuntos complexos de dados necessitando, portanto, de algum procedimento computacional para converter suas informações em dados de concentração, o que é chamado de calibração (SKOOG *et al.*, 2006; BRERETON, 2007). Modelos de calibração são funções matemáticas dos dados experimentais, sendo geralmente baseados na lei de Beer-Lambert, que descreve quantitativamente a atenuação da luz como função da concentração das moléculas absorventes e da extensão do caminho óptico onde ocorre a absorção. Para um dado caminho óptico, quanto maior for a concentração das espécies, maior será a atenuação e, portanto, a absorção (SKOOG *et al.*, 2006; BRERETON, 2007). A calibração mais simples, denominada univariada, consiste em determinar a

concentração em um único comprimento de onda, de acordo com a Equação 2.35 (BRERETON, 2007). Os modelos para a calibração multivariada são análogos à Equação 2.35, mas vários comprimentos de onda são considerados ao invés de um. Portanto, eles devem ser representados na forma matricial e geralmente fornecem estimativas mais precisas. Regressão Linear Múltipla (*Multiple Linear Regression*, MLR), Regressão de Componentes Principais (*Principal Components Regression*, PCR), Análise de Componentes Principais (*Principal Components Analysis*, PCA) e Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) são exemplos de métodos de regressão múltipla usados para análise de dados espectrais. Dentre estes métodos, o PLS é mais encontrado em estudos da literatura, sendo capaz de resolver a maioria dos problemas (BRERETON, 2007).

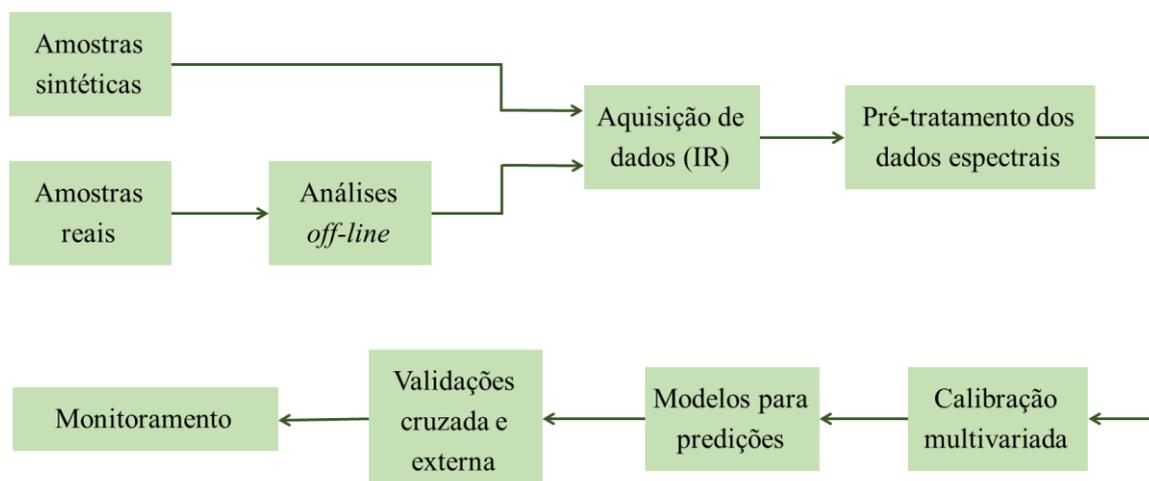
$$S = CK + E_A \quad (2.35)$$

onde S é a resposta do instrumento em um dado comprimento de onda do espectro, C é a concentração da espécie de interesse, K é parâmetro do modelo e E_A é o erro experimental não ajustado pelo modelo.

Dados para calibração podem ser levantados usando misturas sintéticas contendo as espécies químicas de interesse em várias concentrações de acordo com planejamentos experimentais ou a partir de amostras reais do processo em questão (BRERETON, 2007). Na maioria das aplicações, as soluções são constituídas de diversos compostos químicos, além daqueles que se deseja monitorar. Nestas circunstâncias, é mais coerente que a calibração seja feita a partir de amostras reais do processo uma vez que compostos indesejáveis podem absorver radiação em regiões do espectro comuns àquelas dos compostos de interesse (MORITA *et al.*, 2011; PINTO *et al.*, 2016).

Métodos analíticos convencionais como cromatografias líquida e gasosa geralmente requerem amostragem manual e envolvem procedimentos para preparação da amostra, o que pode implicar em custos elevados, riscos de contaminação e maior tempo de análise. Ademais, os métodos convencionais em sua maioria não possibilitam a aquisição de informações do processo em tempo real. Assim, técnicas analíticas mais modernas têm sido cada vez mais estudadas, principalmente para o monitoramento de processos bioquímicos que envolvem compostos presentes em misturas altamente complexas. Neste contexto, a utilização da espectroscopia IR combinada a algum método de calibração, como PLS, demonstra ser uma técnica interessante. Na **Figura 2.6** é apresentado um fluxograma que ilustra o princípio e as etapas da técnica.

Figura 2.6 - Fluxograma representativo do princípio de aplicação da técnica de espectroscopia de infravermelho (IR) associada à calibração multivariada para monitoramento de processos.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Estudos têm mostrado que esta estratégia é rápida, confiável, não destrutível e capaz de discriminar e quantificar compostos específicos em soluções complexas sem nenhuma ou com mínima preparação das amostras. Ademais, os custos são mais baixos que aqueles dos métodos convencionais e o processo pode ser monitorado em tempo real. A desvantagem é necessidade da aquisição off-line de dados para realizar a calibração. Pinto *et al.* (2016) usaram espectroscopia NIR associada com regressão PLS para monitorar a produção de etanol 2G a partir de resíduos lignocelulósicos da cana de açúcar (bagaço e palha). Os dados espectrais foram obtidos de um conjunto de 103 amostras de fermentação alcoólica e os modelos de calibração foram avaliados em diferentes métodos de pré-tratamento de dados. O método PLS-NIR permitiu monitorar de forma eficiente e precisa as concentrações de glicose e etanol durante o processo. Morita *et al.* (2011) utilizaram espectroscopia NIR para avaliar a produção de etanol a partir de xilose e glicose usando diferentes linhagens recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae*. Os modelos de regressão PLS desenvolvidos para os componentes de interesse permitiram determinar com precisão, o consumo dos substratos xilose e glicose e os rendimentos de etanol, glicerol e xilitol para todas as linhagens. Ademais, os resultados quantitativos facilitaram a diferenciação das linhagens de acordo com suas características fenotípicas e genotípicas. Hongqiang e Hongzhang (2008) utilizaram uma sonda de fibra óptica de espectroscopia NIR para monitorar algumas variáveis (teor de umidade, produção de biomassa e produção de celulases) da fermentação em estado sólido para produção de celulases por *Trichoderma reesei*. Os modelos foram elaborados usando 50 amostras e sem nenhum tipo de pré-processamento dos dados espectrais. Os valores preditos pelos modelos foram similares aos valores de referência obtidos com métodos químicos. Os autores destacaram que o método

foi rápido, não contaminante, não necessitou de tratamento prévio das amostras e eficiente, possibilitando a distinção entre conjuntos de materiais biológicos similares. Richard *et al.* (2011) também utilizaram NIR para monitoramento da reação de transesterificação de óleo de girassol com etanol catalisada por etóxido de sódio em um reator em batelada de 1 L. Uma sonda de imersão *on-line* foi utilizada para obter os espectros, dispensando coleta e preparo das amostras. O método foi combinado com a técnica de cromatografia gasosa, que serviu como referência para determinar a composição do meio reacional. A partir dos modelos de calibração obtidos foi possível monitorar de forma rápida e confiável o processo. A aplicação da espectroscopia IR também tem sido muito comum na produção de alimentos e bebidas, fornecendo informações cruciais em tempo real com o objeto de garantir a qualidade do produto final (WANG *et al.*, 2017). Cozzolino *et al.* (2012) avaliaram o uso das espectroscopias NIR e MIR para classificar vinhos vermelhos e brancos produzidos usando diferentes linhagens de *Oenococcus oeni*. Ambas as técnicas foram capazes de distinguir as variedades de vinho com precisão e rapidez. Buratti *et al.* (2011) mostraram que as espectroscopias NIR e MIR foram úteis para investigar alterações moleculares durante a fermentação para produção de vinho, fornecendo informações da qualidade do produto.

Nas destilarias brasileiras, dados de concentração durante as fermentações são obtidos usando métodos *off-line* convencionais. A concentração de etanol pode ser determinada por picnometria após a destilação das amostras de caldo (IUPAC, 1968), enquanto os açúcares por métodos colorimétricos. Alternativamente, técnicas cromatográficas têm sido empregadas nas análises. No entanto, essas técnicas são destrutivas e exigem amostragem e procedimentos de preparação manuais, o que dificulta a tomada de medidas corretivas em tempo hábil e o controle efetivo do processo. Portanto, é altamente desejável no setor o desenvolvimento de técnicas que possibilitem a obtenção de informações em tempo real sobre o status do processo de produção de etanol. Neste contexto, a técnica de infravermelho pode ser uma alternativa aos métodos convencionais para obtenção de dados de concentração, sendo este um dos objetos de estudo da presente tese.

2.5.2. Pré-processamento de dados espectrais

O pré-processamento de dados espectrais tem como objetivo remover matematicamente variações sistemáticas indesejáveis (ruídos) que possam alterar informações relevantes dos espectros, interferindo no resultado final (BRERETON, 2007). Os métodos mais comuns são os de suavização (média e média móvel) e derivação (primeira e segunda ordem), que são descritos na sequência.

A suavização pela média é baseada na utilização de janelas de comprimentos de onda. Os dados de uma janela são substituídos pela absorbância média correspondente ao comprimento de onda do centro daquela janela. Este procedimento é repetido para cada janela até que se tenha um espectro suavizado composto pelas absorbâncias médias. É importante ressaltar que cada janela resulta em um único dado de absorbância, o que reduz o número de pontos que representam o espectro (BRERETON, 2007). No procedimento de suavização pela média móvel, cada ponto no espectro é substituído pela média entre ele e pontos sucessores e antecessores a ele, formando uma janela. A vantagem deste método em relação ao anterior é que o espectro não tem o número de pontos reduzidos. Nos dois métodos, quanto maior a janela, mais suavizado será o sinal do espectro e maior será a redução do ruído. No entanto, é importante salientar que dependendo do tamanho da janela, picos de absorção importantes podem ser desfocados comprometendo a intensidade da resolução do sinal. Portanto, o tamanho da janela deve ser selecionado com cautela para que informações relevantes do espectro não sejam alteradas e não interfiram no resultado final (BRERETON, 2007).

As derivações são utilizadas para aumentar a resolução do espectro. A derivada de primeira ordem é capaz de corrigir problemas de translação da linha de base que pode gerar picos com amplitude aparente. Como a derivada é igual a zero no centro do pico, a posição exata de um pico mais largo pode ser localizada com precisão. Ademais, os pontos de inflexão próximos a um pico se tornam pontos de viragem, o que facilita a diferenciação de picos que se sobrepõem no espectro, melhorando a resolução (BRERETON, 2007). A derivada de segunda ordem é mais utilizada para corrigir problemas relacionados à rotação da linha de base. Embora as técnicas de derivação melhorem a resolução espectral, elas podem amplificar o ruído. Dessa forma, para evitar interferências, é muito comum utilizá-las em combinação com o procedimento de suavização (BRERETON, 2007; PINTO *et al.*, 2016).

Capítulo 3

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE ETANOL DE
SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS POR
ARRASTE GASOSO COM CO₂**

3.1. Introdução

Neste capítulo são apresentados os resultados do estudo da remoção de etanol de soluções hidroalcoólicas por arraste gasoso com CO₂. Experimentos foram conduzidos com o intuito de se obter um modelo para descrever o processo e avaliar os efeitos das variáveis vazão específica de CO₂ (ϕ_{CO_2}), temperatura (T_{sol}) e concentração inicial de etanol (C_{E0}) sobre o processo utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). No modelo proposto foram consideradas a remoção de etanol e água e a variação do volume da solução. As constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e água (k_{WS}) obtidas a partir do modelo foram utilizadas como variáveis respostas no DCCR. Os resultados do planejamento experimental serviram como base para definição das condições experimentais de ensaios de absorção e fermentações extrativas de etapas subsequentes da pesquisa. Os resultados apresentados e discutidos nesse capítulo foram publicados no artigo científico “*Modeling and simulation of continuous extractive fermentation with CO₂ stripping for bioethanol production* (RODRIGUES, K. C. S. *et al. Chemical Engineering Research and Design*, v. 32, n. 1, p. 77-88, 2017)”.

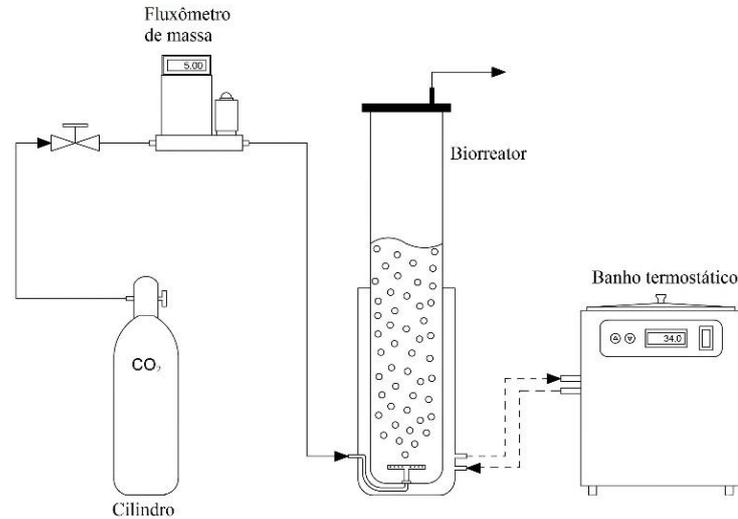
3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Procedimento experimental

A **Figura 3.1** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos de arraste gasoso. Os ensaios foram conduzidos em biorreator pneumático coluna de bolhas com volume útil de 2 L (altura total de 47,7 cm e diâmetro interno de 9,2 cm), composto por uma parte superior em acrílico e uma base encamisada de aço inoxidável. Soluções de etanol foram usadas como fase líquida. O gás de arraste foi CO₂ comercial (99,5% de pureza) armazenado em cilindro (25 kg e 60 atm quando cheio). O CO₂ foi injetado através de aspensor perfurado (36 furos com 0,5 mm de diâmetro e espaçados com 5 mm) localizado na parte inferior do biorreator. A **Figura 3.2** ilustra, em detalhes, o biorreator e o aspensor utilizados. A vazão volumétrica de gás foi medida e controlada por fluxômetro de massa (GFC 37, Aalborg). A temperatura da solução foi monitorada com termômetro digital (HI 147-00, Hanna Instruments) e mantida constante pela recirculação da água de um banho termostático para a camisa do biorreator. Cada experimento durou 6 horas. Amostras (2 mL) foram retiradas a cada 1 hora para análise da concentração de etanol e o volume da solução foi determinado medindo-se a altura da coluna de líquido após o desligamento do sistema de gás para evitar interferência de

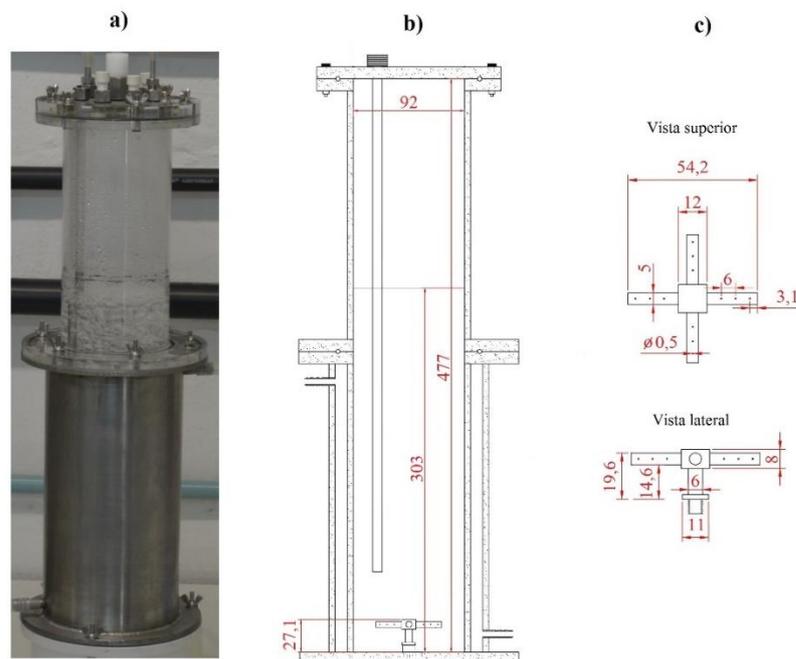
bolhas.

Figura 3.1 - Desenho ilustrativo do aparato experimental utilizado nos ensaios de arraste com CO₂.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 3.2 - (a e b) Biorreator pneumático e (c) aspersor (medidas em mm).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

3.2.2. Planejamento experimental

Um Delineamento Composto Central Rotacional de dois níveis (DCCR) (RODRIGUES e IEMMA, 2014) foi empregado para avaliar as remoções de etanol e água das soluções

hidroalcoólicas por arraste gasoso. Os experimentos foram realizados sob diferentes condições de vazão específica de CO₂ (ϕ_{CO_2}), temperatura da solução (T_{sol}) e concentração inicial de etanol (C_{E0}). As constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e de água (k_{WS}) foram as variáveis de resposta. No total, 17 experimentos foram realizados com 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais ($\alpha = 1,68$) e 3 pontos centrais. Na **Tabela 3.1** são mostrados os valores reais e codificados das variáveis independentes estudadas.

Tabela 3.1 - Valores reais e codificados das variáveis independentes utilizadas no DCCR.

Variável	Código	-1,68	-1	0	+1	+1,68
$\phi_{CO_2}^a$ (vvm)	x_1	1,0	1,6	2,5	3,4	4,0
T_{sol}^b (°C)	x_2	30,0	30,8	32,0	33,2	34,0
C_{E0}^b (g.L ⁻¹)	x_3	30,0	40,1	55,0	69,9	80,0

^a ϕ_{CO_2} : vazão específica de CO₂, ^b T_{sol} : temperatura da solução, ^c C_{E0} : concentração inicial de etanol.

O software Statistica (versão 7.0) foi utilizado para regressão e construção das superfícies de resposta para análise dos dados experimentais. O polinômio de segunda ordem apresentado na Equação 3.1 foi usado para descrever as respostas previstas como funções das variáveis independentes. A avaliação estatística de significância dos modelos ajustados foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA). O teste de Fisher (teste F) foi aplicado para determinar a qualidade dos ajustes e os p-valores de probabilidade associados. Os coeficientes de determinação (R^2) forneceram a medida de variação dos dados explicada pelos modelos.

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 \quad (3.1)$$

onde \hat{y} representa as respostas previstas (k_{ES} ou k_{WS}), b_0 é o intercepto, b_1 , b_2 e b_3 são os termos lineares, b_{11} , b_{22} e b_{33} são os termos quadráticos, b_{12} , b_{13} e b_{23} são os termos de interação, e x_1 , x_2 e x_3 são as variáveis independentes (ϕ_{CO_2} , T_{sol} e C_{E0} , respectivamente).

3.2.3. Modelo de remoção de etanol e água

Estudos de arraste gasoso reportados na literatura (PHAM *et al.*, 1989; EZEJI *et al.*, 2005; DE VRIJE *et al.*, 2013; LIAO *et al.*, 2014; SONEGO *et al.*, 2016) descrevem a remoção de solventes de soluções aquosas de acordo com modelo cinético proposto por Truong e

Blackburn (1984) (Equação 2.7, **Capítulo 2**). Neste estudo, outra abordagem foi proposta para descrever o processo de arraste gasoso, considerando a remoção de etanol e água e a variação do volume da solução. O modelo foi composto pelas seguintes equações:

$$\frac{dC_E}{dt} = - \left(k_{ES} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_E \quad (3.2)$$

$$\frac{dC_W}{dt} = - \left(k_{WS} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_W = - \left(k_{WS} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) (\rho_S - C_E) \quad (3.3)$$

$$\frac{dV}{dt} = - \frac{V}{\rho_S} (k_{ES} C_E + k_{WS} C_W) \quad (3.4)$$

onde k_{ES} e k_{WS} são as constantes de velocidade de remoção de etanol e água, respectivamente (h^{-1}), C_E e C_W são as concentrações de etanol e água no solução do biorreator, respectivamente (g L^{-1}), V é o volume da solução do biorreator (L), ρ_S é a massa específica da solução de arraste (g L^{-1}), obtida pela média aritmética dos valores de massa específica da solução de etanol ao longo do experimento.

3.2.4. Método numérico

As equações diferenciais ordinárias que constituem o modelo (Equações 3.2-3.4) foram integradas usando o método Runge-Kutta de 4ª ordem, implementado em planilha do Excel (Microsoft Office 2010). O método de resolução não linear GRG (*Generalized Reduced Gradient*) foi usado para determinar os valores de k_{ES} e k_{WS} . O critério utilizado para encontrar o melhor ajuste foi a minimização da soma quadrados dos resíduos entre os dados calculados e experimentais.

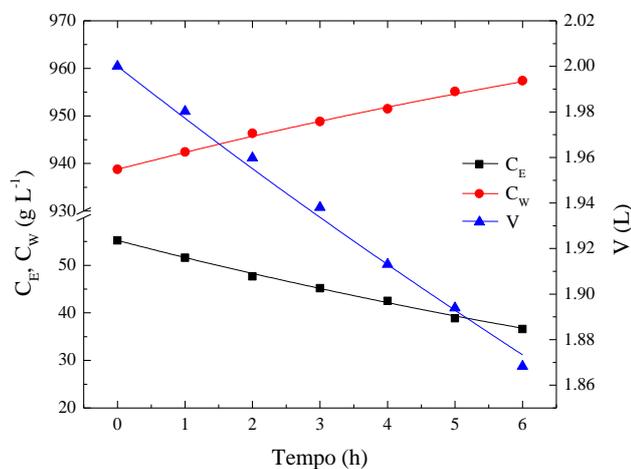
3.2.5. Métodos analíticos

A concentração de etanol (C_E) foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*), cromatografia líquida (HPLC) usando cromatógrafo equipado com detector de índice de refração e coluna Sugar-Pak I (300×6,5 mm, Waters) mantida em 80 °C. O eluente utilizado foi água ultrapura na vazão de 0,5 mL min⁻¹. Os padrões foram soluções de etanol em concentrações entre 0,1 e 8,0 g L⁻¹. A concentração de água (C_W) foi determinada pela diferença entre a densidade da solução (ρ_S) e C_E .

3.3. Resultados e discussão

Para cada ensaio do DCCR, as constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e água (k_{WS}) foram estimadas a partir do melhor ajuste do modelo proposto (Equações 3.2-3.4) aos dados experimentais de concentração de etanol (C_E) e água (C_W) e volume da fase líquida (V). A **Tabela 3.2** mostra os valores de k_{ES} e k_{WS} obtidos e as condições experimentais de vazão específica de CO_2 (x_1 : ϕ_{CO_2}), temperatura da solução (x_2 : T_{sol}) e concentração inicial de etanol (x_3 : C_{E0}) para cada ensaio. A **Figura 3.3** compara os dados simulados e experimentais de C_E , C_W e V do ensaio 12 ao longo do tempo, usando $\phi_{CO_2} = 2,5$ vvm, $T_{sol} = 34,0$ °C e $C_{E0} = 55,0$ g L⁻¹. O modelo proposto forneceu excelente ajuste para todos os ensaios sendo, portanto, adequado para descrever a cinética de remoção de etanol e água com CO_2 . O decréscimo na concentração de etanol foi acompanhado por ligeiro aumento na concentração de água, sugerindo que o etanol foi preferencialmente arrastado pelo CO_2 . O mesmo comportamento foi observado para as outras condições do planejamento experimental (dados não mostrados) e foi resultado da maior pressão de vapor do etanol, em comparação com a da água (PERRY e GREEN, 2008b). No ensaio 12, por exemplo, a massa total de água removida do biorreator (80,6 g) foi maior que a massa de etanol (40,4 g). No entanto, esses valores representaram 4,3 e 36,8% das massas de água e etanol iniciais na solução, respectivamente, o que confirma que o etanol foi arrastado preferencialmente. Esse comportamento também foi reportado por Sonogo *et al.* (2016) que estudaram a influência do volume da solução e da concentração inicial de etanol na remoção de etanol por arraste gasoso.

Figura 3.3 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de etanol (C_E , quadrados) e água (C_W , círculos) e volume da fase líquida (V , triângulos) ao longo do tempo no ensaio de arraste gasoso 12 ($\phi_{CO_2} = 2,5$ vvm, $T_{sol} = 34,0$ °C e $C_{E0} = 55,0$ g L⁻¹).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 3.2 - Faixas e níveis das variáveis independentes (unidades codificadas e originais) utilizadas no DCCR e resultados para as constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e água (k_{WS}).

Variáveis independentes					
Ensaio	$x_1: \phi_{CO_2}^a$ (vvm)	$x_2: T_{sol}^b$ (°C)	$x_3: C_{E0}^c$ (g L ⁻¹)	$k_{ES} \cdot 10^2$ (h ⁻¹)	$k_{WS} \cdot 10^2$ (h ⁻¹)
1	1 (3,4)	-1 (30,8)	-1 (40,1)	8,95 ± 0,17	0,95 ± 0,17
2	-1 (1,6)	-1 (30,8)	-1 (40,1)	4,19 ± 0,10	0,53 ± 0,09
3	1 (3,4)	1 (33,2)	-1 (40,1)	9,84 ± 0,19	1,05 ± 0,20
4	-1 (1,6)	1 (33,2)	-1 (40,1)	4,71 ± 0,12	0,58 ± 0,12
5	1 (3,4)	-1 (30,8)	1 (69,9)	8,40 ± 0,18	1,03 ± 0,18
6	-1 (1,6)	-1 (30,8)	1 (69,9)	4,10 ± 0,12	0,54 ± 0,12
7	1 (3,4)	1 (33,2)	1 (69,9)	9,71 ± 0,05	1,11 ± 0,05
8	-1 (1,6)	1 (33,2)	1 (69,9)	4,58 ± 0,05	0,57 ± 0,05
9	-1,68 (1,0)	0 (32,0)	0 (55,0)	2,54 ± 0,05	0,30 ± 0,05
10	1,68 (4,0)	0 (32,0)	0 (55,0)	10,71 ± 0,12	1,23 ± 0,12
11	0 (2,5)	-1,68 (30,0)	0 (55,0)	5,80 ± 0,05	0,74 ± 0,05
12	0 (2,5)	1,68 (34,0)	0 (55,0)	7,87 ± 0,09	0,77 ± 0,09
13	0 (2,5)	0 (32,0)	-1,68 (30,0)	6,58 ± 0,09	0,73 ± 0,09
14	0 (2,5)	0 (32,0)	1,68 (80,0)	7,13 ± 0,15	0,79 ± 0,16
15	0 (2,5)	0 (32,0)	0 (55,0)	6,60 ± 0,05	0,74 ± 0,05
16	0 (2,5)	0 (32,0)	0 (55,0)	6,65 ± 0,11	0,73 ± 0,05
17	0 (2,5)	0 (32,0)	0 (55,0)	6,60 ± 0,03	0,74 ± 0,03

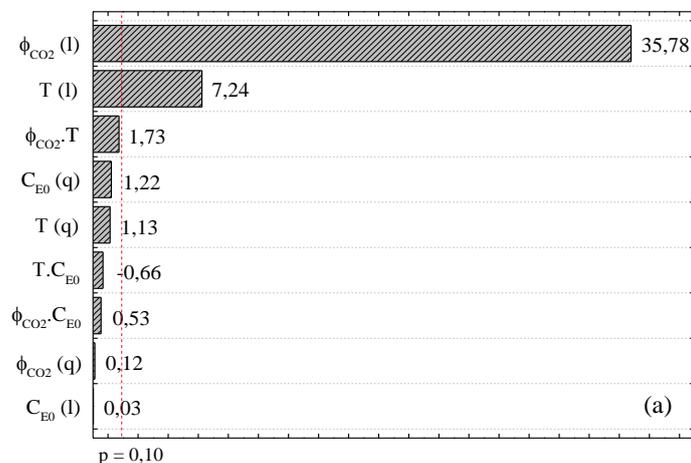
^a ϕ_{CO_2} : vazão específica de CO₂, ^b T_{sol} : temperatura da solução, ^c C_{E0} : concentração inicial de etanol.

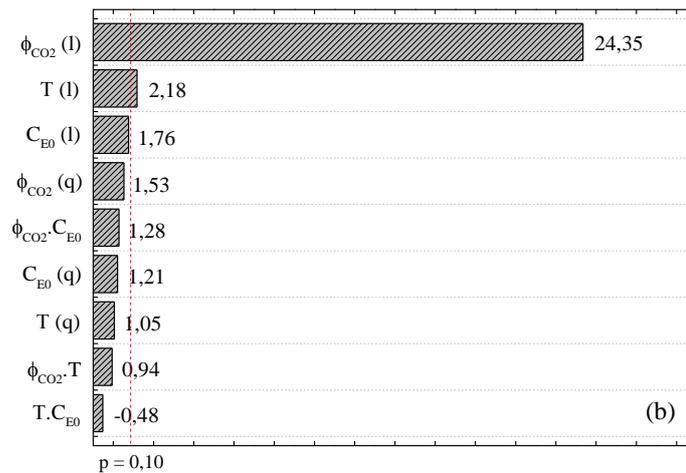
Os resultados da **Tabela 3.2** foram utilizados para avaliar os efeitos das variáveis e obter os coeficientes de regressão dos modelos polinomiais, adotando nível de confiança de 90%. Os intervalos das variáveis foram definidos com base em estudos da literatura. Segundo Maiorella *et al.* (1983), a inibição pelo etanol inicia em concentrações próximas de 25 g L⁻¹, com o processo sendo significativamente afetado em valores próximos de 80 g L⁻¹. Sonego *et al.* (2014) avaliaram o arraste de etanol em biorreator coluna de bolhas de 5 L, aplicando diferentes vazões específicas de CO₂ (0,5-2,0 vvm) e relataram aumento na remoção de etanol em altas vazões. Portanto, optou-se por avaliar uma faixa mais ampla (1,0-4,0 vvm) no presente trabalho. Com relação à temperatura, os processos industriais de produção de etanol são normalmente conduzidos em temperaturas entre 30 e 34 °C.

Os diagramas de Pareto, apresentados na **Figura 3.4**, ilustram graficamente os efeitos

das variáveis independentes. A análise revelou que os efeitos estatisticamente significativos (nível de confiança de 90%) foram os mesmos para k_{ES} e k_{WS} . A vazão de CO_2 e a temperatura influenciaram positivamente, enquanto a concentração inicial de etanol não apresentou efeito significativo na faixa estudada. As constantes k_{ES} e k_{WS} são coeficientes volumétricos de transferência de massa (produto do coeficiente convectivo, “ k_L ”, e da área interfacial, “ a ”). Portanto, o efeito positivo da vazão pode ser atribuído ao aumento da turbulência na fase líquida e, principalmente, da área interfacial. A imposição de maiores valores de ϕ_{CO_2} resultou em maior retenção gasosa (ϵ_G). A retenção gasosa é definida como a razão entre o volume de gás e o volume da dispersão gás-líquido no biorreator. Portanto, quanto maior a retenção gasosa, maior a área interfacial para transferência de massa. Além disso, a velocidade superficial das bolhas de gás (a razão entre a vazão de CO_2 e a área da seção transversal do biorreator) foi maior para maiores valores de ϕ_{CO_2} . O aumento na turbulência pode ter diminuído a resistência no filme líquido estagnado, melhorando a transferência de massa de água e etanol do líquido para a fase gasosa. Xue *et al.* (2014), utilizando soluções aquosas de butanol, também relataram aumento na velocidade de remoção de butanol com maiores vazões de gás. O efeito positivo da temperatura foi resultado do aumento das pressões de vapor do etanol e da água para maiores temperaturas, favorecendo a vaporização (POLING *et al.*, 2001). Dentre as variáveis independentes estudadas, a concentração de etanol é a única que varia num processo fermentativo, pois as demais (ϕ_{CO_2} e T_{sol}) podem ser controladas. Assim, como não houve influência de C_{E0} na faixa de 30 a 80 g.L⁻¹ sobre as constantes k_{ES} e k_{WS} , elas podem seguramente ser empregadas na modelagem das fermentações extrativas.

Figura 3.4 - Diagramas de Pareto das constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{WS}) adotando nível de confiança de 90%.





Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Nas **Tabelas 3.3** e **3.4** são apresentados os resultados da ANOVA dos modelos de previsão de k_{ES} e k_{WS} , com a eliminação dos termos estatisticamente não significativos. Os resultados mostraram que os modelos foram adequados para descrever o comportamento dos dados, com valores de F calculados (1388 para k_{ES} e 452 para k_{WS}) muito maiores que o valor tabelado (2,73). Os coeficientes de correlação de 0,990 para k_{ES} e 0,973 para k_{WS} também foram satisfatórios, indicando que 99,0 e 97,3% da variabilidade dos dados foram explicados pelos modelos. A boa correlação entre os dados de k_{ES} e k_{WS} é confirmada com os gráficos dos valores observados e preditos, mostrados na **Figura 3.5**.

Tabela 3.3 - Análise de variância para o modelo de regressão da constante de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}).

Fontes de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrado médio	$F_{calculado}$
Regressão	2	0,008329	0,008329	1388
Resíduos	14	0,000081	0,000006	-
Total	16	0,008410	-	-

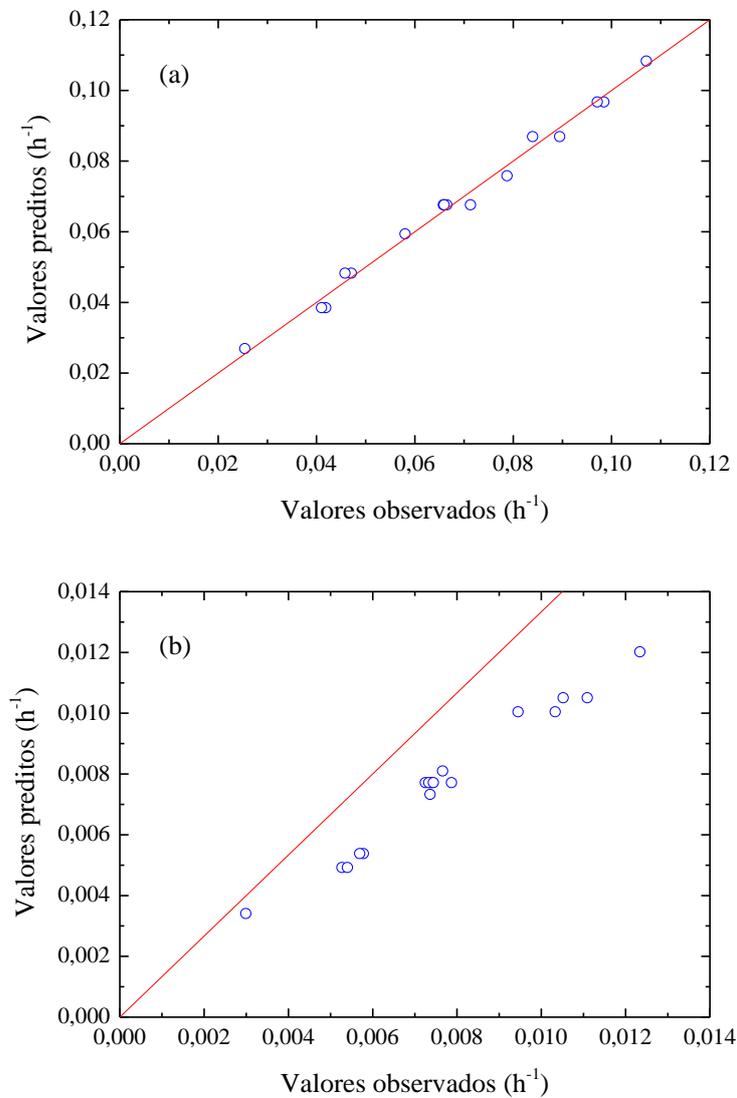
$$R^2 = 0,990 \quad F_{tab(2; 14; 0,10)} = 2,73$$

Tabela 3.4 - Análise de variância para o modelo de regressão da constante de velocidade de remoção de água (k_{ws}).

Fontes de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrado médio	F _{calculado}
Regressão	2	0,0000903	0,0000903	452
Resíduos	14	0,0000024	0,0000002	-
Total	16	0,0000927	-	-

$$R^2 = 0,973 \quad F_{\text{tab}}(2; 14; 0,10) = 2,73$$

Figura 3.5 - Valores preditos e observados das constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{ws}).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

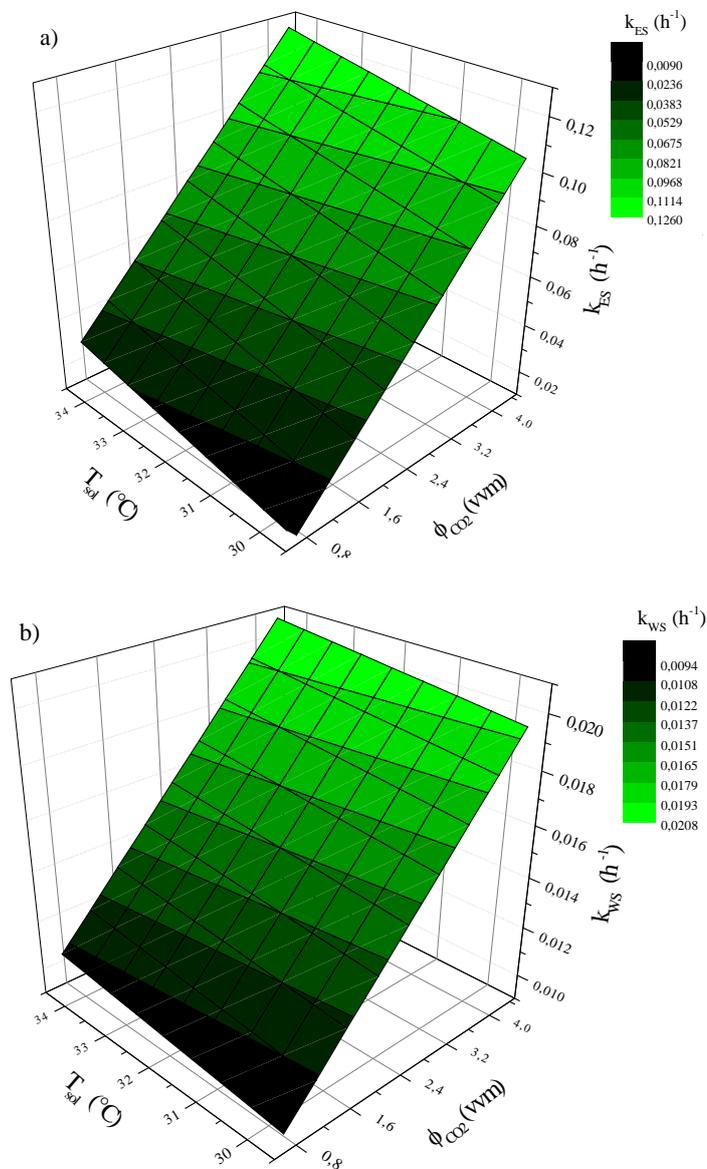
Os modelos com os coeficientes obtidos para k_{ES} e k_{ws} são representados pelas Equações 3.5 e 3.6, onde as variáveis independentes, x_1 (ϕ_{CO_2}) e x_2 (T_{sol}), estão expressas em

valores codificados e k_{ES} e k_{WS} em h^{-1} . A partir dos modelos, foram construídas as superfícies de respostas, apresentadas na **Figura 3.6**. Elas mostraram que os maiores valores de k_{ES} e k_{WS} foram obtidos para altas temperaturas e vazões de CO_2 .

$$k_{ES} = 0,06762 + 0,02422x_1 + 0,00490x_2 \quad (3.5)$$

$$k_{WS} = 0,007715 + 0,002562x_1 + 0,000230x_2 \quad (3.6)$$

Figura 3.6 - Superfície de resposta para as constantes de velocidade de remoção de (a) etanol (k_{ES}) e (b) água (k_{WS}) em função da temperatura da solução (T_{sol}) e vazão específica de CO_2 (ϕ_{CO_2}).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

3.4. Conclusões

O modelo proposto para o arraste com CO₂, considerando a remoção de etanol e água e a variação do volume, foi capaz de descrever com precisão o fenômeno. Este é um resultado importante que possibilita a aplicação do modelo para representar os arrastes de etanol e água nas fermentações alcoólicas extrativas com CO₂ e simular novas condições de processo. Na avaliação do desempenho do processo, os parâmetros vazão específica de CO₂ (ϕ_{CO_2}) e temperatura da solução (T_{sol}) foram importantes, apresentando influências positivas nas remoções de etanol e água. Os resultados deste capítulo serviram como base para definição das condições dos ensaios de absorção e fermentação extrativa das etapas subsequentes do trabalho.

Capítulo 4

MONITORAMENTO DA ABSORÇÃO DE ETANOL EM GLICÓIS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO

4.1. Introdução

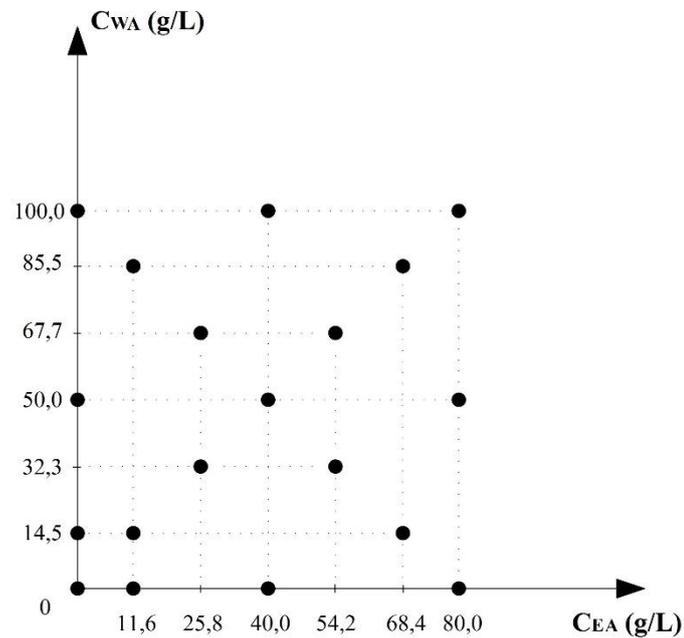
Neste capítulo é descrita a metodologia analítica desenvolvida para o monitoramento do processo de absorção de etanol nos solventes monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG). Foi utilizada a técnica espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR, *Fourier transform mid-infrared*), combinada com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS, *partial least squares*). Além do etanol, a água foi considerada no monitoramento. A calibração foi feita utilizando amostras sintéticas contendo etanol, água e MEG ou DEG. A validação cruzada foi utilizada para selecionar os melhores modelos de calibração para etanol e água e a validação externa para avaliar as capacidades preditivas destes modelos.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Amostras sintéticas

Amostras sintéticas contendo água destilada, etanol (Synth, grau de pureza 99,5%), MEG (Synth, grau de pureza 99,0%) e DEG (Synth, grau de pureza 99,9%) foram utilizadas para calibração. As combinações das concentrações foram definidas de acordo com um planejamento experimental ortogonal, como mostra a **Figura 4.1**. As concentrações variaram de 0,0 a 80,0 g L⁻¹ para etanol e 0,0 a 100,0 g L⁻¹ para água. Incluindo a triplicata do ponto central, foram preparadas 21 soluções em duplicatas, totalizando 42 amostras independentes para cada solvente (MEG ou DEG). As amostras foram divididas em dois conjuntos, calibração (35 amostras para cada solvente) e validação (7 amostras para cada solvente). As concentrações do conjunto de validação foram selecionadas aleatoriamente considerando toda a faixa de concentração.

Figura 4.1 - Combinações das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) utilizadas na calibração para cada solvente (MEG ou DEG).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.2.2. Espectroscopia FT-MIR

As medidas FT-MIR foram realizadas utilizando uma sonda de fibra óptica de refletância total atenuada (ATR, *attenuated total reflectance*) acoplada a um espectrofotômetro FT-MIR (ReactIR 45m, Mettler-Toledo AutoChem, Inc.), mostrado na **Figura 4.2**. O sistema era equipado com detector de telureto-mercúrio-cadmio refrigerado com nitrogênio líquido e sistema de purga com gás nitrogênio para remoção CO_2 e água do compartimento óptico. Os espectros foram coletados na faixa de comprimentos de onda de 3000 a 15000 nm (resolução de 4,2 nm e 256 varreduras por amostra) a 25 °C (temperatura dos ensaios de absorção). Espectro de referência do ar foi retirado antes de iniciar cada experimento.

Figura 4.2 - Espectrofotômetro FT-MIR utilizado para obtenção dos dados espectrais.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.2.3. Pré-processamento dos dados e calibração multivariada

Diferentes tratamentos matemáticos foram aplicados no pré-processamento dos dados espectrais para remoção de contribuições espectrais indesejáveis resultantes de ruídos experimentais. Os métodos avaliados foram suavização por média móvel (SMM), primeira derivada (1^{a}D) e segunda derivada (2^{a}D). A técnica SMM é baseada na seleção de janelas de comprimento de onda. Cada dado de absorbância correspondente ao centro de uma determinada janela é substituído pela média dos dados para aquela janela. Este procedimento é repetido para cada dado do espectro. O centro de cada janela muda de elemento em elemento, mantendo o espectro suavizado com o mesmo número de dados do espectro original. Neste estudo, foram usadas janelas de 29,4 nm (7 pontos de dados).

O método PLS foi usado para a calibração multivariada. O conjunto de calibração foi utilizado no método de validação cruzada LOOCV (*leave-one-out cross-validation*) para obtenção do número de variáveis latentes (LV) dos modelos. No procedimento LOOCV, uma amostra é deixada de fora para validação, enquanto as demais são usadas para construção de modelos de calibração. Esses modelos são então aplicados para prever dados de concentração da amostra removida. Este procedimento é repetido até que cada amostra tenha sido excluída uma vez. O LOOCV é usado para evitar *over-fitting*, que ocorre quando os modelos se ajustam bem aos dados utilizados para a calibração, mas geram grandes erros quando aplicados a novos dados. O critério utilizado para selecionar o número ótimo de variáveis latentes (LV_{op}) foi baseado no mínimo valor do erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV, *root mean*

square error of cross validation):

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{n_{cal}} \sum_{k=1}^{n_{cal}} (c_k - \hat{c}_k)^2} \quad (4.1)$$

onde n_{cal} é o tamanho do conjunto de calibração, e c_k e \hat{c}_k são as concentrações de referência e preditas da k -ésima amostra.

Mesmo utilizando o procedimento LOOCV, os modelos ainda podem se ajustar apenas àquele conjunto específico de dados. Portanto, o conjunto de validação foi utilizado para avaliar a capacidade preditiva dos modelos em relação a novos dados (validação externa). O erro quadrático médio de predição (RMSEP, *root mean square error of prediction*) foi utilizado como critério de desempenho:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{n_{vl}} \sum_{k=1}^{n_{vl}} (c_k - \hat{c}_k)^2} \quad (4.2)$$

onde n_{vl} é o tamanho do conjunto de validação.

O coeficiente de correlação da validação cruzada (R^2), a relação entre desvio padrão e erro de predição (RPD) e entre o intervalo dos dados e erro de predição (RER) também foram utilizados como critério para avaliação do desempenho dos modelos PLS. RPD e RER foram calculados de acordo com as seguintes equações:

$$RPD = \frac{SD_{vl}}{RMSEP} \quad (4.3)$$

$$RER = \frac{range_{vl}}{RMSEP} \quad (4.4)$$

onde SD_{vl} e $range_{vl}$ são o desvio padrão o intervalo dos dados de concentração do conjunto de validação.

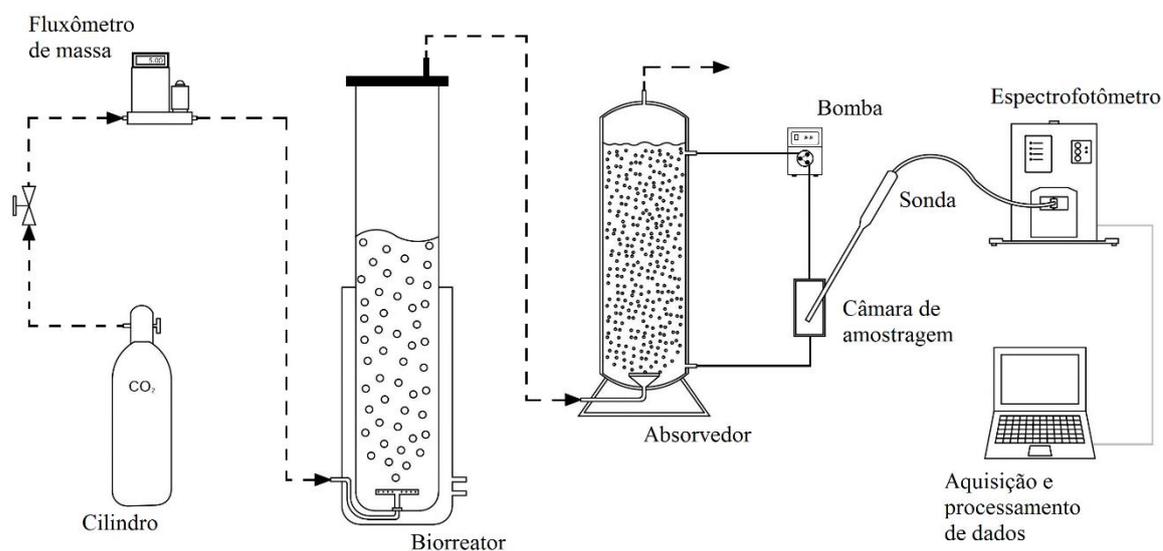
A aquisição e o pré-processamento dos dados, bem como a análise de desempenho dos modelos PLS, foram realizadas utilizando o software IC IR v. 4.3.35 SP1 (Mettler-Toledo AutoChem, Inc.).

4.2.4. Experimentos de absorção

4.2.4.1. Geração da corrente gasosa por arraste com CO₂

A viabilidade da técnica FT-MIR combinada com regressão PLS para monitoramento do processo de absorção foi avaliada em dois experimentos, um usando MEG e outro usando DEG como absorvente. A **Figura 4.3** ilustra o aparato experimental utilizado nos ensaios. A corrente gasosa contendo etanol e água foi gerada por arraste gasoso com CO₂. O procedimento experimental utilizado foi o mesmo descrito no 3.2.1, com concentração inicial de etanol de 80 g L⁻¹ (~ 10% v v⁻¹), vazão específica de CO₂ de 2,5 vvm (vazão volumétrica de 5,0 L min⁻¹) e temperatura da solução mantida a 34 °C. É importante mencionar que essas condições experimentais representaram condições de fermentações alcoólicas extrativas com remoção de etanol por arraste com CO₂. Note que a vazão de 2,5 vvm empregada corresponde a um valor intermediário da faixa estudada (1,0 a 4,0 vvm) no planejamento experimental do **Capítulo 3**. A utilização de maiores vazões poderia resultar em maior remoção de etanol, mas este valor é suficiente para minimizar a inibição, conforme mostrado em estudos anteriores (PONCE *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2018).

Figura 4.3 - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado no monitoramento do processo de absorção.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.2.4.2. Procedimento de absorção

A corrente gasosa de saída do biorreator foi alimentada num absorvedor tipo coluna de

bolhas (37,0 cm de altura total, 6,0 cm de diâmetro interno) através de um aspersor de vidro sinterizado localizado na base do dispositivo. Foi utilizado volume de 0,6 L (30% do volume de trabalho do biorreator) de solvente (MEG ou DEG). A temperatura foi mantida em 25 °C por imersão do absorvedor em banho termostático. Cada experimento durou 6 h. Os espectros FT-MIR foram coletados em tempo real a cada 30 minutos. A sonda foi colocada em uma câmara de amostragem para degaseificação da amostra, evitando a interferência das bolhas de CO₂. Uma bomba peristáltica (323Dz, Watson-Marlow) promoveu a circulação contínua da amostra do absorvedor para o dispositivo de medição. Amostras de 2 mL foram retiradas a cada hora para determinação das concentrações de etanol e água.

4.2.5. Análises de referência

As concentrações de referência de etanol, MEG e DEG durante os ensaios de absorção foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*), utilizando cromatógrafo equipado com detector de índice de refração e coluna Aminex HPX-87H (300 × 7,8 mm, Bio-Rad) mantida a 65 °C. O eluente utilizado foi solução de ácido sulfúrico 5 mM na vazão de 0,6 mL min⁻¹. Os padrões foram soluções de etanol, MEG e DEG em concentrações entre 0,1 e 8,0 g L⁻¹. A concentração de água no absorvedor (C_{WA}) foi determinada usando a seguinte equação:

$$C_{WA} = \rho_A - C_{EA} - C_{SA} \quad (4.5)$$

onde ρ_A é a massa específica da solução do absorvedor (g L⁻¹), determinada pela pesagem de 25 mL de amostra contida em balão volumétrico à temperatura de 25°C, C_{EA} é a concentração de etanol no absorvedor (g L⁻¹) e C_{SA} é a concentração do solvente (MEG ou DEG) no absorvedor (g L⁻¹).

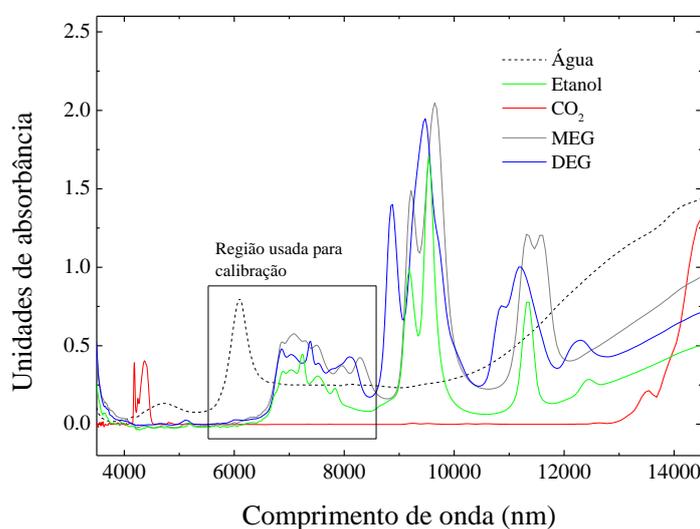
4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Região espectral de calibração

Os espectros FT-MIR dos componentes puros (MEG, DEG, etanol, água e CO₂) são mostrados na **Figura 4.4**. Para ambos os solventes (MEG e DEG), a região espectral usada para calibração foi de 5580 a 8700 nm. Esta região incluiu a banda principal de absorção da água (próximo de 6100 nm) e algumas bandas de baixa intensidade para o etanol. Outras regiões espectrais foram testadas (dados não mostrados), mas esta forneceu modelos PLS com melhor desempenho. Na maioria dos processos industriais, as soluções são misturas complexas

contendo grande número de compostos que podem absorver radiação na mesma região espectral dos analitos de interesse. Nesses casos é conveniente usar amostras reais do processo para a calibração. Neste estudo, o uso de simples soluções sintéticas na calibração foi apropriado, uma vez que apenas etanol, água, MEG, DEG e uma pequena quantidade de CO₂ dissolvido estavam presentes na coluna de absorção. Como pode ser visto na **Figura 4.4**, o CO₂ exibiu bandas na região de 4000 a 4500 nm, mas zero de absorbância na região de calibração. Portanto, apesar de não ter sido considerado na preparação das soluções sintéticas, o CO₂ não interferiu na quantificação dos analitos.

Figura 4.4 - Espectros FT-MIR brutos dos componentes puros: água, etanol, monoetilenoglicol (MEG), dietilenoglicol (DEG) e CO₂. O quadrado mostra a região usada para calibração (5580-8700 nm).



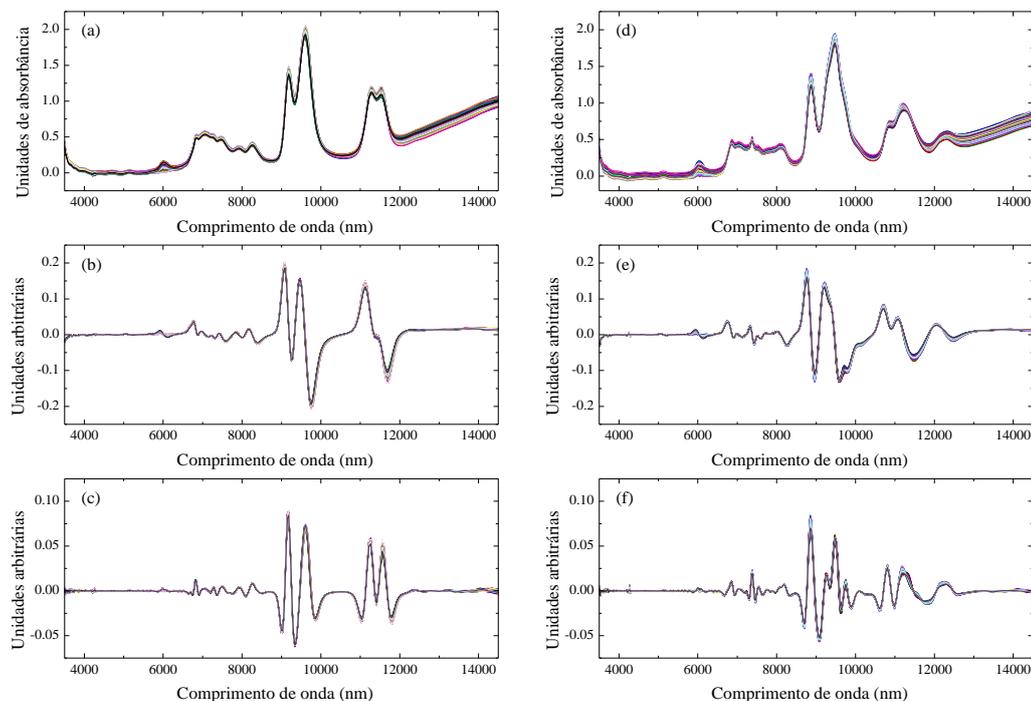
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.3.2. Processamento dos dados

O conjunto de calibração formado por 35 amostras sintéticas para cada solvente (água, etanol e MEG ou DEG) foi utilizado para obter os modelos PLS. As combinações de concentrações de etanol e água foram definidas de acordo com um planejamento experimental ortogonal a fim de descorrelacionar os dados e obter modelos mais representativos. As concentrações de dois analitos estão correlacionadas quando elas aumentam ou diminuem simultaneamente. Frequentemente, modelos de calibração obtidos com dados correlacionados não são válidos para a predição de dados de amostras cujas combinações de concentrações são diferentes daquelas utilizadas para calibração como, por exemplo, um analito com baixa e outro com alta concentração (BRERETON, 2007).

Os dados espectrais foram pré-processados para minimizar a influência de variações sistemáticas. Os métodos de pré-processamento investigados foram suavização por média móvel (SMM) e primeira (1ªD) e segunda (2ªD) derivadas. Derivadas são aplicadas para contornar problemas de linha de base, como translação (primeira derivada) e rotação (segunda derivada) (PINTO *et al.*, 2016). Elas realçam pequenas variações nas inclinações e contornos das bandas, o que pode melhorar a resolução espectral, mas também amplificar ruídos e causar erros numéricos. Por esse motivo, é comum aplicar derivadas juntamente com o procedimento SMM. Os espectros pré-processados por SMM, SMM e 1ªD, e SMM e 2ªD são mostrados na **Figura 4.5**.

Figura 4.5 - Espectros FT-MIR adquiridos para as soluções de (a, b e c) MEG e (d, e e f) DEG. Os espectros foram pré-processados usando (a e d) SMM, (b e e) SMM e 1ªD, e (c e f) SMM e 2ªD.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Regressão PLS foi usada para correlacionar as concentrações de referência de etanol e água com os dados espectrais. A **Tabela 4.1** mostra o número ótimo de variáveis latentes (LV_{op}) e os valores correspondentes de RMSECV e coeficiente de correlação (R^2) obtidos a partir do procedimento LOOCV.

Tabela 4.1 - Análise de desempenho dos modelos PLS obtidos com diferentes pré-processamento de dados.

Composto	Pré-processamento	LV _{op} ^a	RMSECV ^b (g L ⁻¹)	RMSEP ^c (g L ⁻¹)	R ^{2d}	RER ^e	RPD ^f
Etanol (MEG)	DEB ^g	5	1,01	1,67	0,999	47,9	16,3
	SMM ^h	5	1,10	1,72	0,999	46,5	15,8
	SMM+1 ^{aD} ⁱ	4	0,95	1,26	0,999	63,5	21,6
	SMM+2 ^{aD} ^j	4	1,17	1,85	0,999	43,2	14,7
Água (MEG)	DEB	4	1,79	1,36	0,998	73,5	25,0
	SMM	4	1,79	1,36	0,998	73,5	25,0
	SMM+1 ^{aD}	4	1,67	1,40	0,998	71,4	24,3
	SMM+2 ^{aD}	5	1,70	1,86	0,998	53,8	18,3
Etanol (DEG)	DEB	5	1,77	2,58	0,997	31,0	10,6
	SMM	5	1,72	2,45	0,997	32,7	11,2
	SMM+1 ^{aD}	5	1,22	1,37	0,999	58,4	20,0
	SMM+2 ^{aD}	5	1,41	1,43	0,998	55,9	19,1
Água (DEG)	DEB	5	2,03	1,75	0,997	57,1	19,6
	SMM	5	2,04	1,75	0,997	57,1	19,6
	SMM+1 ^{aD}	5	1,92	1,84	0,998	54,4	18,6
	SMM+2 ^{aD}	4	2,23	2,13	0,997	47,0	16,1

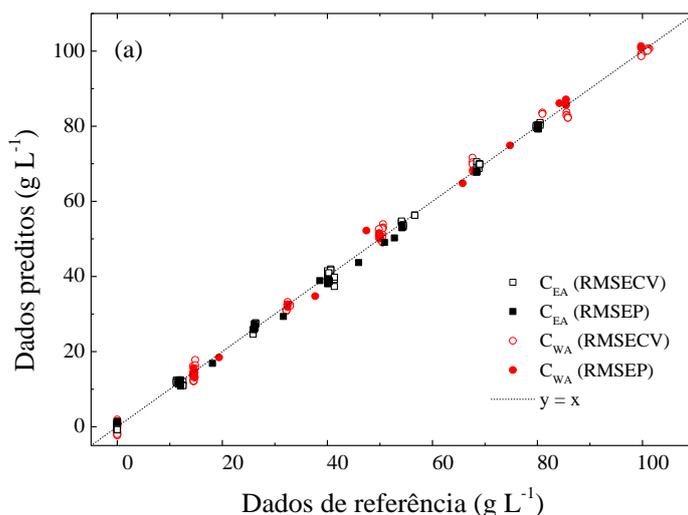
^aLV_{op}: número ótimo de variáveis latentes, ^bRMSECV: erro quadrático médio de validação cruzada, ^cRMSEP: erro quadrático médio de predição, ^dR²: coeficiente de correlação entre os dados de referência (HPLC) e preditos (modelos PLS) para a validação cruzada, ^eRER: relação entre o intervalo dos dados e erro de predição, ^fRPD: relação entre desvio padrão e erro de predição, ^gDEB: dados espectrais brutos, ^hSMM: suavização por média móvel, ⁱ1^{aD}: primeira derivada, ^j2^{aD}: segunda derivada,

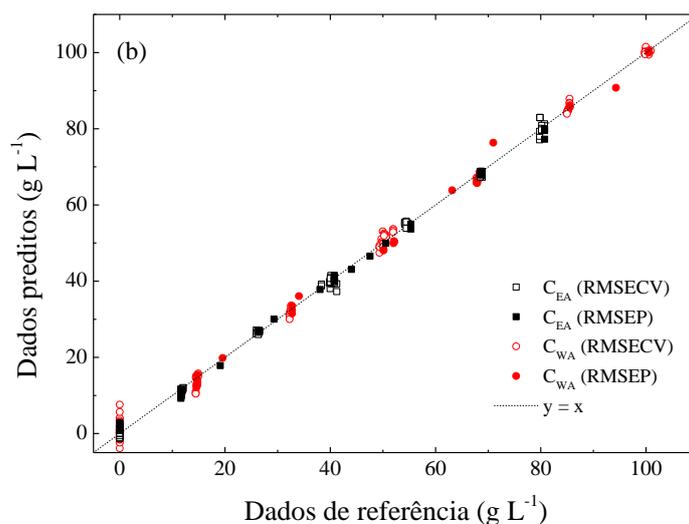
Os modelos obtidos utilizando os dados espectrais brutos (DEB) forneceram valores de RMSECV de 1,01 e 1,79 g L⁻¹ para etanol e água em MEG, e 1,77 e 2,03 g L⁻¹ para etanol e água em DEG, respectivamente. A aplicação do procedimento SMM não resultou em praticamente nenhuma melhoria no desempenho dos modelos. Com relação à utilização da primeira derivada, a precisão para todos os modelos foi melhorada em comparação aos dados não processados, com RMSECV de 0,95 e 1,67 g L⁻¹ para etanol e água em MEG (redução de 5,9 e 6,7%, respectivamente) e 1,22 e 1,92 g L⁻¹ para etanol e água em DEG (redução de 31,1 e 5,4%, respectivamente). Por fim, a aplicação da segunda derivada não melhorou o desempenho dos modelos em relação a primeira derivada. Portanto, para etanol e água em ambos os solventes (MEG e DEG), os melhores modelos (baseados no RMSECV mínimo) foram obtidos usando a primeira derivada. Os coeficientes de correlação (R²) para estes

modelos foram próximos de um (0,999 para o etanol e 0,998 para a água em ambos os solventes), mostrando que eles proporcionaram excelentes ajustes aos dados. O número ótimo de variáveis latentes (LV_{op} : 4 para etanol e água em MEG e 5 para etanol e água em DEG) também foi satisfatório, com valores menores que $n_{cal}/6$ (n_{cal} é o número de amostras do conjunto de calibração), que é um dos critérios usados para indicar que não ocorreu *overfitting* (Kemsley, 1998).

Embora o método LOOCV seja usado para evitar *overfitting*, os modelos podem ainda estar bem ajustados àquele conjunto específico de dados, tornando necessário aplicar validação externa. O conjunto de validação formado por 7 amostras para cada solvente (considerando toda a faixa de dados) foi utilizado para avaliar a capacidade preditiva dos modelos em relação a novos dados. Os valores dos erros da validação externa (RMSEP, **Tabela 4.1**) para os melhores modelos foram 1,26 e 1,40 g L⁻¹ para etanol e água em MEG, e 1,37 e 1,84 g L⁻¹ para etanol e água em DEG. Estes valores corresponderam a menos de 2% dos intervalos dos dados, indicando excelente capacidade de predição dos modelos PLS. A **Figura 4.6** mostra a comparação entre as concentrações de referência dos analitos determinadas por HPLC e os valores preditos a partir dos melhores modelos PLS, para validação cruzada e validação externa.

Figura 4.6 - Valores preditos e de referência das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) em (a) monoetilenoglicol (MEG) e (b) dietilenoglicol (DEG), para validação cruzada (símbolos vazios) e validação externa (símbolos preenchidos). As linhas pontilhadas representam correlações perfeitas. As predições foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para cada analito.





Fonte: Arquivo pessoal do autor.

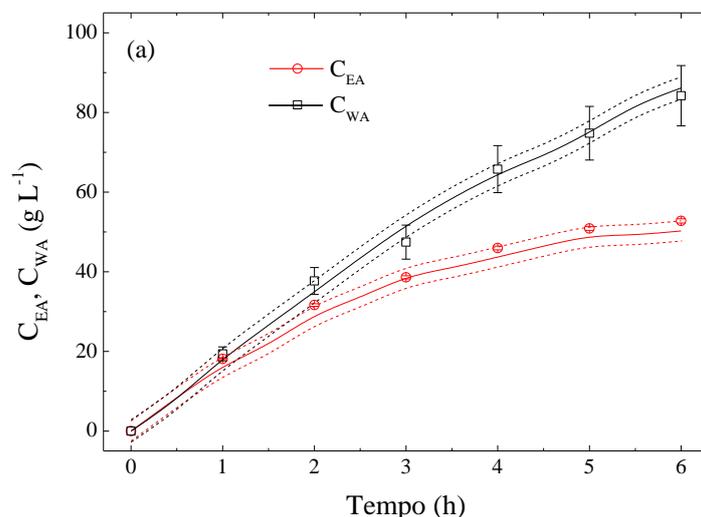
Os valores obtidos para os outros parâmetros de desempenho, RER e RPD, também são mostrados na **Tabela 4.1**. RER e RPD mostram a magnitude do erro de predição em relação ao intervalo e desvio padrão do conjunto de dados, respectivamente. Valores ideais para esses parâmetros dependem da aplicação. Modelos com RER de 7,0 a 12,0 e RPD de 2,4 a 3,0 são úteis apenas para triagens grosseiras. Modelos com RER de 13,0 a 20,0 e RPD de 3,1 a 4,9 são adequados para fins de triagem. RER e RPD maiores que 20,0 e 4,9, respectivamente, indicam que os modelos podem ser usados para controle de qualidade (LI *et al.*, 2015). Os melhores modelos PLS forneceram RER de 63,49 (etanol em MEG), 71,43 (água em MEG), 58,39 (etanol em DEG) e 54,35 (água em DEG), e RPD de 21,60 (etanol em MEG), 24,26 (água em MEG), 19,96 (etanol em DEG) e 18,60 (água em DEG). Os altos valores obtidos reforçam a excelente resolução dos modelos na predição das concentrações dos analitos dentro dos intervalos de dados utilizados.

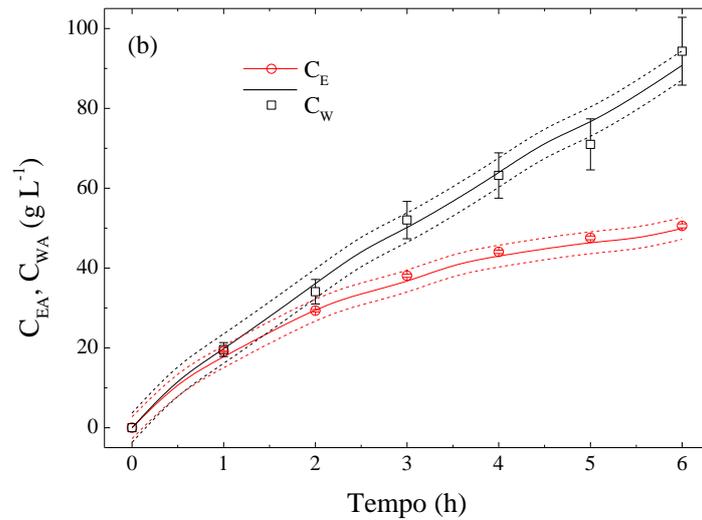
A utilização de espectroscopia de infravermelho para a quantificação de etanol em processos de absorção não tem sido relatada na literatura ainda, mas são encontrados estudos relacionados a outros processos. Debebe *et al.* (2017) empregaram o método FT-MIR em conjunto com PLS para determinação de etanol em bebidas alcoólicas fermentadas utilizando amostras sintéticas e reais. O coeficiente de correlação para a validação cruzada foi de 0,999 e o RMSEP menos que 5% das faixas de calibração e validação. Veale *et al.* (2007) reportaram RMSEP de 0,99 g L⁻¹ para etanol, usando FT-MIR e PLS durante fermentação alcoólica. Outros estudos quantificaram o etanol em vinhos usando infravermelho e também obtiveram modelos com excelente desempenho (BURATTI *et al.*, 2011; FU *et al.*, 2012; FRIEDEL *et al.*, 2013). Apesar de estarem relacionados a diferentes aplicações, estes estudos suportam a

adequabilidade dos modelos PLS obtidos no presente estudo para o monitoramento de etanol.

Os melhores modelos PLS foram utilizados para monitoramento em tempo real das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) durante os processos de absorção utilizando MEG e DEG como absorventes. A **Figura 4.7** compara os valores preditos pelos modelos com os dados de referência obtidos por HPLC. Para ambos os absorventes foi observada boa concordância entre os dados preditos e de referência. Alguns pontos dos dados de referência para água excederam os valores de RMSEP, mas permaneceram dentro do erro experimental da análise por HPLC. O fato de ter sido possível monitorar a água nesse tipo de processo foi um resultado importante. Em processos de recuperação é importante considerá-la, pois sua presença implica em custos para posterior recuperação do etanol (SMALLWOOD, 2002). Os resultados mostraram que a técnica desenvolvida no presente trabalho tem potencial para ser empregada no monitoramento de processos envolvendo absorção de etanol em glicóis. Embora esta seja uma aplicação específica, a técnica poderia ser facilmente implementada para outros processos de absorção (utilizando diferentes absorvedores, solventes e solutos) e até mesmo para outras operações unitárias, substituindo análises convencionais demoradas e dispendiosas.

Figura 4.7 - Dados de concentração de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) em (a) monoetilenoglicol (MEG) e (b) dietilenoglicol (DEG), obtidos pelos modelos PLS (linhas sólidas) e por HPLC (símbolos) durante os ensaios de absorção. As linhas pontilhadas representam 2 vezes o RMSEP, que é uma aproximação dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão obtidos para as análises de HPLC.





Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.4. Conclusões

A técnica desenvolvida combinando espectroscopia FT-MIR com regressão PLS foi capaz de fornecer dados em tempo real de concentração de etanol e água durante o processo de absorção de etanol nos solventes MEG e DEG. Amostras sintéticas simples contendo etanol, água e MEG ou DEG foram usadas para calibração. Os melhores modelos PLS apresentaram excelente desempenho, com valores de R^2 próximos de 1,0 e valores de RMSECV e RMSEP menores que 2% dos intervalos de dados utilizados para calibração, para ambos os analitos (etanol e água) em ambos os absorventes (MEG e DEG). Os resultados mostraram que a metodologia tem potencial para uso no monitoramento do processo de absorção de etanol, bem como em outras operações unitárias, oferecendo uma alternativa às análises convencionais e para o melhoramento de controle de processos.

Capítulo 5

RECUPERAÇÃO DE ETANOL DA MISTURA GASOSA DE ARRASTE POR ABSORÇÃO

5.1. Introdução

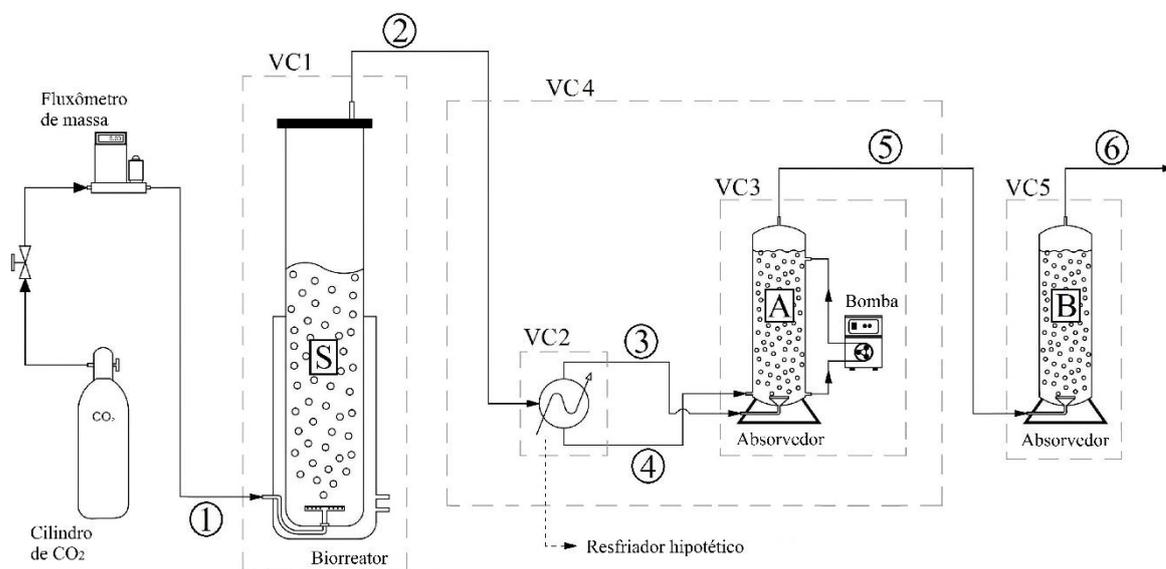
Neste capítulo são apresentados os resultados da avaliação da recuperação de etanol da mistura gasosa resultante do arraste empregando como método a absorção. Com o objetivo de selecionar o absorvente mais adequado, experimentos foram conduzidos de modo a avaliar as capacidades de absorção de etanol dos solventes água, monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG). Em seguida, ensaios utilizando o absorvente mais adequado foram conduzidos para avaliar a influência do volume inicial de solvente no absorvedor, da vazão volumétrica de recirculação do solvente e da utilização de um ou dois absorvedores conectados em série no processo de absorção. Conjuntamente à execução da parte experimental, foi desenvolvida uma modelagem para descrever o processo, que permitiu obter os coeficientes de transferência de massa de absorção de etanol e água. O modelo foi baseado nas equações de balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água, CO₂, absorvente), incorporando as cinéticas de arraste gasoso e absorção e conceitos de equilíbrio-líquido vapor. Os resultados apresentados e discutidos nesse capítulo foram publicados no artigo científico “*Ethanol recovery from stripping gas mixtures by gas absorption: experimental and modeling* (RODRIGUES, K. C. S. *et al. Energy & Fuels*, 2018)”.

5.2. Materiais e métodos

5.2.1. Geração da corrente gasosa por arraste com CO₂

A **Figura 5.1** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos. A corrente gasosa com etanol e água foi gerada por arraste gasoso com CO₂, seguindo o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.4.1. Amostras de 2 mL foram retiradas a cada hora para determinação da concentração de etanol. O volume da fase líquida foi determinado medindo-se a altura da coluna de líquido após o desligamento do sistema de gás para evitar interferência de bolhas.

Figura 5.1 - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado nos ensaios de absorção e das correntes (números circulados) e volumes de controle (VC: linhas pontilhadas) utilizados na modelagem do processo. 1: corrente de entrada de CO₂ puro no biorreator; 2: corrente de saída do biorreator; 3: corrente que entraria no primeiro absorvedor (A) como gás a 25 °C; 4: corrente que entraria no primeiro absorvedor como líquido condensado, devido à redução de temperatura de 34 para 25 °C; 5: corrente de saída do primeiro absorvedor; 6: corrente de saída do segundo absorvedor (B), quando aplicável.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.2.2. Ensaios de absorção

5.2.2.1. Procedimento experimental

A mistura gasosa de saída do biorreator foi injetada num absorvedor colunas de bolhas mantido a 25 °C, assim como descrito no item 4.2.4.2. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e duraram 6 h. Amostras de 2 mL foram retiradas a cada hora para determinação das concentrações de etanol e água. O volume da fase líquida foi determinado pela medição da altura da coluna de líquido após o desligamento do sistema de gás. Nos ensaios utilizados para avaliar a influência da vazão de solvente, a recirculação foi promovida utilizando bomba peristáltica (323Dz, Watson-Marlow). Nos ensaios com dois absorvedores, a corrente de saída do primeiro absorvedor foi diretamente injetada no segundo absorvedor (**Figura 5.1**).

5.2.2.2. Seleção do absorvente

Ensaios de absorção foram realizados para avaliar diferentes solventes em termos de suas capacidades de absorção de etanol. Água (usada como solvente de referência), dietilenoglicol (DEG, pureza de 99,9%, Synth) e monoetilenoglicol (MEG, pureza de 99,0%,

Synth) foram testados (ensaios A1, A2 e A3, respectivamente). Nesses ensaios foi utilizado um volume de 0,60 L de solvente no absorvedor. Para selecionar o melhor absorvente, o desempenho de recuperação foi avaliado pela porcentagem de recuperação de etanol (ER), conforme a Equação 5.1:

$$ER(\%) = \frac{m_{ERec}}{m_{ERem}} 100 = \frac{\sum_{n=1}^{NA} C_{EAbf} V_{Abf}}{C_{Ei} V_i - C_{Ef} V_f} 100 \quad (5.1)$$

onde m_{ERec} é a massa de etanol recuperada no absorvedor (g) e m_{ERem} é a massa de etanol removida do biorreator por arraste com CO_2 (g), NA é o número de absorvedores utilizados no experimento, C_{EAb} é a concentração de etanol no absorvedor “n” ($g L^{-1}$), V_{Ab} é o volume de solução no absorvedor “n” (L), m_{SA} é massa total de substrato alimentado (g), C_{Ei} e C_{Ef} são as concentrações de etanol na solução do biorreator no tempo inicial e final do experimento ($g L^{-1}$), V_i e V_f são os volumes da solução no biorreator no tempo inicial e final do experimento, respectivamente (L), NA é o número de absorvedores utilizados no experimento, C_{EAb} é a concentração de etanol no absorvedor “n” ($g L^{-1}$), V_{Ab} é o volume de solução no absorvedor “n” (L), m_{SA} é massa total de substrato alimentado (g)

As principais propriedades físicas do MEG e do DEG são mostradas na **Tabela 5.1**. A escolha dos dois solventes foi baseada nas características importantes na seleção de um absorvente, destacadas no **Capítulo 2**. Ambos apresentam boa solubilidade para o etanol (compostos polares) e possuem baixa volatilidade devido aos elevados pontos de ebulição. Ademais, glicóis como MEG e DEG impedem a formação do azeótropo etanol-água (BLACK e DITSLER, 1972).

Tabela 5.1 - Propriedades físicas dos solventes monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG).

Propriedades Físicas	MEG	DEG
Massa molar ($g mol^{-1}$)	62	106
Ponto de ebulição ($^{\circ}C$)	198	245
Ponto de congelamento ($^{\circ}C$)	-13	-8
Densidade relativa (20/4 $^{\circ}C$)	1,114	1,115
Viscosidade absoluta (25 $^{\circ}C$, cP)	20	34
Tensão superficial (20 $^{\circ}C$, dina cm^{-1})	46,5	48,5

Fonte: adaptado de (SMALLWOOD, 2002).

5.2.2.3. Ensaios com MEG

Após seleção do absorvente, a absorção de etanol usando MEG foi avaliada sob diferentes condições, considerando o volume inicial de MEG no absorvedor (V_{MEG}), a vazão volumétrica de recirculação de MEG (Q_{MEG}) e utilizando um ou dois absorvedores conectados em série. Primeiramente, três ensaios foram realizados utilizando um absorvedor, com V_{MEG} de 0,40, 0,60 e 0,80 L (ensaios A4, A5 e A6, respectivamente), sem recirculação de MEG. Esses volumes representaram 20, 30 e 40% do volume útil do biorreator, respectivamente, no qual o etanol foi removido por arraste. Posteriormente, foram realizados três ensaios utilizando Q_{MEG} de 0,30, 0,60 e 0,90 L min^{-1} (ensaios A7, A8 e A9), com um absorvedor e $V_{\text{MEG}} = 0,8$ L. Por fim, foram realizados três ensaios utilizando dois absorvedores em série, com $V_{\text{MEG}} = 0,40$, 0,60 e 0,80 L (ensaios A10, A11 e A12) em cada absorvedor, sem recirculação de MEG. Como parâmetro de desempenho de recuperação foi utilizada a porcentagem de recuperação de etanol (ER, Equação 5.1) e os coeficientes volumétricos globais de absorção para etanol ($K_{y\text{aE}}$) e água ($K_{y\text{aw}}$) do modelo de absorção.

5.2.2.4. Métodos analíticos

As concentrações de etanol e água nos solventes MEG e DEG foram determinadas utilizando a metodologia apresentada no **Capítulo 4**, baseada na combinação da técnica de espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR, *Fourier transform mid-infrared*) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS, *partial least squares*).

As concentrações de etanol na solução do biorreator em todos os ensaios e na solução do absorvedor no ensaio A3 (água como absorvente) foram obtidas por FT-MIR e PLS. Soluções hidroalcoólicas foram preparadas em duplicatas com concentrações de etanol na faixa de 0 a 100 g L^{-1} . As réplicas das amostras foram utilizadas para validação externa do modelo. A região espectral usada para calibração foi 5200-10100 nm, compreendendo as bandas características de absorção do etanol. Os dados espectrais foram pré-processados por suavização pela média móvel e derivada primeira. O modelo apresentou excelente desempenho, com erros de predição de 0,149 g L^{-1} para validação cruzada (RMSECV, Equação 4.1 do **Capítulo 4**) e 0,228 g L^{-1} para validação externa (RMSEP, Equação 4.2 do **Capítulo 4**). O coeficiente de determinação para a validação cruzada foi de 0,999. A concentração de água foi obtida pela diferença entre a densidade da solução hidroalcoólica e a concentração de etanol.

As medidas foram realizadas com imersão da sonda diretamente no tubo contendo a

amostra (sem nenhum método de preparo de amostra).

5.2.3. Modelagem do processo

A modelagem matemática desenvolvida para descrever o processo foi baseada nas equações de balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água, CO₂ e MEG), incorporando as cinéticas de arraste gasoso e absorção e conceitos de equilíbrio líquido-vapor. As correntes e volumes de controle (VC) considerados na modelagem são mostrados na **Figura 5.1**. Como as composições nas correntes gasosas e nas fases líquidas do biorreator e absorvedor variaram ao longo do tempo durante o processo, todas as variáveis da modelagem foram determinadas para cada instante "t".

Volume de controle 1 (VC1) - biorreator

A composição da fase gasosa na corrente 2 (saída do biorreator) foi obtida analisando o VC1. As frações molares de etanol (y_E), água (y_W) e CO₂ (y_C) foram determinadas de acordo com as seguintes equações:

$$y_{E2} = \frac{\dot{n}_{E2}}{\dot{n}_{E2} + \dot{n}_{W2} + \dot{n}_{C2}} \quad (5.2)$$

$$y_{W2} = \frac{\dot{n}_{W2}}{\dot{n}_{E2} + \dot{n}_{W2} + \dot{n}_{C2}} \quad (5.3)$$

$$y_{C2} = 1 - y_{E2} - y_{W2} \quad (5.4)$$

onde \dot{n}_E , \dot{n}_W e \dot{n}_C são as vazões molares de etanol, água e CO₂ (mol h⁻¹). O subscrito "2" representa o número da corrente.

Os valores de \dot{n}_{E2} , \dot{n}_{W2} e \dot{n}_{C2} foram determinados usando as Equações 5.5-5.7. Equações 5.5 e 5.6 foram baseadas no modelo cinético de arraste gasoso proposto no **Capítulo 3** (Equações 3.2-3.4), que considerou a remoção de etanol e água e a variação do volume. Equação 5.7 foi obtida a partir do balanço de massa para o CO₂ na fase gasosa, assumindo gás ideal e desprezando a solubilidade do CO₂ na solução hidroalcoólica do biorreator.

$$\dot{n}_{E2} = \frac{1}{MM_E} k_{ES} C_E V \quad (5.5)$$

$$\dot{n}_{W2} = \frac{1}{MM_W} k_{WS} C_W V \quad (5.6)$$

$$\dot{n}_{C2} = \dot{n}_{C1} = \frac{P Q_{C1}}{R T_1} \quad (5.7)$$

onde MM_E e MM_W são as massas molares de etanol e água (g mol^{-1}), k_{ES} e k_{WS} são as constantes de velocidade de remoção de etanol e água por arraste gasoso (h^{-1}), C_E e C_W são as concentrações de etanol e água na solução do biorreator (g L^{-1}), V é o volume de solução no biorreator (L), P é a pressão absoluta (atm), Q_C é a vazão volumétrica de CO_2 (L h^{-1}), T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante dos gases ($\text{L atm K}^{-1} \text{mol}^{-1}$). O subscrito "1" representa o número da corrente.

Volume de controle 2 (VC2) - resfriador hipotético

O gás da corrente de saída do biorreator (corrente 2) teve uma redução de temperatura de 34 para 25 °C quando foi alimentado no absorvedor. Como consequência, dois fenômenos ocorreram ao mesmo tempo, condensação e absorção. Pode ser assumido que a condensação ocorreu instantaneamente quando o gás entrou em contato com o solvente à temperatura mais baixa. Para modelar o processo foi conveniente considerar esses fenômenos separadamente. Assim propôs-se na modelagem a existência de um resfriador hipotético antes do primeiro absorvedor (VC2, **Figura 5.1**). Baseado nessa condição, a corrente 2 a 34 °C passaria pelo resfriador e teria sua temperatura reduzida para 25 °C. Consequentemente, uma corrente entraria no primeiro absorvedor como gás a 25 °C (corrente 3) e outra entraria como líquido condensado (corrente 4). Sete equações foram usadas para descrever essa situação. Equações 5.8-5.10 foram baseadas nos balanços de massa para etanol (E), água (W) e CO_2 (C). Equações 5.11 e 5.12 são as somas das frações molares para as espécies nas fases gasosa e líquida, respectivamente. Equações 5.13 e 5.14 representam o equilíbrio líquido-vapor para o sistema etanol, água e CO_2 , usando a aproximação da Lei de Raoult Modificada (Equação 2.32, **Capítulo 2**) e desprezando a solubilidade do CO_2 .

$$\dot{n}_{T2} y_{E2} = \dot{n}_{T3} y_{E3} + \dot{n}_{T4} x_{E4} \quad (5.8)$$

$$\dot{n}_{T2} y_{W2} = \dot{n}_{T3} y_{W3} + \dot{n}_{T4} x_{W4} \quad (5.9)$$

$$\dot{n}_{T2} y_{C2} = \dot{n}_{T3} y_{C3} \quad (5.10)$$

$$y_{E3} + y_{W3} + y_{C3} = 1 \quad (5.11)$$

$$x_{E4} + x_{W4} = 1 \quad (5.12)$$

$$y_{E3}P = \gamma_{E4}x_{E4}P_{SE} \quad (5.13)$$

$$y_{W3}P = \gamma_{W4}x_{W4}P_{SW} \quad (5.14)$$

onde \dot{n}_T é a vazão molar total (mol h^{-1}), γ_E e γ_W são os coeficientes de atividade do etanol e água, x_E e x_W são as frações molares de etanol e água na fase líquida e P_{SE} e P_{SW} são as pressões de vapor do etanol e água (atm). Os subscritos "3" e "4" representam os números das correntes.

O sistema composto pelas Equações 5.8-5.14 tem sete variáveis desconhecidas (\dot{n}_{T3} , \dot{n}_{T4} , x_{E4} , x_{W4} , y_{E3} , y_{W3} e y_{C3}) e, portanto, pode ser resolvido. O valor de \dot{n}_{T2} foi obtido da soma das vazões molares de etanol, água e CO_2 na corrente 2 ($\dot{n}_{T2} = \dot{n}_{E2} + \dot{n}_{W2} + \dot{n}_{C2}$), determinadas pelas Equações 5.5-5.7. Os coeficientes de atividade para etanol (E) e água (W) foram calculados pelo método UNIQUAC ($r_E = 2.1055$, $q_E = 1,9720$, $r_W = 0,9200$, $q_W = 1,4000$, $a_{EW} = 2,0046$, $a_{WE} = -2,4936$, $b_{EW} = -728,9705$ K, $b_{WE} = 756,9477$ K; parâmetros obtidos usando o software Aspen Plus v. 8.2). A pressão de vapor do componente "i" (P_{Si} , atm) foi calculada usando a equação de Antoine:

$$P_{Si} = \frac{1}{760} e^{A_i - \frac{B_i}{T+C_i}} \quad (5.15)$$

onde A_i , B_i e C_i são as constantes da equação de Antoine. Os valores utilizados para etanol foram $A_E = 18,91$, $B_E = 3803,98$ e $C_E = -41,68$. Para a água foram $A_W = 18,30$, $B_W = 3816,44$ e $C_W = -46,13$ (REID *et al.*, 1977).

Volume de controle 3 (VC3) - primeiro absorvedor (A)

Considerando os fenômenos de condensação e absorção para etanol e água, a variação do volume da solução e desprezando variação do volume devido à mistura, a modelagem do sistema pode ser representada pelas Equações 5.16-5.18, derivadas dos balanços de massa na fase líquida para etanol (E) e água (W) e balanço de massa total.

$$\frac{dC_{EA}}{dt} = \frac{\dot{m}_{E4}}{V_A} + MM_E K_y a_E (y_{lnEA} - y_{EA}^*) - \frac{C_{EA}}{V_A} \frac{dV_A}{dt}; \quad y_{lnEA} = \frac{y_{E3} - y_{E5}}{\ln y_{E3} - \ln y_{E5}} \quad (5.16)$$

$$\frac{dC_{WA}}{dt} = \frac{\dot{m}_{W4}}{V_A} + MM_W K_y a_W (y_{lnWA} - y_{WA}^*) - \frac{C_{WA}}{V_A} \frac{dV_A}{dt}; \quad y_{lnWA} = \frac{y_{W3} - y_{W5}}{\ln y_{W3} - \ln y_{W5}} \quad (5.17)$$

$$\begin{aligned} \frac{dV_A}{dt} = \frac{1}{\rho_A} (\dot{m}_{E4} + \dot{m}_{W4}) \\ + \frac{V_A}{\rho_A} [MM_E K_y a_E (y_{lnEA} - y_{EA}^*) + MM_W K_y a_W (y_{lnWA} - y_{WA}^*)] \end{aligned} \quad (5.18)$$

onde C_{EA} e C_{WA} são as concentrações de etanol e água na solução do primeiro absorvedor (g L^{-1}), \dot{m}_E e \dot{m}_W são as vazões mássicas de etanol e água (g h^{-1}), K_{yE} e K_{yW} são os coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol e água baseados no filme gasoso ($\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$), y_{lnEA} e y_{lnWA} são as frações molares logarítmicas médias de etanol e água na fase gasosa do primeiro absorvedor (HOUSTON e WALKER, 1950; DEY e AROONWILAS, 2009), y_{EA}^* e y_{WA}^* são as frações molares de etanol e água na fase gasosa em equilíbrio com a composição da fase líquida para o primeiro absorvedor, V_A é o volume de solução no primeiro absorvedor (L) e ρ_A é a massa específica da solução no primeiro absorvedor (g L^{-1}). O subscrito "5" representa o número da corrente.

O segundo termo do lado direito das Equações 5.16 e 5.17 foi baseado na teoria das duas películas estagnadas (WHITMAN, 1962). A velocidade de absorção pode ser convenientemente descrita em termos do coeficiente global baseado no filme gasoso (K_y) ou no filme líquido (K_x), que pode ser relacionado com os coeficientes individuais (k_y e k_x) (HADLOCON *et al.*, 2015). A relação entre K_y e os coeficientes k_y e k_x é dada por:

$$\frac{1}{K_y} = \frac{1}{k_y} + \frac{H_{xy}}{k_x} \quad (5.19)$$

onde H_{xy} é a constante da lei de Henry em unidades molares (mol mol^{-1}).

Note que na modelagem, a velocidade de absorção foi descrita em termos do coeficiente volumétrico global de transferência de massa (K_{yA}), incorporando ao K_y a área interfacial (a) por unidade de volume, conforme definido na Equação 2.17 do **Capítulo 2**. O filme gasoso foi adotado como referência porque os solutos (água e etanol) têm alta solubilidade no solvente (MEG) (HADLOCON *et al.*, 2015; HEGELY *et al.*, 2017). Os valores de \dot{m}_{E4} e \dot{m}_{W4} , que representam as vazões mássicas de etanol e água que entrariam no absorvedor como líquido condensado, foram calculados pelas Equações 5.20 e 5.21. Os valores de y_{EA}^* e y_{WA}^* foram determinados pelas Equações 5.22 e 5.23, que descrevem o equilíbrio líquido-vapor do sistema constituído por etanol, água, MEG e CO_2 , usando a aproximação da Lei de Raoult Modificada

(Equação 2.32, **Capítulo 2**) e considerando o CO₂ como insolúvel.

$$\dot{m}_{E4} = \dot{n}_{T4} x_{E4} MM_E \quad (5.20)$$

$$\dot{m}_{W4} = \dot{n}_{T4} x_{W4} MM_W \quad (5.21)$$

$$y_{EA}^* P = \gamma_{EA} x_{EA} P_{SE} \quad (5.22)$$

$$y_{WA}^* P = \gamma_{WA} x_{WA} P_{SW} \quad (5.23)$$

onde γ_{EA} e γ_{WA} são os coeficientes de atividade para etanol (E) e água (W) na fase líquida do primeiro absorvedor, e x_{EA} e x_{WA} são as frações molares de etanol e água na fase líquida do primeiro absorvedor. Os valores de γ_{EA} e γ_{WA} foram calculados usando o método UNIQUAC, considerando a contribuição do MEG (M) ($r_M = 2,4087$, $q_M = 2,2480$, $a_{EM} = -8,2308$, $a_{ME} = 2,6876$, $a_{WM} = -0,6018$, $a_{MW} = 0,6018$, $b_{EM} = 2632,9260$ K, $b_{ME} = -959,565$ K, $b_{WM} = 120,7787$ K e $b_{MW} = -18,6714$ K; parâmetros obtidos utilizando software Aspen Plus v. 8.2).

Volume de controle 4 (VC4) - resfriador hipotético + primeiro absorvedor (A)

A composição da fase gasosa da corrente de saída do primeiro absorvedor (y_{E5} e y_{W5} , corrente 5) foi determinada com base no VC4. Primeiramente, as vazões mássicas de etanol e água (\dot{m}_{E5} e \dot{m}_{W5}) foram calculadas a partir do balanço de massa para etanol e água, de acordo com as Equações 5.24 e 5.25, que representam a diferença entre as vazões mássicas de etanol e água de saída do biorreator (\dot{m}_{E2} e \dot{m}_{W2}) e as massas recuperadas ao longo do tempo. Os valores de y_{E5} e y_{W5} foram então determinados pelas Equações 5.26 e 5.27. As vazões molares de etanol (\dot{n}_{E5}) e água (\dot{n}_{W5}) foram obtidas dividindo os valores de \dot{m}_{E5} e \dot{m}_{W5} pelas massas molares correspondentes (MM_E e MM_W). A vazão molar de CO₂ na corrente 5 (\dot{n}_{C5}) foi considerada igual à vazão molar na corrente 2 (\dot{n}_{C2} , Equação 5.7).

$$\dot{m}_{E5} = \dot{m}_{E2} - \frac{d}{dt}(m_{EA}) = \dot{n}_{T2} y_{E2} MM_E - \frac{d}{dt}(m_{EA}) \quad (5.24)$$

$$\dot{m}_{W5} = \dot{m}_{W2} - \frac{d}{dt}(m_{WA}) = \dot{n}_{T2} y_{W2} MM_W - \frac{d}{dt}(m_{WA}) \quad (5.25)$$

$$y_{E5} = \frac{\dot{n}_{E5}}{\dot{n}_{E5} + \dot{n}_{W5} + \dot{n}_{C5}} \quad (5.26)$$

$$y_{W5} = \frac{\dot{n}_{W5}}{\dot{n}_{E5} + \dot{n}_{W5} + \dot{n}_{C5}} \quad (5.27)$$

onde m_{EA} e m_{WA} são as massas de etanol e água no primeiro absorvedor. As derivadas foram determinadas com base em ajustes de polinômios para os dados experimentais de m_{EA} e m_{WA} ao longo do tempo.

Volume de controle 5 (VC5) - segundo absorvedor (B)

A modelagem do processo de absorção no segundo absorvedor (B) foi representada pelas Equações 5.28-5.30, derivadas dos balanços de massa para etanol (E), água (W) e de massa total, considerando a absorção de etanol e água, a variação do volume da solução e desprezando a variação de volume devido à mistura. Note que a diferença desse modelo para o modelo do primeiro absorvedor é o termo de condensação de etanol e água. No segundo absorvedor, não ocorreu condensação, pois o gás de entrada do absorvedor estava na mesma temperatura da fase líquida da absorção (25 °C).

$$\frac{dC_{EB}}{dt} = MM_E K_y a_E (y_{lnEB} - y_{EB}^*) - \frac{C_{EB}}{V_B} \frac{dV_B}{dt}; \quad y_{lnEB} = \frac{y_{E5} - y_{E6}}{\ln y_{E5} - \ln y_{E6}} \quad (5.28)$$

$$\frac{dC_{WB}}{dt} = MM_W K_y a_W (y_{lnWB} - y_{WB}^*) - \frac{C_{WB}}{V_B} \frac{dV_B}{dt}; \quad y_{lnWB} = \frac{y_{W5} - y_{W6}}{\ln y_{W5} - \ln y_{W6}} \quad (5.29)$$

$$\frac{dV_B}{dt} = \frac{V_B}{\rho_B} [MM_E K_y a_E (y_{lnEB} - y_{EB}^*) + MM_W K_y a_W (y_{lnWB} - y_{WB}^*)] \quad (5.30)$$

onde C_{EB} e C_{WB} são as concentrações de etanol e água na solução do segundo absorvedor (g L^{-1}), y_{lnEB} e y_{lnWB} são as frações molares logarítmicas médias de etanol e água na fase gasosa do segundo absorvedor (DEY e AROONWILAS, 2009), y_{EB}^* e y_{WB}^* são as frações molares de etanol e água da fase gasosa em equilíbrio com a composição da fase líquida do segundo absorvedor, V_B é o volume de solução no segundo absorvedor (L) e ρ_B é a massa específica da solução no segundo absorvedor (g L^{-1}). O subscrito "6" representa o número da corrente.

As frações mássicas de equilíbrio (y_{EB}^* e y_{WB}^*) e a composição da fase gasosa na saída do segundo absorvedor (y_{E6} e y_{W6} , corrente 6) foram determinadas de modo semelhante ao procedimento utilizado para o primeiro absorvedor (Eqs. 5.24-5.27).

5.2.4. Procedimentos numéricos

As equações diferenciais ordinárias (Equações 3.2-3.4, 5.16-5.18 e 5.28-5.30) foram integradas usando o método Runge-Kutta de 4ª ordem, implementado em planilha do Excel (Microsoft Office 2010). O método de resolução não linear GRG (*Generalized Reduced Gradient*) foi usado para determinar as constantes de velocidade de remoção de etanol e água por arraste gasoso (k_{ES} e k_{WS}) nas Equações 3.2-3.4 e os coeficientes de transferência de massa por absorção para etanol e água (K_{yAE} e K_{yAW}) nas Equações 5.16-5.18 (primeiro absorvedor) e Equações 5.28-5.30 (segundo absorvedor). O critério utilizado para encontrar o melhor ajuste foi a minimização da soma quadrados dos resíduos entre os dados calculados e experimentais. As variáveis desconhecidas do VC2 (\hat{n}_{T3} , \hat{n}_{T4} , x_{E4} , x_{W4} , y_{E3} , y_{W3} e y_{C3}) foram obtidas usando o método não linear GRG para resolver as Equações 5.8-5.14, para cada instante "t".

5.3. Resultados e discussão

5.3.1. Remoção de etanol e água por arraste com CO₂

Nos ensaios de absorção, a corrente gasosa de etanol e água foi gerada por arraste gasoso com CO₂ em biorreator de coluna de bolhas. As condições de temperatura (34 °C) e concentração inicial de etanol (80 g L⁻¹) representaram valores típicos do processo industrial de produção de etanol (BASSO *et al.*, 2011). A vazão específica de CO₂ (2,5 vvm) foi baseada na literatura, considerando um valor suficiente para reduzir a inibição pelo etanol e fornecer resultados satisfatórios (PONCE *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2016). Assim como nos resultados do **Capítulo 3**, a redução da concentração de etanol (C_E) foi acompanhada por um leve aumento na concentração de água (C_W), mostrando que o etanol foi preferencialmente arrastado pelo CO₂. Os valores obtidos para as constantes de velocidade de remoção de etanol (k_{ES}) e água (k_{WS}) foram $0,0707 \pm 0,0023 \text{ h}^{-1}$ e $0,0069 \pm 0,0003 \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Os dados experimentais e simulados de C_E e C_W apresentaram boa correlação ($R^2 = 0,999$). Para mostrar a qualidade do ajuste do modelo, os valores do desvio padrão residual (RSD, *residual standard deviation*) foram calculados a utilizando Equação 5.31 (RIVERA *et al.*, 2006). Os valores foram inferiores a 1% para ambos (C_E e C_W).

$$RSD(\%) = \frac{\sqrt{\frac{1}{N_P} \sum_{j=1}^{N_P} (C_{exp}(t_j) - C_{sim}(t_j))^2}}{\hat{C}_{exp}} \times 100 \quad (5.31)$$

onde $C_{exp}(t_j)$ é a concentração experimental no tempo t_j , $C_{sim}(t_j)$ é a concentração prevista pelo

modelo no tempo t_j , \hat{C}_{exp} é a média das concentrações experimentais e N_p é o número de pontos experimentais.

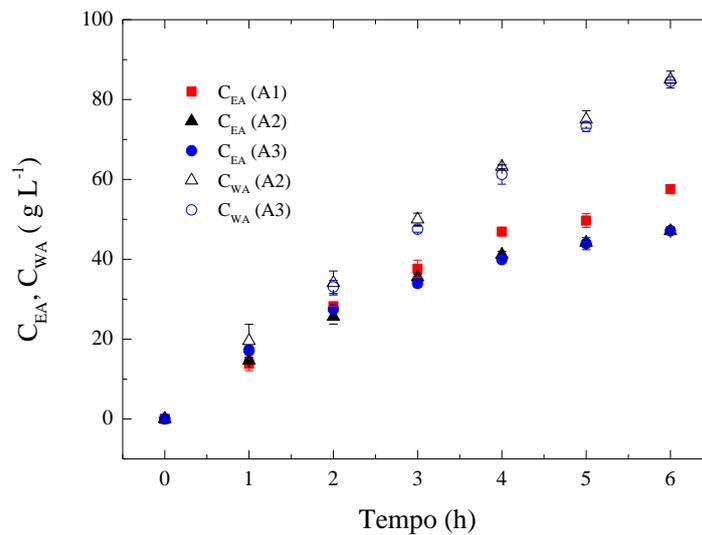
5.3.2. Seleção do absorvente

Ensaio de absorção foram conduzidos para avaliar as capacidades de absorver etanol dos solventes água (A1, referência), DEG (A2) e MEG (A3). Os resultados experimentais de concentração de etanol no absorvedor (C_{EA}) em função do tempo são mostrados na **Figura 5.2**. A **Tabela 5.2** fornece as porcentagens de recuperação de etanol (ER). O maior valor de ER foi obtido para água (65,9%), seguido por MEG (61,2%) e DEG (59,7%). A comparação das médias utilizando o teste de Tukey indicou que os valores de ER para A2 (DEG) e A3 (MEG) foram estatisticamente iguais, mas diferentes do valor para A1, com nível de confiança de 90%. Quando um nível de confiança de 95% foi adotado, os valores de ER obtidos nos ensaios A1 e A3 foram estatisticamente iguais. Na absorção é desejável que o soluto “i” apresente alta fração molar na fase líquida (x_i) para baixa pressão parcial na fase de vapor (P_i). Como os valores x_i são geralmente baixos, o coeficiente de atividade à diluição infinita para o soluto no solvente (γ^∞) é considerado um bom parâmetro para comparação de absorventes (SMALLWOOD, 2002). Quanto menor o valor γ^∞ , mais apropriado deve ser o solvente para absorver o soluto. No entanto, os resultados desse estudo mostraram comportamento oposto. Por exemplo, os valores de γ^∞ para etanol em água e MEG foram de 4,60 e 0,55, respectivamente, determinados usando o método UNIQUAC. O desempenho superior de recuperação da água pode ser atribuído à transferência de massa mais efetiva em comparação aos demais solventes, devido a diferenças nas propriedades físicas tais como viscosidade, tensão superficial e massa específica. A 25 °C (temperatura dos ensaios), a viscosidade dinâmica da água é aproximadamente 20 vezes menor que a do MEG e 35 vezes menor que a do DEG (SMALLWOOD, 2002). Comportamento semelhante foi reportado por Chiang *et al.* (2009) para a absorção de etanol em soluções aquosas de glicerol, utilizando coluna de recheio rotativa e por Gomez-Diaz *et al.* (2009) para absorção de CO₂ em soluções aquosas de κ -carragenina (fluidos não newtonianos), utilizando coluna de bolhas.

A **Figura 5.2** também mostra as concentrações de água (C_{WA}) durante os ensaios de absorção usando DEG (A2) e MEG (A3). Os valores de C_{WA} foram semelhantes. A quantidade de água nesses ensaios foi consideravelmente menor que a do ensaio de referência (A1), em que a própria água foi usada como absorvente. Para posterior recuperação do etanol, este é um aspecto importante a ser considerado na seleção do solvente (SMALLWOOD, 2002). Devido à menor quantidade de água, é esperado que o consumo de energia para a recuperação de etanol

por destilação seja menor para DEG e MEG. Além disso, a água e o etanol formam azeótropo (SMALLWOOD, 2002). Portanto, embora tenha sido recuperada quantidade maior de etanol no ensaio A1 (**Figura 5.2** e **Tabela 5.2**), a água não seria a opção mais adequada para utilização como absorvente em termos econômicos. Considerando MEG e DEG, o primeiro deveria ser de maior interesse do ponto de vista industrial, pois estaria prontamente disponível para uso no processo uma vez que já é usado em destilarias na destilação extrativa para obtenção de etanol anidro (BLACK e DITSLER, 1972; MEIRELLES *et al.*, 1992). Ademais, a solução resultante da absorção (contendo etanol, água e MEG) poderia ser usada na própria destilação extrativa. Portanto, o MEG foi escolhido para utilização nos testes subsequentes.

Figura 5.2 - Valores experimentais das concentrações de etanol (C_{EA} , símbolos preenchidos) e água (C_{WA} , símbolos vazios) ao longo do tempo nos ensaios de absorção com água (A1, quadrados), DEG (A2, triângulos) e MEG (A3, círculos).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 5.2 - Condições experimentais e resultados de porcentagem de recuperação de etanol (ER) e coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol (K_{yAE}) e água (K_{yAW}) nos ensaios de absorção A1 a A12.

Ensaio	V_A/V^a (%)	Q_{MEG}^b (L min ⁻¹)	ER ^c (%)	K_{yAE}^d (mol L ⁻¹ h ⁻¹)	K_{yAW}^e (mol L ⁻¹ h ⁻¹)
A1	30	-	65,9 ± 1,3	-	-
A2	30	-	59,7 ± 1,4	-	-
A3	30	-	61,2 ± 1,2	-	-
A4	20	-	48,3 ± 0,9	6,5-49,3	42,6-56,8
A5	30	-	61,2 ± 1,2	2,9-38,4	27,7-48,0
A6	40	-	66,5 ± 0,6	6,0-28,5	22,6-43,5
A7	40	0,30	67,3 ± 1,3	6,3-28,6	22,8-44,7
A8	40	0,60	68,1 ± 0,9	5,9-31,3	25,5-45,9
A9	40	0,90	70,3 ± 1,8	7,5-30,9	24,3-45,0
A10 (A) ^f	20	-	76,1 ^h ± 2,0	5,7-47,1	39,6-52,0
A10 (B) ^g	20	-		15,1-51,4	25,1-28,5
A11 (A)	30	-	84,9 ^h ± 2,2	5,6-37,1	27,0-47,5
A11 (B)	30	-		16,5-33,8	24,2-29,5
A12 (A)	40	-	93,1 ^h ± 4,2	8,2-31,5	26,0-42,4
A12 (B)	40	-		18,6-27,4	26,8-30,2

^a V_A/V : Relação percentual do volume absorvente com o volume da fase líquida do biorreator; ^b Q_{MEG} : vazão volumétrica de recirculação de MEG; ^cER: porcentagem de recuperação de etanol; ^d K_{yAE} coeficiente volumétrico global de absorção para o etanol; ^e K_{yAW} coeficiente volumétrico global de absorção para a água; ^fA: primeiro absorvedor; ^gB: segundo absorvedor; ^hPorcentagem de recuperação de etanol acumulada (quantidade total de etanol, considerando os dois absorvedores).

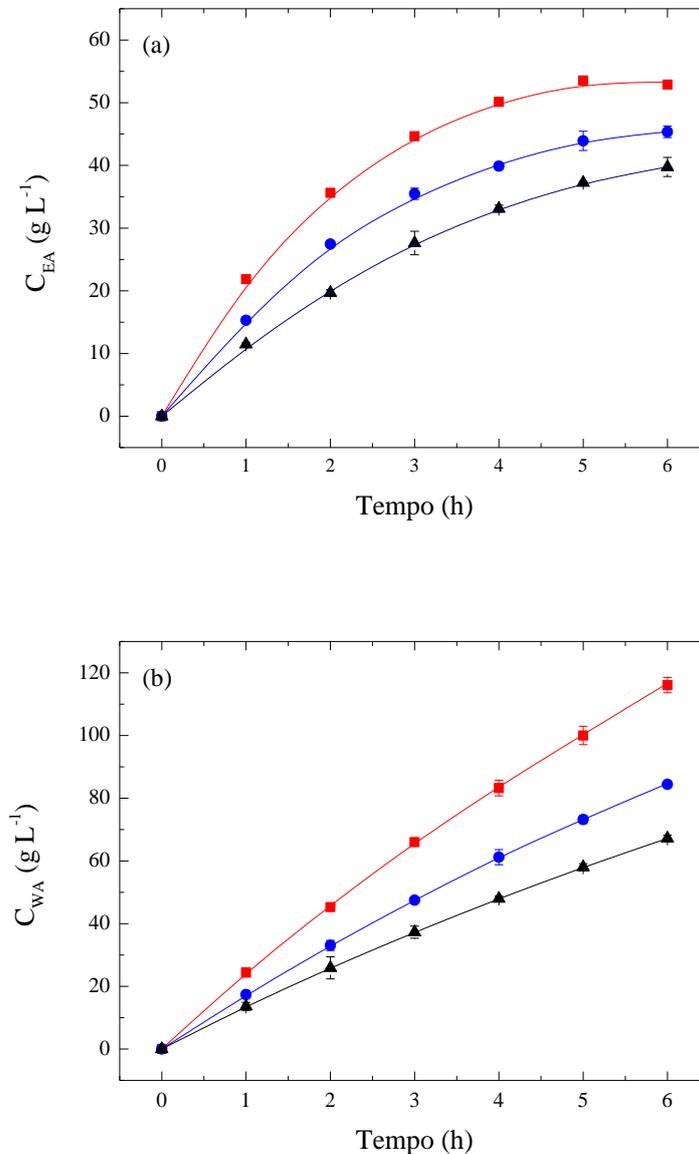
5.3.3. Ensaio utilizando MEG como absorvente

Nos experimentos utilizando MEG como absorvente, a absorção de etanol foi avaliada variando o volume inicial de MEG no absorvedor (V_{MEG}), a vazão volumétrica de recirculação de MEG (Q_{MEG}) e utilizando um ou dois absorvedores conectados em série. As porcentagens de recuperação de etanol (ER) e os coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol (K_{yAE}) e água (K_{yAW}) são mostrados na **Tabela 5.2**. Os valores de K_{yAE} e K_{yAW} variaram de 2,9 a 51,4 mol L⁻¹ h⁻¹ e de 22,6 a 56,8 mol L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Dados de transferência de massa para absorção de etanol e água são escassos na literatura. Os poucos estudos existentes avaliaram outras condições de operação (diferentes solventes, absorvedores e vazões de líquido

e gás), obtendo coeficientes da mesma ordem de grandeza que os valores de K_{yaE} e K_{yaw} encontrados no presente estudo, o que corrobora os resultados obtidos (HOUSTON e WALKER, 1950; CARDOSO *et al.*, 2018).

Os valores de ER nos ensaios de absorção usando um absorvedor com V_{MEG} de 0,40 (A4), 0,60 (A5) e 0,80 L (A6) (20, 30 e 40% do volume útil do biorreator), sem recirculação de MEG, foram iguais a 48,3, 61,2 e 66,5%, respectivamente. A **Figura 5.3** mostra a comparação entre os resultados experimentais e simulados das concentrações de etanol (C_{EA}) e água (C_{WA}) ao longo do tempo nesses ensaios. A modelagem proposta (Equações 5.16-5.18) considerando os fenômenos de condensação e absorção foi adequada para descrever a dinâmica do processo, proporcionando excelente ajuste. Em contraste com o comportamento de ER, os valores de K_{yaE} e K_{yaw} diminuíram com o aumento de V_{MEG} (**Tabela 5.2**). As faixas obtidas nos ensaios A4, A5 e A6 foram 6,5-49,3, 2,9-38,4 e 6,0-28,5 mol L⁻¹ h⁻¹ (K_{yaE}) e 42,6-56,8, 27,7-48,0 e 22,6-43,5 mol L⁻¹ h⁻¹ (K_{yaw}), respectivamente. Os valores de vazão específica de CO₂ foram maiores para volumes menores de MEG (12,50, 8,30 e 6,25 vvm nos ensaios A4, A5 e A6, respectivamente), resultando em maior retenção gasosa (ε_G , razão entre o volume de gás e volume da dispersão gás-líquido no absorvedor) e maior área interfacial para transferência de massa. Os valores de ε_G foram 9,9, 6,9 e 5,1% nos ensaios A4, A5 e A6, respectivamente, o que explica o comportamento observado para K_{yaE} e K_{yaw} , visto que o coeficiente volumétrico de transferência de massa é um produto do coeficiente convectivo de transferência de massa (K_y) e da área interfacial (a) por unidade de volume. Pode-se observar também na **Figura 5.3** que para os três ensaios, a quantidade de etanol recuperado (**Figura 5.3a**) foi menor que a quantidade de água (**Figura 5.3b**). Este comportamento pode ser explicado por um conjunto de fatores. Além dos valores mais altos de K_{yaw} , em comparação a K_{yaE} (**Tabela 5.2**), a força motriz para transferência de massa foi maior para água ($y_{lnWA} - y_{WA}^*$) do que para etanol ($y_{lnEA} - y_{EA}^*$), o que também contribuiu para aumentar a velocidade de transferência de massa de absorção. Ademais, o fato de a massa de água removida pelo CO₂ ter sido maior que a massa de etanol contribuiu para os maiores valores de concentração de água no absorvedor. Por fim, é importante mencionar que a condensação e a absorção ocorreram simultaneamente nos ensaios, devido à redução de temperatura de 34 °C (biorreator) para 25 °C (absorvedor). A condensação resultou na retenção de uma quantidade muito maior de água, em comparação com o etanol. Considerando as quantidades totais de etanol e água removidas pelo CO₂ no biorreator, 6,6% de etanol e 35,9% de água foram retidos por condensação.

Figura 5.3 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de (a) etanol (C_{EA}) e (b) água (C_{WA}) ao longo do tempo nos ensaios de absorção com volumes de MEG de 0,40 (A4, quadrados), 0,60 (A5, círculos) e 0,80 L (A6, triângulos), sem recirculação de MEG. Esses volumes representaram 20, 30 e 40% do volume de trabalho do biorreator, respectivamente.



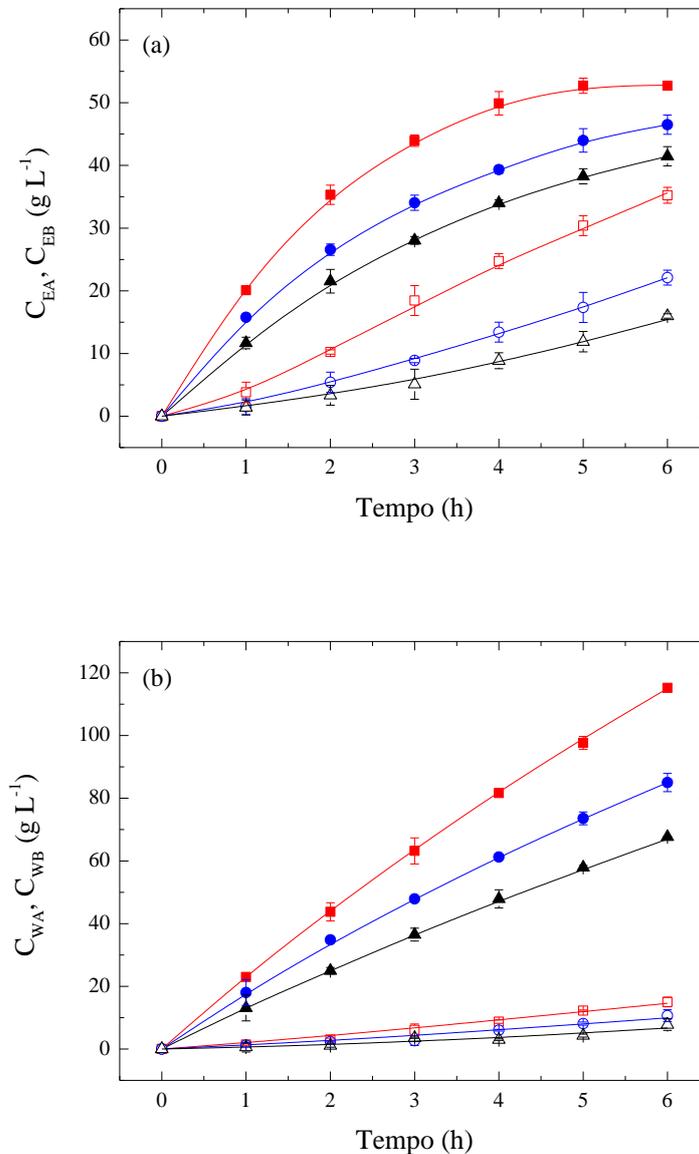
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Nos ensaios de absorção com recirculação da fase líquida, A7 ($0,30 \text{ L min}^{-1}$), A8 ($0,60 \text{ L min}^{-1}$) e A9 ($0,90 \text{ L min}^{-1}$), os valores de C_{EA} e C_{WA} (dados não mostrados) e os parâmetros de desempenho (ER e faixas para K_{yaE} e K_{yaw} , **Tabela 5.2**) foram semelhantes aos do ensaio A6, sem recirculação de MEG, mostrando que Q_{MEG} não afetou a transferência de massa. De acordo com a teoria de penetração de Higbie, k_x é inversamente proporcional ao tempo de exposição do líquido às bolhas de gás contendo o soluto. Portanto, uma maior velocidade do líquido deveria ter aumentado os valores de K_{yaE} e K_{yaw} , visto que K_y é proporcional a k_x .

(Equação 5.19). Pode-se argumentar que a vazão volumétrica de CO₂ foi suficientemente alta para maximizar os valores de $K_{y,aE}$ e $K_{y,aW}$, sendo estes dependentes apenas da área interfacial, que pode ser considerada a mesma nos ensaios, uma vez que a vazão específica de CO₂ e a retenção de gás foram iguais para o mesmo volume de MEG (0,80 L). Cerri *et al.* (2010) mostraram que em reatores pneumáticos o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{LA}) variou em função da área interfacial, mas não dependia do coeficiente k_L , em concordância com os resultados obtidos no presente estudo.

A **Figura 5.4** mostra os dados experimentais e simulados das concentrações de etanol (C_{EA} e C_{EB}) e água (C_{WA} e C_{WB}) ao longo dos ensaios utilizando dois absorvedores em série (A e B, **Figura 5.1**), com V_{MEG} de 0,40 (A10), 0,60 (A11) e 0,80 L (A12). Os modelos propostos para o primeiro (Equações 5.16-5.18) e segundo absorvedores (Equações 5.28-5.30) foram adequados para descrever o comportamento do processo, proporcionando ajustes excelentes. As faixas de valores de $K_{y,aE}$ e $K_{y,aW}$ para o primeiro absorvedor foram semelhantes aos obtidos nos ensaios A4, A5 e A6, com apenas um absorvedor (**Tabela 5.2**). Quanto ao segundo absorvedor, os valores diferiram do primeiro, com faixas de 15,1-51,5, 16,5-33,8 e 18,6-27,4 mol L⁻¹ h⁻¹ ($K_{y,aE}$) e 25,1-28,5 a 24,2-29,5 e 26,8-30,2 mol L⁻¹ h⁻¹ ($K_{y,aW}$) para os ensaios A10, A11 e A12, respectivamente. Com relação a $K_{y,aE}$, o comportamento foi o mesmo observado para o primeiro absorvedor, com os valores decrescendo com o aumento do volume do MEG, devido à redução da área interfacial. Quanto a $K_{y,aW}$, os valores foram similares entre os ensaios. As porcentagens de recuperação de etanol considerando os dois absorvedores foram iguais a 76,1 (A10), 84,9 (A11) e 93,1% (A12), respectivamente. No ensaio A10, este valor foi 14% maior que no ensaio A6, que também foi realizado utilizando volume MEG de 0,80 L, mostrando que a utilização de um absorvedor adicional aumentou a eficiência de absorção.

Figura 5.4 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentrações de (a) etanol (C_{EA} e C_{EB}) e (b) água (C_{WA} e C_{WB}) ao longo do tempo nos ensaios de absorção utilizando dois absorvedores com volumes de MEG de 0,40 (A10, quadrados), 0,60 (A11, círculos) e 0,80 L (A12, triângulos), sem recirculação de MEG. Os símbolos preenchidos e vazios representam o primeiro (A) e o segundo (B) absorvedor, respectivamente.

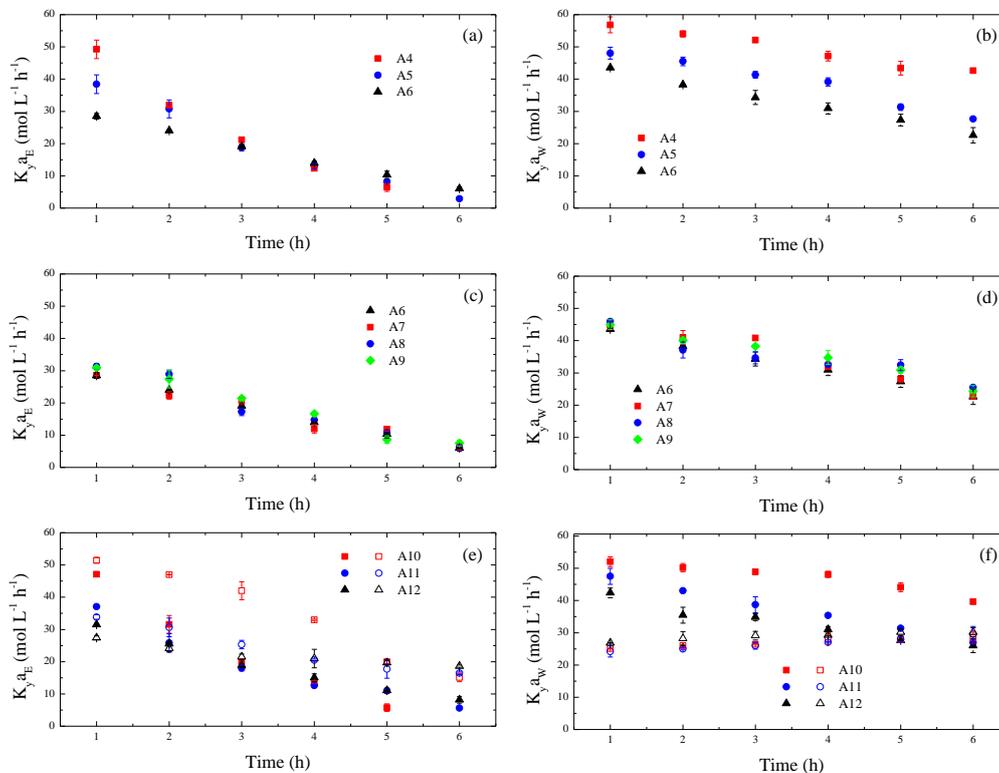


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os valores de K_{yaE} e K_{yaW} obtidos nos ensaios são mostrados na **Figura 5.5**. No geral, os valores diminuíram ao longo do tempo, com exceção dos valores de K_{yaW} no segundo absorvedor (**Figura 5.5f**), que apresentaram pouca variação. Como as concentrações de etanol e água, tanto na fase líquida quanto na fase gasosa, variaram com o tempo, as propriedades físicas (viscosidade, massa específica e tensão superficial) e as difusividades do etanol e da água também variaram, influenciando os valores de K_{yaE} e K_{yaW} . Tal fato também pode explicar as diferenças entre os valores no primeiro e no segundo absorvedores nos ensaios A10, A11 e

A12 (**Figuras 5.5e e 5.5f**). Estudos de absorção reportados na literatura utilizando outros tipos de absorvedores (SPEDDING e JONES, 1986; HADLOCON *et al.*, 2015), mostraram que o coeficiente de transferência de massa baseado no filme gasoso variou com a concentração de soluto na fase gasosa. Este comportamento foi atribuído a mudanças na tensão superficial. Jia *et al.* (2014) mostraram que a presença de etanol na fase gasosa pode ocasionar desequilíbrio na tensão superficial e alterar o coeficiente de absorção de CO₂. Surosky e Dodge (1950) mostraram que o valor do coeficiente convectivo aumentou com o aumento da difusividade. Estudos de transferência de oxigênio em biorreatores (CERRI e BADINO, 2010; MENDES e BADINO, 2015) também relataram a dependência dos coeficientes de transferência de massa em relação às propriedades físicas das fases gasosa e líquida. Apesar de estarem relacionados com aplicações diferentes, esses estudos corroboram os resultados do presente estudo.

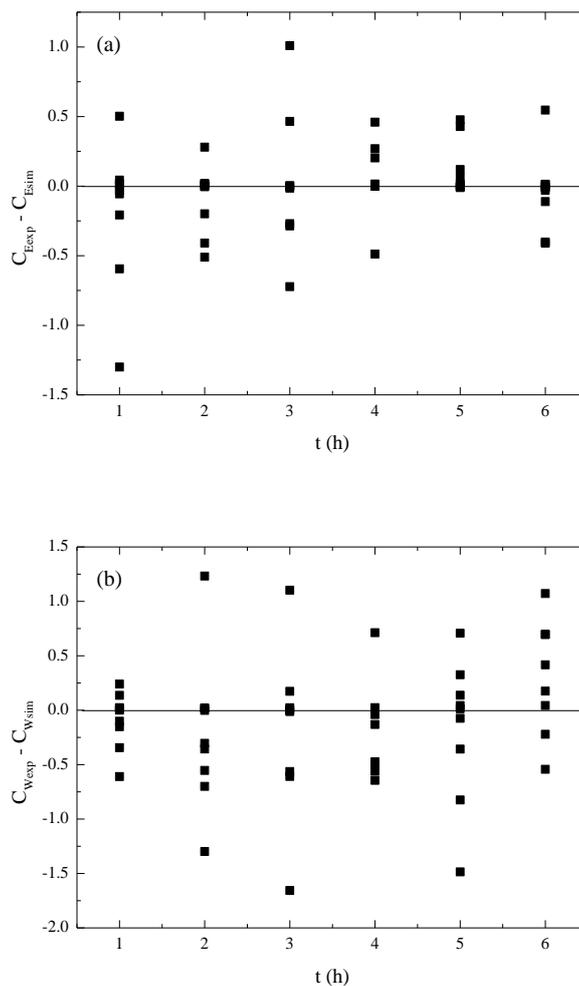
Figura 5.5 – Valores dos coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol ($K_{y,aE}$) e água ($K_{y,aW}$) ao longo do tempo nos ensaios: (a e b) sem recirculação de MEG, para V_{MEG} de 0,40 (A4), 0,60 (A5) e 0,80 L (A6); (c e d) com recirculação de MEG, para Q_{MEG} de 0,30 (A7), 0,60 (A8) e 0,90 L min⁻¹ (A9) (A6, sem recirculação de MEG, também é mostrado para comparação); (e e f) usando dois absorvedores conectados em série, para V_{MEG} de 0,40 (A10), 0,60 (A11) e 0,80 L (A12) (os símbolos preenchidos e vazios representam o primeiro e o segundo absorvedor, respectivamente).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os resultados mostraram que excelente desempenho na recuperação de etanol por absorção foi alcançado usando MEG como absorvente na recuperação do etanol removido por arraste com CO_2 . Este é um resultado importante, uma vez que o MEG já é usado industrialmente na destilação extrativa para obter etanol anidro. Além disso, a modelagem proposta foi capaz de descrever com precisão o comportamento do processo e pode ser usada para simular outras condições do processo. Os valores de RSD (Equação 5.31) foram menores que 5 e 22% para concentrações de etanol e água nos absorvedores, respectivamente. Além disso, a comparação entre os dados experimentais e simulados mostrou boa correlação entre os dados, $R^2 = 0,999$ para ambos etanol e água. Por fim, o gráfico de resíduos (diferença entre dados experimentais e simulados), apresentado na **Figura 5.6**, mostrou que os valores estão distribuídos aleatoriamente.

Figura 5.6 - Gráfico de resíduos (diferença entre os dados experimentais e simulados) para as concentrações de etanol e água nas soluções dos absorvedores.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.4. Conclusões

A absorção gasosa foi avaliada como método para recuperação de etanol de misturas gasosas. No teste inicial realizado utilizando diferentes solventes (água, MEG e DEG), o MEG foi selecionado como o absorvente mais apropriado, proporcionando recuperação de etanol de 61,2%. Nos ensaios subsequentes utilizando MEG, a modelagem desenvolvida considerando as equações de balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água, CO₂ e MEG) e incorporando conceitos de cinética de arraste gasoso e absorção e equilíbrio líquido-vapor, descreveu adequadamente o comportamento do processo de absorção. O uso de dois absorvedores conectados em série resultou em melhoria substancial do desempenho de recuperação. Recuperação de 93,1% do etanol da mistura gasosa gerada por arraste com CO₂ foi alcançada usando dois absorvedores contendo 0,80 L de MEG (40% do volume de trabalho do biorreator, no qual o etanol foi removido por arraste). Estes resultados mostraram que a absorção gasosa usando MEG é uma estratégia muito promissora para a recuperação de etanol e tem potencial para aplicação no processo de fermentação alcoólica extrativa.

Capítulo 6

MONITORAMENTO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO

6.1. Introdução

Neste capítulo é descrita a metodologia desenvolvida para o monitoramento de fermentações em batelada alimentada para produção de etanol. A técnica foi baseada na combinação da espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR, *Fourier transform mid-infrared*) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS, *partial least squares*). As fermentações foram realizadas utilizando mostos contendo sacarose comercial (comum em ensaios de laboratório) e substratos industriais empregados por destilarias brasileiras, no caso, caldo e melaço de cana-de-açúcar e caldo de sorgo sacarino. Foram considerados os principais componentes envolvidos no processo, os quais são, sacarose, glicose, frutose, etanol, glicerol e células. Os modelos de calibração para os analitos foram selecionados por validação cruzada e as precisões de predição para estes modelos foram avaliadas usando validação externa. Os resultados apresentados e discutidos nesse capítulo foram publicados no artigo científico “*Real-time monitoring of bioethanol fermentation with industrial musts using mid-infrared spectroscopy* (RODRIGUES, K. C. S. *et al. Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 57, n. 32, p. 10823-10831, 2018)”.

6.2. Materiais e métodos

6.2.1. Fermentações

6.2.1.1. Microrganismo e meios de cultura

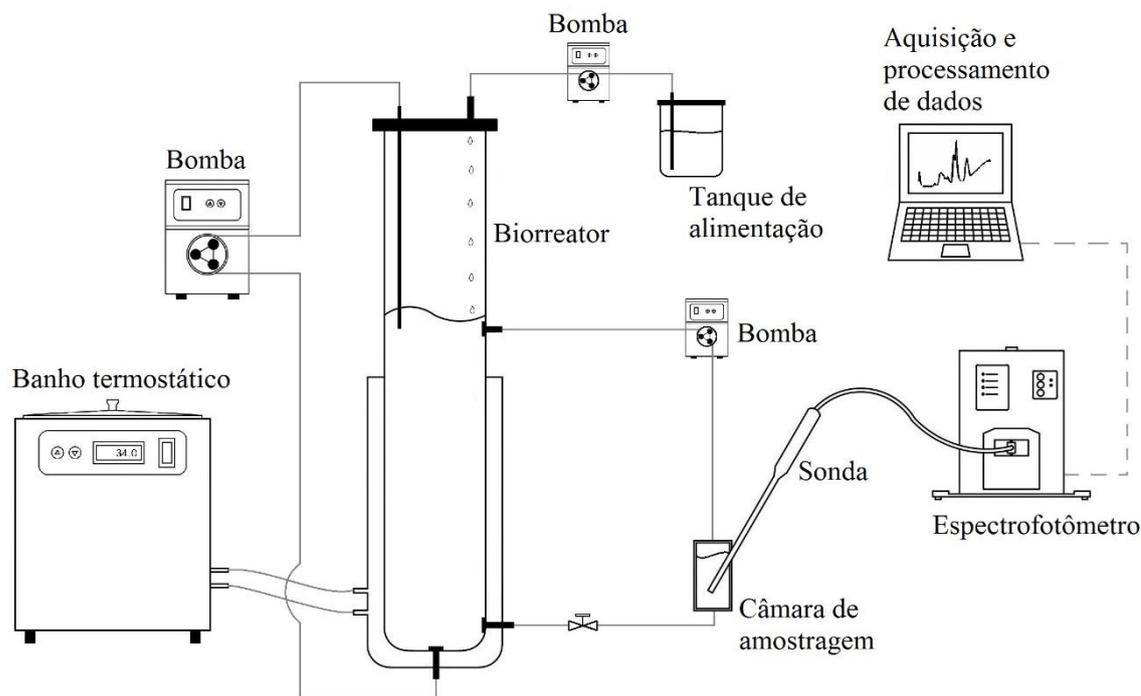
A linhagem industrial liofilizada de *Saccharomyces cerevisiae* Y904 (AB Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda, Brasil) foi utilizada como inóculo. Foram realizadas seis fermentações em batelada alimentada denominadas F1, F2, F3, F4, F5 e F6, de acordo com as composições de mosto utilizadas. Na fermentação F1 foi utilizado mosto comumente utilizado em pesquisas no Laboratório de Fermentações do Departamento de Engenharia Química da UFSCar (SONEGO *et al.*, 2014; LEMOS *et al.*, 2018; VELOSO *et al.*, 2019) simulando melaço de cana diluído com água, contendo sacarose ($171,0 \text{ g L}^{-1}$, equivalente a $180,0 \text{ g L}^{-1}$ de açúcares redutores totais, ART), KH_2PO_4 ($5,60 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($1,40 \text{ g L}^{-1}$), extrato de levedura ($6,80 \text{ g L}^{-1}$) e ureia ($5,32 \text{ g L}^{-1}$). Nas demais, foram utilizados mostos industriais com diferentes combinações de fontes de ART, as quais foram melaço de cana-de-açúcar diluído com água (F2), caldo de cana-de-açúcar concentrado (F3), caldo de sorgo sacarino concentrado (F4), melaço diluído com caldo de cana-de-açúcar (F5: 62% m m⁻¹ de ART do caldo e 38% do melaço) e melaço diluído com caldo de sorgo sacarino

(F6: 57% m m⁻¹ de ART do caldo e 43% do melaço). Os mostos tiveram concentração de ART de aproximadamente 240 g L⁻¹. O melaço e o caldo da cana de açúcar foram fornecidos por uma destilaria brasileira do interior do estado de São Paulo e o caldo do sorgo pela Universidade Federal de São Carlos (Campus Lagoa do Sino, Brasil). Os mostos industriais foram suplementados com extrato de levedura (6,8 g L⁻¹), KH₂PO₄ (5,6 g L⁻¹), MgSO₄·7H₂O (1,4 g L⁻¹) e ureia (5,32 g L⁻¹). O pH inicial dos meios foi ajustado para 4,6 adicionando solução de HCl 1,0 M. Nas fermentações com os caldos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino (F3 e F4), os mostos foram concentrados por evaporação para atingir a concentração de ART necessária.

6.2.1.2. Procedimento experimental

Na **Figura 6.1** é mostrado o desenho esquemático do aparato experimental utilizado. As fermentações foram conduzidas no mesmo biorreator descrito no item 3.2.1, que neste caso foi utilizado como um reator do tipo torre (sem injeção de gás). A levedura (30 g, base seca) foi previamente hidratada em 0,6 L de água destilada (inóculo correspondente a 30% do volume total) sob agitação mecânica de 800 rpm durante 5 min. O mosto (1,4 L) foi então alimentado durante 5 h à vazão volumétrica constante utilizando bomba peristáltica (120U, Watson-Marlow), totalizando o volume de 2 L com concentração de ART de ~170 g L⁻¹. Uma vez que a alimentação foi iniciada, a homogeneização do caldo fermentativo foi mantida recirculando-o no biorreator utilizando bomba peristáltica (BVP, Ismatec) à vazão volumétrica de 0,8 L min⁻¹. Antiespumante comercial (Qualifoam, diluído 1:10) foi adicionado quando necessário para evitar a formação excessiva de espuma. A temperatura foi mantida em 34 ° C recirculando a água de um banho termostático para a camisa do biorreator. Os espectros FT-MIR foram coletados a cada 10 min usando a sonda de imersão localizada em uma câmara de amostragem. Uma bomba peristáltica (323Dz, Watson-Marlow) promoveu a circulação contínua do caldo de fermentação do biorreator para o dispositivo de medição. Amostras de 10 mL foram retiradas a cada meia hora para as análises de referência das concentrações de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol. A concentração total de células foi analisada a cada hora. As fermentações foram realizadas até a exaustão do substrato (~10 h).

Figura 6.1 - Desenho esquemático do aparato experimental utilizado no monitoramento das fermentações.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

6.2.2. Análises de referência

Os dados de referência das concentrações dos analitos foram obtidos por análises *off-line*. A concentração celular total foi obtida por método gravimétrico. As amostras foram centrifugadas a $3720 \times g$ e $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 min. O precipitado foi lavado duas vezes com água destilada e seco a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h para obter a concentração em base seca. As concentrações de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol no sobrenadante foram determinadas por HPLC, utilizando cromatógrafo equipado com detector de índice de refração e coluna Sugar-Pak I ($300 \times 6,5\text{ mm}$, Waters) operada a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. O eluente foi água ultrapura à vazão de $0,5\text{ mL min}^{-1}$. Os padrões utilizados foram soluções de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol com concentrações entre $0,1$ e $8,0\text{ g L}^{-1}$.

6.2.3. Espectroscopia FT-MIR

As medidas FT-MIR foram realizadas utilizando sonda de fibra óptica de refletância total atenuada (ATR: *attenuated total reflectance*) acoplada a espectrofotômetro de infravermelho médio por transformada de Fourier (ReactIR 45m, Mettler-Toledo AutoChem, Inc), equipado com detector de telureto-mercúrio-cádmio (MCT: refrigerado com nitrogênio

líquido) e sistema de purga com gás nitrogênio para remoção CO₂ e água do compartimento óptico. Os espectros foram coletados na faixa de comprimentos de onda de 3000 a 15000 nm (resolução de 4,2 nm e 256 varreduras por amostra) a 34 °C (temperatura da fermentação) sem nenhum pré-tratamento ou manipulação manual das amostras. Espectro de referência do ar foi obtido antes de iniciar cada experimento.

6.2.4. Pré-processamento dos dados e calibração multivariada

Os dados espectrais FT-MIR foram pré-processados usando os métodos de suavização por média móvel (SMM) e primeira derivada (1ªD). A técnica SMM foi baseada na seleção de janelas de comprimento de onda de 29,4 nm (7 pontos de dados). O método PLS foi utilizado para a calibração multivariada. Os dados de concentração dos analitos foram divididos em dois conjuntos, calibração e validação, como mostrado na **Tabela 6.1**. O conjunto de calibração foi formado pelos dados das fermentações F1, F2, F3, F4 e F5 (92 amostras) e dados de soluções aquosas de células (15 amostras com concentrações na faixa 26-45 g L⁻¹) adicionadas para preencher toda a faixa de concentração celular. O conjunto de calibração foi utilizado no método de validação cruzada LOOCV (*leave-one-out cross-validation*) para estimar o número de variáveis latentes (LV). O critério utilizado para selecionar o número ótimo de LV (LV_{op}) foi baseado no mínimo valor do erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV, *root mean square error of cross validation*), dado pela Equação 4.1 do (**Capítulo 4**)

Tabela 6.1 - Valores de concentração utilizados nos métodos de validação cruzada (conjunto de calibração) e validação externa (conjunto de validação) dos modelos PLS.

Analito	Conjunto de calibração (107 dados) ^a			Conjunto de validação (21 dados) ^b		
	Intervalo	Média	SD	Intervalo	Média	SD
Sacarose (g L ⁻¹)	0-2,98	0,63	0,76	0-2,90	1,13	1,18
Glicose (g L ⁻¹)	0-38,52	14,96	12,88	0-38,34	19,01	15,76
Frutose (g L ⁻¹)	0-59,84	31,66	18,45	0-55,28	35,55	19,05
Etanol (g L ⁻¹)	0-80,40	40,63	23,24	0-77,80	38,44	24,44
Glicerol (g L ⁻¹)	0-14,26	6,98	3,60	0-9,68	5,46	2,78
Células ^c (g L ⁻¹)	18,04-50,01	25,45	8,53	22,09-49,91	24,61	9,23

^aDados experimentais das fermentações F1, F2, F3, F4, F5 e das soluções aquosas de células. ^bDados experimentais da fermentação F6 (melaço diluído com caldo de sorgo sacarino). ^cOs conjuntos de calibração e validação para células foram formados apenas por 66 e 11 dados experimentais, respectivamente.

O ensaio de fermentação não utilizado na calibração (F6) foi utilizado para verificar a capacidade preditiva dos modelos em relação a dados externos (validação externa). O conjunto de validação, formado pelos dados experimentais da fermentação F6 (21 amostras) foi utilizado neste procedimento. Note que a combinação das fontes de açúcares redutores relativos ao ensaio F6 foi diferente das fermentações utilizadas na calibração. O erro médio quadrático de predição (RMSEP, *root mean square error of prediction*) dado pela Equação 4.2 (**Capítulo 4**) foi utilizado como critério de desempenho.

O coeficiente de correlação da validação cruzada (R^2), a relação entre desvio padrão e erro de predição (RPD) e entre o intervalo dos dados e erro de predição (RER) também foram utilizados como indicadores de desempenho dos modelos PLS: As Equações 4.3 e 4.4 (**Capítulo 4**) foram usadas para determinar os valores de RPD e RER.

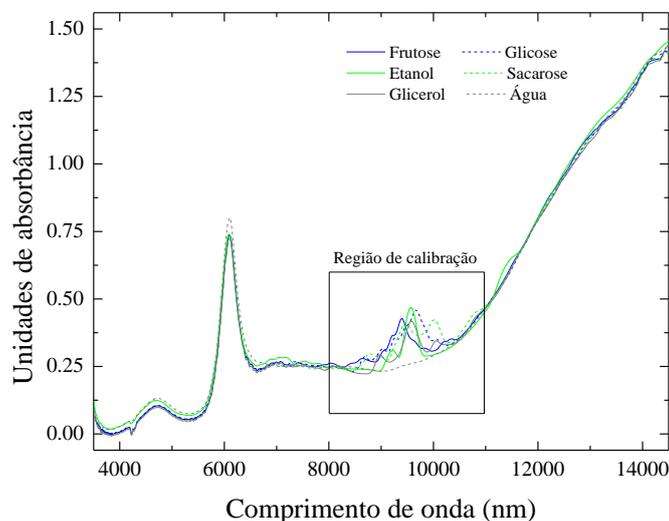
A aquisição e o pré-processamento dos dados, bem como a análise de desempenho dos modelos PLS, foram realizadas utilizando o software IC IR v. 4.3.35 SP1 (Mettler-Toledo AutoChem, Inc).

6.3. Resultados e discussão

6.3.1. Seleção da região espectral de calibração

Os espectros da água pura e das soluções aquosas de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol (100 g L^{-1}) são mostrados na **Figura 6.2**. A água exibiu uma banda de absorção (6100 nm) com maior intensidade em relação aos analitos. Esta é uma característica comum de caldos fermentativos, uma vez que a matriz é dominada por água (GARCIAJARES e MEDINA, 1997). Para minimizar a interferência de ruídos, os modelos de calibração foram obtidos usando a faixa espectral de 8000 a 11000 nm (**Figura 6.2**), que continha as bandas de absorção características para os analitos, mas não incluiu a banda referente à água, como sugerido por Morita *et al.* (2014). Espectros das soluções em diferentes concentrações dos componentes individuais também foram adquiridos considerando a faixa de concentração usada na calibração (dados não mostrados). A mudança de absorbância com a concentração dos componentes seguiu a lei de Lambert-Beer (razoavelmente linear dentro da faixa), o que justifica a utilização da abordagem de calibração multivariada linear no presente estudo.

Figura 6.2 - Espectros FT-MIR brutos adquiridos da água pura e de soluções aquosas de sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol (100 g L^{-1}). O quadrado destaca a região utilizada para calibração (8000-11000 nm) contendo as bandas características de absorção



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

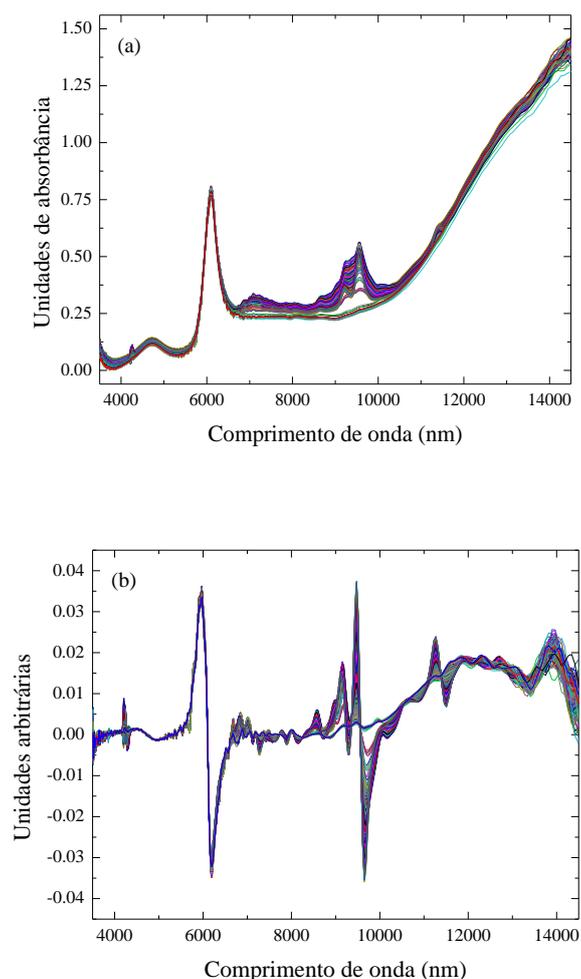
6.3.2. Processamento dos dados

Os modelos PLS foram obtidos utilizando o conjunto de dados de calibração formado por 92 amostras dos caldos de fermentação com diferentes fontes de açúcares redutores (10 de F1, 23 de F2, 18 de F3, 21 de F4 e 20 de F5) e 15 amostras de soluções aquosas de células de levedura. Essas amostras sintéticas foram incluídas na calibração para preencher a lacuna no intervalo de concentração celular ($26\text{-}45 \text{ g L}^{-1}$) resultante da rápida diluição inicial do inóculo devido à alimentação de mosto nas primeiras horas de cultivo. O intervalo dos valores de concentração com a média e o desvio padrão (SD) para cada analito são mostrados na **Tabela 6.1**.

Para minimizar variações sistemáticas indesejáveis, os dados espectrais foram pré-processados. As técnicas avaliadas foram suavização por média móvel (SMM) e primeira derivada (1^{a}D). A primeira derivada é usada para resolver problemas de linha de base como translação e melhorar a resolução espectral, uma vez que é capaz de destacar pequenas variações na inclinação e nos contornos das bandas. Por outro lado, sua utilização pode amplificar os ruídos, levando a contribuições espectrais indesejáveis (BRERETON, 2007). Portanto, a primeira derivada foi aplicada em conjunto com a técnica SMM. A **Figura 6.3** mostra os dados espectrais pré-processados com SMM (**Figura 6.3a**) e SMM e primeira derivada (**Figura 6.3b**). Os espectros processados foram correlacionados com as concentrações

de referência para sacarose, glicose, frutose, etanol, glicerol e células utilizando regressão multivariada PLS. A **Tabela 6.2** mostra a comparação do desempenho dos modelos obtidos em termos de valores de RMSECV e R^2 . O número ótimo de variáveis latentes (LV_{op}) obtido a partir do procedimento LOOCV também é mostrado. Os modelos de calibração também foram testados quanto à sua capacidade preditiva em relação a dados externos (não utilizados para calibração) utilizando os resultados da fermentação F6. O conjunto de calibração consistiu de 21 amostras e os intervalos dos dados de concentração foram semelhantes aos intervalos de calibração (**Tabela 6.1**). Os valores do erro de predição, RMSEP, e dos parâmetros de desempenho RPD e RER são mostrados na **Tabela 6.2**.

Figura 6.3 - Espectros FT-MIR adquiridos dos caldos das fermentações F1 (sacarose comercial), F2 (melaço diluído com água), F3 (caldo de cana-de-açúcar concentrado), F4 (caldo de sorgo sacarino concentrado) e F5 (melaço diluído com caldo de cana-de-açúcar) e das soluções aquosas de células. Os espectros foram pré-tratados utilizando (a) SMM e (b) SMM e primeira derivada.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 6.2 - Análise de desempenho dos modelos PLS obtidos considerando diferentes pré-processamento de dados.

Analito	Pré-processamento	LV _{op} ^a	RMSECV ^b (g L ⁻¹)	RMSEP ^c (g L ⁻¹)	R ^{2d}	RER ^e	RPD ^f
Sacarose	DEB ^g	8	0,24	0,43	0,944	6,7	2,7
	SMM ^h	8	0,24	0,43	0,945	6,7	2,7
	SMM+1 ^a D ⁱ	8	0,21	0,54	0,956	5,4	2,2
Glicose	DEB	8	0,73	1,06	0,998	36,2	14,9
	SMM	8	0,76	1,09	0,998	35,2	14,5
	SMM+1 ^a D	7	0,82	0,96	0,998	39,9	16,4
Frutose	DEB	6	0,98	0,67	0,999	82,5	28,4
	SMM	6	0,99	0,68	0,999	81,3	28,0
	SMM+1 ^a D	6	0,99	0,90	0,999	61,4	21,2
Etanol	DEB	5	1,69	1,82	0,998	42,8	13,4
	SMM	5	1,75	1,56	0,998	49,9	15,7
	SMM+1 ^a D	4	1,72	2,02	0,998	38,5	12,1
Glicerol	DEB	8	0,31	1,26	0,997	7,7	2,2
	SMM	8	0,31	1,23	0,997	7,9	2,3
	SMM+1 ^a D	8	0,30	0,47	0,997	20,6	5,9
Células	DEB	8	2,86	3,51	0,944	7,9	2,6
	SMM	8	2,87	3,49	0,943	8,0	2,6
	SMM+1 ^a D	8	2,76	2,45	0,948	11,4	3,8

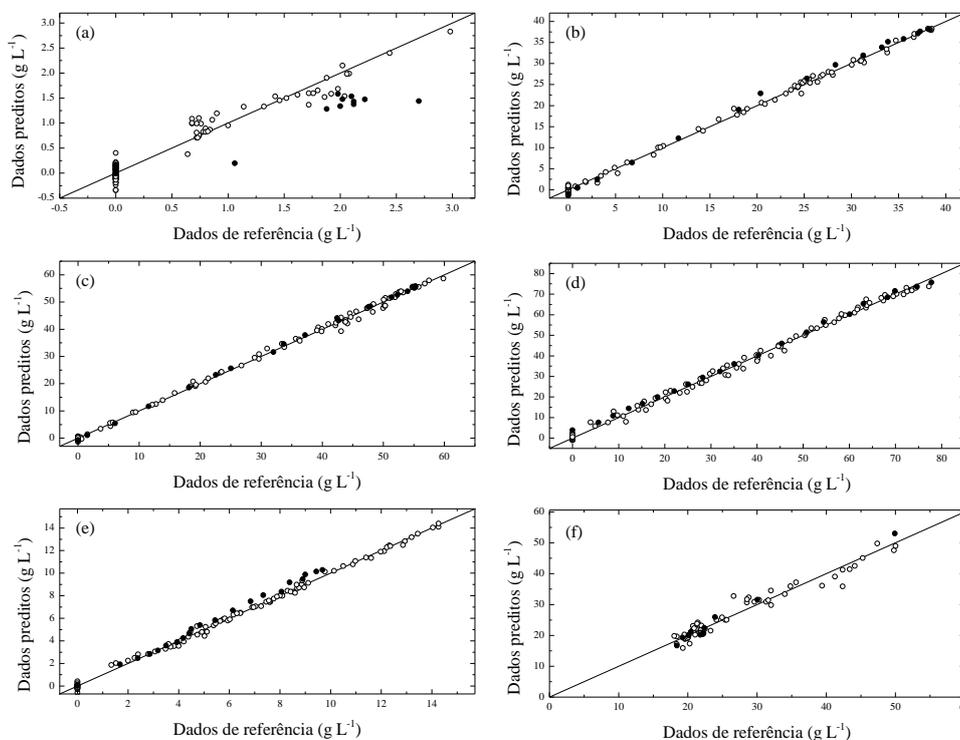
^aLV_{op}: número ótimo de variáveis latentes, ^bRMSECV: erro quadrático médio de validação cruzada, ^cRMSEP: erro quadrático médio de predição, ^dR²: coeficiente de correlação entre os dados de referência (HPLC) e preditos (modelos PLS) para a validação cruzada, ^eRER: relação entre o intervalo dos dados e erro de predição, ^fRPD: relação entre desvio padrão e erro de predição, ^gDEB: dados espectrais brutos, ^hSMM: suavização por média móvel, ⁱ1^aD: primeira derivada,

Como pode ser observado na **Tabela 6.2**, os dados espectrais brutos (DEB) forneceram modelos PLS com valores de RMSECV de 0,24 g L⁻¹ (sacarose), 0,73 g L⁻¹ (glicose) 0,98 g L⁻¹ (frutose), 1,69 g L⁻¹ (etanol), 0,31 g L⁻¹ (glicerol) e 2,86 g L⁻¹ (células). A aplicação do procedimento de suavização (SMM) não melhorou o desempenho dos modelos para nenhum analito. O pré-processamento com SMM e primeira derivada (SMM+1^aD) melhorou a precisão dos modelos para sacarose, glicerol e células, com valores de RMSECV de 0,21, 0,30 e 2,76 g L⁻¹, respectivamente. Portanto, com base no RMSECV, os melhores modelos PLS foram DEB para glicose, frutose e etanol e SMM+1^aD para sacarose, glicerol e células. Estes modelos

forneceram elevados coeficientes de correlação (R^2) entre os dados de referência (HPLC) e preditos. Os valores de R^2 obtidos foram 0,956 (sacarose), 0,998 (glicose), 0,999 (frutose), 0,998 (etanol), 0,997 (glicerol) e 0,948 (células), indicando que os modelos explicaram adequadamente a variação dos dados. Como regra geral, se o número ótimo de variáveis latentes (LV_{op}) exceder $n_{cal}/3$ (n_{cal} é o número de amostras do conjunto de calibração) é esperado que ocorra *over-fitting*. No entanto, *over-fitting* é improvável de ocorrer se o número de variáveis latentes for inferior a $n_{cal}/6$ (KEMSLEY, 1998). Os valores de LV_{op} satisfizeram este critério para todos os analitos. Os erros de predição para validação externa (RMSEP) dos melhores modelos foram $0,54 \text{ g L}^{-1}$ (sacarose), $1,06 \text{ g L}^{-1}$ (glicose), $0,67 \text{ g L}^{-1}$ (frutose), $1,82 \text{ g L}^{-1}$ (etanol), $0,47 \text{ g L}^{-1}$ (glicerol) e $2,45 \text{ g L}^{-1}$ (células). Note que os melhores modelos não proporcionaram necessariamente os valores de RMSEP mais baixos, como no caso sacarose, glicose e etanol. Mesmo assim, os resultados foram satisfatórios e mostraram que esses modelos foram capazes de quantificar os analitos. Certamente, se os valores de concentração da fermentação F6 fossem adicionados na calibração, a capacidade preditiva dos modelos seria melhorada. A **Figura 6.4** mostra a comparação das concentrações de referência dos analitos determinadas por HPLC com os valores preditos pelos melhores modelos PLS para validação cruzada e validação externa.

Entre os analitos, sacarose e células apresentaram os maiores erros de predição. Ao contrário de compostos como etanol, glicerol e açúcares, mudanças na concentração celular não alteram significativamente a absorvância (FAYOLLE *et al.*, 1997). Na prática, às vezes é preferível nem desenvolver modelos de calibração para células devido a essa não-especificidade (SCHALK *et al.*, 2017). Estudos prévios obtiveram sucesso na quantificação de biomassa em bioprocessos usando espectroscopia de infravermelho (BLANCO *et al.*, 2004; HONGQIANG e HONGZHANG, 2008; KRAMER e KING, 2016). Pode ser argumentado que esta quantificação é indireta, no sentido de que está associada à absorção de radiação por compostos relacionados ao crescimento celular (FAYOLLE *et al.*, 1997). Neste estudo, os dados espectrais para quantificação de células na faixa de concentração $26\text{-}45 \text{ g L}^{-1}$ foram obtidos exclusivamente a partir de suspensões aquosas de células. Devido à rápida dinâmica inicial do processo em batelada alimentada, nenhum dado de concentração de células nesta faixa foi obtido durante a fermentação. Além disso, o primeiro dado de cada fermentação (inóculo) foi também obtido de uma simples suspensão aquosa de células (50 g L^{-1}).

Figura 6.4 - Valores preditos versus valores de referência das concentrações de: (a) sacarose, (b) glicose, (c) frutose, (d) etanol, (e) glicerol e (f) células para validação cruzada (quadrados vazios) e validação externa (quadrados preenchidos). As linhas sólidas representam a correlação perfeita. As predições foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para cada analito.

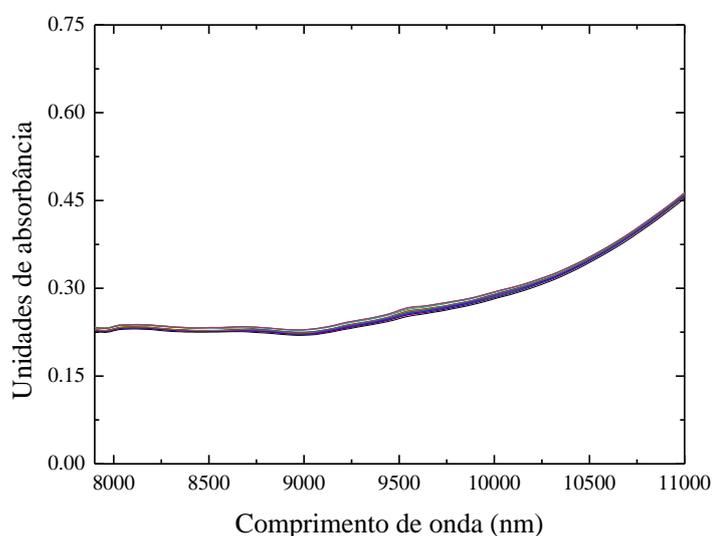


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A **Figura 6.5** ilustra os dados espectrais brutos adquiridos para estas suspensões na faixa de comprimentos de onda de 7930 a 10990 nm (região contendo as faixas espectrais utilizadas para calibração com as bandas de absorção características dos analitos). Como pode ser observado, ocorreu pouca variação de absorbância nos espectros, mesmo com a ampla faixa de concentração. No entanto, o modelo apresentou desempenho satisfatório na predição da concentração celular total, inclusive para as amostras onde não estavam presentes compostos associados ao crescimento. Parece que, embora a absorção de radiação por outros compostos possa ajudar na quantificação de células, pequenas diferenças nos espectros podem ser suficientes para que a metodologia seja capaz de determinar a concentração celular total, ainda que grosseiramente. Para a sacarose, o desempenho inferior pode ser atribuído à interferência de ruído. Para que o sinal do analito seja suficientemente distinto do ruído, ele deve ter intensidade aproximadamente quatro vezes maior que a flutuação do ruído (FAYOLLE *et al.*, 1997). Nas condições experimentais, a flutuação média do ruído dos espectros foi de 0,0013 unidades de absorbância (u.a.). Portanto, para alcançar uma relação sinal-ruído satisfatória, a

contribuição do sinal de sacarose para o espectro de absorvância final deve ser superior a 0,0052 u.a., o que corresponde a concentração de sacarose de 3,0 g L⁻¹. Este valor é superior a todos os dados de concentração de sacarose do conjunto de calibração (0-2,98 g L⁻¹), o que levou à interferência na quantificação deste analito. Ressalta-se que o modelo para sacarose poderia ser melhorado aumentando o intervalo dos dados de calibração com a adição de novas condições de fermentação, como por exemplo, em batelada na qual o processo é iniciado com alta concentração de sacarose.

Figura 6.5 - Espectros FT-MIR adquiridos (7930-10990 nm) das suspensões aquosas de células (concentrações de 26 a 45 g L⁻¹) e do inóculo (50 g L⁻¹).



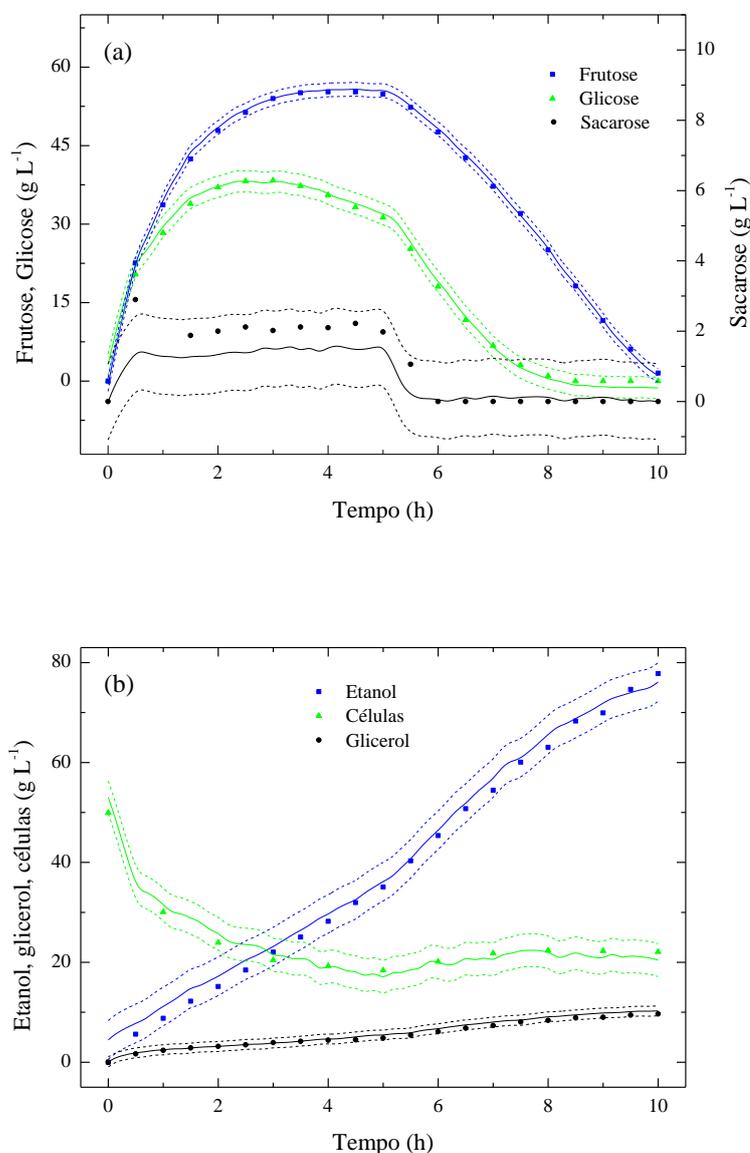
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os parâmetros RPD e RER também foram utilizados como critérios de desempenho. Eles relacionam RMSEP com a variância e o intervalo de dados de referência. Quanto maiores forem os valores destes parâmetros, melhor é a qualidade do modelo. Os limites aceitáveis dependem da aplicação. Idealmente, RPD deve ser pelo menos 3,0 e RER pelo menos 13,0 para fins de triagem (LI *et al.*, 2015). Por exemplo, o modelo obtido para o etanol sem pré-processamento (DEB) resultou em RER de 42,8 e RDP de 13,4, o que significa que o erro de predição do modelo é aproximadamente 43 vezes menor do que o intervalo dos dados experimentais e 13 vezes menor que o desvio padrão deste conjunto de dados. Com exceção da sacarose e das células, todos os melhores modelos forneceram valores satisfatórios para RPD (> 3) e RER (> 13) (**Tabela 6.2**), indicando que os erros de resposta foram suficientemente pequenos para fornecer boa resolução dentro dos intervalos que os modelos foram usados.

No geral, os parâmetros de desempenho para os modelos foram excelentes considerando a complexidade química dos caldos de fermentação (substratos industriais). Veale *et al.* (2007) relataram valores de RMSEP de $0,99 \text{ g L}^{-1}$ para etanol e $1,39 \text{ g L}^{-1}$ para glicose utilizando a FT-MIR e PLS para monitorar a fermentação alcoólica a partir de glicose em meio sintético. Blanco *et al.* (2004) monitoraram a fermentação alcoólica também com meio sintético utilizando a técnica de infravermelho próximo (NIR) combinada com PLS e obtiveram R^2 de 0,999, 0,996, 0,997 e 0,990 para etanol, glicose, glicerol e células, respectivamente. Simeone *et al.* (2017) desenvolveram modelos PLS para determinar as concentrações de sacarose, glicose e frutose em caldo de sorgo sacarino. Os modelos proporcionaram valores de RMSEP de 4,0, 1,0 e $0,6 \text{ g L}^{-1}$ e RPD de 8,0, 5,0 e 5,0, respectivamente. Embora seja difícil fazer comparações, devido às diferenças entre as técnicas utilizadas nos processos (tamanho do conjunto de amostras, intervalos de concentração, condições de processo e região do infravermelho), esses resultados evidenciam a adequabilidade dos modelos obtidos neste estudo para quantificar os analitos escolhidos.

A **Figura 6.6** ilustra a aplicação da técnica desenvolvida para o monitoramento em tempo real dos principais compostos (sacarose, glicose, frutose, etanol, glicerol e células) durante a fermentação alcoólica, utilizando mosto composto de melaço diluído com caldo de sorgo sacarino (fermentação F6). Para fins de comparação, os dados de referência obtidos por HPLC também são mostrados. Os dados espectrais FT-MIR estão em concordância com os dados de HPLC em toda a faixa de concentração para todos os analitos. No geral, a técnica desenvolvida apresentou excelente potencial para monitoramento do processo. É importante mencionar que sua aplicação pode ser uma estratégia atraente para o setor industrial para substituir análises convencionais demoradas e dispendiosas. Além disso, ela facilitaria a tomada de medidas corretivas oportunas, melhorando o controle do processo.

Figura 6.6 - Valores de concentração de (a) sacarose, glicose, frutose, (b) etanol, glicerol e células obtidas em tempo real usando os melhores modelos PLS (linhas sólidas) durante a fermentação alcoólica com mosto contendo melão diluído com caldo de sorgo sacarino (F6). As linhas pontilhadas representam os valores de RMSEP e os símbolos fechados são os dados de referência (HPLC).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

6.4. Conclusões

A técnica desenvolvida combinando espectroscopia FT-MIR e regressão PLS foi capaz de monitorar em tempo real os compostos sacarose, glicose, frutose, etanol, glicerol e células durante o processo de fermentação em batelada alimentada para produção de etanol. Os modelos PLS apresentaram excelentes resultados de validação externa, mesmo diante da

complexidade química e variabilidade dos substratos industriais. Estes resultados são importantes, pois mostram que a técnica pode ser utilizada para mostos de laboratório (preparados a partir de sacarose pura) e industriais, o que a torna atraente para o setor industrial para redução de custos e melhoramento do controle do processo.

Capítulo 7

**FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA EXTRATIVA
COM ARRASTE DE ETANOL COM CO₂ E
RECUPERAÇÃO POR ABSORÇÃO**

7.1. Introdução

Este capítulo apresenta os resultados da integração dos processos de produção de etanol por fermentação extrativa por arraste gasoso com CO₂ e recuperação por absorção. Inicialmente, um ensaio de fermentação convencional em batelada alimentada foi realizado afim de obter parâmetros cinéticos de crescimento celular para serem utilizados nas simulações das fermentações extrativas. Em seguida, duas fermentações extrativas em batelada alimentada sem recirculação de CO₂ (empregando CO₂ comercial) foram conduzidas alimentando mostos com concentrações total de substrato de 180 e 300 g L⁻¹. Esta etapa foi realizada com o intuito de integrar a fermentação extrativa e a recuperação de etanol estudada no **Capítulo 5**, incluindo condições experimentais e toda a modelagem desenvolvida. Por fim, o processo de fermentação extrativa com arraste do etanol com CO₂ e recuperação por absorção foi avaliado em um sistema fechado com recirculação do CO₂. Nesta etapa, foi utilizado exclusivamente o CO₂ produzido na fermentação alcoólica, ou seja, sem a alimentação de CO₂ comercial. Duas fermentações extrativas em batelada alimentada foram conduzidas com a alimentação de mostos contendo 180 e 280 g L⁻¹ de substrato.

7.2. Materiais e métodos

7.2.1. Microrganismo e meio de cultura

O microrganismo utilizado nos ensaios foi o mesmo descrito no item 6.2.1.1. O meio de cultura teve a mesma composição do meio da fermentação F1 do **Capítulo 6** (item 6.2.1.1). A concentração de sacarose variou de 171,0 a 285,0 g L⁻¹ (equivalente a 180,0-300,0 g L⁻¹ de açúcares redutores totais, ART). As concentrações dos componentes KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, extrato de levedura e ureia foram aumentados em 20% nas fermentações com concentração de ART superior a 180,0 g L⁻¹.

7.2.2. Fermentação convencional

7.2.2.1. Procedimento experimental

Uma fermentação convencional em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado (C_{SA}) de 180,0 g L⁻¹, denominada FC, foi realizada com o objetivo de estimar parâmetros cinéticos de crescimento celular para serem utilizados na simulação das fermentações extrativas. O mesmo biorreator descrito no item 3.2.1 foi utilizado como um reator do tipo torre (sem injeção de gás). A levedura (40 g, base seca) foi previamente hidratada

em 0,6 L de água destilada (inóculo, correspondente a 30% do volume útil do biorreator). A suspensão de células resultante foi adicionada ao biorreator e aclimatada por 20 minutos. O mosto (1,4 L) foi alimentado ao longo de 5 h (tempo de enchimento comumente empregado no processo de fermentação alcoólica) à vazão volumétrica constante utilizando bomba peristáltica (modelo 120U, Watson-Marlow), totalizando o volume de 2,0 L. Durante a fermentação, o caldo foi recirculado no biorreator utilizando bomba peristáltica (BVP, Ismatec) à vazão volumétrica de 0,8 L min⁻¹, garantindo a homogeneização do mesmo. Antiespumante comercial (Qualifoam, diluído 1:10 m m⁻¹) foi adicionado, quando necessário, para impedir a formação excessiva de espuma. A temperatura foi mantida em 34 °C recirculando água de um banho termostático para a camisa do biorreator. A fermentação foi realizada em duplicata e foi conduzida até a completa exaustão do substrato. Amostras de 5 mL foram retiradas periodicamente para determinação das concentrações de substrato, etanol e células viáveis.

7.2.2.2. Modelagem matemática

O modelo utilizado para descrever a fermentação convencional em batelada alimentada foi composto de quatro equações diferenciais ordinárias (Equações 7.1-7.4) resultantes dos balanços de massa para células viáveis (X), substrato (S) e etanol (E) e balanço de massa total, assumindo formação de produto associada ao crescimento celular e desprezando a variação da massa específica do caldo. Note que o modelo representa as duas etapas características do processo: a etapa em batelada alimentada com alimentação do mosto por 5 h ($F \neq 0$) e a etapa subsequente em batelada ($F = 0$) até o consumo completo dos açúcares, assim como na condição industrial.

$$\frac{dC_X}{dt} = \left(\mu - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_X \quad (7.1)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F}{V} C_{SM} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_S \quad (7.2)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_E \quad (7.3)$$

$$\frac{dV}{dt} = F \quad (7.4)$$

onde C_X é a concentração de células viáveis (g L⁻¹), μ é velocidade específica de crescimento celular (h⁻¹), V é o volume de caldo de fermentação no biorreator (L), C_S é a concentração de

substrato limitante (ART, g L⁻¹), F é a vazão de alimentação de mosto (L h⁻¹), C_{SM} é a concentração de substrato no mosto (g L⁻¹), Y_{X/S} é o coeficiente de rendimento de substrato em células (g_X g_S⁻¹), C_E é a concentração de etanol (g L⁻¹), e Y_{E/S} é o coeficiente de rendimento de substrato em etanol (g_E g_S⁻¹).

O modelo cinético de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), que considera inibição por substrato e produto, foi usado para representar a velocidade específica de crescimento celular:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \cdot \left(1 - \frac{C_E}{C_{Emax}}\right)^n \quad (7.5)$$

onde μ_{max} é a velocidade específica máxima de crescimento celular (h⁻¹), K_S é a constante de saturação (g L⁻¹), K_{IS} é a constante de inibição pelo substrato (g L⁻¹), C_{Emax} é a concentração máxima de etanol a partir da qual o crescimento celular é cessado (g L⁻¹) e n é uma constante adimensional relacionada ao potencial tóxico do etanol (μ é expresso em h⁻¹).

Os coeficientes de rendimento de substrato a células e etanol, Y_{X/S} e Y_{E/S}, foram determinados usando as seguintes equações:

$$Y_{X/S} = \frac{C_{Xf}V_f - C_{X0}V_0}{C_{SM}(V_f - V_0) - C_{Sf}V_f} \quad (7.6)$$

$$Y_{E/S} = \frac{C_{Ef}V_f - C_{E0}V_0}{C_{SM}(V_f - V_0) - C_{Sf}V_f} \quad (7.7)$$

onde os subscritos “0” e “f” representam os tempos inicial e final de fermentação, respectivamente.

7.2.3. Fermentações extrativas integradas à absorção sem recirculação de CO₂

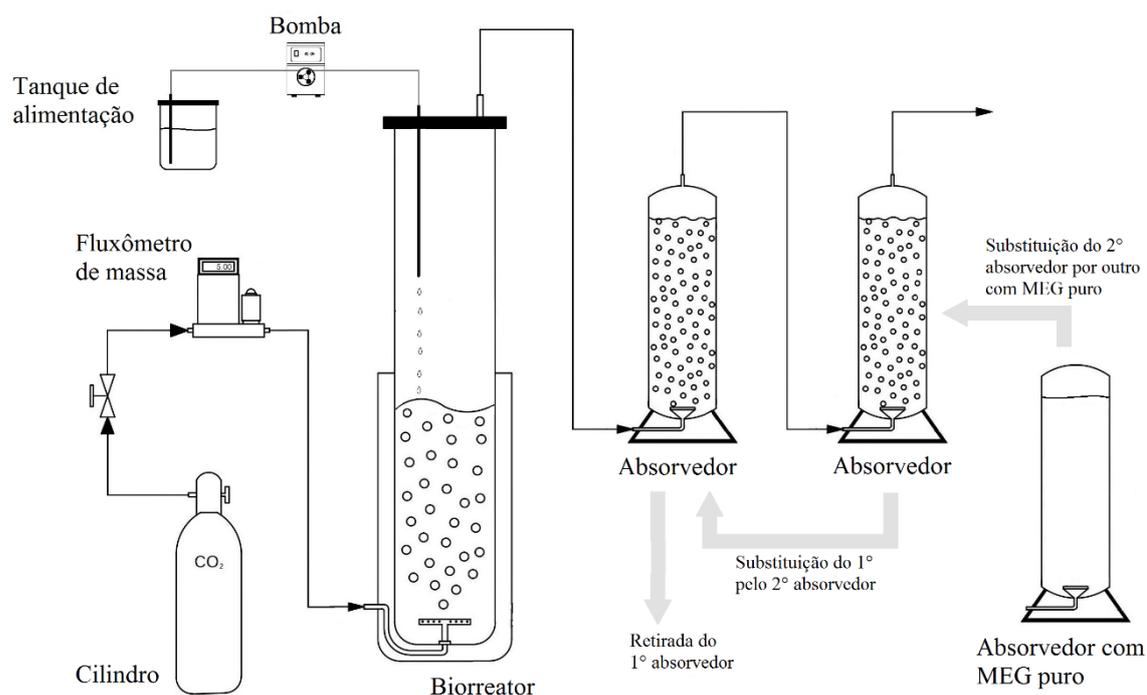
7.2.3.1. Procedimento experimental

Duas fermentações em batelada alimentada foram realizadas com C_{SA} de 180,0 g L⁻¹ e 300 g L⁻¹, denominadas FE1 e FE2, respectivamente. Os tempos de enchimento utilizados em FE1 e FE2 foram de 5 e 8 h, respectivamente. Na segunda condição foi adotado maior tempo de enchimento para evitar altas concentrações de substrato no caldo e a limitação do processo por inibição pelo substrato (THATIPAMALA *et al.*, 1992).

A **Figura 7.1** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos. As fermentações seguiram o mesmo procedimento experimental da fermentação convencional

(item 7.2.2.1), porém com a injeção de gás no sistema. O arraste foi realizado empregando CO_2 comercial (99,5% de pureza), injetado através do aspersor localizado na parte inferior do biorreator, como descrito no item 3.2.1. A vazão de CO_2 empregada foi de 5 L min^{-1} (2,5 vvm), valor já utilizado com sucesso em outros estudos de fermentação extrativa (PONCE *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2018). O arraste foi iniciado na terceira hora de experimento, como proposto por Sonego *et al.* (2014). As fermentações foram conduzidas em duplicatas com retirada de amostras de 5 mL periodicamente para determinação das concentrações de substrato, etanol e células viáveis. O volume da fase líquida também foi determinado medindo a altura da coluna de líquido após o desligamento do sistema de gás. A mistura gasosa de saída do biorreator resultante do arraste foi diretamente injetada no sistema de absorção.

Figura 7.1 - Aparato experimental utilizado nas fermentações extrativas em batelada alimentada sem recirculação de CO_2 .



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Na recuperação do etanol (**Figura 7.1**) foram utilizados dois absorvedores conectados em série (mantidos a 25°C) contendo 0,80 L (40% do volume de trabalho do biorreator) de monoetilenoglicol (MEG) em cada um, conforme descrito no item 5.2.2. Esta condição experimental foi a que proporcionou o melhor desempenho de recuperação de etanol nos testes de absorção descritos no **Capítulo 5** (ensaio A12). Amostras de 2 mL foram retiradas periodicamente de cada absorvedor para análise de etanol e água por espectroscopia de infravermelho. O volume da fase líquida também foi determinado medindo-se a altura da coluna de líquido após o desligamento do sistema de gás. O desempenho de recuperação foi avaliado utilizando a porcentagem de recuperação de etanol (ER), calculada a partir da Equação 7.8, e os coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol ($K_{y_{aE}}$) e água ($K_{y_{aW}}$) da modelo de absorção. Na Equação 7.8, o denominador representa diferença entre a massa de etanol produzido e a massa de etanol presente no caldo.

$$ER = \frac{m_{ERec}}{m_{ERem}} 100 = \frac{\sum_{n=1}^{NA} C_{EAb} V_{Ab}}{m_{SA} Y_{E/S} - C_{Ef} V_f} 100 \quad (7.8)$$

onde m_{ERec} é a massa de etanol recuperada por absorção (g) e m_{ERem} é a massa de etanol removida do biorreator por arraste com CO_2 (g), NA é o número de absorvedores utilizados no experimento, C_{EAb} é a concentração total de etanol recuperado no absorvedor “n” ($g L^{-1}$), V_{Ab} é o volume de solução no absorvedor “n” (L), m_{SA} é massa total de substrato alimentado (g), C_{Ef} é a concentração de etanol no caldo ao final da fermentação ($g L^{-1} h^{-1}$), V_f é o volume de caldo no biorreator ao final da fermentação (L).

A fermentação FE2 apresentou longa duração, devido à grande quantidade de açúcar alimentada no processo. Dessa forma, foi necessário realizar um procedimento de troca dos absorvedores durante a fermentação para evitar a saturação e o transbordamento da solução dos absorvedores, conforme esquematizado na **Figura 7.1**. No procedimento, o primeiro absorvedor (com alta concentração de etanol) foi retirado do processo, sendo substituído pelo segundo (com baixa concentração de etanol). Então, um terceiro absorvedor contendo MEG puro foi colocado no lugar do segundo. O procedimento foi realizado duas vezes durante a fermentação FE2 (9ª e 14ª horas).

7.2.3.2. Modelagem matemática

O modelo para a fermentação extrativa em batelada alimentada sem recirculação de CO_2 é representado pelas Equações 7.9-7.12, resultante dos balanços de massa para células viáveis

(X), substrato (S) e etanol (E) e balanço de massa total. Foram adotadas as mesmas hipóteses do item 7.2.2.2 e consideradas a remoção de etanol e água por arraste e a variação de volume devido ao arraste. O modelo é a representação genérica das três etapas que ocorrem durante a fermentação extrativa em batelada alimentada, as quais são:

- (a) alimentação de mosto sem arraste gasoso até a 3ª hora ($F \neq 0$, $k_{ES} = 0$ e $k_{WS} = 0$),
- (b) início do arraste gasoso na 3ª hora até o final do tempo de enchimento ($F \neq 0$, $k_{ES} \neq 0$ e $k_{WS} \neq 0$),
- (c) continuação do processo em batelada com arraste gasoso após o final da alimentação até o consumo completo dos açúcares ($F = 0$, $k_{ES} \neq 0$ e $k_{WS} \neq 0$).

$$\frac{dC_X}{dt} = \left(\mu - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_X \quad (7.9)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F}{V} C_{SM} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_S \quad (7.10)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X - \left(k_{ES} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_E \quad (7.11)$$

$$\frac{dV}{dt} = F - \frac{V}{\rho_S} [k_{ES} C_E + k_{WS} (\rho_S - C_E)] \quad (7.12)$$

onde k_{ES} e k_{WS} são as constantes de velocidade de remoção de etanol e água (h^{-1}), ρ_S é a massa específica do caldo de fermentação (g L^{-1}), obtida pela média aritmética dos valores de massa específica em cada hora e considerando o caldo como uma solução hidroalcoólica.

Para representar o processo de absorção foi utilizado o modelo desenvolvido no item 5.2.3 (**Capítulo 5**) com uma pequena alteração no balanço de massa para o CO_2 na fase gasosa (Equação 5.7). Além do CO_2 injetado no sistema, considerou-se o CO_2 produzido durante a fermentação com base na estequiometria da reação (produção de 1 mol de CO_2 para cada 1 mol de etanol gerado) e na velocidade de formação de etanol, de acordo com a seguinte equação:

$$\dot{n}_{C_2} = \dot{n}_{C_1} + \dot{n}_{CP} = \frac{PQ_{C_1}}{RT} + \frac{r_E V}{MM_E} = \frac{PQ_{C_1}}{RT} + \frac{1}{MM_E} \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X V \quad (7.13)$$

onde \dot{n}_{C_2} e \dot{n}_{C_1} são as vazões molares de CO_2 nas correntes de entrada e saída do biorreator, respectivamente, \dot{n}_{CP} é a vazão molar de CO_2 produzido na fermentação (mol h^{-1}), r_E é a velocidade de produção de etanol ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), MM_E é massa molar do etanol (g mol^{-1}), P é a pressão absoluta (atm), Q_{C_1} é a vazão volumétrica de CO_2 na corrente de entrada do biorreator

(L h⁻¹), R é a constante dos gases (L atm K⁻¹ mol⁻¹) e T é a temperatura absoluta (K).

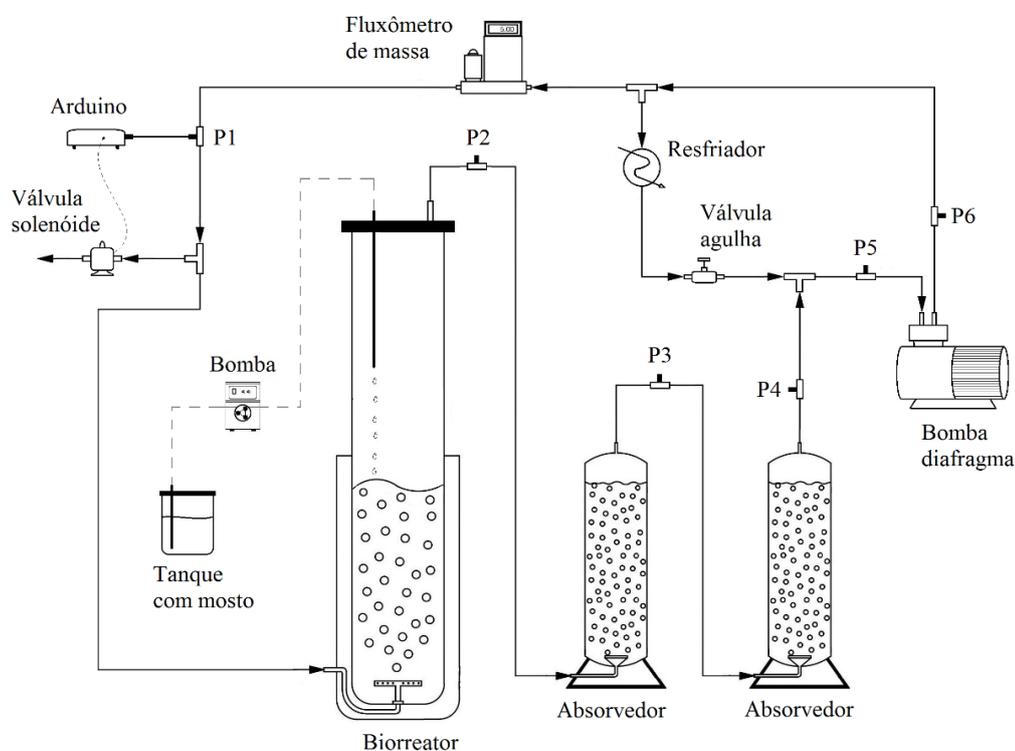
7.2.4. Fermentações extrativas integradas à absorção com recirculação CO₂

Com relação às fermentações em batelada alimentada com recirculação de CO₂ e recuperação de etanol por absorção, duas condições foram ensaiadas com C_{SA} de 180,0 g.L⁻¹ (FER1) e 280 g L⁻¹ (FER2) e tempos de enchimento de 5 e 8 h, respectivamente. As fermentações foram realizadas em duplicatas e seguiram o mesmo procedimento das fermentações extrativas, descrito no item 7.2.3.1, porém com o sistema fechado para a recirculação da corrente gasosa. A **Figura 7.2** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos. A imagem da bancada de trabalho do laboratório é mostrada na **Figura 7.3**. A recirculação do gás foi promovida por bomba diafragma (N922FT.29E 16L, KNF) conectando a corrente de saída do segundo absorvedor na sucção e a corrente de entrada do biorreator no recalque da bomba. Como a vazão de operação da bomba era maior que a vazão necessária no sistema (5 L min⁻¹), foi necessário introduzir um reciclo (*bypass*) para controlar vazão, em que parte da corrente de recalque foi redirecionada para a sucção da bomba passando por uma válvula agulha. A vazão foi então mantida em 5 L min⁻¹ através da regulação manual da válvula utilizando como base a medida de vazão do fluxômetro de massa. Na corrente de *bypass* também foi instalada uma serpentina imersa em banho termostático à 25 °C para evitar o superaquecimento da bomba. Para aliviar a pressão na linha, o excesso de CO₂ produzido durante a fermentação foi purgado utilizando uma válvula solenoide controlada por Arduino equipado com sensor de pressão (conectado na tomada de pressão P1). A válvula solenoide foi programada para abrir e fechar de modo a garantir que o ponto de menor pressão na linha (sucção da bomba, tomada de pressão P5) fosse sempre mantido a uma pressão manométrica positiva a fim de impedir a entrada de ar no sistema durante a fermentação. Antes de iniciar o arraste gasoso (3^a hora), todo o ar presente na linha foi expulso utilizando o próprio CO₂ da fermentação produzido durante as três primeiras horas.

A operação de absorção também seguiu o mesmo procedimento descrito no item 7.2.3.1. Na fermentação com alta carga de açúcar (FER2) foi realizada a troca dos frascos em 9 e 14 h de experimento. O desempenho da absorção foi avaliado com base na porcentagem de recuperação de etanol (ER, Equação 7.8). Para verificar a consistência dos resultados de eficiência de recuperação nas fermentações, foi realizado um ensaio com solução hidroalcoólica (80 g L⁻¹ de etanol) utilizando o sistema da **Figura 7.2** nas mesmas condições das fermentações. CO₂ comercial foi introduzido na entrada do biorreator à vazão de 0,2 L min⁻¹ para simular o CO₂ produzido na fermentação (vazão média de CO₂ produzido considerando a estequiometria

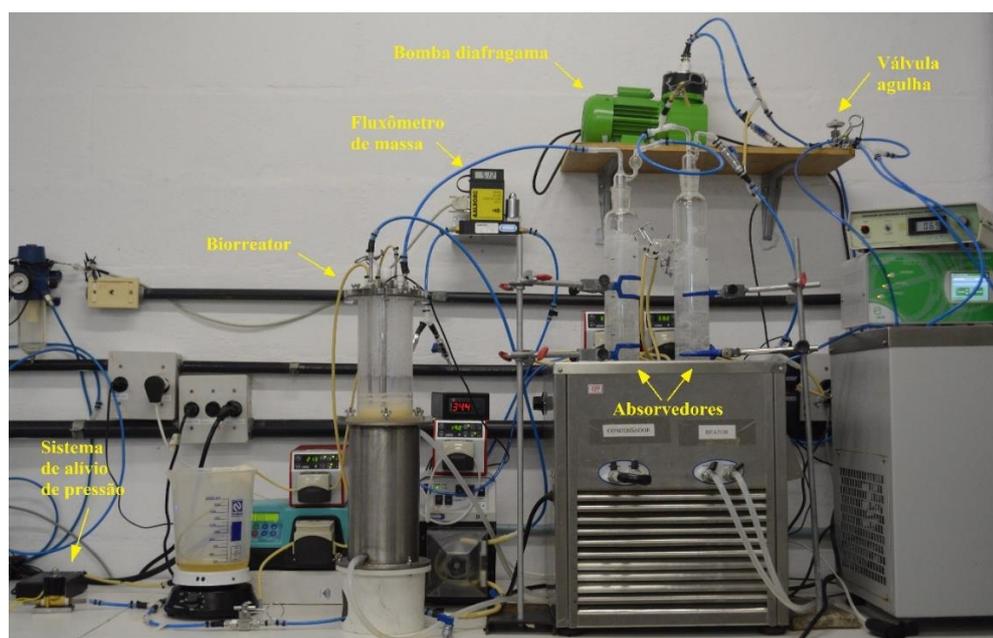
da reação). A vazão foi controlada por um fluxômetro de massa (GFC 37, Aalborg).

Figura 7.2 - Aparato experimental utilizado nos ensaios de fermentação extrativa com arraste gasoso e recuperação por absorção com recirculação de CO₂.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 7.3 - Bancada de trabalho dos experimentos de fermentação extrativa com arraste gasoso e recuperação por absorção empregando sistema fechado com recirculação de CO₂.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

7.2.5. Métodos analíticos

A concentração de células viáveis (C_x) foi determinada pelo produto entre a concentração total de células e a percentagem de células viáveis. A concentração total foi obtida por método gravimétrico, como descrito no item 6.2.2. A percentagem de células viáveis foi obtida pelo método de coloração com azul de metileno (LEE *et al.*, 1981). Para tal, uma alíquota do caldo fermentativo foi retirada do reator e diluída com 1 mL de solução de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético, 0,1 mol L⁻¹). A suspensão foi agitada por 1 min e deixada em repouso por 1 min. Em seguida, uma segunda diluição foi realizada adicionando-se 1 mL de solução de azul de metileno (0,02% m v⁻¹) e citrato de sódio (2% m v⁻¹) e, novamente, a suspensão foi agitada por 1 min e deixada em repouso por 5 min. Por fim, a suspensão resultante foi colocada em câmara de Neubauer (Bright Line, Boeco Germany) para contagem das células viáveis (não coradas) e não viáveis (coradas) utilizando um microscópio óptico (BX 50F-3, Olympus). A percentagem de células viáveis (CV) foi então obtida pela equação:

$$CV = \frac{n^\circ \text{ de células viáveis}}{n^\circ \text{ total de células}} 100 \quad (7.14)$$

As concentrações de etanol, glicose, frutose e sacarose foram determinadas utilizando a metodologia apresentada no **Capítulo 6**, baseada na combinação da técnica de espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR, *Fourier transform mid-infrared*) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS, *partial least squares*). A calibração foi melhorada ampliando as faixas dos dados de concentração dos analitos a partir do acréscimo de dados das fermentações realizadas por Veloso *et al.* (2019). As medidas foram realizadas com imersão da sonda diretamente no tubo contendo a amostra (sem nenhum método de preparo de amostra).

As concentrações de etanol e água nos absorvedores foram determinadas utilizando a metodologia apresentada no **Capítulo 4**, também baseada na combinação da técnica FT-MIR com o método de regressão multivariada PLS. As medidas foram realizadas com imersão da sonda diretamente no tubo contendo a amostra (sem nenhum método de preparo de amostra).

7.2.6. Procedimentos numéricos

As equações diferenciais ordinárias (Equações 7.1-7.4 e 7.9-7.12) foram integradas usando o método Runge-Kutta e os parâmetros cinéticos do modelo de crescimento celular (μ_{\max} , K_S , K_{IS} , $C_{E\max}$ e n) foram estimados utilizando algoritmo genético (GA, *Genetic*

Algorithm). O algoritmo foi implementado usando o software Scilab v. 6.0.1. O critério utilizado para encontrar o melhor ajuste foi a minimização da soma quadrados dos resíduos. No algoritmo genético foram utilizados os seguintes parâmetros: população de 100 indivíduos, 20 gerações, probabilidade de cruzamento de 0,7 e probabilidade de mutação de 0,1.

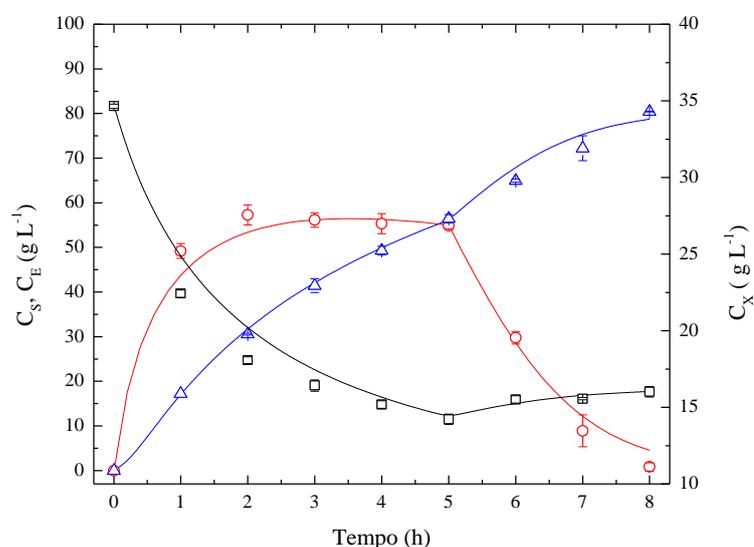
A resolução das equações da modelagem da absorção (item 5.2.3) e a estimativa dos coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol ($K_{y,aE}$) e água (K_{yaw}) foram realizadas utilizando os métodos numéricos descritos no item 5.2.4 do **Capítulo 5**.

7.3. Resultados e discussão

7.3.1. Parâmetros cinéticos de crescimento celular

Os resultados experimentais e simulados de concentração de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) da fermentação convencional (FC) são mostrados na **Figura 7.4**. O consumo completo do substrato (ART) ocorreu em 8 h de fermentação e a concentração final de etanol no caldo foi de 80,4 g L⁻¹. O rendimento e a produtividade em etanol foram de 88% e 10,1 g L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. No geral, os resultados obtidos foram consistentes com aqueles obtidos em fermentações industriais (WHEALS *et al.*, 1999). A partir dos resultados experimentais e utilizando as Equações 7.6 e 7.7, os coeficientes de rendimento de substrato a células e etanol ($Y_{X/S}$ e $Y_{E/S}$) foram determinados. Em seguida, os outros parâmetros cinéticos (μ_{max} , K_S , K_{IS} , $C_{E_{max}}$ e n) foram obtidos a partir do melhor ajuste entre os dados calculados pelo modelo (Equações 7.1-7.4) e experimentais de C_X , C_S e C_E . Os valores obtidos são apresentados na **Tabela 7.1**. Eles estão próximos dos valores encontrados na literatura para processos utilizando a mesma levedura e com condições experimentais similares a do presente trabalho (VELOSO *et al.*, 2019). A **Figura 7.4** mostra que os dados experimentais e calculados tiveram excelente correlação. Portanto, o modelo híbrido de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), considerando inibição mista por substrato e produto, foi adequado para descrever o comportamento do processo. As condições experimentais da fermentação FC foram similares às aquelas do processo industrial de produção de etanol (BASSO *et al.*, 2011) e, portanto, ela foi utilizada como referência para comparação com as fermentações extrativas.

Figura 7.4 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S , círculos), células viáveis (C_X , quadrados) e etanol (C_E , triângulos) ao longo do tempo na fermentação convencional em batelada alimentada (FC, $C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 7.1 - Parâmetros cinéticos da fermentação convencional em batelada alimentada (FC, $C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$).

Parâmetro	Valor
$Y_{X/S}^a$ (gX gS ⁻¹)	$0,032 \pm 0,002$
$Y_{E/S}^a$ (gE gS ⁻¹)	$0,449 \pm 0,004$
μ_{max}^b (h ⁻¹)	$0,211 \pm 0,003$
K_S^b (g L ⁻¹)	$77,7 \pm 1,8$
K_{IS}^b (g L ⁻¹)	$131,7 \pm 13,2$
$C_{E_{max}}^b$ (g L ⁻¹)	$94,1 \pm 10,3$
n^b (-)	$0,121 \pm 0,02$

^a $Y_{X/S}$ e $Y_{E/S}$: calculados a partir dos dados experimentais.

^b μ_{max} , K_S , K_{IS} , $C_{E_{max}}$ e n : intervalos de confiança de 95%.

7.3.2. Processo integrado de fermentação extrativa e absorção sem recirculação de CO₂

Nas fermentações extrativas sem recirculação de CO₂ e com recuperação de etanol por absorção, duas condições foram testadas, uma com concentração total de substrato alimentado (C_{SA}) de $180,0 \text{ g L}^{-1}$ (FE1) e outra com 300 g L^{-1} (FE2). Na **Tabela 7.2** são apresentados os principais resultados dessas fermentações extrativas (FE1 e FE2) e da fermentação convencional (FC), utilizada como referência representando as condições do processo industrial.

Tabela 7.2 - Principais resultados das fermentações extrativas em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado de 180 g L⁻¹ (FE1) e 300 g L⁻¹ (FE2) e da fermentação convencional (FC).

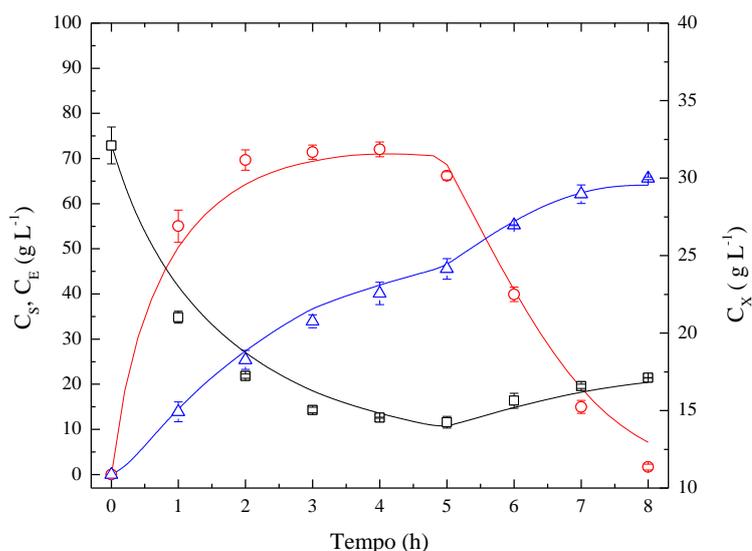
Variável	FC	FE1	FE2
C _{SA} ^a (g L ⁻¹)	179,2	180,6	301,2
C _{EF} ^b (g L ⁻¹)	80,4	65,6	78,3
C _{Em} ^c (g L ⁻¹)	80,4	65,6	86,1
C _{ET} ^d (g L ⁻¹)	80,4	81,1	135,2
C _{ET} (°GL)	10,2	10,3	17,1
P _E ^e (g L ⁻¹ h ⁻¹)	10,1	10,1	8,2
CV ^f (%)	60,5-64,5	60,0-65,5	59,0-86,7
ER ^g (%)	-	88,7	91,6
K _{yaE} ^h (mol L ⁻¹ h ⁻¹)	-	12,8-43,1	11,3-45,6
K _{yaW} ⁱ (mol L ⁻¹ h ⁻¹)	-	7,1-41,9	8,9-43,5

^aC_{SA}: concentração total de substrato alimentado, ^bC_{EF}: concentração final de etanol no caldo de fermentação, ^cC_{Em}: concentração máxima de etanol no caldo de fermentação, ^dC_{ET}: concentração total de etanol produzido estimado, ^eP_E: produtividade volumétrica em etanol, ^fCV: porcentagem de células viáveis, ^gER: porcentagem de recuperação de etanol, ^hK_{yaE}: coeficiente volumétrico global de absorção de etanol, ⁱK_{yaW}: coeficiente volumétrico global de absorção de água.

Os resultados experimentais e simulados de células viáveis (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) da fermentação FE1 estão dispostos na **Figura 7.5**. Como pode ser observado, os resultados da fermentação FE1 foram similares aos da fermentação FC. O consumo total de substrato ocorreu em 8 h, com produtividade de etanol (P_E = 10,1 g L⁻¹ h⁻¹), concentração total de etanol produzido (C_{ET} = 81,1 g L⁻¹) e variação da porcentagem de células viáveis (CV, 60,0 a 65,5%) sendo praticamente iguais aos da fermentação FC. Estes resultados diferem de outros encontrados na literatura. Empregando concentração de substrato de 180 g L⁻¹, Sonogo *et al.* (2016) reportaram aumento de 12% na produtividade de etanol na fermentação extrativa em batelada alimentada em comparação à fermentação convencional. No entanto, os autores empregaram uma linhagem comercial de levedura mais sensível à inibição pelo etanol em comparação à linhagem industrial utilizada no presente trabalho (*S. cerevisiae* Y904), o que evidenciou o efeito positivo do arraste gasoso no processo. No mesmo trabalho, Sonogo *et al.* (2016) alimentaram 194,4 g L⁻¹ de substrato numa fermentação convencional, mas mesmo após 12 h o substrato não foi completamente consumido (5% de substrato residual) e a concentração de etanol chegou a 84,8 g L⁻¹. Por outro lado, Veloso *et al.* (2019) reportaram consumo completo de 207 g L⁻¹ de substrato em 10 h e produção de 92,2 g L⁻¹ de etanol numa fermentação convencional em batelada utilizando a linhagem *S. cerevisiae* Y904, corroborando os resultados

do presente trabalho. O valor de C_{ET} nas fermentações extrativas foi calculado utilizando o coeficiente de rendimento de etanol com base no valor de C_{SA} e, portanto, considera o etanol removido por arraste e o etanol presente no caldo. Assim, era esperado que o valor de C_{ET} em FE1 fosse igual ao da fermentação convencional, já que em ambas condições foi utilizada C_{SA} de 180 g L^{-1} . A concentração final de etanol no biorreator (C_{EF}) foi de $65,6 \text{ g L}^{-1}$, valor consideravelmente menor que o da fermentação convencional, devido à remoção de etanol por arraste gasoso. Do ponto de vista industrial, isto não seria atraente, pois implicaria em maior consumo de vapor durante a destilação e maior produção de vinhaça. Em contrapartida, a baixa concentração de etanol significa que a dorna pode ser alimentada com maior quantidade de açúcar, sendo esta a estratégia adotada na fermentação FE2.

Figura 7.5 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S , círculos), células viáveis (C_X , quadrados) e etanol (C_E , triângulos) ao longo do tempo na fermentação extrativa FE1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$) do processo integrado sem recirculação de CO_2 .

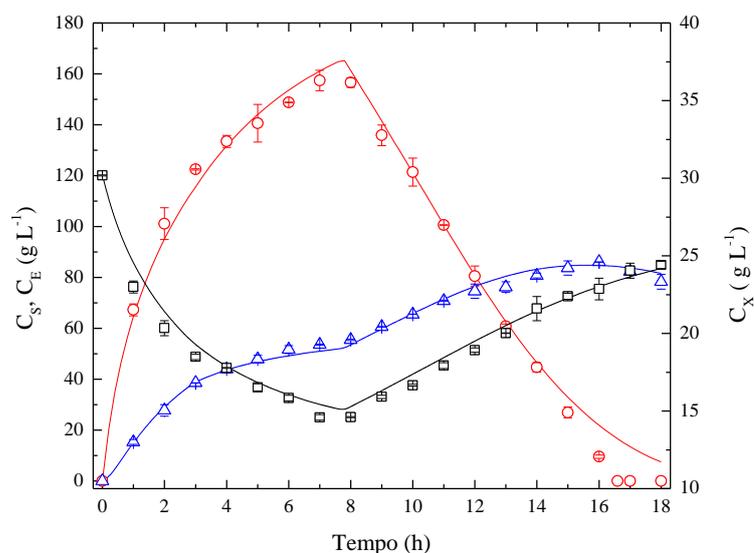


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A **Figura 7.6** mostra os valores experimentais e simulados de C_X , C_S e C_E da fermentação FE2. O consumo completo de substrato ocorreu em 16,5 h. Durante a alimentação do mosto, mesmo com alta carga de açúcar alimentada, a concentração de substrato não ultrapassou 160 g L^{-1} , que é o limite a partir do qual a inibição pelo substrato começa a influenciar de forma significativa o crescimento das células de levedura (THATIPAMALA *et al.*, 1992; ZHANG *et al.*, 2015). A concentração final de etanol no caldo foi de $78,3 \text{ g L}^{-1}$ (**Tabela 7.2**). Diferentemente da fermentação FE1, este valor foi similar à concentração obtida

na fermentação convencional, o que significa que o vinho resultante poderia ser direcionado para a destilação sem comprometer a eficiência energética do processo. A concentração máxima de etanol alcançada no caldo foi $86,1 \text{ g L}^{-1}$, valor menor que o máximo tolerado pela levedura ($C_{E_{\max}} = 94,1 \text{ g L}^{-1}$) estimado a partir do modelo de crescimento, mostrando que a remoção do etanol por arraste gasoso foi eficiente e minimizou o efeito de inibição. A produção total de etanol no processo foi de $135,2 \text{ g L}^{-1}$ ($17,1 \text{ }^\circ\text{GL}$), valor 68 % maior que a fermentação FC, o que representa uma redução no volume de vinhaça gerada e uma economia de energia na destilação, especialmente para destilarias anexas. Por fim, a produtividade de etanol em FE2 foi de $8,2 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Trata-se de um valor elevado, mas menor que no processo convencional (cerca de 20%). Isto poderia ser compensado utilizando maior densidade de células no processo, sendo esta uma prática comum nas destilarias, ou através da otimização da alimentação de mosto, como realizado por Sonego *et al.* (2018). Estudos de fermentação com arraste gasoso para a produção de etanol a partir de milho (TAYLOR *et al.*, 1995; 1996) e de sacarose (SONEGO *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2018) também reportaram conversão de elevadas concentrações de substrato e com elevada produtividade de etanol, corroborando os resultados do presente trabalho.

Figura 7.6 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) de concentração de substrato (C_S , círculos), células viáveis (C_X , quadrados) e etanol (C_E , triângulos) ao longo do tempo na fermentação extrativa FE2 ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$) do processo integrado sem recirculação de CO_2 .



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os valores calculados de C_X , C_S e C_E nas fermentações FE1 e FE2 foram obtidos a partir do modelo para fermentação extrativa (Equações 7.9-7.12) usando os parâmetros de

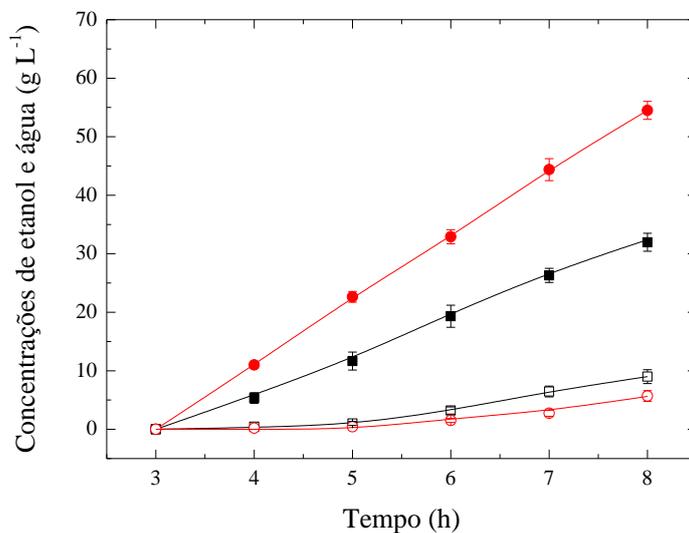
crescimento celular, estimados para a fermentação convencional (μ_{\max} , K_S , K_{IS} , $C_{E\max}$ e n , **Tabela 7.1**), juntamente com os parâmetros de arraste gasoso, k_{ES} ($0,0707 \text{ h}^{-1}$) e k_{WS} ($0,0069 \text{ h}^{-1}$), estimados no **Capítulo 5** (item 5.3.1). O valor de $Y_{E/S}$ utilizado foi o mesmo obtido para a fermentação convencional ($0,449 \text{ g}_E \text{ g}_S^{-1}$, **Tabela 7.1**), assim como Sonego *et al.* (2018), e os valores de $Y_{X/S}$ foram calculados usando a Equação 7.6 ($0,037 \text{ g}_X \text{ g}_S^{-1}$ para FE1 e $0,040 \text{ g}_X \text{ g}_S^{-1}$ para FE2). No entanto, o modelo não foi capaz de descrever com precisão o comportamento das fermentações (dados não mostrados), principalmente a FE2 com alta carga de substrato ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$). Tal fato está relacionado com o parâmetro “ n ”, que é empírico e usado como expoente no modelo de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), cuja funcionalidade é apenas dar peso à inibição pelo etanol. Quanto maior o valor de “ n ”, mais pronunciada é a inibição. Portanto, é difícil um mesmo valor de “ n ” descrever diferentes condições de fermentação em que a inibição pelo etanol pode atuar de forma diferente. Na fermentação convencional (FC), por exemplo, a concentração de etanol alcançada foi de $80,4 \text{ g L}^{-1}$, enquanto na fermentação FE1 $65,6 \text{ g L}^{-1}$. Na fermentação FE2, por sua vez, a concentração de etanol alcançou $86,1 \text{ g L}^{-1}$. Além disso, nesta condição, a levedura permaneceu tempo maior (7 h) exposta a concentrações elevadas de etanol ($70,1\text{-}86,1 \text{ g L}^{-1}$, **Figura 7.6**) em comparação às outras fermentações. Dessa forma, novos ajustes foram realizados alterando apenas o parâmetro “ n ”. Os novos valores encontrados foram de 0,025 para FE1 e 0,405 para FE2. A **Tabela 7.3** mostra os valores do desvio padrão residual (RSD, *residual standard deviation*, Equação 5.31) para C_X , C_S , e C_E antes e após a correção dos valores de “ n ”, indicando que a resposta do modelo melhorou consideravelmente. A comparação entre os dados experimentais e simulados das fermentações FE1 e FE2 (**Figuras 7.5 e 7.6**, respectivamente) comprova a adequabilidade do modelo para descrever o processo. No trabalho de Veloso *et al.* (2019), que avaliaram a produção de etanol em diferentes temperaturas, o valor de “ n ” também precisou ser corrigido para as condições com elevada concentração de etanol, corroborando os resultados do presente trabalho.

Tabela 7.3 - Valores de RSD para concentração de células viáveis (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) mostrando o desempenho do modelo para as fermentações extrativas FE1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$) e FE2 ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$) antes e após a correção do parâmetro “n”.

Condição	C_X (%)	C_S (%)	C_E (%)
Valores de RSD antes da correção do parâmetro “n”			
FE1	5,4	13,7	3,9
FE2	8,8	32,7	18,4
Valores de RSD após correção do parâmetro “n”			
FE1	5,3	8,1	3,9
FE2	3,1	6,5	3,2

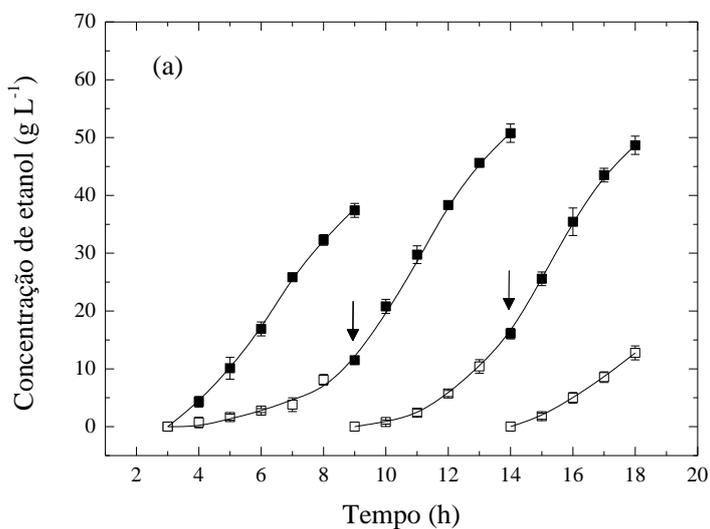
O etanol removido por arraste gasoso nas fermentações FE1 e FE2 foi recuperado por absorção empregando dois absorvedores em série. A **Tabela 7.2** mostra os valores dos coeficientes volumétricos globais de absorção de etanol ($K_{y_{aE}}$) e água ($K_{y_{aW}}$). No ensaio FE1, as faixas de $K_{y_{aE}}$ e $K_{y_{aW}}$ nos absorvedores foram 12,8-43,1 e 7,1-41,9 mol L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. No ensaio FE2, $K_{y_{aE}}$ e $K_{y_{aW}}$ alcançaram valores ligeiramente maiores, variando de 11,3 a 45,6 e de 8,9 a 43,5 mol L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Esta diferença nos coeficientes está relacionada as propriedades físicas e difusividades do etanol e da água (tanto na fase líquida quanto na fase gasosa), que variaram de um experimento para o outro, conforme discutido no **Capítulo 5**. Os dados experimentais e simulados de concentração de etanol e água ao longo do tempo nos absorvedores para as fermentações FE1 e FE2 são mostrados nas **Figuras 7.7** e **7.8**, respectivamente. Como pode ser observado, a modelagem desenvolvida no **Capítulo 5** utilizando solução hidroalcoólica, também foi capaz de descrever com precisão o comportamento do processo de absorção para fermentações extrativas, proporcionando excelente ajuste (valores de RSD foram menores que 5 e 17% para as concentrações de etanol e água nos absorvedores, respectivamente, considerando os dois ensaios).

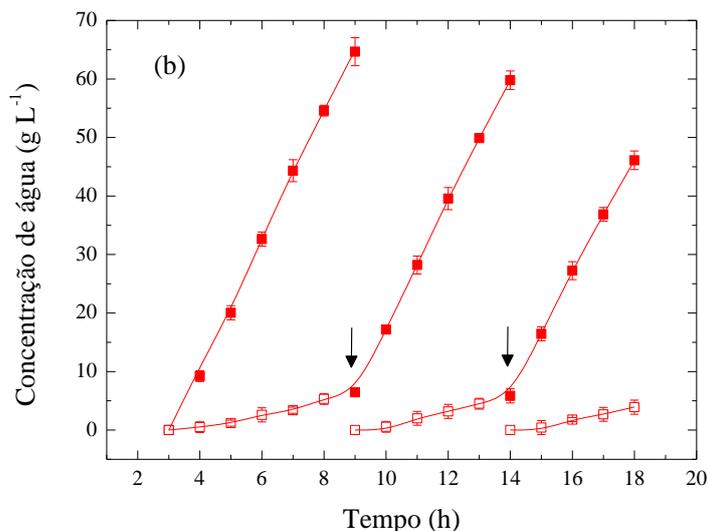
Figura 7.7 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de etanol (quadrados pretos) e água (círculos vermelhos) ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FE1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 7.8 - Valores experimentais (símbolos) e simulados (linhas) das concentrações de (a) etanol (b) e água ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FE2 ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados.



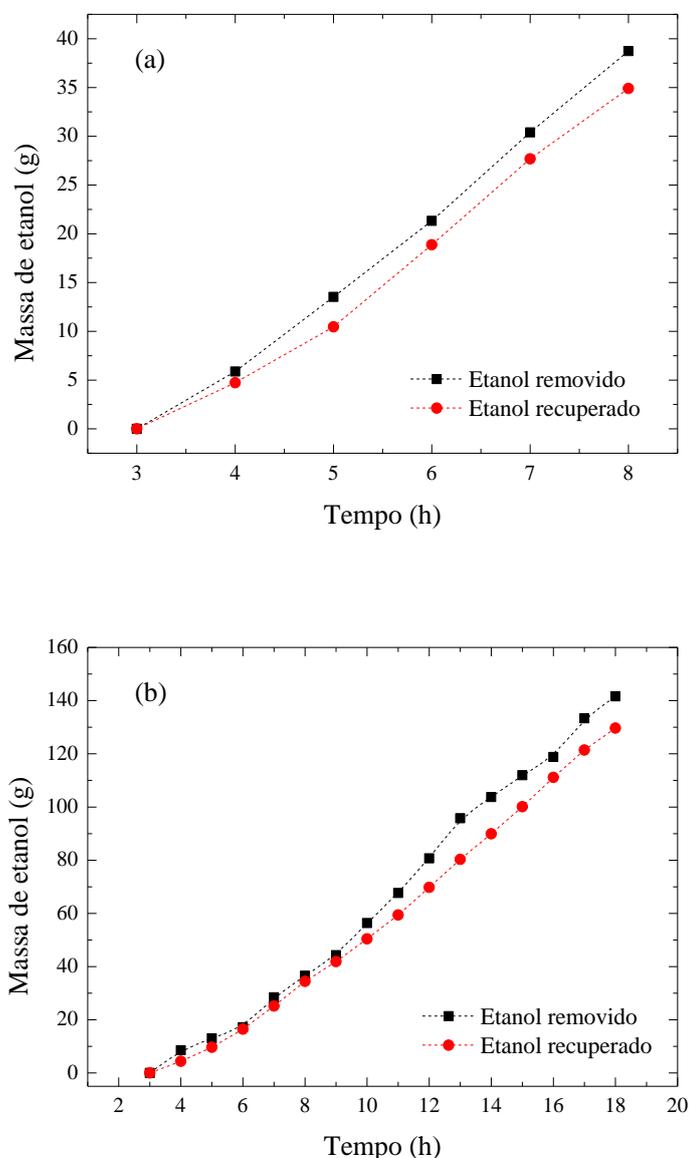


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

As porcentagens de recuperação de etanol (ER, **Tabela 7.2**) foram de 88,7% em FE1 e 91,6% em FE2. Estes valores são próximos do valor obtido no ensaio de absorção A12 (93,1%) do **Capítulo 5**, conduzido nas mesmas condições (dois absorvedores em série com volume inicial de MEG de 0,8 L em cada absorvedor), mostrando que a forma como foi calculado ER a partir da Equação 7.8 foi adequada e que os resultados são consistentes. A **Figura 7.9** compara as massas removida por arraste gasoso e recuperada por absorção ao longo do tempo nas fermentações, mostrando que absorção foi eficiente durante todo o processo. A massa removida (m_{ERec}) a cada instante (t) foi obtida a partir da seguinte equação:

$$m_{ERem(t)} = \int_0^t r_E V dt - C_E V = \int_0^t \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X V dt - C_E V \quad (7.15)$$

Figura 7.9 - Comparação das massas removida por arraste gasoso e recuperada por absorção ao longo do tempo para as fermentações extrativas: (a) FE1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$) e (b) FE2 ($C_{SA} = 300 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

No geral, os resultados mostraram excelente desempenho da absorção como método para recuperação do etanol removido durante as fermentações extrativas. No entanto, a perda do etanol não absorvido (cerca de 10%) e a utilização de CO_2 comercial inviabilizariam o processo. A alternativa proposta para contornar estes problemas foi promover a recirculação da corrente gasosa no processo utilizando um sistema fechado. A baixa porcentagem de etanol (inferior a 0,3% em base molar) na corrente de saída do sistema de recuperação (saída do segundo absorvedor, **Figura 7.1**) durante as fermentações possibilitou o reciclo do gás para o biorreator, minimizando a perda de etanol não recuperado, conforme apresentado na sequência.

7.3.3. Processo integrado de fermentação extrativa e absorção com recirculação de CO₂

Os principais resultados das fermentações extrativas com recirculação de CO₂, FER1 (C_{SA} = 180 g L⁻¹) e FER2 (C_{SA} = 280 g L⁻¹) são apresentados na **Tabela 7.4** juntamente com os resultados da fermentação convencional (FC) para fins comparativos. O valor de C_{SA} na fermentação FER2 foi baseado nos resultados da fermentação FE2 (sem recirculação de CO₂). Como em FE2 foram alcançadas elevadas concentrações de etanol no caldo (C_{Em} = 86,1 g L⁻¹), partiu-se do princípio de que se fosse usada a mesma concentração de substrato (300 g L⁻¹) num processo com recirculação de CO₂, o etanol não recuperado voltaria para o biorreator e poderia inibir o metabolismo da levedura, afetando a velocidade de fermentação. Dessa forma, foi estimada a concentração de substrato que deveria ser alimentado em FER2, com base no Y_{E/S} para produzir a menos o equivalente à massa de etanol não recuperada em FE2.

Tabela 7.4 - Principais resultados das fermentações convencional (FC) e extrativas com recirculação de CO₂ e concentrações totais de substrato alimentado de 180 (FER1) e 280 g L⁻¹ (FER2).

Variável	FC	FER1	FER2
C _{SA} ^a (g L ⁻¹)	179,2	180,5	280,7
C _{Ef} ^b (g L ⁻¹)	80,4	67,1	87,1
C _{Em} ^c (g L ⁻¹)	80,4	70,6	91,5
C _{ET} ^d (g L ⁻¹)	80,4	81,0	126,0
C _{ET} (°GL)	10,2	10,3	16,0
P _E ^e (g L ⁻¹ h ⁻¹)	10,1	10,1	8,4
CV ^f (%)	60,5-64,5	59,5-69,1	61,2-81,2
ER ^g (%)	-	97,2	98,3

^aC_{SA}: concentração total de substrato alimentado, ^bC_{Ef}: concentração final de etanol no caldo de fermentação, ^cC_{Em}: concentração máxima de etanol no caldo de fermentação, ^dC_{ET}: concentração total de etanol produzido estimado, ^eP_E: produtividade volumétrica em etanol, ^fCV: porcentagem de células viáveis, ^gER: porcentagem de recuperação de etanol.

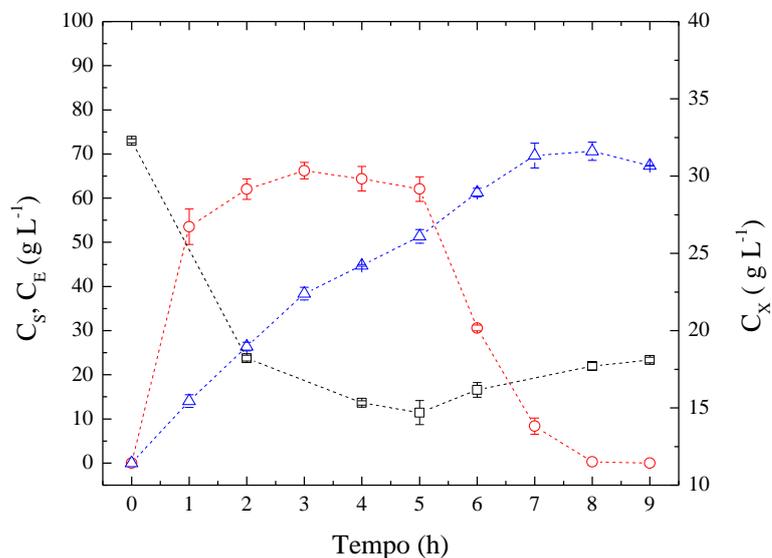
Os resultados experimentais das concentrações de células viáveis (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) em FER1 e FER2 são mostrados nas **Figuras 7.10** e **7.11**, respectivamente. O consumo completo de substrato na fermentação FER1 ocorreu em 8 h, resultando em produtividade e produção total de 10,1 g L⁻¹ h⁻¹ e 81,0 g L⁻¹, respectivamente. Como era esperado, estes valores foram similares aos de FC e FE1, já que nas três condições foi alimentada a mesma concentração de substrato (180 g L⁻¹). Comparando os resultados das fermentações FER1 e FE1 (sem reciclo de CO₂, **Tabela 7.2** e **Figura 7.5**), pode ser observado

que os valores de concentração de etanol ao longo do tempo foram ligeiramente superiores em FER1, alcançando o valor máximo de $70,6 \text{ g L}^{-1}$ (C_{Em}) e chegando a $67,1 \text{ g L}^{-1}$ (C_{EF}) ao final do processo. Este comportamento foi resultado do reciclo da corrente gasosa, em que grande parte do etanol não recuperado retornou para o biorreator, mostrando que o sistema fechado foi eficiente.

Com relação à fermentação FER2, o consumo completo de substrato ocorreu em 15 h. A concentração máxima de substrato foi em torno de 120 g L^{-1} , mostrando que a alimentação foi eficiente e que não ocorreu limitação do processo por inibição (THATIPAMALA *et al.*, 1992; ZHANG *et al.*, 2015). Quanto ao etanol, as concentrações máxima e final no caldo foram $91,5$ e $87,1 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente. Estes valores foram maiores que os da fermentação convencional (14 e 8 %, respectivamente). Se comparados aos resultados da fermentação FE2 com C_{SA} de 300 g L^{-1} (sem recirculação de CO_2 , **Tabela 7.2** e **Figura 7.6**), eles também foram maiores como consequência do retorno de etanol não recuperado para o biorreator e ficaram mais próximos do C_{Emax} máximo tolerado pela levedura ($94,1 \text{ g L}^{-1}$). No entanto, isso ocorreu apenas nas últimas horas de fermentação e, portanto, não comprometeu a eficiência do processo. Confirma-se pela produtividade em etanol ($8,4 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) praticamente igual à obtida em FE2 ($8,2 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Além disso, um vinho mais concentrado em etanol poderia reduzir custos energéticos na destilação bem como o volume de vinhaça. A concentração total de etanol foi de 126 g L^{-1} , 57% maior que a obtida na fermentação convencional.

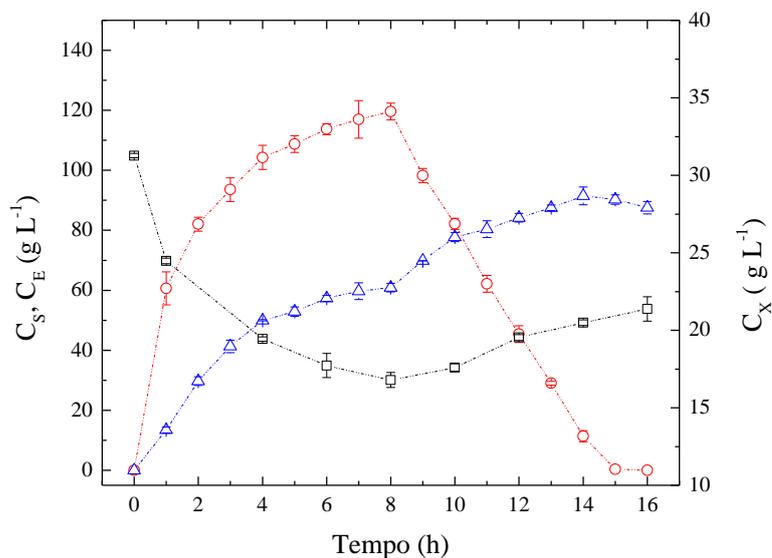
Um ponto importante que deve ser mencionado é com relação à presença de MEG na corrente de saída do segundo absorvedor. Mesmo com a baixa volatilidade do MEG, a corrente continha traços do solvente, o que poderia ter afetado a levedura. No entanto, a variação da viabilidade celular (**Tabela 7.4**) mostra que nas condições experimentais impostas o MEG não apresentou toxicidade. No início das fermentações a viabilidade foi próxima de 60% e aumentou ao longo do tempo alcançando 69,1% em FER1 e 81,2% em FER2. Estes valores foram maiores que aqueles obtidos na fermentação convencional e tão altos quanto nas fermentações extrativas sem recirculação de CO_2 .

Figura 7.10 - Valores experimentais das concentrações de substrato (C_S , círculos vermelhos), células viáveis (C_X , quadrados pretos) e etanol (C_E , triângulos azuis) ao longo do tempo na fermentação extrativa FER1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$) do processo integrado com recirculação de CO_2 .



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 7.11 - Valores experimentais das concentrações de substrato (C_S , círculos vermelhos), células viáveis (C_X , quadrados pretos) e etanol (C_E , triângulos azuis) ao longo do tempo na fermentação extrativa FER2 ($C_{SA} = 280 \text{ g L}^{-1}$) do processo integrado com recirculação de CO_2 .

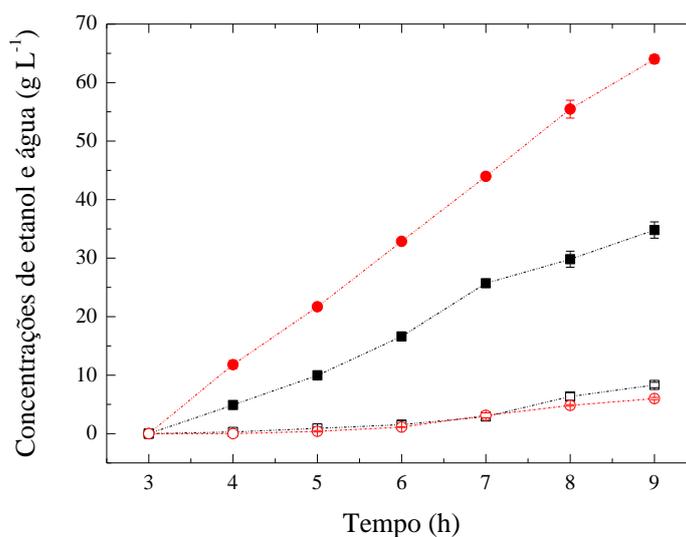


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

No que se refere à etapa de recuperação, os resultados experimentais das concentrações de etanol e água nos absorvedores das fermentações FER1 e FER2 são mostrados nas **Figuras**

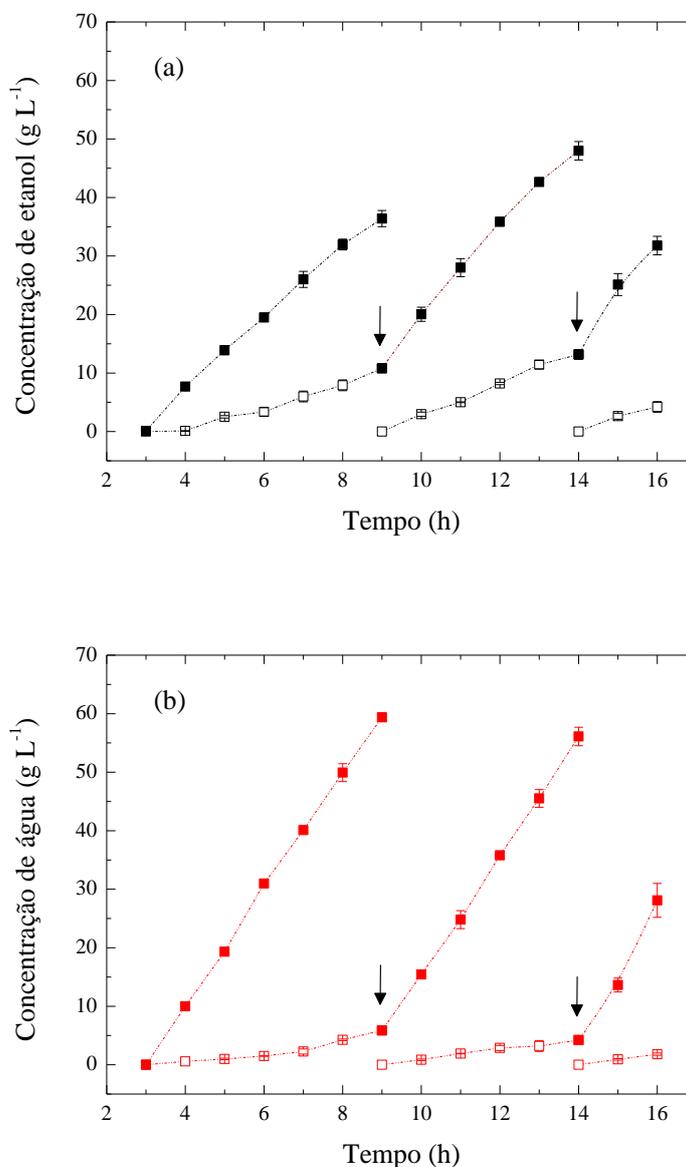
7.12 e 7.13. As porcentagens de etanol recuperado (ER) em FER1 e FER2 foram 97,2 e 98,3%, respectivamente, valores consideravelmente maiores que nas fermentações sem recirculação de CO₂ (FE1 e FE2). No experimento realizado com solução hidroalcoólica nas mesmas condições das fermentações, o valor de ER foi de aproximadamente 97%, mostrando que os resultados de eficiência das fermentações estão coerentes. Pode-se afirmar que os resultados obtidos são muito representativos visto que no processo industrial a perda de etanol arrastado pelo CO₂ produzido durante a fermentação pode chegar a 2% (GAYKAWAD *et al.*, 2017). Além disso, se calculada a eficiência global do processo FER2, dada pela relação entre a massa total de etanol ao final do processo (etanol presente no caldo + etanol presente nos absorvedores) e a massa de substrato alimentada, o valor ($0,448 \text{ g}_{\text{Etanol}} \text{ g}_{\text{substrato}}^{-1}$) foi praticamente igual ao valor de $Y_{E/S}$ da fermentação convencional ($0,449 \text{ g}_{\text{Etanol}} \text{ g}_{\text{substrato}}^{-1}$). Ou seja, a eficiência obtida no presente trabalho é pela menos igual à do processo convencional, mas com a vantagem de se alimentar um mosto 56% mais concentrado em açúcar que o do processo convencional, o que implica diretamente na redução da quantidade de vinhaça gerada, viabilizando o processo alternativo proposto. Ademais, a solução resultante da absorção (contendo etanol, água e MEG) poderia ser alimentada diretamente numa coluna de destilação extrativa.

Figura 7.12 - Valores experimentais das concentrações de etanol (quadrados pretos) e água (círculos vermelhos) ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FER1 ($C_{SA} = 180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 7.13 - Valores experimentais das concentrações de (a) etanol e (b) água ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor - símbolos preenchidos, 2º absorvedor - símbolos vazios) para a fermentação FER2 ($C_{SA} = 280 \text{ g L}^{-1}$). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

7.4. Conclusões

O modelo cinético híbrido de Andrews-Levenspiel proporcionou excelente ajuste aos dados experimentais da fermentação convencional, viabilizando a obtenção dos parâmetros cinéticos da levedura. O processo de fermentação extrativa sem recirculação de CO_2 e recuperação por absorção permitiu a conversão de 300 g L^{-1} de substrato, resultando numa produção total de etanol de $135,2 \text{ g L}^{-1}$ ($17,1 \text{ }^\circ\text{GL}$), 68 % maior que na fermentação

convencional (condições industriais). Quanto à absorção, o sistema utilizado se mostrou eficiente com a recuperação de 91,6% do etanol removido por arraste. Os modelos propostos para ambas as etapas, fermentação extrativa e recuperação por absorção, descreveram adequadamente o processo.

Com relação ao processo com recirculação de CO₂, foi possível consumir 280 g L⁻¹ de substrato e produzir um total de etanol de 126 g L⁻¹ (57% maior que na fermentação convencional) empregando o próprio CO₂ produzido na fermentação. A eficiência de recuperação de etanol por absorção foi de 98,3%, valor similar à encontrada em instalações industriais considerando a perda de etanol arrastado pelo CO₂ produzido nas dornas. Além disso, a eficiência global do processo (0,448 g_{Etanol} g_{substrato}⁻¹) foi praticamente igual ao coeficiente de rendimento de etanol da fermentação convencional ($Y_{E/S} = 0,449 \text{ g}_{\text{Etanol}} \text{ g}_{\text{substrato}}^{-1}$). O processo alternativo de produção de etanol proposto se mostrou promissor, podendo oferecer melhorias aos processos convencionais no sentido de reduzir o volume de vinhaça e o consumo energético na destilação, reduzindo assim custos globais.

Capítulo 8

CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Dos resultados obtidos na presente tese, conclui-se que:

- O modelo proposto para o arraste gasoso com CO₂ foi capaz de descrever com precisão o fenômeno. As variáveis vazão específica de CO₂ e temperatura e a influenciaram de forma positiva nas remoções de etanol e água.
- A metodologia desenvolvida baseada na combinação da espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR) com o método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi eficiente no monitoramento das concentrações de etanol e água no processo de absorção em monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG). Os modelos de calibração apresentaram excelentes resultados de validação, com os erros das validações cruzada (RMSECV) e externa (RMSEP) sendo inferiores a 2% dos intervalos dos valores de concentração de etanol e água utilizados na calibração.
- Absorção gasosa empregando MEG foi eficiente na recuperação do etanol da mistura gasosa gerada por arraste gasoso com CO₂. A utilização de dois absorvedores conectados em série contendo 0,80 L de MEG (40% do volume útil do biorreator) em cada possibilitou a recuperação de 93,1% do etanol removido por arraste. A modelagem desenvolvida, considerando as equações de balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água, CO₂ e MEG) e incorporando conceitos de cinética de arraste gasoso e absorção e equilíbrio líquido-vapor, descreveu adequadamente o comportamento do processo de absorção.
- A metodologia desenvolvida baseada com combinação da espectroscopia FT-MIR e regressão PLS foi eficiente no monitoramento dos principais analitos (sacarose, frutose, glicose, etanol, glicerol e células) envolvidos no processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada. Os modelos PLS apresentaram excelentes resultados de validação externa, com baixos valores de RMSEP, os quais foram 0,54 g L⁻¹ (sacarose), 1,06 g L⁻¹ (glicose), 0,67 g L⁻¹ (frutose), 1,82 g L⁻¹ (etanol), 0,47 g L⁻¹ (glicerol) e 2,45 g L⁻¹ (células). Os resultados mostraram que a técnica pode ser utilizada tanto para mostos de laboratório (preparados a partir de sacarose pura), quanto para mostos industriais (caldo e melaço de cana-de-açúcar e caldo de sorgo sacarino).
- O processo integrado de fermentação extrativa e recuperação por absorção sem recirculação de CO₂ possibilitou o consumo de 300 g L⁻¹ de substrato, produção total de etanol de 135,2 g L⁻¹ e recuperação de 91,6% do etanol removido por arraste. As modelagens desenvolvidas para as duas etapas, fermentação extrativa e absorção,

descreveram adequadamente os processos.

- O processo integrado com recirculação de CO₂ (utilizando apenas o CO₂ produzido na fermentação), possibilitou o consumo de 280 g L⁻¹ de substrato e produção total de etanol de 126 g L⁻¹ (57% maior que na fermentação convencional). A eficiência de recuperação de etanol por absorção com MEG foi de 98,3%, valor similar à encontrada em instalações industriais considerando a perda de etanol arrastado pelo CO₂ produzido nas dornas, o que viabiliza o processo alternativo proposto.

As sugestões para trabalhos futuros são:

- Analisar outras condições operacionais (temperatura, solvente, tipo de absorvedor, etc.) visando melhorar a eficiência de recuperação por absorção.
- Modelar o processo integrado de fermentação extrativa com arraste gasoso e recuperação por absorção com recirculação de CO₂.
- Analisar a viabilidade técnico-econômica do processo integrado de fermentação alcoólica extrativa com arraste gasoso e recuperação do etanol por absorção com recirculação de CO₂.
- Analisar a viabilidade técnico-econômica de alimentar a solução resultante do processo de absorção de etanol (contendo MEG, etanol e água) diretamente na coluna de destilação extrativa.
- Avaliar outros métodos para recuperação do etanol, tais como permeação de vapor e adsorção.
- Otimizar a etapa de fermentação extrativa com arraste gasoso ou empregar outras estratégias de fermentação como, por exemplo, reciclo de células com o objetivo de aumentar a produtividade em etanol no processo.

Referências Bibliográficas

ALVAREZ, E. et al. Continuous removal of carbon dioxide by absorption employing a bubble column. **Chemical Engineering Journal**, v. 137, n. 2, p. 251-256, 2008.

_____. Mass transfer and influence of physical properties of solutions in a bubble column. **Chemical Engineering Research & Design**, v. 78, n. A6, p. 889-893, 2000.

AMORIM, H. V. et al. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 5, p. 1267-1275, 2011.

ANDERSON, T. F.; PRAUSNITZ, J. M. Application of the UNIQUAC equation to calculation of multicomponent phase equilibria. 1. Vapor-liquid equilibria. **Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development**, v. 17, n. 4, p. 552-561, 1978.

ANDREWS, J. F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 10, n. 6, p. 707-723, 1968.

Agência Nacional do Petróleo (ANP). Biocombustíveis - RenovaBio, 2019. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/renovabio> >. (Acessado em 15 de Dezembro de 2018)

BAEYENS, J. et al. Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 47, p. 60-88, 2015.

BASSO, L. C.; ROCHA, S. N.; BASSO, T. O. **Ethanol Production in Brazil: The Industrial Process and Its Impact on Yeast Fermentation, Biofuel Production-Recent Developments and Prospects**. Rijeka, Croatia: Intech, 2011.

BIRD, R. B.; STEWART, W. E.; LIGHTFOOT, E. N. **Mass Transport: Transport phenomena**. Revised Second Edition. New York: John Wiley & Sons, 2007.

BLACK, C.; DITSLER, D. E. Dehydration of aqueous ethanol mixtures by extractive distillation. **Advances in Chemistry Series**, n. 115, p. 1-15, 1972.

BLANCO, M.; PEINADO, A. C.; MAS, J. Analytical monitoring of alcoholic fermentation using NIR spectroscopy. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 88, n. 4, p. 536-542, 2004.

BONOMI, A.; SHIMIDELL, W. **Modelagem matemática e simulação de processos fermentativos - Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

BRERETON, R. G. **Applied chemometrics for scientists**. West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd, 2007.

BURATTI, S. et al. Monitoring of alcoholic fermentation using near infrared and mid infrared spectroscopies combined with electronic nose and electronic tongue. **Analytica Chimica Acta**, v. 697, n. 1-2, p. 67-74, 2011.

CAMARGO, C. D. et al. Conservação de energia na indústria do açúcar e do álcool. **São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas**, 1990.

- CARDOSO, V. M.; BERNARDO, A.; GIULIETTI, M. Ethanol absorption from CO₂ using solutions of glycerol and glycols. **Chemical Engineering Communications**, v. 205, n. 10, p. 1507-1519, 2018.
- CARTON, A. et al. Selection of adsorbents to be used in an ethanol fermentation process. Adsorption isotherms and kinetics. **Bioresource Technology**, v. 66, n. 1, p. 75-78, 1998.
- CASTRO, E. et al. Potential for ethanol production from different sorghum cultivars. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 367-373, 2017.
- CERRI, M. O.; BADINO, A. C. Oxygen transfer in three scales of concentric tube airlift bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 51, n. 1-2, p. 40-47, 2010
- CERRI, M. O. et al. Prediction of mean bubble size in pneumatic reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, n. 1, p. 12-17, 2010.
- CHEN, C. J. et al. Simultaneous acetone-butanol-ethanol fermentation, gas stripping, and full-cell-catalyzed esterification for effective production of butyl oleate. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 41, n. 9, p. 1329-1336, 2018.
- CHEN, Y. et al. Enhancement of n-butanol production by in situ butanol removal using permeating-heating-gas stripping in acetone-butanol-ethanol fermentation. **Bioresource Technology**, v. 164, p. 276-284, 2014.
- CHIANG, C. Y. et al. Absorption of ethanol into water and glycerol/water solution in a rotating packed bed. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 40, n. 4, p. 418-423, 2009.
- COZZOLINO, D.; MCCARTHY, J.; BARTOWSKY, E. Comparison of near infrared and mid infrared spectroscopy to discriminate between wines produced by different *Oenococcus Oeni* strains after malolactic fermentation: A feasibility study. **Food Control**, v. 26, n. 1, p. 81-87, 2012.
- DE VRIJE, T. et al. "In situ" removal of isopropanol, butanol and ethanol from fermentation broth by gas stripping. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 153-159, 2013.
- DEBEBE, A.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B. S. Non-destructive determination of ethanol levels in fermented alcoholic beverages using Fourier transform mid-infrared spectroscopy. **Chemistry Central Journal**, v. 11, 2017.
- DEY, A.; AROONWILAS, A. CO₂ absorption into MEA-AMP blend: mass transfer and absorber height index. **Greenhouse Gas Control Technologies 9**, v. 1, n. 1, p. 211-215, 2009.
- DORAN, P. M. **Mass Transfer: Bioprocess Engineering Principles**. 1sted. Elsevier Science & Technology Books, 1995. 430.
- EZEJI, T. C. et al. Improving performance of a gas stripping-based recovery system to remove butanol from *Clostridium beijerinckii* fermentation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 27, n. 3, p. 207-214, 2005.

EZEJI, T. C.; QURESHI, N.; BLASCHEK, H. P. Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 19, n. 6, p. 595-603, 2003.

FAYOLLE, P.; PICQUE, D.; CORRIEU, G. Monitoring of fermentation processes producing lactic acid bacteria by mid-infrared spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 14, n. 2, p. 247-252, 1997.

FREDENSLUND, A. et al. Computerized design of multicomponent distillation-columns using unifac group contribution method for calculation of activity-coefficients. **Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development**, v. 16, n. 4, p. 450-462, 1977.

FRIEDEL, M.; PATZ, C. D.; DIETRICH, H. Comparison of different measurement techniques and variable selection methods for FT-MIR in wine analysis. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4200-4207, 2013.

FU, Q. B. et al. Short-Wave Near-Infrared Spectrometer for Alcohol Determination and Temperature Correction. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, 2012.

GARCIA, A.; LANNOTTI, E. L.; FISCHER, J. L. Butanol fermentation liquor production and separation by reverse-osmosis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, n. 6, p. 785-791, 1986.

GARCIAJARES, C. M.; MEDINA, B. Application of multivariate calibration to the simultaneous routine determination of ethanol, glycerol, fructose, glucose and total residual sugars in botrytized-grape sweet wines by means of near-infrared reflectance spectroscopy. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 357, n. 1, p. 86-91, 1997.

GAYKAWAD, S. S. et al. Vapour permeation for ethanol recovery from fermentation off-gas. **Biochemical Engineering Journal**, v. 124, p. 54-63, 2017.

GELLER, H. S. Ethanol fuel from sugar-cane in brazil. **Annual Review of Energy**, v. 10, p. 135-164, 1985.

GODOY, A. et al. Continuous and batch fermentation processes: Advantages and disadvantages of these processes in the Brazilian ethanol production. **International Sugar Journal**, v. 110, n. 1311, 2008.

GOMEZ-DIAZ, D. et al. Gas absorption in bubble column using a non-Newtonian liquid phase. **Chemical Engineering Journal**, v. 146, n. 1, p. 16-21, 2009.

GRELLET, M. A. C. et al. A modified indirect mathematical model for evaluation of ethanol production efficiency in industrial-scale continuous fermentation processes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 4, p. 1026-1037, 2016.

GROOT, W. J.; VANDERLANS, R.; LUYBEN, K. batch and continuous butanol fermentations with free-cells - integration with product recovery by gas-stripping. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 305-308, 1989.

HADLOCON, L. J. S. et al. Semi-mechanistic modelling of ammonia absorption in an acid spray wet scrubber based on mass balance. **Biosystems Engineering**, v. 136, p. 14-24, 2015.

HAMER, G. Stripping in sparged fermentation systems .i. 2 component model systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 7, n. 2, p. 199-&, 1965.

HASHI, M.; TEZEL, F. H.; THIBAUT, J. Ethanol Recovery from Fermentation Broth via Carbon Dioxide Stripping and Adsorption. **Energy & Fuels**, v. 24, n. 9, p. 4628-4637, 2010.

HEGELY, L. et al. Absorption Methods for the Determination of Mass Transfer Parameters of Packing Internals: A Literature Review. **Aiche Journal**, v. 63, n. 8, p. 3246-3275, 2017.

HEYMES, F. et al. A new efficient absorption liquid to treat exhaust air loaded with toluene. **Chemical Engineering Journal**, v. 115, n. 3, p. 225-231, 2006.

HISS, H. **Cinética de processos fermentativos - Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

HONGQIANG, L.; HONGZHANG, C. Near-infrared spectroscopy with a fiber-optic probe for state variables determination in solid-state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 5, p. 511-516, 2008.

HOUSTON, R. W.; WALKER, C. A. Absorption in packed towers - effect of molecular diffusivity on gas film coefficient. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 42, n. 6, p. 1105-1112, 1950.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). A standardization of methods for determination of the alcohol content of beverages and distilled potable spirits, v. 17, n. 2, p. 273-312, 1968.

JIA, X. W. et al. Influence of the Addition of Ethanol to the Gas Phase on CO₂ Absorption in a Bubble Column. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 24, p. 10216-10224, 2014.

KANTARCI, N.; BORAK, F.; ULGEN, K. O. Bubble column reactors. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 2263-2283, Jun 2005.

KEMSLEY, E. K. **Discriminant analysis and class modelling of spectroscopic data**. New York: John Wiley & Sons, 1998.

KIM, N. J. et al. Ethanol production from marine algal hydrolysates using *Escherichia coli* KO11. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 16, p. 7466-7469, 2011.

KRAMER, D.; KING, R. On-line monitoring of substrates and biomass using near-infrared spectroscopy and model-based state estimation for enzyme production by *S-cerevisiae*. **Ifac Papersonline**, v. 49, n. 7, p. 609-614, 2016.

KUJAWSKA, A. et al. ABE fermentation products recovery methods-A review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 48, p. 648-661, 2015.

KUTYNA, D. R. et al. Adaptive evolution of *Saccharomyces cerevisiae* to generate strains with enhanced glycerol production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 1175-1184, 2012.

LASER, M. et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, v. 81, n. 1, p. 33-44, 2002.

LEE, S.; ROBINSON, F.; WANG, H. Rapid determination of yeast viability. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* United States, 1981, Univ. of Michigan, Ann Arbor.

LEMOS, D. A. et al. In situ extractive ethanol fermentation in a drop column bioreactor. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 93, n. 5, p. 1381-1387, 2018.

LEVENSPIEL, O. The monod equation - a revisit and a generalization to product inhibition situations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 8, p. 1671-1687, 1980.

LI, J. H. et al. Prediction of starch content and ethanol yields of sorghum grain using near infrared spectroscopy. **Journal of near Infrared Spectroscopy**, v. 23, n. 2, p. 85-92, 2015.

LIAO, Y.-C.; LU, K.-M.; LI, S.-Y. Process parameters for operating 1-butanol gas stripping in a fermentor. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 118, n. 5, p. 558-564, 2014. ISSN 1389-1723.

LY, H. V.; BLOCK, D. E.; LONGO, M. L. Interfacial tension effect of ethanol on lipid bilayer rigidity, stability, and area/molecule: A micropipet aspiration approach. **Langmuir**, v. 18, n. 23, p. 8988-8995, 2002.

MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G. Techno-economic evaluation of 2nd generation bioethanol production from sugar cane bagasse and leaves integrated with the sugar-based ethanol process. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, 2012.

MAIORELLA, B.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 25, n. 1, p. 103-121, 1983 1983.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Operaciones unitarias en ingeniería química**. 4^a. Madrid: McGraw-Hill, 1998. 1114.

MEIRELLES, A.; WEISS, S.; HERFURTH, H. Ethanol dehydration by extractive distillation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 53, n. 2, p. 181-188, 1992.

MENDES, C. E.; BADINO, A. C. Oxygen transfer in different pneumatic bioreactors containing viscous Newtonian fluids. **Chemical Engineering Research & Design**, v. 94, p. 456-465, 2015.

MOHANA, S.; ACHARYA, B. K.; MADAMWAR, D. Distillery spent wash: Treatment technologies and potential applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 1, p. 12-25, 2009.

MORANDIN, M. et al. Synthesis and parameter optimization of a combined sugar and ethanol production process integrated with a CHP system. **Energy**, v. 36, n. 6, p. 3675-3690, 2011.

MORITA, H. et al. A new screening method for recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains based on their xylose fermentation ability measured by near infrared spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 6, n. 17, p. 6628-6634, 2014.

_____. Near infrared spectroscopy as high-throughput technology for screening of xylose-fermenting recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Analytical chemistry**, v. 83, n. 11, p. 4023-4029, 2011.

MOULIN, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 11, p. 2375-2381, 1980.

NAKANOH, M.; YOSHIDA, F. Gas-absorption by newtonian and non-newtonian liquids in a bubble column. **Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development**, v. 19, n. 1, p. 190-195, 1980.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Glycolysis, Gluconeogenesis, and the Pentose Phosphate Pathway: Principles of biochemistry**. 5^a. New York: W. H. Freeman and Company, 2008. 1158.

O'BRIEN, D. J.; ROTH, L. H.; MCALOON, A. J. Ethanol production by continuous fermentation-pervaporation: a preliminary economic analysis. **Journal of Membrane Science**, v. 166, n. 1, p. 105-111, 2000.

PEREIRA, R. D. et al. A New Methodology to Calculate the Ethanol Fermentation Efficiency at Bench and Industrial Scales. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 48, p. 16182-16191, 2018.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W. **Equipment for distillation, gas Absorption, phase dispersion, and phase separation: Perry's chemical engineers' handbook**. 8^a. New York: McGraw-Hill, 2008a.

_____. **Physical and Chemical Data: Perry's chemical engineers' handbook**. New York: McGraw-Hill, 2008b.

PHAM, C. B. et al. Simultaneous ethanol fermentation and stripping process coupled with rectification. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 68, n. 1, p. 25-31, 1989 1989.

PINTO, A. S. S. et al. Monitoring of the cellulosic ethanol fermentation process by near-infrared spectroscopy. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 334-340, 2016.

POLING, B. E.; M., P. J.; O'CONNELL, J. P. **The properties of gases and liquids**. New York: McGraw-Hill, 2001.

POLING, B. E. P., JOHN M. O'CONNELL, JOHN P. **The Properties of Gases and Liquids**. 5^a. New York: McGraw-Hill, 2001.

PONCE, G. H. S. F. et al. Sugarcane molasses fermentation with in situ gas stripping using low and moderate sugar concentrations for ethanol production: Experimental data and modeling. **Biochemical Engineering Journal**, v. 110, p. 152-161, 2016.

QURESHI, N.; MADDIX, I. S. Continuous production of acetone-butanol-ethanol using immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum* and integration with product removal by liquid-liquid-extraction. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 80, n. 2, p. 185-189, 1995.

QURESHI, N.; MADDOX, I. S.; FRIEDL, A. Application of continuous substrate feeding to the abe fermentation - relief of product inhibition using extraction, perstraction, stripping, and pervaporation. **Biotechnology Progress**, v. 8, n. 5, p. 382-390, 1992.

RAMON-PORTUGAL, F. et al. Kinetics of production and consumption of organic acids during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Technology and Biotechnology**, v. 37, n. 4, p. 235-240, 1999.

REID, R. C.; PRAUSNITZ, J. M.; SHERWOOD, T. K. **The properties of gases and liquids**. 3ª. McGraw Hill, 1977.

Renewable Fuels Association (RFA). Industry Statistics: World Fuel Ethanol Production, 2017. Available at <<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/>>. (Acessado em 10 de Novembro de 2018).

RICHARD, R. et al. On-line monitoring of the transesterification reaction between triglycerides and ethanol using near infrared spectroscopy combined with gas chromatography. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 12, p. 6702-6709, 2011.

RICHARDSON, J.; BACKHURST, J.; HARKER, J. **Coulson and Richardson's Chemical Engineering: Particle technology and separation processes**. 5ª. Oxford: Butterworth Heinemann, 2002.

RIVERA, E. C. et al. Evaluation of optimization techniques for parameter estimation: Application to ethanol fermentation considering the effect of temperature. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 7, p. 1682-1687, 2006.

ROCHON, E.; FERRARI, M. D.; LAREO, C. Integrated ABE fermentation-gas stripping process for enhanced butanol production from sugarcane-sweet sorghum juices. **Biomass & Bioenergy**, v. 98, p. 153-160, 2017.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Experimental design and process optimization**. CRC Press, 2014.

RUIZ, L. **Economia de milhões de reais - Cana online: a vez da vinhaça**. São Paulo: Paiva e Baldin: n. 25, 71-77 p. 2015.

SCHALK, R. et al. Evaluation of a newly developed mid-infrared sensor for real-time monitoring of yeast fermentations. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 5, p. 651-657, 2017.

SEADER, J. D.; HENLEY, E. J.; ROPER, D. K. **Separation process principles: chemical and biochemical operations**. 3ª. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2011.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering: Basic Concepts**. 2ª. Nova York: Prentice Hall PTR, 2002.

SIMEONE, M. L. F. et al. Near infrared spectroscopy determination of sucrose, glucose and fructose in sweet sorghum juice. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 125-130, 2017.

SKOOG, D. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição. 2006. 1026.

SMALLWOOD, I. M. **Solvent recovery handbook**. 2ª edição. Florida: CRC Press, 2002.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics**. 7ª edição. New York: McGraw Hill, 2005.

SONEGO, J. L. S. et al. Optimization of Fed-Batch Fermentation with in Situ Ethanol Removal by CO₂ Stripping. **Energy & Fuels**, v. 32, n. 1, p. 954-960, 2018.

_____. Extractive Fed-Batch Ethanol Fermentation with CO₂ Stripping in a Bubble Column Bioreactor: Experiment and Modeling. **Energy & Fuels**, v. 30, n. 1, p. 748-757, 2016.

_____. Extractive Batch Fermentation with CO₂ Stripping for Ethanol Production in a Bubble Column Bioreactor: Experimental and Modeling. **Energy & Fuels**, v. 28, n. 12, p. 7552-7559, 2014.

SPEDDING, P. L.; JONES, M. T. Mass-transfer coefficients in a packed tower - height, end and solute concentration effects. **Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal**, v. 33, n. 1, p. 1-17, 1986.

SUN, W. et al. Study of in situ ethanol recovery via vapor permeation from fermentation. **Journal of Membrane Science**, v. 530, p. 192-200, 2017.

SUROSKY, A. E.; DODGE, B. F. Effect of diffusivity on gas-film absorption coefficients in packed towers. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 42, n. 6, p. 1112-1119, 1950.

TAYLOR, F. et al. Continuous fermentation and stripping of ethanol. **Biotechnology Progress**, v. 11, n. 6, p. 693-698, 1995.

_____. Control of packed column fouling in the continuous fermentation and stripping of ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 51, n. 1, p. 33-39, 1996.

_____. Effects of ethanol concentration and stripping temperature on continuous fermentation rate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 48, n. 3, p. 311-316, 1997.

_____. Kinetics of continuous fermentation and stripping of ethanol. **Biotechnology Letters**, v. 20, n. 1, p. 67-72, 1998.

_____. Dry-grind process for fuel ethanol by continuous fermentation and stripping. **Biotechnology Progress**, v. 16, n. 4, p. 541-547, 2000.

_____. Continuous high-solids corn liquefaction and fermentation with stripping of ethanol. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p. 4403-4408, 2010.

TESTER, J. W.; MODELL, M. **Thermodynamics and its applications**. 3ª. New Jersey: Prentice Hall PTR, 1997.

THANI, A.; LAOPAIBOON, P.; LAOPAIBOON, L. Improvement of a Continuous Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Stem Juice by Aeration and Product Recovery using a Gas Stripping Technique. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 45, n. 3, p. 1225-1234, 2018.

THATIPAMALA, R.; ROHANI, S.; HILL, G. Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentation. **Biotechnology and bioengineering**, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

TREYBAL, R. E. **Equipment for gas-liquid operations: Mass transfer operations**. 3^a. New York: McGraw-Hill, 1980a.

_____. **Gas absorption: Mass transfer operations**. 3^a. New York: McGraw-Hill, 1980b.

TRUONG, K. N.; BLACKBURN, J. W. The stripping of organic chemicals in biological treatment processes. **Environmental progress**, v. 3, n. 3, p. 143-152, 1984.

TURKER-KAYA, S.; HUCK, C. W. A Review of Mid-Infrared and Near-Infrared Imaging: Principles, Concepts and Applications in Plant Tissue Analysis. **Molecules**, v. 22, n. 1, Jan 2017.

VEALE, E. L.; IRUDAYARAJ, J.; DEMIRCI, A. An on-line approach to monitor ethanol fermentation using FTIR spectroscopy. **Biotechnology Progress**, v. 23, n. 2, p. 494-500, Mar-Apr 2007.

VELOSO, I. I. et al. Fed-batch ethanol fermentation at low temperature as a way to obtain highly concentrated alcoholic wines: Modeling and optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 141, p. 60-70, 2019.

WANG, L. et al. Quality analysis, classification, and authentication of liquid foods by near-infrared spectroscopy: A review of recent research developments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 7, p. 1524-1538, 2017.

WHEALS, A. E. et al. Fuel ethanol after 25 years. **Trends in Biotechnology**, v. 17, n. 12, p. 482-487, 1999.

WHITMAN, W. G. The two film theory of gas absorption. **International journal of heat and mass transfer**, v. 5, n. 5, p. 429-433, 1962.

XUE, C. et al. Characterization of gas stripping and its integration with acetone-butanol-ethanol fermentation for high-efficient butanol production and recovery. **Biochemical Engineering Journal**, v. 83, p. 55-61, Feb 15 2014. ISSN 1369-703X.

_____. Two-stage in situ gas stripping for enhanced butanol fermentation and energy-saving product recovery. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 396-402, 2013.

_____. High-titer n-butanol production by *Clostridium acetobutylicum* JB200 in fed-batch fermentation with intermittent gas stripping. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 11, p. 2746-2756, 2012.

ZHANG, Q. et al. Substrate and product inhibition on yeast performance in ethanol fermentation. **Energy & Fuels**, v. 29, n. 2, p. 1019-1027, 2015.