



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Mayara Vieira Santos

**ESTUDO DO PROCESSO INTEGRADO DE FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA EXTRATIVA COM CO₂ COM DESIDRATAÇÃO
POR ADSORÇÃO E RECUPERAÇÃO POR ABSORÇÃO**

SÃO CARLOS – SP

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Mayara Vieira Santos

**ESTUDO DO PROCESSO INTEGRADO DE FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA EXTRATIVA COM CO₂ COM DESIDRATAÇÃO
POR ADSORÇÃO 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 Doutora em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz

Coorientador: Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior

SÃO CARLOS – SP

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Mayara Vieira Santos, realizada em 30/06/2022.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Antonio Jose Gonçalves da Cruz (UFSCar)

Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior (UFSCar)

Prof. Dr. Francisco Guilherme Esteves Nogueira (UFSCar)

Profa. Dra. Taise Bonfim Martins (PMC-PR)

Prof. Dr. Mateus Nordi Esperança (IFSP - Capivari)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe Noelia, minha maior força e inspiração na vida, e ao meu amigo Josivan Cunha (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradecer, ter o que agradecer (Maria Bethânia)

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me guiar sob quaisquer circunstâncias.

Agradeço aos meus pais Noelia e Valmir por estar sempre ao meu favor, e em especial a minha mãe por ser a fomentadora da conquista desse doutorado.

Agradecer o incentivo dos meus irmãos Yuri, Igor e Cleia.

Aos meus familiares que sempre acreditaram e me incentivaram.

Ao meu orientador Professor Dr. Antonio José Gonçalves Cruz pelo apoio dado durante todo o doutorado. Ao meu coorientador Professor Dr. Alberto Colli Badino Junior pelas contribuições para execução de cada passo dessa pesquisa. Com vocês aprendi a trilhar o caminho da excelência.

A UFSCar pela estrutura e recursos oferecidos para a realização deste trabalho, e ao CAPES, FAPESP e CNPq pelo auxílio financeiro.

Aos queridos professores Dr^a Indianara, Dr. Gubulin, Dr. Marcelo e Dr. Francisco Guilherme por contrinuir com valiosas sugestões para a execução da pesquisa.

Aos meus amigos e colegas feitos na rep, vila e casa que morei aqui por me ajudar desde a minha chegada até a minha saída.

Agradeço pelos laços estreitos fraternos de amizades construídos no cotidiano do laboratório, sem vocês não seria possível chegar aqui: Ivan, Taise, Kaio, Manuzita, Josivan (*in memorian*), Nathalia, Mateus, Mariane, Eric, Letícia, Marília, Iza, João Pedro, Ediane, Thiago, Ludimila, Alex, Marina, Rauber, Brenda, Ana, Gustavo, Camila, Letícia, Carol, Laine, Talita e tantos outros.

Aos meus amigos do Ministério Universidade Renovada (MUR) em especial ao José Wilson e Camila Lacerda que me pescaram.

Aos meus amigos de fé Jocely, Rodrigo, Luciano, Monta, Marina, Marcela, Léo, Mayara Simões, Ziele, João e Janaína.

A minha paróquia Nossa Senhora de Fátima, ao padre Jonas e todos os fiéis.

Aos amigos e amigas de longa data Jhenifer, Nayanne, Clarice, Sara, André Felipe, André Luiz, Thays, Juciene, Leilane, Madson, Ingrid, Herizania, Carla e Karliane.

A minha psicóloga por me ajudar no caminho do autoconhecimento, Regina Frota.

A todos que me ajudaram, obriiiiiiii!

EPÍGRAFE

Viver e não ter a vergonha/ De ser feliz/ Cantar,
e cantar, e cantar/ A beleza de ser um eterno
aprendiz/.../ Eu sei, eu sei/ Que a vida devia ser
bem melhor/ E será!/ Mas isso não impede/ Que
eu repita/ É bonita, é bonita/ E é bonita.
(Gonzaguinha)

É justo o que muito custe, muito vale. (Santa
Teresa d'Ávila)

RESUMO

Em busca de minimizar os efeitos da inibição pelo etanol, aumentar a produtividade do processo e melhorar a eficiência energética e ambiental, a remoção de etanol por arraste gasoso com CO₂ durante a fermentação alcoólica é uma estratégia que tem sido estudada. No entanto, há poucos trabalhos na literatura sobre como recuperar o etanol removido de forma eficiente. Na presente tese desenvolveu-se um processo integrado de produção de etanol por fermentação extrativa com *stripping* de CO₂ e recuperação do etanol arrastado por associação dos processos de adsorção e absorção. Inicialmente, metodologia analítica baseada na combinação da espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS) foi implementada para o monitoramento da fase gasosa arrastada contendo água e etanol. Posteriormente, avaliou-se a capacidade adsorptiva das zeólitas 3A (Z₁, Z₂ e Z₃) e do sagu de mandioca para os componentes água e etanol em coluna empacotada operada em fluxo ascendente a fim de selecionar o adsorvente mais adequado para desidratação da corrente gasosa proveniente do *stripping*. Na sequência, avaliou-se diferentes associações dos processos de adsorção e absorção em sequência à etapa de remoção de etanol por *stripping* de soluções hidroalcoólicas e fermentação extrativa em batelada. Fermentações extrativas em modo batelada alimentada utilizando diferentes concentrações de substrato na corrente de alimentação foram realizadas na melhor configuração avaliada para recuperação do etanol arrastado. No que se refere a adsorção, a zeólita 3A (Z₃) se destacou por adsorver toda a água da corrente gasosa da corrente de *stripping* por período de tempo mais longo (10 h), possuir a maior afinidade pela água (0,1231 g_w·g_{Adsorvente}⁻¹), e menor afinidade pelo etanol entre as zeólitas avaliadas. O adsorvente sagu, apesar de apresentar menor tempo de ruptura e menor afinidade pela água, foi o único adsorvente que não interagiu com o etanol. A associação dos processos de adsorção, em coluna de leito fixo preenchida com zeólita 3A (Z₃), e subsequente absorção, utilizando absorvedores conectados em série e utilizando monoetilenoglicol (MEG), foi a melhor combinação dentre as configurações estudadas. Essa configuração proporcionou a maior recuperação global de etanol (96,3% para soluções hidroalcoólicas e 100% para fermentações extrativas em batelada) e considerável desidratação da corrente gasosa (100% para soluções hidroalcoólicas e 91% para fermentações extrativas em batelada). O processo integrado de fermentação extrativa com vazão específica de gás de arraste de 2,0 vvm a 35 °C em batelada alimentada e recuperação por adsorção e absorção permitiu a conversão de 240 g L⁻¹ de substrato em etanol (117,6 g L⁻¹ ou 14,9 °GL). Esse valor foi 47% maior que o valor obtido na fermentação convencional em batelada alimentada (em condição similar à industrial). A combinação do processo de adsorção e subsequente absorção mostrou-se uma excelente estratégia tanto para desidratação da corrente gasosa de fermentação realizada com concentração de substrato similar à utilizada em instalações industriais (100%) e fermentações extrativas com alta carga de substrato (99,4%) quanto para recuperação de etanol. O processo integrado de fermentação em batelada alimentada, arraste gasoso e recuperação de etanol proposto mostrou-se promissor aos processos convencionais, uma vez que pode ser alimentado maior quantidade de substrato com constante remoção de etanol influenciando diretamente no aumento da produtividade de etanol. Além do mais, a combinação dos processos de adsorção e absorção promoveu a recuperação de todo o etanol arrastado, o que impacta diretamente em aumentos globais da capacidade produtiva industrial.

Palavras-chave: Etanol, fermentação extrativa, *stripping* por CO₂, recuperação de etanol, adsorção gasosa, absorção gasosa, integração de processos.

ABSTRACT

To minimize the effects of ethanol inhibition, increase productivity, and reduce energy and environmental footprint, different strategies of ethanol removal by gas stripping with CO₂ during alcoholic fermentation have been studied. However, there are a few studies on how to efficiently recover the ethanol removed by stripping, which becomes difficult the application of this technique. In the present work, an integrated process of ethanol production by extractive fermentation with CO₂ stripping and ethanol recovery by the association of adsorption and absorption processes was developed. Firstly, an analytical methodology based on the combination of Fourier transform mid-infrared spectroscopy (FT-MIR) with the partial least squares multivariate regression (PLS) method was developed to monitor the gas phase containing water and ethanol. Then, the water and ethanol adsorptive capacities of the 3A (Z₁, Z₂, and Z₃) zeolites and cassava sago adsorbents were evaluated in an up-flow packed column to select the most suitable adsorbent for dehydration of the gas stream from stripping of hydroalcoholic solutions and extractive fermentations. The next step was to evaluate different strategies of association of the adsorption and absorption (with monoethylene glycol, MEG) processes using extractive fermentation experiments operated in fed-batch mode using different substrate concentrations in the feed stream. Regarding adsorption, zeolite 3A (Z₃) stood out for adsorbing all water from the gas stripping stream for the longest time period (10 h), having the highest affinity for water (0.1231 g_W.g_{Adsorbent}⁻¹), and the lowest affinity for ethanol among the evaluated zeolites. While sago adsorbent, despite having a shorter break-up time and lower affinity for water, it was the adsorbent that did not interact with ethanol. The association of adsorption (with a fixed bed column filled with 3A zeolite) and subsequent absorption (using absorbers connected in series containing MEG) was the best combination of operations studied. This configuration provided the highest overall ethanol recovery (96.3% for hydroalcoholic solutions and 100% for extractive batch fermentation) and considerable dehydration of the gas stream (100% for hydroalcoholic solutions and 91% for extractive batch fermentations). The integrated process of fed-batch extractive fermentation and recovery by adsorption and absorption allowed the conversion of 240 g L⁻¹ of the substrate into ethanol of 117.6 g L⁻¹ (14.9 °GL). This value was 47% higher compared to those obtained in conventional fed-batch fermentation (operated in similar industrial conditions). The combination of the adsorption and subsequent absorption processes was an excellent strategy for dehydration of the fermentation gas stream fed with substrate concentration value similar to those found in industrial facilities (100%) and extractive fermentation with high substrate load (99.4%), and ethanol recovery in both fermentation conditions. The system was able to recover all the ethanol removed by the stripping stream. The combined process of fed-batch fermentation, gas stripping with CO₂, and ethanol recovery proved to be a promising process since a greater amount of substrate can be fed into the fermentation with constant ethanol removal, directly influencing the increase in ethanol productivity. Furthermore, the combination of adsorption and absorption processes promoted the recovery of all ethanol, which directly impacts on the global increases in industrial production capacity.

Keywords: Ethanol, extractive fermentation, stripping by CO₂, ethanol recovery, gas adsorption, gas absorption, process integration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Esboço da estrutura geral de uma partícula adsorvente e das resistências associadas à adsorção de moléculas de um fluido.....	27
Figura 2.2: Organização da estrutura da zeólita 3A.....	29
Figura 2.3: Curva de ruptura (<i>breakthrough</i>).....	30
Figura 2.4: Curva de ruptura genérica esboçada com dados da fração molar da molécula alvo por tempo.....	32
Figura 2.5: Transferência de um soluto da corrente gasosa para adsorvente (fase líquida) sem reação química.....	34
Figura 2.6: Absorvedor coluna de bolhas.....	36
Figura 2.7: Espectro eletromagnético com a região espectral do infravermelho e suas subdivisões	37
Figura 2.8: Modos vibracionais normais do grupo – CH ₂ em uma molécula. As esferas vermelhas e azuis representam os átomos de carbono e hidrogênio, respectivamente.	38
Figura 2.9: Representação esquemática dos espectrofotômetros dispersivos (a) e de transformada de Fourier (b).....	39
Figura 3.1: Ilustração esquemática do aparato experimental empregado para calibração do modelo PLS.....	45
Figura 3.2 Fração molares baseada em um planejamento experimental do tipo delineamento composto central rotacional (DCCR) (quadrados sólidos) com pontos adicionais (círculos vazados) e frações molares de solução hidroalcoólica (triângulos sólidos).....	46
Figura 3.3: Ilustração esquemática do aparato experimental empregado nos experimentos de fermentação operados no modo batelada e batelada alimentada.....	56
Figura 3.4: Ilustração do aparato experimental dos ensaios de absorção.....	58
Figura 3.5: Espectros FT-MIR brutos adquiridos na fase gasosa para os componentes água, etanol e CO ₂ . As caixas mostram (A) região 1 (de 8695 a 10416 nm) e (B) região 2 (de 4545 a 10416 nm) usada para calibração na calibração do etanol e (C) região 3 (de 5555 a 6666 nm) usada para calibração na calibração da água.	63
Figura 3.6: Espectros FT-MIR adquiridos na fases gasosa para as amostras da calibração dos analitos (A) etanol e (B) água.....	65
Figura 3.7: Valores previstos versus valores de referência das frações de (A) etanol (y_E) e (B) água (y_W), para validação cruzada (símbolos vazios) e validação externa (símbolos fechados). As linhas pontilhadas representam correlações perfeitas. As previsões foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para etanol (M_{E4}) e água (M_{W2}).	69
Figura 3.8: Dados de fração molar de etanol (y_E) utilizado para o cálculo da concentração de etanol (C_E): (A) batelada; e (B), batelada alimentada obtido pela técnica FT-MIR (linha sólida+símbolo vazio) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (símbolo sólido) durante as fermentações. As linhas pontilhadas representam RMSECV, que é uma aproximação	

dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão (SDs) obtidos para as análises de HPLC..... 70

Figura 3.9: Concentração de substrato (ART) ao longo do tempo para o experimento em batelada estimado a partir dos *YPS* (linha pontilhada+símbolo vazio) e os valores obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (símbolo sólido) durante a fermentação..... 71

Figura 3.10: Concentração de água (C_w) calculada por meio de dados da fração molar de água (y_w): (A) Absorvedor 1; e (B), Absorvedor 2 obtido pela técnica FT-MIR (linha sólida+símbolo vazio) na fase gasosa e FT-MIR (símbolo sólido) na fase líquida durante a absorção. As linhas pontilhadas representam RMSECV, que é uma aproximação dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão (SDs) amostral. 73

Figura 4.1: Fotografia dos adsorventes utilizados. Zeólita do tipo 3A, (A) Z₁, (B) Z₂ e (C) Z₃; e sagu de amido de mandioca, (D) S. 77

Figura 4.2: Esquema do aparato experimental empregado nos ensaios de adsorção..... 79

Figura 4.3: Representação esquemática da coluna de adsorção em leito fixo. 82

Figura 4.4: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos adsorvente zeólitas 3A e sagu. (A) partículas de sagu aumentadas 350x, (B) partículas de sagu aumentadas 150x, (C) partículas de sagu aumentadas 25.000x, (D) partículas de zeólitas 3A (Z₁) aumentadas 25.000x, (E) partículas de zeólitas 3A (Z₁) aumentadas 200.000x, (F) partículas de zeólitas 3A (Z₂) aumentadas 100.000x e (G) partículas de zeólitas 3A (Z₃) aumentadas 100.000x,..... 86

Figura 4.5: Resultados do FTIR para as zeólitas Z₂ e Z₃ e sagu (S). 89

Figura 4.6: Resultados do FTIR próximo para as zeólitas Z₂ e Z₃ e sagu (S)..... 90

Figura 4.7: Curvas de ruptura de água e etanol do leito fixo preenchido com os adsorventes (A) Z₁, (B) Z₂, (C) Z₃ e (D) S. 91

Figura 4.8: Valores experimentais de concentração de substrato (C_s), células viáveis (C_x) e etanol (C_E) ao longo do tempo na fermentação extrativa (A) 0h e (B) 3h do processo integrado com adsorção. 94

Figura 4.9: Relação de fração molar *ysáiyentra* de água e etanol provenientes da corrente gasosa das fermentações extrativas iniciadas em: A) 0 h e em B) 3 h. 95

Figura 4.10: Fração molar de água na saída do reator das fermentações extrativas (FEB0h e FEB3h) e fração molar de água da corrente de entrada na coluna de adsorção com vazão volumétrica 4 L min⁻¹ (AD4) em solução hidroalcoólica..... 96

Figura 5.1: Ilustração dos quatros arranjos experimentais entre as etapas de adsorção e absorção avaliados. 99

Figura 5.2: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* com CO₂ de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação e adsorção (Fer+Ads). 100

Figura 5.3: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação com CO₂ e absorção (Fer+Abs). 101

Figura 5.4: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação com CO₂, adsorção e absorção (Fer+Ads+Abs)..... 102

- Figura 5.5:** Aparato experimental utilizado na associação entre os processos de *stripping* com CO₂, absorção e adsorção (Fer+Abs+Ads). 103
- Figura 5.6:** Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada da coluna de adsorção (*ysaiyentra*) ao longo do tempo relativas ao *stripping* de solução hidroalcoólica seguido de adsorção. 113
- Figura 5.7:** Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada da etapa de absorção em duas colunas em série (*ysaiyentra*) ao longo do tempo relativas ao *stripping* de solução hidroalcoólica seguido de absorção. 114
- Figura 5.8:** Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada (*ysaiyentra*) ao longo do tempo: (A) *stripping* de solução hidroalcoólica seguida das etapas de adsorção e absorção. (B) *stripping* de solução hidroalcoólica seguida das etapas de absorção e adsorção. 115
- Figura 5.9:** Resultados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo da fermentação convencional em batelada (C_{S0}=180 g L⁻¹). 117
- Figura 5.10:** Resultados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo das fermentações extrativas em batelada (C_{S0}=180 g L⁻¹): (A) fermentação seguida adsorção, (B) fermentação seguida de absorção, (C) fermentação seguida de adsorção e absorção e (D) fermentação seguida de absorção e adsorção. 119
- Figura 5.11:** Razão entre as frações molares de água e etanol (*ysaiyentra*) provenientes do *stripping* das fermentações extrativas em batelada nas etapas de: (A) adsorção e (B) absorção. 120
- Figura 5.12:** Razão entre as frações molares de água e etanol (*ysaiyentra*) provenientes do *stripping* das fermentações extrativas em batelada nas etapas de: (A) adsorção seguida de absorção e (B) absorção seguida de adsorção. 121
- Figura 6.1:** Aparato experimental utilizado nas fermentações extrativas integradas a recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção. 128
- Figura 6.2:** Dados experimentais e simulados das concentrações de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo da fermentação convencional em batelada alimentada (C_S=180 g L⁻¹). 131
- Figura 6.3:** Dados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) durante o tempo de fermentação extrativa em batelada alimentada (C_{SA}=180 g L⁻¹). 133
- Figura 6.4:** Dados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) durante o tempo de fermentação extrativa em batelada alimentada (C_{SA}=240 g L⁻¹). 134
- Figura 6.5:** Relação entre frações molares (*ysaiyentra*) dos componentes água e etanol na etapa de adsorção das fermentações extrativas em batelada alimentada: (A) C_{SA}=180 g L⁻¹ (FEBA1) e (B) C_{SA}=240 g L⁻¹ (FEBA2). 136
- Figura 6.6 :** Dados da fração molar de água na saída do reator durante a fermentação extrativa batelada (FEB) e fermentação extrativa batelada alimentada (FEBA). 138

Figura 6.7: Valores de concentrações de etanol e água ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor: símbolos preenchidos, 2º absorvedor: símbolos vazios) para a fermentação FEBA1 ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$). 139

Figura 6.8: Valores de concentrações de) etanol (A) e água (B) ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor: símbolos preenchidos, 2º absorvedor: símbolos vazios) para a fermentação FEBA2 ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados. 139

Figura 6.9: Comparação das massas removida por arraste gasoso e recuperada pela associação de adsorção e absorção durante as fermentações extrativas: (A) FEBA1 ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$) e (B) FEBA2 ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$). 140

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Conjunto de frações molares utilizados para calibração do modelo PLS.	47
Tabela 3.2: Frações molares de etanol proveniente de soluções hidroalcoólicas.....	49
Tabela 3.3: Principais resultados de desempenho para os modelos de espectroscopia de infravermelho médio de transformada de Fourier (FT-MIR) obtidos com diferentes pré-processamento de dados para etanol.....	66
Tabela 3.4: Principais resultados de desempenho para os modelos de espectroscopia de infravermelho médio de transformada de Fourier (FT-MIR) obtidos com diferentes pré-processamento de dados para água.	67
Tabela 4.1: Parâmetros de desempenho da adsorção de água e etanol	92
Tabela 5.1: Parâmetros de desempenho das etapas de recuperação de etanol e desidratação da corrente gasosa proveniente do <i>stripping</i> de soluções hidroalcoólicas para as diferentes configurações das etapas de adsorção/absorção.	113
Tabela 5.2: Parâmetros cinéticos da fermentação convencional em batelada ($C_{S0}=180 \text{ g L}^{-1}$).	117
Tabela 5.3: Principais resultados das fermentações extrativas em batelada e fermentação convencional com concentração inicial de substrato de 180 g L^{-1}	118
Tabela 5.4: Parâmetros de desempenho das etapas de recuperação de etanol e desidratação da corrente gasosa proveniente do <i>stripping</i> do caldo de fermentação extrativa em batelada para as diferentes configurações das etapas de adsorção/absorção.	121
Tabela 6.1: Parâmetros cinéticos do modelo utilizado para representar a fermentação convencional em batelada alimentada ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$).	131
Tabela 6.2: Principais resultados das fermentações extrativas em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado de 180 g L^{-1} (FEBA1) e 240 g L^{-1} (FEBA2) e da fermentação convencional (FC).....	132
Tabela 6.3: Valores de RSD para concentração de células totais (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) mostrando o desempenho do modelo para a fermentação extrativa FEBA2 ($C_S =240 \text{ g L}^{-1}$) antes e após a correção do parâmetro “n”.....	135
Tabela 6.4: Massas de etanol e água removidas por <i>stripping</i> durante das fermentações extrativas em batelada alimentada $C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA1) e $C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA2), porcentagens adsorvidas, absorvidos e recuperação global.....	137

SUMÁRIO

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS.....	XI
Capítulo 1 : Introdução e objetivos	15
1.1 Introdução	15
1.2 Objetivos	17
1.3 Estrutura de tese	18
Capítulo 2 : Referencial teórico	19
2.1 Aspectos socioeconômicos e ambientais da produção de etanol.....	19
2.2 Fermentação extrativa	20
2.3 Recuperação de etanol.....	24
2.3.1 Aspectos gerais da recuperação de etanol	24
2.4 Adsorção	25
2.4.1 Adsorventes.....	26
2.4.2 Adsorção em leito fixo	30
2.4.3 Parâmetros de desempenho da adsorção em leito fixo.....	31
2.5 Absorção	33
2.5.1 Absorventes.....	34
2.5.2 Coluna de bolhas	35
2.6 Espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada	37
2.6.1 Fundamentos espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR).....	37
2.6.2 Análise multivariada	39
2.6.3 Aplicação do FT-MIR no monitoramento de fermentação alcoólica.....	42
Capítulo 3 : Monitoramento em tempo real da fermentação alcoólica e absorção de água a partir da fase gasosa utilizando espectroscopia de infravermelho médio	44
3.1 Introdução	44
3.2 Materiais e métodos	44
3.2.1 Aparato experimental e amostras utilizadas na etapa de calibração.....	44
3.2.2 Cálculo das frações molares de calibração.....	49
3.2.3 Cálculo das frações molares de etanol e água das soluções hidroalcoólicas.....	51
3.2.4 Cálculo da concentração de etanol a partir da fração molar de etanol na fase gasosa (y_E) no caldo fermentado.....	52
3.2.5 Estimativa da concentração de substrato a partir da fração y_E no caldo fermentado	52

3.2.6 Espectroscopia FT-MIR	53
3.2.7 Pré-processamento dos dados e análise multivariada.....	53
3.2.8 Fermentações.....	55
3.2.9 Absorção	57
3.3 Resultados e Discussões.....	62
3.3.1 Região espectral escolhida	62
3.3.2 Processamento de dados.....	64
3.3.3 Monitoramento da fermentação etanólica utilizando o modelo PLS M_{E4} para quantificar o etanol.....	70
3.3.4 Monitoramento da absorção de água proveniente de uma corrente gasosa de stripping de solução hidroalcoólica utilizando o modelo PLS MW2.....	72
3.4 Conclusão.....	74
Capítulo 4 : Desidratação por adsorção da corrente gasosa de stripping de solução hidroalcoólica e de caldos de fermentação extrativa em batelada	76
4.1 Introdução	76
4.2 Materiais e métodos	76
4.2.1 Adsorvente	76
4.2.2 Análise morfológica dos materiais	77
4.2.3 Caracterização química dos adsorventes	77
4.2.4 Geração da corrente gasosa de solução hidroalcoólica por arraste com CO_2	78
4.2.5 Ensaio de adsorção.....	81
4.2.6 Fermentação extrativa com desidratação da corrente de gasosa	84
4.3 Resultados e discussões.....	86
4.3.1 Caracterização do adsorvente.....	86
4.3.2 Curva de ruptura de adsorção de água da corrente proveniente por stripping de solução hidroalcoólica com CO_2	90
4.3.3 Desidratação por adsorção da corrente gasosa proveniente da fermentação extrativa em batelada	93
4.4 Conclusões	96
Capítulo 5 : Estudo da associação dos processos de stripping, adsorção e absorção para recuperação do etanol removido de soluções hidroalcoólicas e de caldos de fermentação extrativa em batelada	98
5.1 Introdução	98
5.2 Materiais e métodos	98
5.2.1 Planejamento dos ensaios associando as etapas de stripping com CO_2 , adsorção e absorção	98
5.2.2 Ensaio associando as etapas de stripping com CO_2 e adsorção	100
5.2.3 Ensaio experimental stripping com CO_2 e absorção	101
5.2.4 Ensaio associando stripping com CO_2 , adsorção e absorção	102
5.2.5 Ensaio associando stripping com CO_2 , absorção e adsorção	103

5.2.6 Parâmetros de desempenho das configurações avaliadas nos processos de adsorção e absorção.....	104
5.2.7 Modelagem matemática da fermentação convencional em batelada.....	110
5.2.8 Modelagem matemática da fermentação extrativas em batelada	111
5.2.9 Resolução numérica das equações matemática	112
5.3 Resultados e discussão	112
5.3.1 Avaliação das etapas de adsorção e absorção da corrente gasosa de stripping de soluções hidroalcoólicas	112
5.3.2 Avaliação do stripping de fermentações extrativas em batelada com recuperação por adsorção e absorção.....	116
5.4 Conclusões	122
Capítulo 6 : Fermentação alcoólica extrativa em batelada alimentada com arraste de etanol com CO₂ e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção	124
6.1 Introdução	124
6.2 Materiais e métodos	124
6.2.1 Microrganismo e meio de cultura.....	124
6.2.2 Fermentação convencional em batelada alimentada	125
6.2.3 Fermentação extrativas integradas a recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção.....	127
6.2.4 Métodos analíticos.....	129
6.2.5 Procedimentos numéricos	130
6.3 Resultados e discussão	130
6.3.1 Parâmetros cinéticos de crescimento celular.....	130
6.3.2 Processo integrado de fermentação extrativa e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção.....	132
6.4 Conclusões	141
Capítulo 7 : Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros.....	142
Referências Bibliográficas	144

Capítulo 1 : Introdução e objetivos

1.1 Introdução

Dos 17 objetivos instituídos pela Assembleia Geral das Nações Unidas (AGNU), o sétimo, “Energia limpa e acessível”, aborda a cooperação internacional para alcançar um futuro sustentável de forma que garanta acessibilidade aos serviços modernos de energia para a população, aumento substancial de energia renovável frente às demais energias e aumento da eficiência energética. Nesse sentido, para contribuir com a redução da maior parte das emissões de gases de efeito estufa até 2050 e para limitar o aumento médio da temperatura da superfície global abaixo de 2 °C, as energias renováveis surgem como alternativa para suprir dois terços da demanda total de energia global (GIELEN et al., 2019).

Para além das mudanças climáticas, preocupações com o esgotamento dos combustíveis derivados do petróleo promoveram a utilização de biocombustíveis como fonte alternativa. Sua substituição parcial pode prolongar o esgotamento dos recursos não renováveis e contribuir para diminuição das mudanças climáticas causadas pelos poluentes automotivos (HASSAN; KALAM, 2013).

Dentre os biocombustíveis, o bioetanol surge como uma alternativa aos combustíveis de origem fóssil (BAEYENS et al., 2015). A matéria-prima mais utilizada na produção do etanol, denominado de primeira geração (1G), é o milho. Os Estados Unidos, maior produtor mundial de etanol, utilizam essa matéria-prima. O Brasil, segundo maior produtor de etanol, emprega a cana-de-açúcar como principal matéria-prima na sua produção. A cana possibilita ainda o uso do bagaço e palha, na produção de energia, sendo esta biomassa queimada em caldeiras para produzir energia na forma de vapor e eletricidade. No Brasil, o etanol é utilizado como combustível automotivo em sua forma hidratada (96 °GL) e adicionado à gasolina, como etanol anidro (>98 °GL). O seu uso frequente faz com que as indústrias do setor sucro-alcooleiro tenham uma parcela expressiva no produto interno bruto (PIB) do país e se apresente como um setor consolidado. No entanto, existe alguns desafios tecnológicos, de infraestrutura e de recursos humanos que ainda precisam ser superados (CARVALHO et al., 2013).

A produção de etanol no Brasil emprega o processo denominado *Melle-Boinot* com reciclo de células durante toda a safra, onde ocorre a conversão da matéria-prima (açúcares fermentescíveis da cana-de-açúcar) pela ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em etanol. Apesar de ser um processo bem estabelecido, as leveduras responsáveis pela fermentação

alcoólica apresentam limitações quanto a toxicidade ao etanol, uma vez que ele age como inibidor direto não competitivo do metabolismo da levedura. Como resultado, as velocidades de crescimento celular e de produção de etanol diminuem, limitando a produtividade no processo. A inibição começa quando o caldo atinge concentrações da ordem de 25 g L^{-1} de etanol, sendo completa em valores superiores a 95 g L^{-1} (AIBA et al., 1968; MAIORELLA et al., 1983; LLOYD et al., 1993).

Embora a quantidade de etanol seja inibitória para a levedura, o teor de etanol alcançado no final da fermentação gera vinhos diluídos ($8\text{-}12\% \text{ v v}^{-1}$) os quais demandam elevada quantidade de energia na etapa de recuperação por destilação (até $2,6 \text{ kg}$ de vapor por litro de etanol produzido). Como consequência, grandes volumes de vinhaça (até $12,4 \text{ L}$ por litro de etanol) são produzidos.

Em busca de minimizar os efeitos da inibição pelo etanol, aumentar a produtividade, e eficiência energética/ambiental do processo, estratégias para remover o etanol do caldo durante a fermentação têm sido estudadas. Técnicas como a pervaporação (CLAES et al., 2012; SUN et al., 2017; VRANA et al., 2007), a permeação de vapor (SUN et al., 2017), a osmose reversa (CHOUDHURY, J. P.; GHOSH, 1986), a extração líquido-líquido (LEMONS et al., 2020) e o esgotamento com gases (MARTINS et al., 2020; RODRIGUES et al., 2018a; SONEGO et al., 2016) tem sido investigadas.

Associada à busca de alternativas mais eficientes e produtivas, as tecnologias de separação de produtos que podem ser usadas para recuperar o etanol da corrente gasosa durante a fermentação ganham destaque (VANE, 2008). Sonogo et al. (2016) e Rodrigues (2019) estudaram o processo de *stripping* utilizando o dióxido de carbono (CO_2) como gás de arraste e verificaram que a concentração de etanol no meio de fermentação poderia ser mantida em níveis adequados de forma a alcançar ganhos consideráveis em termos de produtividade em comparação ao processo fermentativo convencional. Martins (2021) estudou também o processo de *stripping* utilizando o CO_2 como gás de arraste empregando eliminadores de névoa com o objetivo de promover maior eficiência na remoção de etanol. A autora verificou que os eliminadores de névoa atuam no aumento da seletividade em etanol do processo de separação, o que pode reduzir os custos envolvidos nas etapas de recuperação e concentração do etanol removido por arraste gasoso.

Em conjunto aos processos de remoção de etanol por arraste gasoso, é necessário acoplar métodos eficientes e economicamente viáveis para a recuperação do etanol removido, a fim de tornar todo o processo viável. Rodrigues (2019) integrou a fermentação extrativa por arraste gasoso com CO_2 ao processo de recuperação por absorção utilizando monoetilenoglicol

(MEG). Essa estratégia alcançou um percentual de recuperação de 98,3% do etanol removido por arraste. Com intuito de tornar o processo viável e competitivo, frente ao que tem sido aplicado na indústria Menezes (2021) analisou esse mesmo processo e verificou que o processo integrado de produção e recuperação aumentou a energia elétrica produzida em 9,4% quando comparado ao processo convencional, além de reduzir a quantidade de vinhaça produzida em 0,5 L por L de etanol e aumentou em 1,07% de eficiência de recuperação de açúcares na forma de etanol.

Diante dos esforços para tornar o processo de arraste gasoso viável economicamente, a desidratação da corrente gasosa por adsorção antes da operação de recuperação, parece ser uma opção atraente para utilização em grande escala. Industrialmente, o processo de adsorção já é utilizado para obtenção de etanol anidro a partir da desidratação do etanol hidratado (KARIMI; TAVAKKOLI; KARRI, 2019), e portanto, pode ser também utilizado, para a desidratação da corrente gasosa de *stripping* durante a fermentação. A remoção da água arrastada torna a corrente rica em etanol o que facilita os processos de recuperação subsequentes, tais como absorção (RODRIGUES, 2019), condensação (PONCE et al., 2016), separação por membranas (SUN et al., 2017) e adsorção (HASHI; TEZEL; THIBAUT, 2010) para recuperar o etanol arrastado.

1.2 Objetivos

Diante das informações e argumentos apresentados na introdução, o objetivo geral da presente tese foi desenvolver um processo integrado de produção de etanol por fermentação extrativa com *stripping* por CO₂ e recuperação do etanol por associação dos processos de adsorção e absorção. Para alcançar o objetivo proposto, as seguintes etapas foram executadas:

- Desenvolvimento de uma metodologia analítica utilizando espectroscopia de infravermelho médio para monitorar em tempo real a fase gasosa dos processos de fermentação, adsorção e absorção.
- Avaliar os adsorventes zeólita 3A (Z₁, Z₂, e Z₃) e sagu de mandioca quanto a capacidade de desidratação da corrente gasosa em coluna de adsorção de leito fixo.
- Avaliação de diferentes configurações das operações de adsorção e absorção integradas ao processo de remoção de etanol por *stripping* de soluções hidroalcoólicas e fermentações extrativas em modo batelada.

- Integração dos processos de produção de etanol por fermentação extrativa em batelada alimentada com alta carga de substrato com *stripping* de CO₂ e recuperação de etanol por associação dos processos de adsorção e absorção.

1.3 Estrutura de tese

A tese está organizada em sete capítulos:

- **Capítulo 1:** Introdução e objetivos
- **Capítulo 2:** Referencial teórico
- **Capítulo 3:** Monitoramento em tempo real da fermentação alcoólica e absorção de água a partir da fase gasosa utilizando espectroscopia de infravermelho médio
- **Capítulo 4:** Desidratação por adsorção da corrente gasosa de *stripping* de solução hidroalcoólica e fermentações extrativas em batelada
- **Capítulo 5:** Estudo da associação dos processos de *stripping*, adsorção e absorção para recuperação do etanol de soluções hidroalcoólicas e fermentações extrativas em batelada
- **Capítulo 6:** Fermentação alcoólica extrativa em batelada alimentada com arraste de etanol com CO₂ e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção
- **Capítulo 7:** Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros

Capítulo 2 : Referencial teórico

2.1 Aspectos socioeconômicos e ambientais da produção de etanol

O horizonte da crise energética que se noticia revela a discussão sobre a questão da sustentabilidade energética. Desde 2005, autores afirmam que a era do petróleo, que está acabando, gerou a era do aquecimento global sendo esses os dois problemas centrais do planeta atualmente (VIDAL, 2005).

Decorrente das atividades humanas, o aquecimento global causado pelo aumento da concentração dos Gases de Efeito Estufa (GEE), principalmente o CO₂, é um obstáculo iminente que deve ser vencido com medidas de mitigações implantadas em caráter de urgência. Neste contexto, ações internacionais propõem soluções para o problema. Uma delas foi a criação em 1988 pela Organização das Nações Unidas (ONU) do Painel Intergovernamental Sobre a Mudança do Clima (IPCC), responsável por sintetizar e divulgar conhecimento mais avançado sobre as mudanças climáticas que afetam o mundo (MEIRA FILHO & MACEDO, 2009).

Tendo em vista a urgência do assunto, na 21ª Conferência das Partes (COP21) da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima (UNFCCC), realizada em Paris em 2015, foi adotado um novo acordo com o objetivo central de consolidar a resposta global à ameaça das mudanças climáticas e de fortalecer a capacidade dos países para lidar com os impactos resultantes dessas mudanças. O Acordo de Paris foi aprovado pelos 195 países que fazem parte da UNFCCC para reduzir emissões dos gases do efeito estufa (GEE) no contexto do desenvolvimento sustentável. O compromisso ocorreu no sentido de limitar o aumento da temperatura média global em menos de 2 °C até 2100 (BRASIL, 2018).

Para o Brasil, o compromisso foi reduzir as emissões de dióxido de carbono (CO₂) em 37% em relação às emissões de 2005. A data limite para isso é 2025, com indicativo de reduzir 43% das emissões até 2030. Assim, a implementação de políticas públicas e medidas para enfrentar as mudanças do clima é fundamental para que o país cumpra com a sua responsabilidade, colocando no mesmo patamar os esforços para reforçar a economia, considerando os impactos sociais e reduzindo os danos ambientais causados pelo setor industrial (MENDES, 2018).

Os biocombustíveis são importantes aliados na mitigação das emissões de GEE, pois o seu uso é uma alternativa que possibilita um saldo zero em termos de emissão de carbono.

Desta forma, os biocombustíveis permitem combinar o uso de biomassa na produção de energia e o sequestro de carbono. Segundo o estudo de Möllersten, Yan e Moreira (2003), a produção de biomassa permite a absorção de CO₂ da atmosfera na medida em que as plantas crescem. Como saldo, dependendo da tecnologia e do processo podem ser retirados da atmosfera entre 50 a 95% do CO₂. Segundo estes autores, a vantagem deste processo é produzir energia e simultaneamente retirar CO₂ da atmosfera.

Para contornar essa problemática, surge o bioetanol, considerado como um combustível renovável e alternativo com maior potencial para substituir combustíveis fósseis como a gasolina. O termo bioetanol refere-se ao álcool etílico (fórmula molecular C₂H₅OH) obtido por via fermentativa a partir de açúcares fermentescíveis (BAEYENS et al., 2015).

Desde a crise do petróleo de 1973, o etanol ganhou um impulso para o crescimento de sua produção (BAEYENS et al., 2015). O Brasil e Estados Unidos são responsáveis pela maior produção de etanol no mundo. Esses dois países dividem 82% do mercado mundial (ASSOCIATION RENEWABLE FUELS, 2022). Enquanto que a produção do bioetanol nos Estados Unidos emprega o milho como matéria-prima, no Brasil a cana-de-açúcar é utilizada. Esses foram os primeiros passos da transição dos combustíveis fósseis tradicionais para combustíveis renováveis (WALTER et al., 2008).

No panorama da indústria de etanol divulgado pela *Association Renewable Fuels* de 2022 e Nova Cana, o Brasil é responsável por 27% da produção mundial de etanol com 26,88 bilhões de litros considerando o acumulado da safra 2021/22 sendo o segundo maior produtor do mundo (ASSOCIATION RENEWABLE FUELS, 2022; NOVA CANA, 2022). Desta forma, com a produção de etanol o país ganha lugar de destaque com relação às novas alternativas energéticas a partir de fontes renováveis e economicamente viáveis. Contudo, apesar de apresentar vantagens climáticas e territoriais, o Brasil possui desafios tecnológicos, de infraestrutura, de recursos humanos e de incentivo a pesquisa, que precisam ser superados (CARVALHO et al., 2013).

2.2 Fermentação extrativa

A via fermentativa para produção de etanol é incontestavelmente a mais barata e ecologicamente viável. Na produção de etanol de 1ª geração (Etanol 1G), a sacarose da cana-de-açúcar é a matéria-prima transformada em etanol por ação de microrganismos, sendo o produto separado do vinho por destilação. No Brasil, a produção de etanol é baseada no processo chamado de *Melle-Boinot* patentado em 1938 na França (CORTEZ; LORA;

GÓMEZ, 2008). Após o término de cada fermentação, o vinho fermentado é centrifugado para separar as leveduras em um creme concentrado enquanto o vinho delevedurado segue para a destilação. As leveduras são tratadas com ácido sulfúrico diluído em água (pH 2,0-2,5 por 1-2 h), e retornam para tanques de fermentação para um novo ciclo. Este processo é considerado o mais vantajoso, devido à grande disponibilidade de matéria-prima e direta conversão desta em etanol, favorecendo menores custos de produção (LIMA et al., 2001; SANTOS; BORÉM; CALDAS, 2012; SOUSA; PEIXOTO; TOLEDO, 1995).

O mosto utilizado é composto de caldo de cana, melaço ou uma mistura de ambos com concentração de sacarose que pode chegar a 20% (m/v). Após preparo do mosto de cana-de-açúcar, os açúcares redutores frutose e glicose, derivados da sacarose, são convertidos em etanol, CO₂ e outros compostos orgânicos incluindo glicerol e álcoois superiores por meio de reações bioquímicas pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A fermentação ocorre segundo uma sequência de reações exotérmicas com temperatura da dorna de fermentação controlada entre 33 a 35 °C (BASSO; BASSO; ROCHA, 2011). Na maioria das destilarias brasileiras, o processo fermentativo ocorre no modo descontínuo com reciclo de células (CORTEZ; LORA; GÓMEZ, 2008; SANTOS; BORÉM; CALDAS, 2012). Inicialmente, o mosto é alimentado em uma suspensão de leveduras (creme de leveduras que corresponde à 10-30% do volume útil da dorna) contida na dorna até o enchimento da mesma, caracterizando uma etapa denominada de batelada alimentada. Nesta etapa os açúcares redutores totais (ART), no caso glicose e frutose livres e provenientes da hidrólise da sacarose, são simultaneamente alimentados e consumidos pela levedura. Na etapa seguinte, o processo fermentativo segue em modo batelada até que os ART sejam totalmente consumidos. O processo total possui uma duração (6-12 h) e as leveduras são recicladas após a separação do vinho por centrifugação várias vezes ao longo da safra da cana-de-açúcar (WHEALS et al., 1999).

Ao final da fermentação a concentração de etanol atinge valores entre 8 e 11% (v/v) com eficiência entre 90 e 92% (GNANSOUNOU e DAURIAT, 2010). O caldo fermentado, após a etapa de centrifugação, é denominado de vinho delevedurado, sendo constituído majoritariamente de água e etanol além de outros componentes em menor quantidade, sendo encaminhado para a etapa de destilação (MENEZES, 1980). Ao final da destilação é gerada uma corrente contendo grande volume de vinhaça (10 a 15 vezes o volume de etanol produzido). A vinhaça é um resíduo rico em potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio e fósforo e com elevada demanda bioquímica de oxigênio (MOHANA et al., 2009; AMORIM et al., 2011). Atualmente, esforços têm sido empreendidos com objetivo de reduzir o volume gerado de vinhaça, bem

como o desenvolvimento de novas aplicações e obtenção de produtos a partir deste resíduo (WHEALS *et al.*, 1999).

Embora seja um processo bem estabelecido, a fermentação alcoólica tem como principal limitação a toxicidade do etanol, que se acumula no caldo durante a fermentação e alcança concentrações tóxicas, agindo como inibidor direto não competitivo do metabolismo da levedura (AIBA *et al.*, 1968; MAIORELLA *et al.*, 1983; LLOYD *et al.*, 1993). Como resultado, as velocidades de crescimento celular, produção de etanol e de consumo de ART diminuem, afetando negativamente a produtividade do processo. Segundo Maiorella *et al.* (1983), a inibição tem início quando a concentração de etanol no caldo atinge a concentração de 25 g L⁻¹, sendo completa quando atinge 95 g L⁻¹. No entanto, esses valores dependem de fatores como a cepa da levedura empregada, o valor do pH, a temperatura e a composição do caldo de fermentação, entre outros.

Poucas são as células que possuem resistência ao etanol quando submetidas a concentrações de etanol superiores a 10 % v v⁻¹ em fermentações industriais (BREISHA, 2010). O etanol se difunde facilmente pela membrana celular e diminui a velocidade de metabolização da glicose (RICCI *et al.*, 2004). O motivo desse efeito inibitório foi relacionado à redução da atividade de água (a_w) (TAHERZADEH; KARIMI, 2011). Segundo John (1998), a *Saccharomyces cerevisiae* necessita de um meio com a_w entre 0,9 e 1,0, com valor ótimo entre 0,975 e 0,999. No entanto, a adição de etanol ao meio pode reduzir drasticamente a atividade da água, levando à redução do pH intracelular e afetando componentes celulares, como a ligação entre lipídios da membrana celular, proteínas associadas à membrana e enzimas glicolíticas (JONES e GREENFIELD, 1986; ROSE, 1993). Além disso, os componentes do caldo de fermentação, como açúcares e outros metabólitos, podem reduzir ainda mais o valor de a_w . Portanto, há um efeito sinérgico do etanol e outros componentes do meio, ocasionando efeitos negativos sobre o metabolismo e o crescimento das leveduras (TAHERZADEH e KARIMI, 2011). Em resposta metabólica às altas concentrações de etanol, as leveduras sintetizam glicerol e trealose, os quais são subprodutos indesejados da produção de etanol (OGAWA *et al.*, 2000; TAHERZADEH e KARIMI, 2011).

Na busca de minimizar a inibição pelo etanol, vários métodos para removê-lo do caldo de fermentação à medida em que é formado têm sido estudados. Os métodos incluem sistemas baseados em membrana, tais como pervaporação (CLAES *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2017; VRANA *et al.*, 2007), permeação de vapor (SUN *et al.*, 2017), perstracção (GROBEN *et al.*, 1993; QURESHI; MADDOX; FRIEDL, 1992), osmose reversa (CHOUDHURY; GHOSH, 1986), além de adsorção (HASHI; TEZEL; THIBAUT, 2010; JONES *et al.*, 2011), extração

líquido-líquido (HONDA; TAYA; KOBAYASHI, 1986; LEMOS *et al.*, 2018; MINIER, M.; GOMA, 1981) e esgotamento com gases (arraste gasoso ou *stripping*) (MARTINS *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2019; SONEGO *et al.*, 2016).

No que se refere ao *stripping* com gases, este método consiste na aspensão de gás na dorna de fermentação ou em coluna separada, favorecendo a remoção seletiva de compostos voláteis. Na literatura são encontrados vários estudos que fizeram o uso de gases tais como dióxido de carbono (CO₂), nitrogênio (N₂) e ar para remoção de etanol e outros compostos durante a fermentação (HASHI; TEZEL; THIBAUT, 2010; JUN; HONG-JUAN; DE-HUA, 2005; PONCE *et al.*, 2016; SONEGO *et al.*, 2016). Jun, Hong-Juan e De-Hua (2005) verificaram que o uso do ar estimulou o crescimento celular e a produção de glicerol e manteve viabilidade celular, mas diminuiu a produtividade do etanol. Verificou-se que N₂ foi o melhor gás de arraste, aumentando a produtividade de etanol e glicerol.

Em pesquisa realizada no Serviço de Pesquisa Agrícola do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Taylor e colaboradores utilizaram o CO₂ como gás de arraste em processos fermentativos para produção de etanol a partir de milho. O grupo de pesquisa relatou conversões de 100, 95 e 90% em cultivos alimentados com 200, 400 e 600 g L⁻¹ de glicose, respectivamente (TAYLOR *et al.*, 1995). Em estudo subsequente, os autores relataram o surgimento de incrustações causadas pelo crescimento das células de levedura na coluna de esgotamento, problema este que foi solucionado utilizando fermentadores contínuos de volumes maiores e realizando lavagem da coluna empacotada. O desempenho do sistema melhorou significativamente alcançando a conversão completa para 600 g L⁻¹ de glicose alimentada e produtividade de 15 g L⁻¹ h⁻¹ (TAYLOR *et al.*, 1998). Na sequência, 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 de *stripping* 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 (estequiométrico).

Sun *et al.* (2017) utilizaram a permeação de vapor integrada à fermentação alcoólica extrativa com arraste gasoso, alcançando uma alta taxa de remoção de etanol, com produtividade em etanol 56% maior quando empregada uma corrente de ar de 1,3 L min⁻¹ e temperatura de 35 °C em comparação à fermentação em batelada.

A partir do que foi discutido, pôde-se evidenciar que a fermentação extrativa empregando *stripping* com gases proporciona vantagens ao processo. A técnica resulta na diminuição da concentração de etanol durante a fermentação, com consequente aumento na produtividade em produto e conversão de mostos mais concentradas em substratos, o que reduz

o volume de vinhaça do processo. Além disso, a utilização de mostos mais concentrados implica na queda do consumo de energia nos sistemas de concentração e recuperação e, por conseguinte, redução significativa dos custos globais.

2.3 Recuperação de etanol

2.3.1 Aspectos gerais da recuperação de etanol

No relatório do Conselho Nacional de Pesquisa dos EUA foi identificado a necessidade de se buscar melhorias na separação de produtos químicos em soluções aquosas relativamente diluídas, como caldo de fermentação da produção de biocombustíveis líquidos (VANE, 2008). Neste documento, destacou-se a necessidade de se avaliar alternativas à destilação com base na eficiência energética e no aumento de produtividade.

A destilação tem sido a operação unitária mais utilizada para a separação do etanol do caldo fermentado (vinho), devido às vantagens de recuperação. A destilação possui alta recuperação de etanol (produz uma mistura azeotrópica com concentração de etanol em torno de 96 °GL), alto fator de concentração, eficiência energética moderada para corrente de alimentação com concentração superior a 4% em massa de etanol, facilidade de escalonamento e boa reprodutibilidade em simulações computacionais. Embora os avanços tecnológicos sejam grandes, a destilação forma uma mistura azeotrópica exigindo etapas adicionais para alcançar concentração do etanol anidro (maior que 99,6 °GL). Em correntes de alimentação diluídas (menor que 4% em massa), a necessidade energética é relativamente alta para obter tal separação do etanol.

De maneira geral, os processos de separação de etanol podem ser tecnologias para a desidratar correntes concentradas após a fermentação, já utilizado em larga escala; e tecnologias que podem ser usadas para recuperar o etanol da solução diluída durante a fermentação, que embora tem sido massivamente estudada ainda não foram aplicadas industrialmente.

A opção de remover o etanol *in situ* foi proposta como uma forma de aumentar a produtividade por remover o etanol e reduzir a inibição dos microrganismos pelo produto (AIBA et al., 1968). Assim, a remoção do etanol durante a fermentação pode melhorar significativamente a produtividade e permitir o uso de mostos mais concentrados em substrato (VANE, 2008). Embora existam vários métodos de remoção, necessita-se também de técnicas para a recuperação do etanol removido.

2.4 Adsorção

A adsorção é o processo de transferência de massa de componentes de um fluido em fase líquida ou gasosa para a superfície sólida de um material, possibilitando a separação dos componentes presentes no fluido (NASCIMENTO et al., 2014; RUTHVEN, 1984). As espécies envolvidas no processo de adsorção são o adsorvato, aquele que adsorve na interface do material, e o adsorvente, a superfície sólida pelo qual o adsorvato se adsorve (RUTHVEN, 1984).

Sob a ótica da termodinâmica, na adsorção há uma diminuição da energia livre superficial do sistema e o processo ocorre espontaneamente com a variação da energia livre de Gibbs (ΔG) negativa. Como as moléculas de adsorvato só podem se deslocar sobre a superfície do adsorvente, há diminuição do número de graus de liberdade do sistema fazendo com que a variação de entropia (ΔS) seja também negativa. O resultado final é a variação de entalpia (ΔH) negativa, caracterizando a adsorção como um processo exotérmico (**Equação 2.1**) (RUTHVEN, 1984).

$$\Delta G = \Delta H - T(\Delta S) \quad (2.1)$$

Os mecanismos de adsorção podem ocorrer por meio de três diferentes tipos. No mecanismo estérico, o adsorvente oferece espaços vazios de dimensões características onde se alocam determinadas moléculas dependendo do tamanho, e excluindo as demais. No mecanismo de equilíbrio, os diferentes adsorventes têm a capacidade de acomodar diferentes espécies de adsorvatos que são adsorvidos, preferencialmente, a outras moléculas. Por fim, no mecanismo cinético, a adsorção ocorre por meio das diferenças de difusividades das espécies da mistura nos poros do adsorventes (NASCIMENTO et al., 2014).

Acerca da classificação, a adsorção pode ser física (fisissorção), quando as moléculas do adsorvato encontram-se fracamente ligadas à superfície do adsorvente e a liberação de calor é baixa; ou química (quimissorção), quando entre as moléculas do adsorvato e adsorvente ocorre a transferência de elétrons equivalendo a uma ligação química e a liberação de calor é alta (RUTHVEN, 1984). Independentemente do tipo de adsorção, todas envolvem a liberação de calor.

Na adsorção química, a superfície sólida possui sítios ativos específicos. Portanto, nem todas as moléculas presentes no fluido podem ser adsorvidas quimicamente, somente aquelas capazes de se ligar ao sítio ativo. Do ponto de vista termodinâmico, o calor de adsorção química

é, em módulo, da ordem de valores de calor de reação (acima de 20 kcal/mol), diferentemente da adsorção física em que o calor é da ordem de valores de calor de condensação/vaporização (abaixo de 10 kcal/mol) (NASCIMENTO et al., 2014).

Vários fatores afetam o processo de adsorção, incluindo as propriedades do adsorvente e do adsorvato e as condições operacionais do processo. As características do adsorvente incluem área superficial, tamanho do poro, densidade, grupos funcionais presentes na superfície e hidrofobicidade do material. As propriedades do adsorvato dependem da polaridade, tamanho, solubilidade e acidez ou basicidade da molécula. As condições operacionais incluem, principalmente, temperatura, pH e natureza do solvente. Portanto, para o dimensionamento ideal do processo de adsorção é necessário conhecer não só o adsorvato, como também o adsorvente que será utilizado para a separação, bem como as condições operacionais ótimas.

2.4.1 Adsorventes

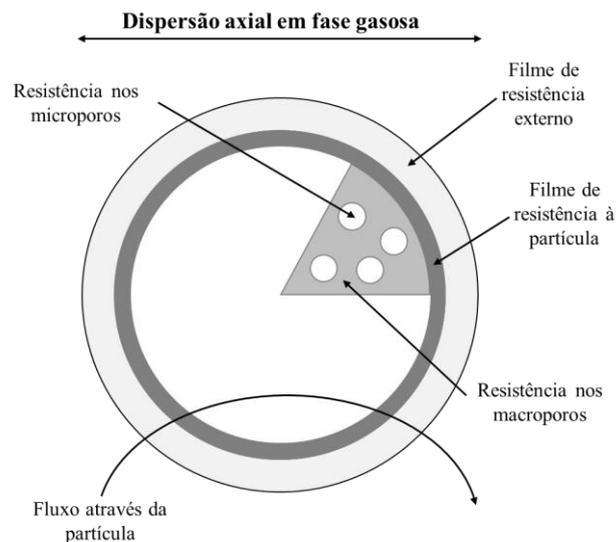
A grande maioria dos adsorventes são sólidos porosos cujas características superficiais e de arranjo, como a porosidade, influenciam diretamente no equilíbrio e desempenho cinético da adsorção (SALES, 2015). Algumas características são desejáveis aos adsorventes para o sucesso do processo de separação, dentre as quais podem ser destacadas boas propriedades mecânicas, resistência ao atrito, boas propriedades cinéticas (capacidade de transferir adsorvato rapidamente para os locais de adsorção), capacidade de regeneração com eficiência e sem danos às propriedades mecânicas e adsorventes, alto volume interno acessível aos componentes removidos do fluido (GREGG; SING, 1982).

Para a maioria dos adsorventes, a área da superfície interna tem sido relacionado ao tamanho dos poros (THOMAS; CRITTENDEN, 1998). Os tamanhos dos poros são classificados em três faixas, macroporos (diâmetro superiores a 500 Å), mesoporos (diâmetro no intervalo de 20-500 Å) e microporos (menores que 20 Å). Essa classificação é baseada nos efeitos de adsorção característicos para cada faixa de tamanho, conforme manifestados em diferentes tipos de isoterma. Nos microporos, o potencial de interação é significativamente maior do que em poros mais largos devido à proximidade das paredes, e a quantidade adsorvida (a uma determinada pressão relativa) é correspondentemente aumentada (GREGG; SING, 1982).

A estrutura do adsorvente e o processo de adsorção são mostrados esquematicamente na **Figura 2.1**. A molécula de adsorvato é transportado através do filme de resistência externo ao redor do adsorvente (etapa rápida); transportada por difusão do adsorvato no filme de

resistência à partícula; posteriormente ocorre o transporte entre os macroporos do adsorvente pela difusão molecular através do gás presente no interior dos macroporos e difusão ao longo da superfície do adsorvente (etapa lenta) e, por fim, a ligação do adsorvato em um sítio disponível dos microporos do adsorvente (THOMAS; CRITTENDEN, 1998).

Figura 2.1: Esboço da estrutura geral de uma partícula adsorvente e das resistências associadas à adsorção de moléculas de um fluido.



Fonte: Adaptado de Thomas e Crittenden (1998).

O adsorvente pode ser de natureza carbonácea ou inorgânica, sintética ou natural, desde que a matéria-prima e o método para a produção sejam baratos e a adsorção possa ser uma alternativa aos processos de separação convencionais (THOMAS; CRITTENDEN, 1998). Adsorventes como carvão ativado ou adsorventes de polímeros e silicatos têm mais afinidade a moléculas apolares, sendo denominados hidrofóbicos, enquanto que adsorventes como sílica gel, zeólitas e alumina porosa ou ativa possuem afinidade especial a substâncias polares como a água e são denominados hidrofílicos (SRIVASTAVA; EAMES, 1998).

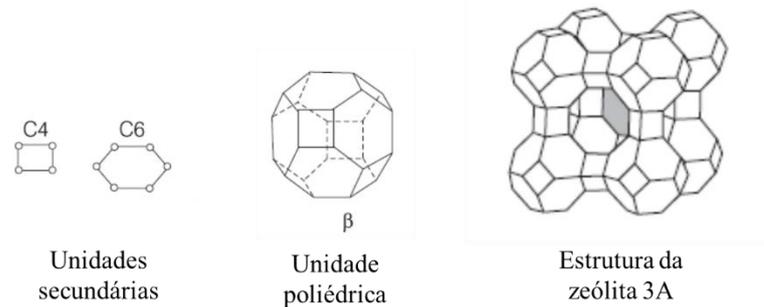
As zeólitas, também conhecidas como peneiras moleculares, são minerais naturais ou sintéticos, inorgânicos, cristalinos, microporosas e constituídas de aluminossilicatos com geometria tetraédrica de moléculas de SiO_4 e AlO_4 unidas por meio de compartilhamento de átomos de oxigênio (KOOHSARYAN; ANBIA, 2016; RUTHVEN, 1984; SRIVASTAVA; EAMES, 1998). Na forma de cristal, as zeólitas distinguem-se de outros adsorventes, pois o tamanho dos poros é estatisticamente uniforme. No entanto, é possível que moléculas ligeiramente maiores que o tamanho dos poros tenham acesso às cavidades devido à vibração das moléculas dos adsorvente e à estrutura cristalina (THOMAS; CRITTENDEN, 1998).

De maneira geral, as zeólitas possuem elevada porosidade interna e, portanto, a adsorção ocorre majoritariamente internamente, o que lhes confere capacidade de separar efetivamente com base no tamanho. Além disso, as zeólitas são capazes de separar com base em diferenças de forma e polaridade. A natureza iônica da maioria das zeólitas proporciona a elas alta afinidade pela água e outras moléculas polares, como dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio. No entanto, à medida que a proporção de sílica/alumina aumenta, o material pode se tornar hidrofóbico (GREGG; SING, 1982; NASCIMENTO et al., 2014; RUTHVEN, 1984; THOMAS; CRITTENDEN, 1998).

A fórmula empírica da estrutura da zeólita é $M_{2/n}.Al_2O_3.xSiO_2.yH_2O$, onde x é maior ou igual a 2, n é a valência do cátion e y representa a água contida nas cavidades. A água pode ser removida reversivelmente por aquecimento, desocupando uma estrutura microporosa com até 50% do volume dos cristais. A proporção de átomos de oxigênio para átomos combinados de silício e alumínio é sempre igual a dois (RUTHVEN, 1984). Cada átomo de alumínio introduz uma carga negativa na estrutura da zeólita, que é balanceada pela carga de um cátion trocável. Alterar a posição e o tipo do cátion altera o tamanho da cavidade e as propriedades da zeólita, incluindo sua seletividade a uma determinada molécula. Assim, zeólitas com propriedades adsorptivas muito diferentes entre si podem ser obtidas através da escolha apropriada da estrutura, forma catiônica e proporção de sílica e alumina para atingir a seletividade necessária para uma determinada separação (KOOHSARYAN; ANBIA, 2016; RUTHVEN, 1984).

A zeólita 3A (**Figura 2.2**) é composta basicamente por dois tipos de poliedros, sendo um deles arranjado em cubos simples C4-C4, formados pela união de dois anéis de quatro tetraedros, e o outro estruturado em um octaedro truncado, formado pela combinação de 24 tetraedros, mais conhecido como cavidade β , ou sodalita. O arranjo de oito cavidades sodalitas intercaladas em suas bases quadradas por tetraedros forma a estrutura da zeólita. Este arranjo produz um poliedro que envolve uma grande cavidade interna de diâmetro aproximadamente igual a 11,4 Å e conhecida como super cavidade α , a qual se tem acesso por meio de uma abertura de oito átomos de oxigênio de diâmetro igual a 3 Å (microporo) (MOREIRA, 2005; RUTHVEN, 1984). Os microporos menores que 3 Å não permitem a entrada da molécula de etanol (4,4 Å), enquanto que as moléculas de água com diâmetro de 2,8 Å podem ser facilmente adsorvidas. Uma das vantagens importantes ao uso da zeólita 3A é sua baixa predisposição à adsorção de etanol em comparação com outras zeólitas do tipo A (4A, 5A e 10A) (KARIMI; TAVAKKOLI; KARRI, 2019).

Figura 2.2: Organização da estrutura da zeólita 3A.



Fonte: Modificado de Mascarenhas e Oliveira (2001).

Dentre os diversos adsorventes comerciais empregados em sistema de leito fixo para remoção da água do etanol hidratado, o adsorvente zeólita 3A tem apresentado destaque pela sua aplicabilidade no processo de separação de etanol regenerando o adsorvente por temperatura (*Thermal Swing Adsorption - TSA*) (WITKIEWICZ; NASTAJ, 2018), por pressão (*Pressuring Swing Adsorption - PSA*) (RUMBO et al., 2020), por arraste com gás de purga (*Purge Gas Stripping*) ou por deslocamento químico (*Displacement Desorption*) (MOREIRA, 2005).

Em alternativa aos adsorventes inorgânicos, adsorventes a base de amido também têm sido estudado no processo de adsorção de água (KIM et al., 2011; ORNELAS et al., 2003). Com apelo ambiental muito forte, os grãos de milho (NEUMAN et al., 1986), grão de milho modificado (BEERY et al., 1998), farinha de trigo (VARELI; DEMERTZIS; AKRIDA-DEMERTZI, 1997) e adsorvente à base de mandioca (KIM et al., 2011; ORNELAS et al., 2003) tem sido estudado por ser de origem biológica, biodegradáveis, não tóxicos e derivados de fontes renováveis. As pérolas de mandioca ou sagu, como tem sido comumente nomeado no mercado alimentício brasileiro, tem sido aplicadas com um adsorvente a base de amido que é produzido pelas etapas de granulação do amido úmido, secagem por agitação em placa quente a 40-60 °C, e resfriado por corrente de ar úmida e embalado de acordo com o tamanho das pérolas, sendo que o processo de secagem provoca a gelatinização e o resfriamento provoca a recristalização do amido. A superfície das pérolas é preenchida com partículas de amido de 5 a 10 µm intercaladas com regiões lisas de amido gelatinizado e agregado. O interior da pérola é gelatinizado e pouco poroso. Assim, as estruturas de poros que forneceriam área de superfície para adsorção estão na superfície (KIM et al., 2011).

Em resumo, a escolha apropriada do adsorvente promoverá maior assertividade no processo de separação desejado. Nesse sentido, o adsorvente inorgânico (zeólita 3A) e orgânico

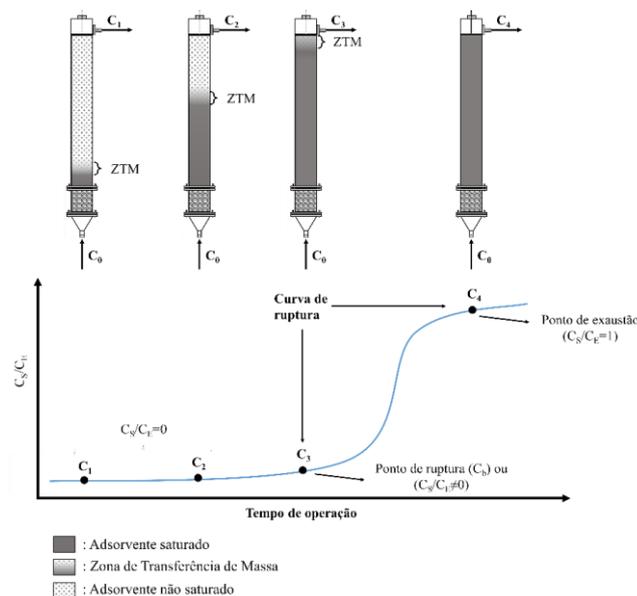
(sagu) foram objetos de estudo como dessecantes da corrente gasosa proveniente do *stripping* de soluções hidroalcoólicas.

2.4.2 Adsorção em leito fixo

O sistema de adsorção em leito fixo convencional é composto por uma coluna empacotada com adsorvente, através da qual a corrente de fluido contendo os componentes que se deseja separar é alimentada continuamente por bombeamento, fluindo ascendente ou descendente. Nesse sistema, a concentração do adsorvato na fase gasosa e sólida variam no espaço e no tempo, uma vez que a corrente é alimentada até que seja alcançada a saturação do leito ou um valor de concentração pré-determinado (NASCIMENTO et al., 2014).

Quando a corrente gasosa flui através de uma coluna contendo um leito fixo adsorvente, a molécula alvo é gradualmente removida purificando progressivamente a corrente gasosa à medida que atravessa a coluna. A adsorção não acontece uniformemente por toda a coluna, mas sim em uma zona de transferência de massa (ZTM) a qual se desloca com o tempo. O movimento da zona de transferência de massa pode ser expresso pela razão entre concentração de adsorvato na corrente de saída e concentração de adsorvato na corrente de entrada (C_S/C_E) em função do tempo e representada em forma de gráfico como curva de ruptura (*breakthrough*) (Figura 2.3) (NASCIMENTO et al., 2014; RUTHVEN, 1984).

Figura 2.3: Curva de ruptura (*breakthrough*).



Fonte: Modificado de Nascimento et al. (2014).

O tempo de avanço da ZTM e a forma da curva de ruptura são características muito importantes para determinar o funcionamento e a dinâmica de uma coluna de adsorção. Numa curva de ruptura ideal pressupõe-se que a remoção da molécula de interesse é completa nos estágios iniciais de operação. Normalmente não se opera uma coluna de adsorção até seu esgotamento. Na prática, a operação é interrompida quando a concentração de saída atinge um valor permissível ou escolhido, geralmente, conhecido como ponto de ruptura (C_b) (concentração de *breakthrough*), escolhido como sendo o ponto em que a concentração do adsorvato na saída da coluna chega a 5% do valor da concentração da corrente de alimentação (C_0) (NASCIMENTO et al., 2014).

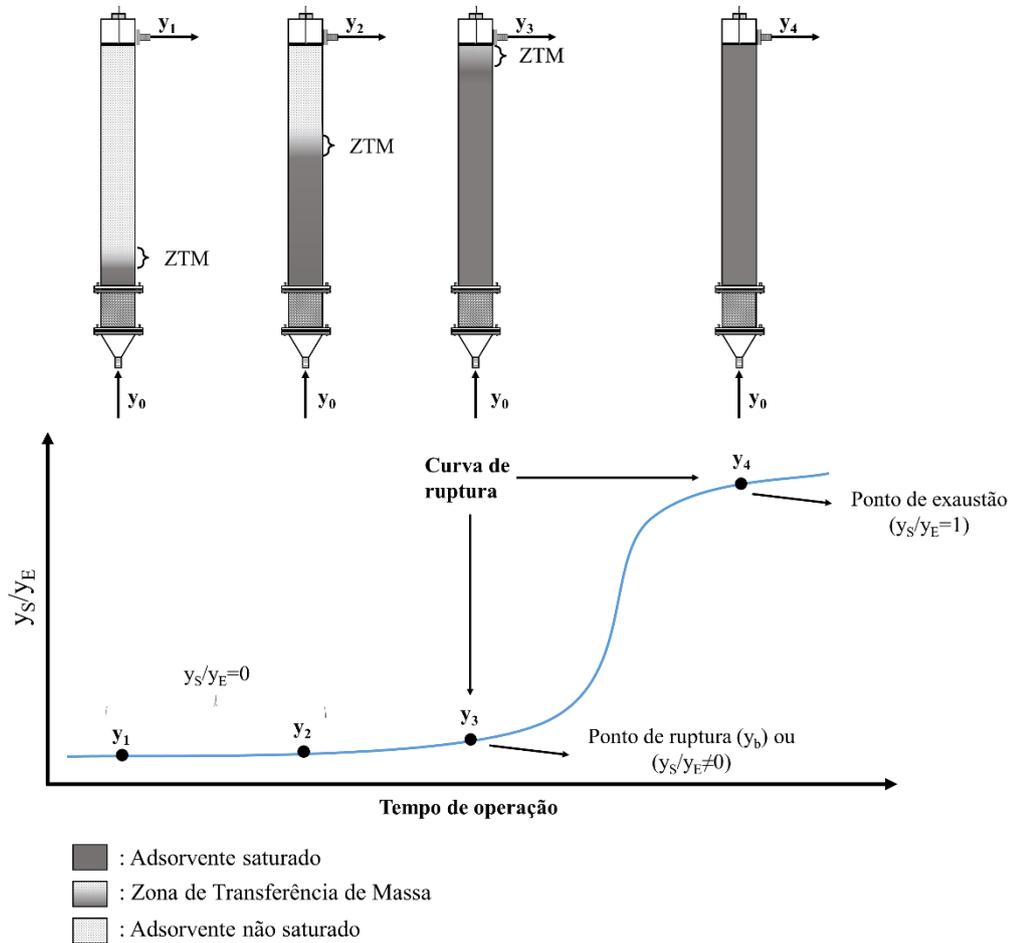
Alguns fatores têm se mostrado relevantes no processo de separação por adsorção em coluna empacotada, contribuindo para a forma da curva de ruptura, os quais incluem o mecanismo do processo de adsorção, a natureza do equilíbrio de adsorção, a velocidade do fluido, a concentração da molécula alvo na alimentação e a altura do leito de adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014; RUTHVEN, 1984).

A compreensão do fenômeno de adsorção requer conhecimento prévio das características e das propriedades físico-químicas do material adsorvente, posto que influenciam na velocidade e capacidade de adsorção, dados necessários para dimensionamento do sistema a ser empregado (NASCIMENTO et al., 2014). O tamanho do leito adsorvente é determinado pela vazão do fluido e pelo tempo de ciclo desejado. Normalmente, a área da seção transversal do leito é calculada de modo que se garanta uma velocidade superficial do fluido de alimentação entre 0,15 e 0,45 m s^{-1} , o que resulta em uma queda de pressão (MCCABE; SMITH; HARRIOTT, 1993). Sob o critério econômico, o sistema em leito fixo tem se mostrado vantajoso e tem sido amplamente aplicado nos processos de adsorção em larga escala por sua eficácia em larga escala e por possuir ciclos de adsorção-dessorção, favorecendo o uso mais eficiente do adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014).

2.4.3 Parâmetros de desempenho da adsorção em leito fixo

Usualmente, para avaliar o comportamento da adsorção em leito fixo alguns parâmetros de desempenho podem ser obtidos a partir dos dados experimentais. A **Figura 2.4** representa uma curva de ruptura genérica esboçada com dados da fração molar da molécula alvo por tempo.

Figura 2.4: Curva de ruptura genérica esboçada com dados da fração molar da molécula alvo por tempo.



Fonte: Modificado de Nascimento et al. (2014).

O tempo de ruptura (t_R), expressa o instante de tempo em que ocorre a ruptura da coluna ($y_S/y_E \neq 0$). Quanto maior esse valor, maior é o tempo em que a coluna consegue adsorver totalmente a molécula alvo.

A longo da coluna de adsorção existe uma região de maior transferência de massa. Quanto menor essa região, mais próximo da idealidade o sistema se encontra. Para medir a ZTM frequentemente utiliza-se do tempo para o estabelecimento da zona de transferência de massa (t_{ZTM} , em h), definido como o intervalo de tempo compreendido entre ponto de ruptura ($y_S/y_E \neq 0$) e o ponto de exaustão ($y_S/y_E = 1$), **Equação 2.2**.

$$t_{ZTM} = t_E - t_R \quad (2.2)$$

onde t_E é o instante de tempo em que ocorreu a exaustão da coluna ($y_S/y_E = 1$).

Enquanto a capacidade máxima de adsorção (q^*), em que expressa a massa da molécula alvo adsorvida pela quantidade de massa do adsorvente. A partir da fração molar entrada (y_E) e saída (y_S), e por meio de balanços de massa obtém-se a vazão mássica da corrente gasosa que entrada (\dot{m}_E) e saída (\dot{m}_S) (em g min^{-1}), que pode ser calculada q^* por meio da **Equação 2.3**.

$$q^* = \frac{\int_0^t \dot{m}_S dt - \int_0^t \dot{m}_E dt}{m_{ads}} \quad (2.3)$$

onde m_{ads} é a massa de zeólita 3A seca em gramas.

O tempo de ruptura (t_R) e capacidade máxima de adsorção (q^*) são dados básicos para determinar o tempo de operação da coluna e a quantidade de adsorvente que deve ser utilizado no processo de adsorção. A capacidade máxima de adsorção também diz sobre a afinidade da molécula alvo ao adsorvente, quanto maiores o valor de q^* , maior a afinidade.

2.5 Absorção

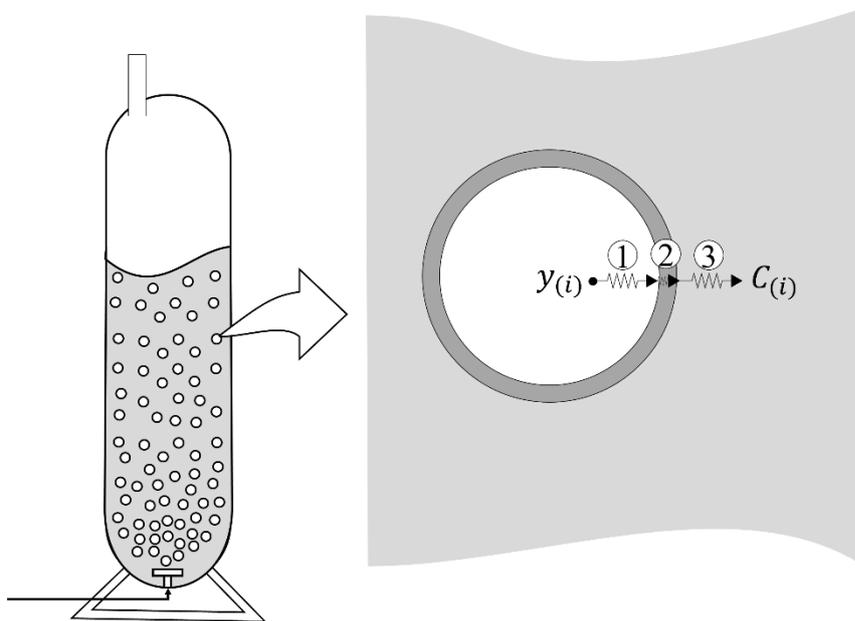
A absorção consiste na transferência de um componente de uma mistura gasosa para um líquido devido à diferença de concentração entre as fases (fenômeno de transferência de massa) e solubilidade do soluto (AZEVEDO; ALVES, 2013). Os componentes transferidos para o líquido são referidos como solutos ou absorvato; e o líquido, que recebe o soluto, é conhecido como absorvente. Na indústria, a absorção tem sido uma operação de emprego generalizado utilizado para separar misturas de gases; remover impurezas, contaminantes, poluentes ou venenos catalíticos de um gás; ou recuperar produtos químicos valiosos (SEADER; HENLEY, 1999).

O gradiente de concentração do soluto existente entre as fases gasosa e líquida é a força motriz para que ocorra o fenômeno de transferência de massa, ocorrendo exclusivamente na interface entre as duas fases (TREYBAL, 1980). Além disso, o processo de absorção conta com a solubilidade do soluto ao absorvente até o equilíbrio entre as fases, dada uma concentração, pressão e temperatura (SEADER; HENLEY, 1999).

Quanto a reatividade entre o soluto e o absorvente, a absorção divide-se em física ou química. A absorção física resulta da transferência de um soluto da corrente gasosa para adsorvente (fase líquida) mediante a solubilização do soluto sem reação química com o

absorvente. Esse processo ocorre em três etapas subsequentes: (1) a transferência de massa da fase gasosa para a superfície interfacial, (2) a transferência através da interface para a fase líquida e (3) a transferência de massa para as condições da fase gasosa (**Figura 2.5**). Variáveis como a temperatura e pressão de operação apresentam grande influência na taxa de transferência de massa no processo em razão à natureza física desse processo de separação (SCHULZ, 2003; WELTY; RORRER; FOSTER, 2013). De outro forma, a absorção química, consiste na solubilização do soluto gasoso em uma corrente líquida por meio de uma reação química. Nesse processo, ocorrem as etapas de: difusão do soluto da fase gasosa para sua interface assumido que o equilíbrio físico é atingido instantaneamente, seguido da solubilização do soluto gasoso na fase líquida e difusão do mesmo para a fase líquida. Concomitantemente, ocorre a difusão do reagente da fase líquida para sua interface, seguida da reação entre os componentes dentro da fase líquida e posterior difusão dos produtos de dentro dessa fase para a fase gasosa (SHIBATA, 2017).

Figura 2.5: Transferência de um soluto da corrente gasosa para adsorvente (fase líquida) sem reação química.



Fonte: autoria própria.

2.5.1 Absorventes

O absorvente é o líquido que recebe o soluto vindo da fase gasosa do processo de adsorção. Comumente, utiliza-se água, óleos e soluções aquosas de ácidos e bases (SEADER; HENLEY, 1999). A água tem sido frequentemente utilizada para remover moléculas polares e

ácidas. Enquanto óleos são empregados para remoção de hidrocarbonetos leves. Solventes químicos especiais são constantemente utilizados para remoção de gases ácidos como dióxido de carbono (CO₂), dióxido de enxofre (SO₂) e sulfeto de hidrogênio (H₂S) (PERRY; GREEN, 2008).

Para recuperação do soluto etanol estudos recentes têm utilizado o glicerol, monoetilenoglicol (MEG) e o dietilenoglicol (DEG) como absorventes, pois são compostos polares, dissolvem bem o etanol e não formam uma mistura azeótropa. Além do mais, há uma grande disponibilidade desses compostos no mercado brasileiro (CARDOSO, 2015).

A escolha dos absorventes tem sido um fator crítico nos sistemas de separação por absorção física. Em virtude da característica da absorção, o absorvente deve ser criteriosamente escolhido e deve atender aos seguintes requisitos: possuir alta solubilidade, assim aumentando a taxa de absorção e diminuindo a quantidade de absorvente requerido, ser não-volátil, de modo que não haja perdas de absorvente por carregamento da corrente gasosa, ser seletivo ao soluto, possuir baixa viscosidade, de modo a ter taxas de absorção rápidas, ser barato, quimicamente estável, não corrosivo, não espumoso e, preferencialmente, não inflamável (AZEVEDO; ALVES, 2013; RODRIGUES, 2019).

2.5.2 Coluna de bolhas

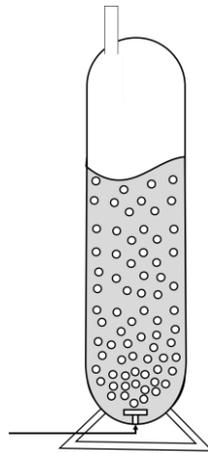
O principal objetivo do equipamento utilizado para a operação de absorção é proporcionar o contato entre dois fluidos promovendo a difusão interfásica dos constituintes. Dessa forma, esses equipamentos possuem um design vertical e cilíndrico, com o escoamento dos fluidos contracorrente, para que o equilíbrio entre as fases seja alcançado no interior na coluna. Fatores como superfície interfacial exposta entre as fases, influência diretamente na taxa de transferência de massa, bem como a natureza e grau de dispersão de um fluido no outro (NAKANO; YOSHIDA, 1980; SEADER; HENLEY, 1999).

De modo geral, os equipamentos são classificados de acordo com tipo de fase que é dispersa: líquida ou gasosa. Na categoria da dispersão da fase líquida, estão os equipamentos nos quais o líquido é disperso em filme fino ou “salta”, tais como *spray*, *wetted-wall towers* e várias colunas de recheio, sendo as mais aplicadas industrialmente. Na categoria da dispersão da fase gasosa encontra-se os equipamentos coluna de bolhas, vasos agitados e várias conformações de colunas de pratos, nas quais, a fase gasosa é dispersa em bolhas ou espumas

(TREYBAL, 1980).

O equipamento coluna de bolhas (**Figura 2.6**) consiste em um vaso cilíndrico vertical, de fácil construção e operação, preenchido com líquido absorvente no qual gás é borbulhado por meio de um aspersor. O gás e líquido fluem em contracorrente, frequentemente. Estes equipamentos fornecem elevadas áreas de interfacial entre as fases envolvidas (NAKANOH; YOSHIDA, 1980). Em contrapartida, os absorvedores de coluna de bolha possuem uma alta perda de carga devido à altura do líquido, além de serem alcançados apenas um ou dois estágios teóricos de equilíbrio. Frequentemente, o absorvedor coluna de bolhas tem sido utilizado em situações onde são requeridos elevados tempos de residência (SEADER; HENLEY, 1999).

Figura 2.6: Absorvedor coluna de bolhas



Fonte: autoria própria.

Os principais parâmetros avaliados em estudos de absorvedores do tipo coluna de bolhas envolvem a influência das propriedades físicas (viscosidade, densidade e tensão superficial) do absorvente na transferência de massa do soluto para líquido absorvente. No trabalho de Nakanoh e Yoshida (1980) com um absorvedor coluna de bolhas de 18 L os autores propuseram correlações empíricas para o coeficiente volumétrico de transferência de massa na fase líquida (kLa) para absorção do oxigênio em líquidos Newtonianos e não-Newtonianos.

Rodrigues et al. (2018) avaliaram as capacidades de absorção de etanol nos absorventes água, monoetilenoglicol (MEG) e dietilenoglicol (DEG) utilizando absorvedores do tipo coluna de bolha. Nesse trabalho foi avaliado 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. Os pesquisadores alcançaram

recuperação de etanol de 61,2% quando usaram um absorvedor com MEG e recuperação de etanol de 93,1% quando usou dois absorvedores conectados em série.

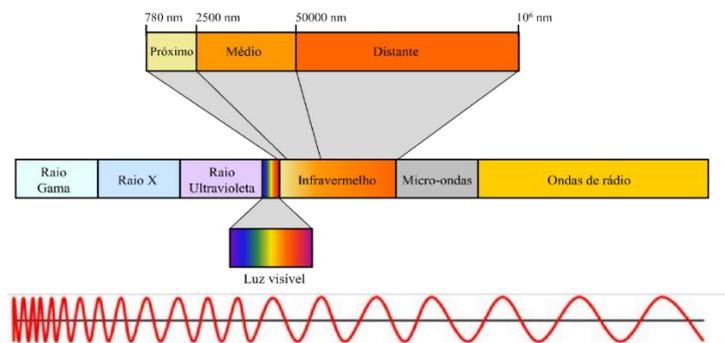
2.6 Espectroscopia de infravermelho e calibração multivariada

2.6.1 Fundamentos espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR)

A espectroscopia no infravermelho ou do inglês *infrared spectroscopy* (IR) é uma espectroscopia de absorção, em que a energia absorvida se encontra na região do infravermelho do espectro eletromagnético. Dentre as diversas formas de interação da radiação com a matéria, a absorção da radiação pelos constituintes da amostra é de maior interesse para a espectroscopia analítica, pois este fenômeno gera os espectros de absorção que contêm as informações analíticas qualitativas e quantitativas a respeito de uma amostra (PAIVA et al., 2015).

A região espectral do infravermelho compreende a radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12800 a 10 cm^{-1} ou comprimentos de onda de 780 a 10^6 nm. Do ponto de vista de aplicação, como também de instrumentação, o espectro no infravermelho é convenientemente dividido em infravermelho próximo (*near infrared*, NIR, de 780 a 2500 nm), médio (*mid infrared*, MID, de 2500 a 50000 nm) e distante (*far infrared*, FAR, de 50000 a 10^6 nm) (**Figura 2.7**) (LIMA et al., 2009).

Figura 2.7: Espectro eletromagnético com a região espectral do infravermelho e suas subdivisões

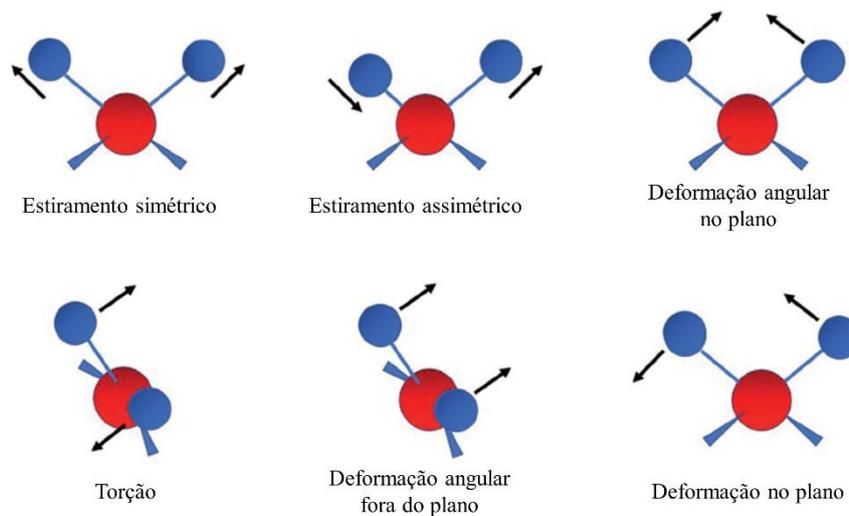


Fonte: Adaptada de Paiva et al. (2015).

A radiação infravermelha faz com que átomos e grupos de átomos de compostos orgânicos vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes que as ligam. A

espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de modos vibracionais, **Figura 2.8**). Tais frequências dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do Acoplamento vibrônico (PASQUINI, 2018).

Figura 2.8: Modos vibracionais normais do grupo – CH₂ em uma molécula. As esferas vermelhas e azuis representam os átomos de carbono e hidrogênio, respectivamente.



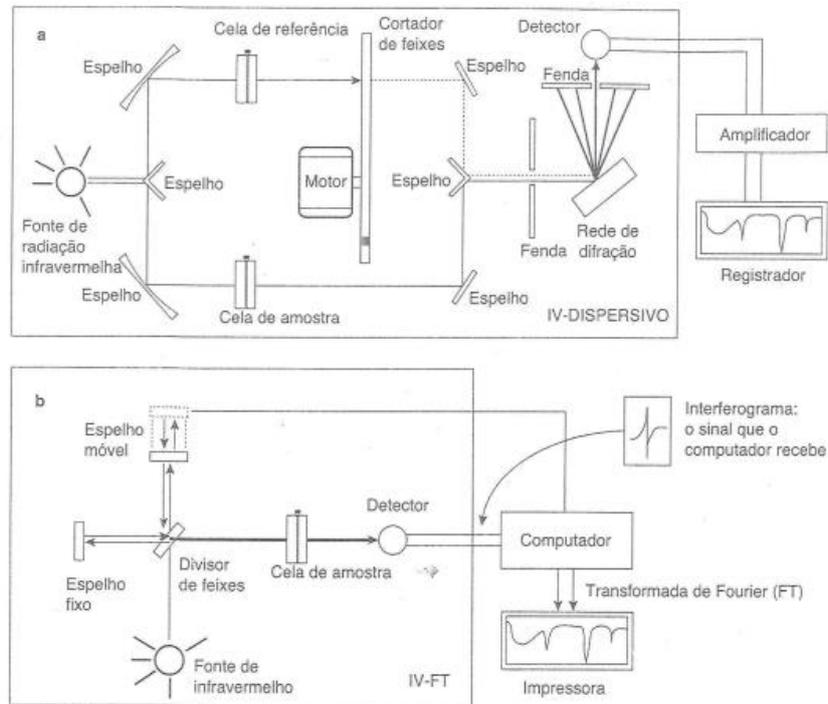
Fonte: Adaptada de Pasquini (2018).

O instrumento que obtém o espectro de absorção no infravermelho é chamado de espectrômetro de infravermelho e podem ser de dois tipos: instrumentos dispersivos e de transformada de Fourier (FT). Ambos fornecem espectros na faixa de infravermelho, no entanto o FT produz espectro muito mais rápido do que o dispersivo (PAIVA et al., 2015).

No equipamento operado com FT o traçado do caminho ópticos produz uma padrão chamado interferograma (um sinal complexo) que contém todas as informações do espectro infravermelho, por sua vez uma operação matemática conhecida como transformada de Fourier separa as frequências das absorção individuais contida no interferograma, produzindo um espectro virtualmente idêntico ao obtido com um espectrofotômetro dispersivo em menos tempo, e assim possibilita coletar dezenas de interferogramas da mesma amostras. Quando se realiza a FT na soma dos interferogramas pode-se obter um espectro com a razão sinal/ruído melhor, portanto um IR-FT tem maior velocidade e maior sensibilidade do que o instrumento dispersivo. A **Figura 2.9** esquematiza os dois tipos de espectrofotômetros e pode-se notar a

diferença do caminho ótico gerado pelos dois tipos de equipamento IR (PAIVA et al., 2015).

Figura 2.9: Representação esquemática dos espectrofotômetros dispersivos (a) e de transformada de Fourier (b).



Fonte: Paiva et al. (2015).

2.6.2 Análise multivariada

Os espectros de infravermelho médio apresenta picos nítidos e estreitos, relacionando essencialmente a vibrações moleculares fundamentais, no entanto, quando a amostra é resultado de uma mistura de moléculas os espectros são complexos e carregados de informações o que pode ocorrer sobreposição espectral e difícil de ser correlacionado com valores de uma propriedade utilizando calibração univariada (BRERETON, 2007; SENA; ALMEIDA, 2018). Além do mais, os modelos multivariados são mais robustos principalmente para a quantificação de amostras complexas oriundas de fermentações, visto que varre uma região do espectro e não só um ponto de absorbância como em calibração univariada (VELOSO et al., 2020).

Os modelos multivariados podem ser implementados para obtenção de dados qualitativos e quantitativos. Cada amostra gerada por espectroscopia MIR gera um vetor (espectro) e seu conjunto de vetores/espectros têm-se uma matriz de dados. Os arranjos de

amostras a serem processadas são organizadas em forma de matrizes, de modo que os espectros de cada amostra são dispostos em suas linhas, e os valores de absorbância, dispostos em colunas (SENA; ALMEIDA, 2018).

Antes de iniciar propriamente a análise multivariada é importante detectar possíveis erros grosseiros. Para isso lança mão de pré-processamento do espectro, com objetivo de eliminar ou reduzir a variância aleatória, além de fontes de variação sistemáticas não desejadas. Com cautela e baseada no conhecimento sobre os princípios de cada método e sobre a natureza das fontes químicas e físicas de variação nas amostras escolhe-se um pré-processamento adequado que não elimine informação relevante, e não prejudique a qualidade do modelo (NAES et al., 2002; SENA; ALMEIDA, 2018).

Os métodos de pré-processamento podem ser aplicados tanto nas amostras (em termo matemático, linhas) quanto nas variáveis (em termos matemáticos, colunas) da matriz de dados. O pré-processamento nas amostras e variáveis são aplicados em uma amostra/variáveis de cada vez, considerando todas as variáveis e todas as amostras (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; NAES et al., 2002; SENA et al., 2017).

Tipicamente o pré-processamento aplicado ao longo das linhas da matriz, cuja utilização é mais focada em dados espectrais elimina/diminui as fontes mais comuns de variância indesejável em espectros MIR, que são os ruídos, espalhamentos e desvios de linha-base (ENGEL et al., 2013). Os métodos de alisamento (*smoothing*) são usados frequentemente para reduzir matematicamente o ruído, e aumentar a razão sinal/ruído dos espectros. Dentre os métodos *smoothing* destaca-se Savitzky-Golay amplamente utilizado em calibrações (SAVITZKY; GOLAY, 1964). Este método utiliza um filtro de média móvel, o qual sucessivamente ajusta um polinômio a cada parte/janela do espectro. Outro pré-processamento bastante utilizado são as derivadas, nas quais são ferramentas matemáticas úteis para melhorar a resolução de sinais analíticos, embora apresentem, como ônus, o incremento do ruído, e deve-se usar com parcimônia e em conjunto a algum método de alisamento. Sendo que, a primeira derivada elimina desvios de linha-base aditivos, enquanto que a segunda derivada elimina também efeitos multiplicativos (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; NAES et al., 2002).

Em adição métodos aplicados às variáveis possuem um uso mais geral, sendo centralização dos dados na média e no autoescalamento os mais importantes. Neste método, a média de cada variável é calculada e subtraída do valor de cada elemento da respectiva coluna.

A distribuição de cada variável passa a ter média zero, ou seja, o centro das coordenadas do sistema é movido da origem natural para a média multivariada dos dados (espectro médio) (BRO; SMILDE, 2014).

Após aplicar o pré-processamento adequado ao conjunto de dados, o próximo passo é a construção dos modelos. Esses modelos podem ser construídos por calibração de análise de componentes principais (PCA) ou/e multivariada (SENA; ALMEIDA, 2018). Para o uso da calibração multivariada em MIR, centenas ou até milhares de espectros de infravermelho, são usadas para construir o modelo. Define-se um bloco de variáveis independentes (espectros), contidas na matriz \mathbf{X} , e uma (ou mais) variável dependente a ser prevista, contida no vetor \mathbf{y} . Assim, o modelo é definido matematicamente como $\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b}$, sendo \mathbf{b} o vetor dos coeficientes de regressão, um para cada variável (comprimento de onda) em \mathbf{X} .

A utilização da calibração multivariada rompe várias adversidades amostrais, tais como ausência de resolução do sinal analítico, na presença de interferentes desde que presentes no conjunto de calibração, e também a possibilidade de quantificações simultâneas a partir do mesmo conjunto de espectros, quando houver mais de um analito ou propriedade a ser analisado (SENA; ALMEIDA, 2018; VELOSO et al., 2020).

Para elaboração da calibração multivariada são necessários dois conjuntos de dados: o conjunto de calibração (75% do conjunto de dados totais), a qual as propriedades são conhecidas e determinadas por outro método de referência, os valores das propriedades e os espectros são utilizados para estimar os coeficientes de regressão; e um conjunto de validação (25% do conjunto de dados totais), no qual o modelo desenvolvido é testado para prever a concentração de amostras independentes, não incluídas na calibração. O conjunto de dados totais deve ser representativo de toda a variância sistemática a ser modelada e estar distribuídas homogeneamente (ASTM E1655-05, 2017).

Enquanto a calibração univariada, uma regressão clássica, relaciona a concentração (variável independente/bloco X) à um ponto de absorbância espectral (variável dependente/bloco Y), o método dos mínimos quadrados parciais (PLS, *partial least squares*) relaciona a matriz X (composta por uma ou mais propriedade química) à matriz Y (composta por uma faixa de absorbância espectral), permitindo analisar dados com forte correlação. Além do mais os modelos tipo PLS, o mais importante método de calibração multivariada, é capaz de quantificar analitos na presença de interferentes, desde que eles tenham sido incluídos no conjunto de calibração (HAALAND; THOMAS, 1988).

A utilização do modelo construído às amostras de calibração e validação origina dois parâmetros importantes o erro associado a calibração (RMSEC) e o erro associado a predição (RMSEP). Como indicativo de precisão dos modelos PLS também é calculado o erro da validação cruzada (RMSECV), para isso um método utilizado é validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV), no qual uma amostra é removida por vez (ASTM E1655-05, 2017; ENGEL et al., 2013).

A grosso modo as variáveis latentes (LV) do modelo PLS se equivale ao maior expoente de uma equação de polinomial, e a sua determinação correta é fundamental para o sucesso do modelo, pois se esse número for menor do que um valor ideal produz um modelo subajustado (*underfit*) e com resultados inexatos; e se for um número maior do que o ideal, gera um modelo sobreajustado (*overfitting*) com capacidade preditiva exata apenas para o conjunto de dados usado na sua própria construção (SENA; ALMEIDA, 2018).

Após a construção do modelo de calibração multivariada, é necessário ainda checar se o método possui um desempenho adequado para sua aplicação desejada. Este processo de validação analítica é realizado através da estimativa de alguns parâmetros, tais como relação de coeficiente de determinação (R^2), razão de intervalo de erro (RER) e desvio de previsão residual (RPD), e gráficos de exatidão (experimental versus predito), entre outros descrito na norma regulatória para métodos multivariados usando dados de infravermelho ASTM E1655 – 17 de 2017.

2.6.3 Aplicação do FT-MIR no monitoramento de fermentação alcoólica

Durante a fermentação as células crescem e convertem o açúcar em produtos secundários como glicerol, ácidos orgânicos (succínio, acético, pirúvico), álcoois superiores, aldeídos, acetoína e butilenoglicol, gerando um caldo fermentado complexo (LIMA, 2019). Vários métodos têm sido utilizados para a quantificação de metabólitos durante a fermentação. Esses procedimentos geralmente são lentos, utilizam instrumentos caros e são de difícil implementação. Além do mais, necessitam da retirada de amostras do meio de cultivo por meio de procedimentos manuais e que muitas vezes exigem preparações demoradas, bem como consomem grande quantidade de amostra e reagentes caros.

A quantificação de etanol na fase líquida utilizando espectroscopia de infravermelho médio (MIR) tem sido aplicada em processos de produção de etanol de primeira geração

(RODRIGUES et al., 2018b; VELOSO et al., 2019, 2020), e segunda geração (PINTO et al., 2016; PINTO; RIBEIRO; FARINAS, 2018), acetona-butanol-etanol (ABE) (KANSIZ et al., 2005), cerveja (CASTRITIUS et al., 2012) e bebidas fermentadas (DEBEBE; REDIBASHIRO; CHANDRAVANSI, 2017; QUINTERO ARENAS et al., 2020). Este método apresenta inúmeras vantagens na detecção de analitos específicos em amostras de meios complexos, sendo capaz de identificar espécies diferentes com base de picos nítidos e separados na região específica de cada analito com o menor número de picos sobrepostos nos espectros (BIECHELE et al., 2015). Inúmeras pesquisas têm se voltado para o desenvolvimento de metodologias de quantificação de metabólitos na fase líquida da fermentação (DEBEBE; REDIBASHIRO; CHANDRAVANSI, 2017; KANSIZ et al., 2005; PINTO et al., 2016; PINTO; RIBEIRO; FARINAS, 2018; QUINTERO ARENAS et al., 2020; RODRIGUES et al., 2018b; VELOSO et al., 2019, 2020).

A espectroscopia de infravermelho médio (MIR) é uma técnica utilizada na identificação e quantificação de diversos compostos em meios de cultura complexos durante processos fermentativos (LANDGREBE et al., 2010). No entanto, quando a MIR é aplicada para quantificação de analitos na fase líquida, problemas podem surgir em sistemas não homogêneos devido a amostragem não representativa, a formação de bolhas de gás e/ou biofilmes na superfície de detecção e a necessidade de curvas de calibração que englobem os efeitos da temperatura, o que dificulta a utilização dessa técnica.

Alternativamente ao monitoramento da fase líquida, a fase gasosa da fermentação alcoólica contém também informações que podem ser associadas à produção de etanol. Apesar dessa abordagem apresentar vantagens na quantificação de compostos voláteis, contornando problemas inerentes da quantificação da fase líquida, poucos são os trabalhos dedicados ao monitoramento de etanol na fase líquida a partir do teor de etanol na fase gasosa, utilizando abordagem termodinâmica, balanços de massa e MIR. Metcalfe et al. (2020) monitoraram as produções de acetaldeído, etanol e CO₂ produzidos por *Escherichia coli*, utilizando espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) a partir da fase gasosa, mostrando a eficácia da técnica. Na literatura há uma carência de trabalhos baseados no balanço de massa e no equilíbrio termodinâmico para a obtenção de equações de calibração relacionando os teores de etanol nas fases gasosa e líquida. Ainda, há poucos relatos sobre os métodos estatísticos utilizados para a quantificação de etanol. Desta forma, métodos de quantificação que reúnam a técnica de espectroscopia MIR, e métodos estatísticos robustos como a calibração multivariada para a fase gasosa agregam vantagens contornando os problemas apresentados.

Capítulo 3 : Monitoramento em tempo real da fermentação alcoólica e absorção de água a partir da fase gasosa utilizando espectroscopia de infravermelho médio

3.1 Introdução

Nesse capítulo são apresentados os resultados da calibração multivariada pelo método de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) de um espectrômetro infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) para quantificação de etanol e água de correntes gasosas de fermentação alcoólica e absorção, respectivamente. As composições da fração molar para cada espectro do conjunto de calibração e validação foram calculadas combinando pressupostos termodinâmicos e balanços de massa. Os espectros passaram por pré-processamento de centralização da média (MC), suavização da média móvel (SMA), primeira (1D) e segunda derivada (2D). O melhor modelo foi escolhido baseado no menor valor do erro de validação cruzada (RMSECV). A utilidade prática dos modelos de calibração PLS foi ainda avaliada utilizando-se o coeficiente de correlação R^2 , razão de intervalo de erro (RER) e desvio de previsão residual (RPD). Dados de fermentações realizadas em modo batelada e batelada alimentada e um experimento com coluna para absorção de água foram usados com experimentos de validação que comprovam a capacidade de predição dos modelos. Esta etapa foi realizada a fim de quantificar na fase gasosa os principais componentes a serem avaliados nos processos de adsorção e absorção que serão descritos ao longo desse capítulo.

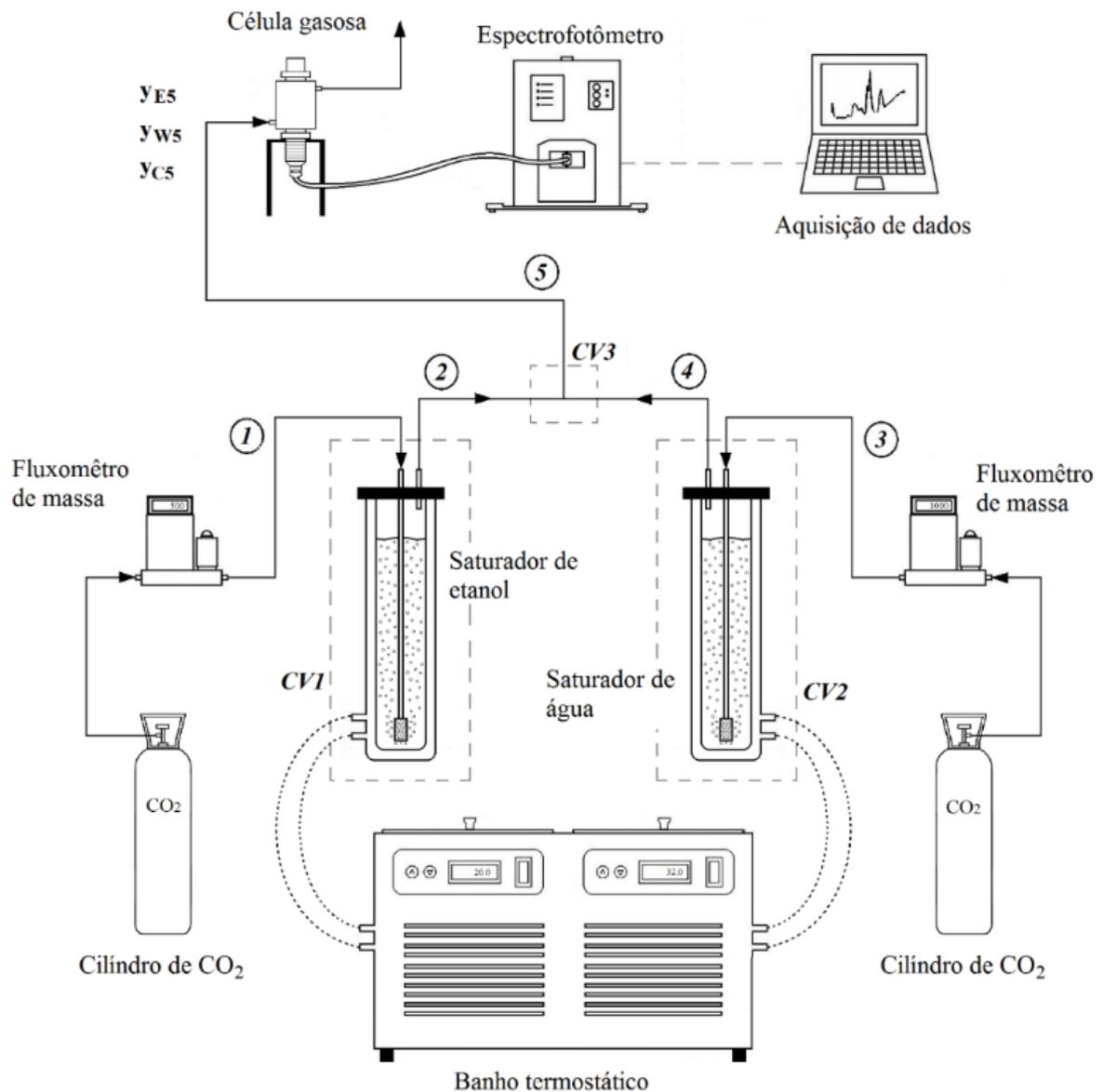
3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Aparato experimental e amostras utilizadas na etapa de calibração

A **Figura 3.1** mostra uma ilustração esquemática do aparato experimental utilizado para obter os valores de fração molar para etanol (y_{E5}) e água (y_{W5}) na fase gasosa, para fins de calibração. O dióxido de carbono (99,0% de pureza) foi injetado por meio de um aspersor sinterizado em saturadores encamisados contendo etanol (99,0% de pureza, Synth) ou água destilada. As fases gasosas efluentes dos saturadores etanol (corrente 2) e água (corrente 4) passaram por tubulação de aço inoxidável aquecida a 80 °C (volume de controle 3 - CV3). A corrente mista resultante passou para a câmara de amostragem de gás, onde os espectros foram

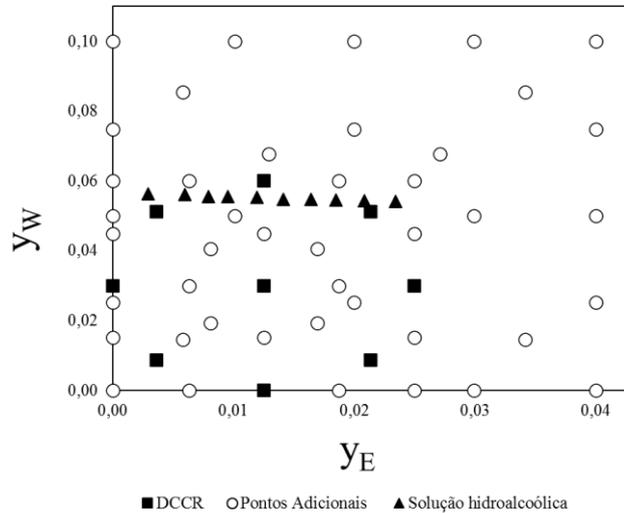
adquiridos a 110 °C. A fim de cobrir uma ampla faixa de calibração, com diferentes combinações de frações molares de etanol e água, e para dados não correlacionados, foi utilizado a matriz do planejamento experimental do tipo delineamento composto central rotacional (DCCR), com pontos adicionais, totalizando 62 amostras, conforme mostrado na **Figura 3.2**.

Figura 3.1: Ilustração esquemática do aparato experimental empregado para calibração do modelo PLS.



Fonte: autoria própria.

Figura 3.2 Fração molares baseada em um planejamento experimental do tipo delineamento composto central rotacional (DCCR) (quadrados sólidos) com pontos adicionais (círculos vazados) e frações molares de solução hidroalcoólica (triângulos sólidos).



Fonte: autoria própria.

Os valores de y_{E5} e y_{W5} são apresentados na **Tabela 3.1**, juntamente com as condições experimentais utilizadas para sua obtenção. Além dos dados y_{E5} e y_{W5} da corrente de mistura resultante dos saturadores de etanol e água (**Figura 3.1**), dados de fração molar para etanol (y_{E^*}) e água (y_{W^*}) resultantes de soluções hidroalcoólicas (usando um único saturador) com diferentes concentrações de etanol ($10\text{-}100\text{ g L}^{-1}$) foram utilizadas para calibração. A **Tabela 3.2** mostra as condições experimentais empregadas para obter os valores de y_{E^*} e y_{W^*} . Para as diferentes condições (**Tabelas 3.1 e 3.2**), as frações molares (y_{E5} , y_{W5} , y_{E^*} e y_{W^*}) foram calculadas usando princípios de equilíbrio termodinâmico e balanços de massa (descritos na próxima seção).

Tabela 3.1: Conjunto de frações molares utilizados para calibração do modelo PLS.

Amostras	φ_{CO_2} (mL min ⁻¹)			Temperatura dos saturadores (°C)		Fração molar codificada	
	Saturador de etanol	Saturador de água	CO ₂ diretamente do cilindro	Saturador de etanol	Saturador de água	y _E	y _w
1**E*W	279	1000	-	35,1	47,1	1 (0,0344)	1 (0,0871)
2*E*W	303	1000	-	34,9	16,5	1 (0,0361)	-1 (0,0148)
3*E**W	112	1000	-	18,1	44	-1 (0,0059)	1 (0,0866)
4*E**W	150	1000	-	14	14	-1 (0,0058)	-1 (0,0145)
5*E*W	118	1000	-	38,2	47	0 (0,0201)	1,41 (0,0998)
6*E	280	0	1000	24,9	-	0 (0,0197)	-1,14 (0)
7*E*W	300	1000	-	36,8	37,1	1,41 (0,0406)	0 (0,0502)
8*E*W	0	1000	-	-	32	-1,41 (0)	0 (0,0503)
9*E*W	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
10*E**W	454	1000	-	31,9	52,3	1,41 (0,04)	1,41 (0,1)
11*E	0	1000	-	-	44,9	-1,41 (0)	1,41 (0,1013)
12*E*W	0	1000	399	-	45	-1,41 (0)	0,7 (0,075)
13*E*W	0	1000	1000	-	32	-1,41 (0)	-0,7 (0,0258)
14**E*W	100	1000	-	25,7	47,2	-0,7 (0,0083)	1,41 (0,1033)
15*E	139	0	1000	24,9	-	-0,7 (0,0111)	-1,41 (0)
16**E*W	190	1000	-	18,9	34,9	-0,7 (0,0098)	0 (0,0494)
17*E*W	222	1000	-	28,7	43,1	0 (0,0199)	0,7 (0,0748)
18*E**W	219	1000	-	28,8	23,7	0 (0,0199)	-0,7 (0,025)
19**E*W	150	1000	-	34,1	34,2	0 (0,0198)	0 (0,0489)
20**E*W	435	1000	-	27,5	52,1	0,7 (0,03)	1,41 (0,1007)
21*E*W	219	1000	-	35,9	36	0,7 (0,0302)	0 (0,0507)
22*E	490	0	1000	24,9	-	0,7 (0,0293)	-1,41 (0)
23**E	458	1000	-	31,4	47,1	1,41 (0,0396)	0,7 (0,0764)
24*E*W	494	1000	-	30,4	26,9	1,41 (0,0398)	-0,7 (0,0245)

25 ^{*E}	800	0	1000	24,9	-	1,41 (0,0391)	-1,41 (0)
26 ^{*E*W}	435	1000	-	25,4	43,9	0,5 (0,0271)	0,5 (0,0661)
27 ^{**E}	320	1000	-	29,1	29,2	0,5 (0,0272)	-0,5 (0,0319)
28 ^{*E}	163	1000	-	25,7	40,4	-0,5 (0,0129)	0,5 (0,0682)
29 ^{**E*W}	150	1000	-	26,9	27	-0,5 (0,0129)	-0,5 (0,0325)
30 ^{*E**W}	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
31 ^{*E*W}	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
32 ^{*E}	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
33 ^{**E}	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
34 ^{**E}	0	0	1000	-	-	-1,41 (0)	-1,41 (0)
35 ^{*W}	425	1000	-	24	36,8	(0,0247)	(0,0454)
36 ^{*W}	425	1000	-	23,9	41,7	(0,0245)	(0,0592)
37 ^{*W}	315	1000	-	22,9	27,8	(0,0186)	(0,0296)
38 ^{*W}	481	1000	-	23	18,6	(0,0251)	(0,0150)
39 ^{*W}	207	1000	-	22	14,8	(0,0125)	(0,0145)
40 ^{*W}	168	1000	-	20,4	18,1	(0,0096)	(0,0186)
41 ^{*W}	211	1000	-	21,5	38,8	(0,0125)	(0,0601)
42 ^{*W}	425	1000	-	23,9	41,7	(0,0245)	(0,0592)
43 ^{*W}	127	1000	-	17,4	37,4	(0,063)	(0,0600)
44 ^{**W}	385	1000	-	18,9	33,9	(0,017)	(0,0399)
45 ^{*W}	147	1000	-	19,2	30,6	(0,0080)	(0,0402)
46 ^{**W}	153	1000	-	14,8	25,4	(0,0063)	(0,0295)
47 ^{**W}	112	1000	-	13,7	4,5	(0,0037)	(0,0496)
48 ^{**W}	890	1000	-	14,3	14	(0,0212)	(0,0087)
49 ^{*W}	93	1000	-	13,7	4,5	(0,0036)	(0,0080)
50 ^{*W}	0	1000	-	-	23,2	(0)	(0,0300)
51 ^{*W}	0	1000	-	-	30,3	(0)	(0,0457)
52 ^{**W}	0	1000	-	-	35,4	(0)	(0,0609)

^{*W} Amostras usadas no conjunto de calibração da água, ^{**W} Amostras usadas no conjunto de validação da água, ^{*E} Amostras usadas no conjunto de calibração do etanol e ^{**E} Amostras usadas no conjunto de validação do etanol.

Tabela 3.2: Frações molares de etanol proveniente de soluções hidroalcoólicas.

Amostras	T (°C)	Vazão volumétrica (mL min ⁻¹)	C _E (g L ⁻¹)	Frações molar codificada		Frações molar descodificada	
				y _E [*]	y _w [*]	y _E [*]	y _w [*]
53 ^{*E}			11,1	-0,85	0,13	0,0029	0,0564
54 ^{*E}			23,2	-0,70	0,12	0,0060	0,0561
55 ^{*E}			31,2	-0,60	0,11	0,0079	0,0556
56 ^{*E}			37,8	-0,52	0,11	0,0095	0,0555
57 ^{*E}	34	500	48,0	-0,40	0,10	0,0119	0,0552
58 ^{**E}			57,8	-0,29	0,09	0,0141	0,0547
59 ^{*E}			67,7	-0,18	0,10	0,0164	0,0548
60 ^{*E}			77,3	-0,08	0,09	0,0185	0,0546
61 ^{*E}			88,5	0,04	0,09	0,0209	0,0544
62 ^{*E}			101,2	0,17	0,08	0,0234	0,0541

^{*E} Amostras usadas no conjunto de calibração do etanol e ^{**E} Amostras usadas no conjunto de validação do etanol.

3.2.2 Cálculo das frações molares de calibração

Os valores das frações molares de etanol e água foram obtidas por meio da aplicação de premissas termodinâmicas e balanços de massas nas correntes gasosas e nos volumes de controle da **Figura 3.1**.

Balanço de massa no saturador de etanol – volume de controle 1 (CV1)

A vazão molar de CO₂ na corrente 1 (\dot{n}_1) foi obtida admitindo-se que o comportamento do gás seja ideal e negligenciando, no saturador, a solubilidade de CO₂ no etanol, utilizando a **Equação 3.1**.

$$\dot{n}_1 = \frac{PQ_1}{RT_1} \quad (3.1)$$

onde P é a pressão absoluta (atm), Q₁ é a vazão volumétrica de CO₂ (L min⁻¹), T₁ é a temperatura absoluta (K) e R é a constante dos gases (0,08206 L atm K⁻¹ mol⁻¹)

A vazão molar da corrente 2 (\dot{n}_2 , **Equação 3.2**) foi obtida a partir de um balanço de massa no volume de controle 1 (CV1) para o CO₂. As frações molares de etanol (y_{E2}, **Equação 3.3**) e de CO₂ (y_{C2}, **Equação 3.4**) foram obtidas a partir das equações de balanço de massa.

$$\dot{n}_2 = \frac{\dot{n}_1}{y_{C2}} \quad (3.2)$$

$$y_{E2} = \frac{P_{VE}}{P} \quad (3.3)$$

$$y_{C2} = 1 - y_{E2} \quad (3.4)$$

onde pressão de vapor de etanol (P_{VE}) foi obtida usando a equação de Antoine (**Equação 3.5**).

$$P_{Vi} = \frac{1}{P} e^{\left(A_i^* - \frac{B_i^*}{C_i^* + T}\right)} \quad (3.5)$$

onde A_i^* , B_i^* e C_i^* são constantes da equação de Antoine e os valores utilizados para etanol foram $A_E^* = 16,90$, $B_E^* = 3803,98$ (K) e $C_E^* = -41,68$ (K) (POLING; PRAUSNITZ; O'CONNELL, 1959).

Balanco de massa no saturador de água – volume de controle 2 (CV2)

A vazão molar da corrente 3 (\dot{n}_3) foi obtida a partir da equação dos gases ideais (**Equação 3.6**) e negligenciando, no saturador, a solubilidade de CO₂ na água.

$$\dot{n}_3 = \frac{PQ_3}{RT_3} \quad (3.6)$$

onde Q_3 é a vazão volumétrica de CO₂ da corrente 3 em (L min⁻¹) e T_3 é a temperatura do saturador de água (K).

A vazão molar da corrente 4 (\dot{n}_4 , **Equação 3.7**), que deixa o saturador de água, foi obtida usando um balanço de massa para o CO₂ no volume de controle 2 (CV2). As frações molares de água (y_{W4} , **Equação 3.8**) e de CO₂ (y_{C4} , **Equação 3.9**) da corrente 4 foram obtidos a partir das equações de balanço de massa.

$$\dot{n}_4 = \frac{\dot{n}_3}{y_{C4}} \quad (3.7)$$

$$y_{W4} = \frac{P_{VW}}{P} \quad (3.8)$$

$$y_{C4} = 1 - y_{W4} \quad (3.9)$$

onde a pressão de vapor de água (P_{VW}) foi obtida usando a equação de Antoine (**Equação 3.5**) e os valores de suas constantes foram $A_W^* = 16,29$, $B_W^* = 3816,44$ (K) e $C_W^* = -46,13$ (K) (POLING; PRAUSNITZ; O'CONNELL, 1959).

Balço de massa no ponto de mistura – volume de controle 3 (CV3)

A corrente gasosa de etanol (corrente 2) e a corrente gasosa de água (corrente 4) misturam-se formando a corrente 5 onde a composição da fração molar de etanol (y_{E5} , **Equação 3.10**), fração molar de água (y_{W5} , **Equação 3.11**) foram determinadas por meio dos balanços de massa, e de CO₂ usou-se a soma das frações molares (y_{C5} , **Equação 3.12**) no volume de controle 3 (CV3).

$$y_{E5} = \frac{y_{E2}\dot{n}_2}{\dot{n}_5} \quad (3.10)$$

$$y_{W5} = \frac{y_{W4}\dot{n}_4}{\dot{n}_5} \quad (3.11)$$

$$y_{C5} = 1 - y_{E5} - y_{W5} \quad (3.12)$$

onde \dot{n}_2 , \dot{n}_4 e \dot{n}_5 são as vazões molares totais das corrente 2, 4 e 5, respectivamente.

3.2.3 Cálculo das frações molares de etanol e água das soluções hidroalcoólicas

A fração molar de etanol (y_E^* , **Equação 3.13**) e de água (y_W^* , **Equação 3.14**) na fase gasosa foram obtidos a partir das premissas termodinâmicas de equilíbrio líquido-vapor por meio da lei de Raoul modificada combinada com a equação de Antoine. Foi negligenciado, no saturador, a solubilidade de CO₂ na solução hidroalcoólica e admitido que a fase vapor se comporta como um gás ideal (pressão do sistema menor que 1 atm). As somas das frações molares dos componentes nas fases líquida (**Equação 3.15**) e gasosa (**Equação 3.16**) também foram usadas.

$$y_E^*P = \gamma_E x_E P_{VE} \quad (3.13)$$

$$y_W^*P = \gamma_W x_W P_{VW} \quad (3.14)$$

$$x_E + x_W = 1 \quad (3.15)$$

$$y_E^* + y_W^* + y_C^* = 1 \quad (3.16)$$

onde x_E , x_W são as frações molar de etanol e água nas soluções hidroalcoólicas, y_C^* é a fração de CO₂ na fase gasosa, e γ_E e γ_W são os coeficientes de atividade do etanol e da água.

A fração molar de etanol na fase líquida (x_E , **Equação 3.17**) foi calculada por meio de correlação experimental obtida para soluções hidroalcolicas com concentração de etanol (C_E) variando de 0 a 110 g L⁻¹ na temperatura de 34 °C.

$$x_E = 0,0000003447C_E^2 + 0,0003927611C_E \quad (3.17)$$

O sistema composto pelas **Equações 3.13-3.16** apresenta quatro variáveis desconhecidas (x_W , y_E^* , y_W^* e y_C^*) e pode, portanto, ser resolvido (possui grau de liberdade zero). Assim, é possível obter a composição da fase gasosa que se encontra em equilíbrio com a fase líquida presente no saturador a temperatura constante.

3.2.4 Cálculo da concentração de etanol a partir da fração molar de etanol na fase gasosa (y_E) no caldo fermentado

Assumindo que o caldo de fermentação é uma solução hidroalcolica, os valores das frações molares de etanol na fase líquida (x_E) durante a fermentação foram obtidas utilizando as **Equações 3.13 a 3.17** e usando o valor de y_E^* estimado durante a fermentação pelo modelo de calibração PLS desenvolvido neste trabalho. Posteriormente, a C_E foi determinada utilizando uma correlação obtida por meio de uma tabela alométrica (**Equação 3.17**) que relaciona C_E e y_E^* na temperatura de 34 °C (GREEN; PERRY, 2008).

3.2.5 Estimativa da concentração de substrato a partir da fração y_E no caldo fermentado

Com o monitoramento em tempo real da fração molar de etanol e por meio das **Equações 3.13 e 3.17** foi possível determinar a concentração de etanol durante a fermentação e usar este valor para estimar o valor da concentração de substrato por meio da **Equação 3.18**.

$$C_S = C_{S(0)} - \frac{C_{E(f)} - C_{E(i)}}{Y_{P/S}} \quad (3.18)$$

onde C_S é a concentração de açúcares redutores totais (ART, definida como glicose mais frutose livres e potencialmente obtidas da hidrólise da sacarose) (g L⁻¹), $C_{S(0)}$ é a concentração inicial (ART) (g L⁻¹), $C_{E(f)}$ é a concentração de etanol no final (g L⁻¹), $C_{E(0)}$ é a concentração de etanol no tempo zero (g L⁻¹), e $Y_{P/S}$ é o coeficiente de rendimento substrato em produto admitido como 0,46 g_{etanol} g_{substrato}⁻¹ para a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* Y904 (CRUZ; RESENDE; RIBEIRO, 2018).

3.2.6 Espectroscopia FT-MIR

Os dados espectrais utilizado para as curvas de calibração foram adquiridos pelo espectrômetro de infravermelho médio com transformada de Fourier ReactIR45m (ReactIR 45m, Mettler-Toledo AutoChem, Inc.) que possui um detector de telureto de cádmio de mercúrio (MCT) (resfriado por nitrogênio líquido) conectado a uma célula de gás (fibra DST para Gas Cell, Mettler-Toledo) por um cabo de transmissão IR Fiber Conduit™ AgX (haleto de prata) de 1,5 m de comprimento, diâmetro de 6,35 mm e uma única fibra (Mettler-Toledo) com uma fonte de luz infravermelha média de filamento de tungstênio fornecido pela Mettler-Toledo (**Figura 3.1**). O sistema foi equipado com um sistema de purga com gás nitrogênio para remover água e ar do compartimento óptico. Antes de iniciar os experimentos, gás nitrogênio também foi passado pela célula de gás na câmara por 30 min, para remover água e ar. Um espectro de gás nitrogênio foi coletado para uso como pano de fundo. Os espectros foram adquiridos na faixa de 3335 a 15411 nm, com resolução de 4,2 nm, com 256 varreduras por amostra, a 110 °C (temperatura do gás da célula).

3.2.7 Pré-processamento dos dados e análise multivariada

A análise multivariada por meio do método de mínimos quadrados parciais (PLS) foi utilizada para a calibração do conjunto de dados de calibração para etanol e água. Os valores de fração molar de etanol da corrente gasosa (**Tabelas 3.1 e 3.2**) foram divididos em um conjunto calibração (33 amostras) e um conjunto de validação (11 amostras), sendo estes valores escolhidos aleatoriamente dentro da faixa de calibração para o analito etanol. Os dados de fração molar de água da corrente gasosa (**Tabelas 3.1**) foram divididos em dois conjuntos, sendo um utilizado para a calibração (31 amostras) e o outro para a validação (10 amostras). Para compor estes conjuntos as amostras foram escolhidas aleatoriamente na faixa de calibração do analito água.

Os espectros coletados para gerar as curvas de calibração foram pré-processados usando diferentes tratamentos matemáticos para obter melhor curva de calibração. As técnicas de centralização da média (MC), primeira (1D) e segunda derivada (2D) e método de média móvel de suavização (SMA) foram avaliadas como pré-tratamento. Para a técnica de SMA foi selecionando janelas de comprimento de onda de 22,4 cm⁻¹ (7 pontos de dados). Selecionado o método de regressão PLS o conjunto de treinamento foi usado no procedimento convencional de validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV). O conjunto de validação foi usado apenas para

confirmar a predição dos modelos PLS e não inserido no conjunto para elaboração do modelo. O número de variáveis latentes (LV) de cada modelo foi escolhido como sendo aquele em que tanto a raiz quadrada do erro médio de validação cruzada (RMSECV, **Equação 3.19**) quanto a raiz quadrada do erro médio de calibração (RMSEC, **Equação 3.20**) estivesse decrescendo de forma conjunta e ainda apresentasse o menor valor de erro médio de calibração (RMSEC). A capacidade preditiva do modelo em relação aos dados externos (conjunto de validação) foi determinada por meio da raiz quadrada do erro médio de predição (RMSEP, **Equação 3.21**).

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{n_{cal}} \sum_{j=1}^{n_{cal}} (y_j^{(i)} - \hat{y}_j^{(i)})^2} \quad (3.19)$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{1}{n_{cal} - LV} \sum_{j=1}^{n_{cal}} (y_j^{(i)} - \hat{y}_j^{(i)})^2} \quad (3.20)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{n_{val}} \sum_{j=1}^{n_{val}} (y_j^{(i)} - \hat{y}_j^{(i)})^2} \quad (3.21)$$

onde n_{cal} e n_{val} são os tamanhos dos conjuntos de calibração e de validação, LV é o número de variáveis latentes, e $y_j^{(i)}$ e $\hat{y}_j^{(i)}$ são as frações de referência e as frações prevista da j -ésima amostra, respectivamente.

A utilidade prática dos modelos de calibração PLS foi ainda avaliada utilizando-se o coeficiente de determinação (R^2), razão de intervalo de erro (RER, **Equação 3.22**) e desvio de previsão residual (RPD, **Equação 3.23**).

$$RPD = \frac{SD_{val}}{RMSEP} \quad (3.22)$$

$$RER = \frac{range_{val}}{RMSEP} \quad (3.23)$$

onde SD_{val} é o desvio padrão dos dados de fração molar no conjunto de validação; $range_{val}$ é o intervalo dos dados de fração molar no conjunto de validação.

A aquisição, pré-processamento dos dados, e a análise do desempenho dos modelos PLS, foram realizados no software IC IR v. 4.3.35 SP1 (Mettler-Toledo AutoChem, Inc.).

Os parâmetros R^2 , RPD e RER são adimensionais e podem fornecer a capacidade preditiva do modelo. A acurácia do modelo de calibração foi avaliada considerando o coeficiente de determinação (R^2) (WILLIAMS, 2004). A utilidade prática do modelo foi avaliada por meio da razão de erro de intervalo (RER) (WILLIAMS; NORRIS, 1987), enquanto a acurácia preditiva foi avaliada por meio do RPD (SAEYS; MOUAZEN; RAMON, 2005). Modelos usados para classificação grosseira sem capacidade de previsão têm valores de RER menores que 4, RPD menores que 3 e R^2 menores que 0,8; modelos com boa predição têm RER entre 4 e 15, RPD entre 2,4 e 3; e R^2 entre 0,81 e 0,90; e modelos com excelente predição quantitativa são aqueles que apresentam RER maior que 15, RPD maior que 3 e R^2 maior que 0,90 (AACC, 1999; WILLIAMS; NORRIS, 2001, 1987).

3.2.8 Fermentações

Microorganismos e meio de cultura

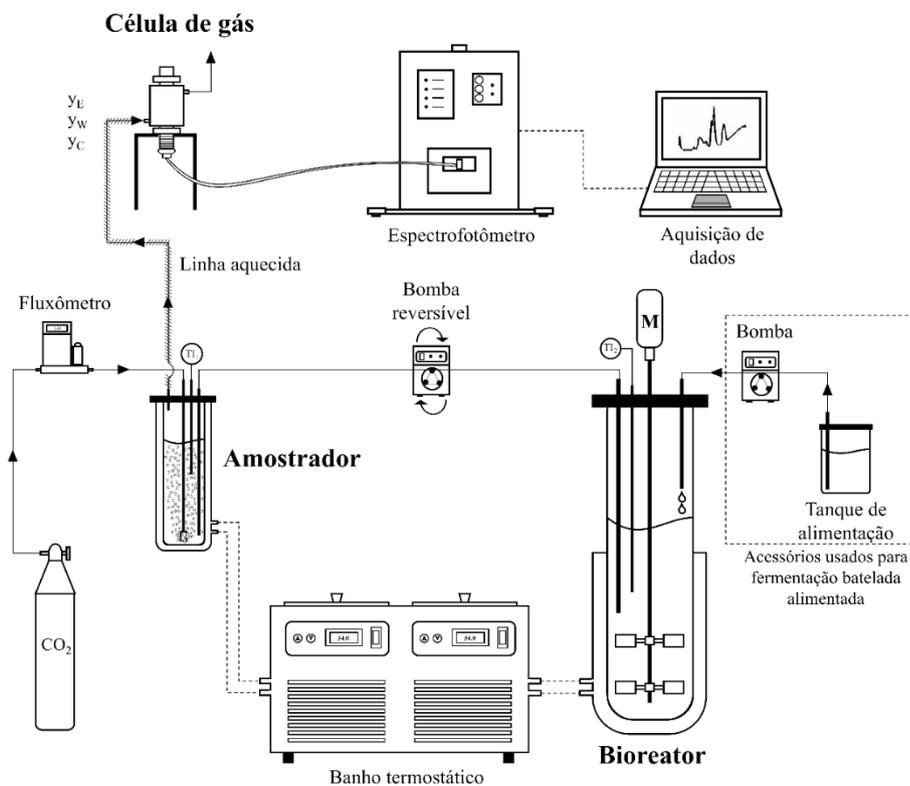
O inóculo utilizado foi a cepa industrial liofilizada da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 (AB Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., Brasil). Duas fermentações foram realizadas: uma fermentação batelada (FB) com mosto preparado com sacarose comercial e uma fermentação batelada alimentada (FBA) usando mosto industrial (caldo de cana fornecido por uma destilaria brasileira no estado de São Paulo). O mosto do experimento FB foi preparado com os seguintes componentes: sacarose (244 g L^{-1} , equivalente a 257 g L^{-1} de açúcares redutores totais, ART), extrato de levedura ($9,7 \text{ g L}^{-1}$), KH_2PO_4 (8 g L^{-1}), uréia ($7,6 \text{ g L}^{-1}$) e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2 g L^{-1}). O pH inicial foi ajustado para 4,6 adicionando HCl 1,0 M. O mosto do experimento FBA também continha 257 g L^{-1} de ART e foi suplementado com extrato de levedura, uréia, KH_2PO_4 e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas mesmas concentrações utilizadas para o mosto FB.

Procedimento experimental

A fermentação em modo batelada com mosto industrial (FB) foi realizada em biorreator tipo torre com volume de trabalho de 5 L. O reator é composto por uma parte superior de vidro e uma base encamisada, para troca térmica, de aço inoxidável (66,8 cm de altura total, 40 cm de altura líquida e 12,5 cm diâmetro interno) (**Figure 3.3**). A levedura liofilizada (107 g) foi hidratada em 1,5 L de água destilada (inóculo correspondente a 30% do volume total) por 5 min com agitação mecânica de 800 rpm. Após 20 min adicionou-se o mosto (3,5 L), totalizando o volume de trabalho final (5 L) no biorreator. A agitação do caldo fermentativo foi

mantida por meio de um eixo mecânico contendo dois impelidores pás planas com a rotação de 250 rpm. Para prevenir a excessiva formação de espuma, quando necessário foi adicionado o agente antiespumante comercial (Qualifoam, diluído 1:10). A temperatura do meio de cultivo foi mantida a 34 °C recirculando a água de um banho termostático duplo (SL-152, Solab) para a camisa do biorreator. Amostras líquidas (10 mL) foram retiradas a cada 1 hora para determinação das concentrações de sacarose, glicose, frutose e etanol. Para a amostragem gasosa a cada 1 hora de fermentação bombeou-se para o amostrador encamisado ligado ao banho termostático duplo (SL-152, Solab) a 34 °C, um volume de 0,8 L de caldo fermentado (**Figura 3.3**). CO₂ gasoso a uma vazão de 500 mL min⁻¹ foi borbulhado no amostrador para gerar a amostra gasosa. A amostra gasosa foi então direcionada para tubos inox de ¼ de polegada pré aquecidos a 80 °C e então até a célula gasosa aquecida a 110 °C, onde os espectros FT-MIR, em tempo real, foram adquiridos. Após análise da fase gasosa (realizada durante 1 min), o caldo de fermentação no amostrador (0,8 L) foi bombeado de volta para o biorreator. As fermentações prosseguiram até ao esgotamento total do substrato.

Figura 3.3: Ilustração esquemática do aparato experimental empregado nos experimentos de fermentação operados no modo batelada e batelada alimentada.



Fonte: autoria própria.

A fermentação realizada no modo batelada alimentada empregando caldo de cana-de-açúcar (FBAc) seguiu o mesmo procedimento experimental descrito para a fermentação em batelada, com exceção da etapa de alimentação do mosto. O mosto foi alimentado por 5 h, com vazão constante de $0,7 \text{ L h}^{-1}$, utilizando uma bomba peristáltica (Modelo 120U, Watson-Marlow), resultando em um volume final de 5 L.

Análise da fermentação

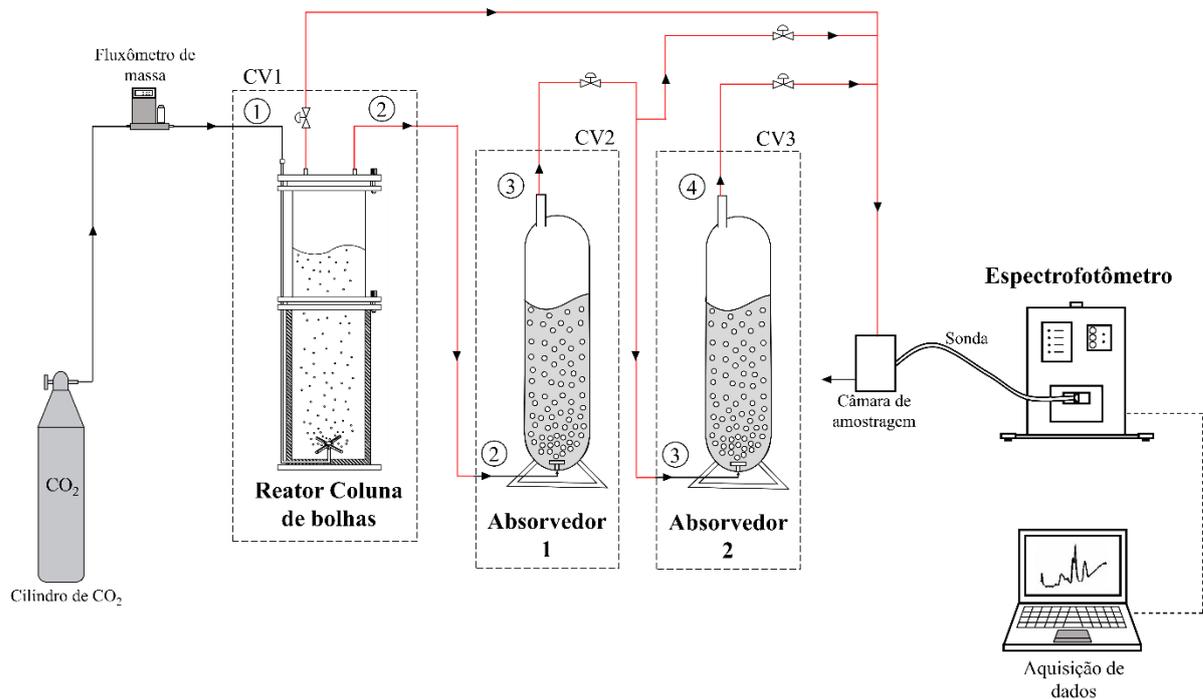
As amostras líquidas foram coletadas a cada hora e centrifugadas a $10414 \times g$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 min. A massa de células foi descartada e o sobrenadante foi filtrado e determinado as concentrações de sacarose, glicose, frutose e etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando um cromatógrafo Waters 717 autosampler plus equipado com detector de índice de refração (Water, 2414, USA) ($40 \text{ }^\circ\text{C}$) e coluna Sugar-Pak I ($300 \times 6,5 \text{ mm}$, $10 \text{ }\mu\text{m}$, Waters) operando em temperatura de $80 \text{ }^\circ\text{C}$ com água ultrapura e EDTA de cálcio a uma vazão de $0,50 \text{ mL min}^{-1}$ como eluente. Os padrões usados foram soluções de sacarose, glicose, frutose e etanol em concentrações entre $0,1$ e $10,0 \text{ g L}^{-1}$.

3.2.9 Absorção

Geração da corrente gasosa de solução hidroalcoólica por arraste com CO_2 para alimentar a etapa de absorção

A **Figura 3.4** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos de absorção de água utilizando solução hidroalcoólica. Para representar o caldo das fermentações etanólicas usou soluções hidroalcoólicas com concentração inicial de 80 g L^{-1} ($10\% \text{ v v}^{-1}$) a $34 \text{ }^\circ\text{C}$ como citado por (RODRIGUES, 2019; SONEGO, 2016). A corrente gasosa gerada foi obtida por meio de um sistema de arraste de etanol e água por CO_2 através de uma solução alcoólica em um biorreator pneumático tipo coluna de bolhas com volume útil de 2 L. A vazão volumétrica de CO_2 foi 4 L min^{-1} (2 vvm). Uma saída de corrente gasosa do reator foi conectada a um tubo inox de $\frac{1}{4}$ de polegada pré-aquecido a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ que direcionou as amostras até a célula de medida (mantida na temperatura de $110 \text{ }^\circ\text{C}$), onde os espectros FT-MIR, em tempo real, foram adquiridos. Outra saída do reator foi conectada à entrada do absorvedor 1.

Figura 3.4: Ilustração do aparato experimental dos ensaios de absorção



Fonte: autoria própria.

Balanco de massa no stripping para água

Um balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO_2) foi efetuado para determinar a quantidade de massa arrastada de água durante todo o processo de *stripping*. As correntes e volumes de controle (CV) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados na **Figura 3.4**. As composições molares na corrente 2 de água (y_{AW2} , **Figura 3.4**) e etanol (y_{AE2} , **Figura 3.4**) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO_2 (y_{AC2} , **Equação 3.24**) foi obtida pela diferença.

$$y_{AC2} = 1 - y_{AE2} - y_{AW2} \quad (3.24)$$

Admitindo o volume de controle 1 (CV1) como sendo o bioreator coluna de bolhas (**Figura 3.4**) a vazão molar correspondente a corrente de entrada 1 (\dot{n}_{A1}) é a mesma que sai do fluxometro, e pode ser calculada admitindo que o gás é ideal (**Equação 3.25**).

$$\dot{n}_{A1} = \frac{PQ_1}{RT} \quad (3.25)$$

onde P é a pressão absoluta (atm), Q_1 é a vazão volumétrica de CO_2 (L min^{-1}), T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante dos gases ($0,08206 \text{ L atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$).

A vazão molar da corrente 2 (\dot{n}_{A2} , **Equação 3.26**) foi obtida a partir de um balanço de massa no volume de controle 1 (CV1). E o valor de \dot{n}_{AW2} foi determinado usando uma equação de balanço para água (**Equação 3.27**).

$$\dot{n}_{A2} = \frac{\dot{n}_{A1} y_{AC1}}{y_{AC2}} \quad (3.26)$$

$$\dot{n}_{AW2} = \dot{n}_{A2} y_{AW2} \quad (3.27)$$

Onde y_{AC1} é igual a 1 e corresponde a fração molar de CO_2 na corrente 1 proveniente do cilindro de CO_2 .

A vazão mássica de água da corrente 2 (\dot{m}_{AW2}) foi obtida pela (**Equação 3.28**).

$$\dot{m}_{AW2} = \dot{n}_{A2} MM_W \quad (3.28)$$

onde MM_W é a massa molar da água $18,016 \text{ g mol}^{-1}$.

Procedimento experimental da absorção

Subsequente ao reator a mistura gasosa foi injetada no absorvedor 1 conectado em série ao absorvedor 2 (**Figura 3.4**) contendo 0,8 L (40% do volume de trabalho do biorreator) de monoetilenoglicol (MEG) em cada um e mantidos a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por imersão dos absorvedores em banho termostático. Os absorvedores tipo coluna de bolhas possuíam 37 cm de altura total e 6,0 cm de diâmetro interno e eram equipados com aspersores de vidro sinterizado localizados na base do dispositivo. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e duraram 8 h. A cada duas horas eram retiradas dos absorvedores amostras da fase líquida para quantificação de água pela metodologia de FT-MIR (RODRIGUES et al., 2021). O volume da fase líquida foi determinado medindo-se a altura da coluna de líquido a cada hora após o desligamento do gás. A fração molar de água (y_w) foi quantificada a partir da fase gasosa na entrada dos absorvedores 1 e 2 e na saída do absorvedor 2 em tempo real por espectroscopia de infravermelho utilizando a metodologia desenvolvida na presente etapa de trabalho.

Balanço de massa na absorção

Balanços de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO₂) foram efetuados para determinar a quantidade de massa de água absorvida durante todo o processo de absorção nos dois absorvedores. As correntes e volumes de controle (CV) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados na **Figura 3.4**.

Para o absorvedor 1 as composições molares na corrente 3 de água (y_{AW3} , **Figura 3.4**) e etanol (y_{AE3} , **Figura 3.4**) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{AC3} , **Equação 3.29**) foi obtida pela diferença.

$$y_{AC3} = 1 - y_{AE3} - y_{AW3} \quad (3.29)$$

A vazão molar correspondente a corrente de entrada 2 (\dot{n}_{A2}) foi determinada por meio da **Equação 3.26**. Admitindo o volume de controle 2 (CV2) como sendo o absorvedor 1 (**Figura 3.4**) a vazão molar da corrente 3 (\dot{n}_{A3} , **Equação 3.30**) foi obtida a partir de um balanço de massa no CV2. O valor de \dot{n}_{AW3} foi determinado usando uma equação de balanço para água (**Equação 3.31**).

$$\dot{n}_{A3} = \frac{\dot{n}_{A2} y_{AC2}}{y_{AC3}} \quad (3.30)$$

$$\dot{n}_{AW3} = \dot{n}_{A3} y_{AW3} \quad (3.31)$$

A vazão mássica de água da corrente 3 (\dot{m}_{AW3}) foi obtida pela (**Equação 3.32**).

$$\dot{m}_{AW3} = \dot{n}_{A3} M M_W \quad (3.32)$$

A quantidade de massa de água absorvida no absorvedor 1 em cada instante foi determinada utilizando a **Equação 3.33**.

$$m_{w,ABS1}(t) = \int_0^t (\dot{m}_{AW2} - \dot{m}_{AW3}) dt \quad (3.33)$$

Também foi possível determinar a concentração de água absorvida no absorvedor 1 em cada instante utilizando a **Equação 3.34**.

$$C_{W,ABS1} = \frac{m_{w,ABS1}(t)}{V_{Ab,1}(t)} \quad (3.34)$$

onde $V_{Ab,1(t)}$ é o volume de solução absorvente contida no absorvedor 1 no instante t.

Para o absorvedor 2 as composições molares na corrente 4 de água (y_{AW4} , **Figura 3.4**) e etanol (y_{AE4} , **Figura 3.4**) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{AC4} , **Equação 3.35**) foi obtida pela diferença.

$$y_{AC4} = 1 - y_{AE4} - y_{AW4} \quad (3.35)$$

A vazão molar correspondente a corrente de entrada 3 (\dot{n}_{A3}) foi determinando por meio da **Equação 3.30**. Admitindo o volume de controle 3 (CV3) como sendo o absorvedor 2 (**Figura 3.4**) a vazão molar da corrente 4 (\dot{n}_{A4} , **Equação 3.36**) foi obtida a partir de um balanço de massa no CV3. O valor de \dot{n}_{AW4} foi determinado usando uma equação de balanço para água (**Equação 3.37**).

$$\dot{n}_{A4} = \frac{\dot{n}_{A3} y_{AC3}}{y_{AC4}} \quad (3.36)$$

$$\dot{n}_{AW4} = \dot{n}_{A4} y_{AW4} \quad (3.37)$$

A vazão mássica de água da corrente 4 (\dot{m}_{AW4}) foi obtida pela (**Equação 3.38**).

$$\dot{m}_{AW4} = \dot{n}_{A4} M M_W \quad (3.38)$$

A quantidade de massa de água absorvida no absorvedor 2 em cada instante foi determinada utilizando a **Equação 3.39**.

$$m_{w,ABS1(t)} = \int_0^t (\dot{m}_{AW3} - \dot{m}_{AW4}) dt \quad (3.39)$$

Também foi possível determinar a concentração de água absorvida no absorvedor 2 em cada instante utilizando a **Equação 3.40**.

$$C_{W,ABS2} = \frac{m_{w,ABS2(t)}}{V_{Ab,2(t)}} \quad (3.40)$$

onde $V_{Ab,2(t)}$ é o volume de solução absorvente contida no absorvedor 2 no instante t.

Análise da absorção

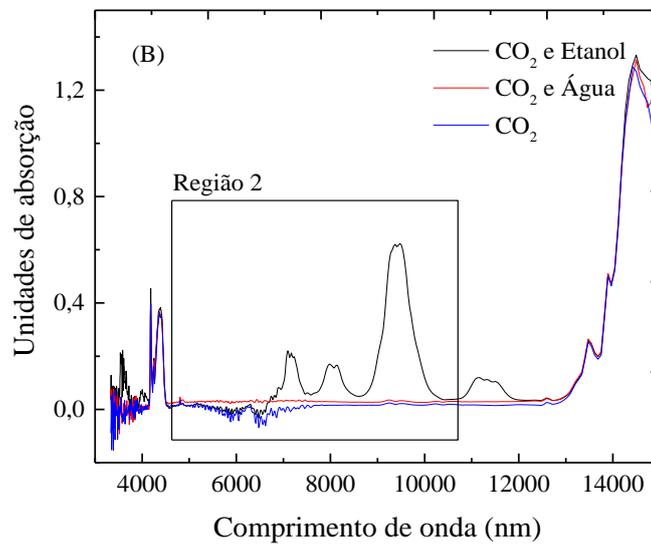
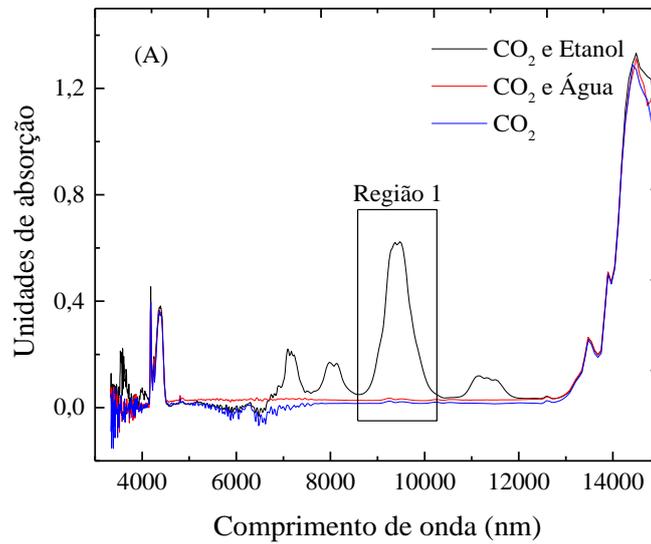
As amostras líquidas foram coletadas a cada duas horas dos absorvedores 1 e 2. As concentrações de água e etanol foi determinado por uma metodologia descrita no trabalho de Rodrigues et al. (2021) utilizando a técnica de FT-MIR na fase líquida.

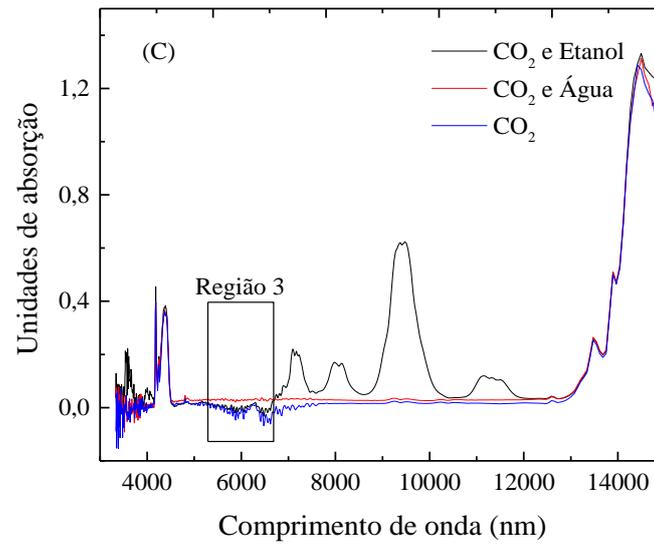
3.3 Resultados e Discussões

3.3.1 Região espectral escolhida

Os espectros para misturas gasosas contendo etanol/CO₂ e água/CO₂, juntamente com o espectro para CO₂ puro, são mostrados na **Figura 3.5**. Três regiões foram selecionadas para a calibração, duas para curva de calibração do etanol (região 1 e 2) e uma para curva de calibração da água (região 3). A região 1 (**Figura 3.5a**) cobriu a principal banda de absorção do etanol, variando de 8695 a 10416 nm (ROBERTS; CASEIRO, 2021; RODRIGUES et al., 2018b). A região 2 (**Figura 3.5b**) cobriu a banda para etanol e água, variando de 4545 a 10416 nm. E a região 3 (**Figura 3.5c**) cobriu a banda para água, variando de 5555 a 6666 nm. Embora a água no estado gasoso tenha um pico de absorbância em uma região diferente daquela do pico de absorbância principal do etanol gasoso, a água foi incluída no conjunto de dados de calibração para garantir que não interferisse na quantificação do etanol. Além disso, o CO₂ utilizado como gás de arraste e presente em maior proporção nas amostras da mistura gasosa apresentou uma banda de absorção na faixa de 4132 a 4545 nm, distante da região utilizada para calibração, impedindo qualquer interferência na quantificação do etanol.

Figura 3.5: Espectros FT-MIR brutos adquiridos na fase gasosa para os componentes água, etanol e CO₂. As caixas mostram (A) região 1 (de 8695 a 10416 nm) e (B) região 2 (de 4545 a 10416 nm) usada para calibração na calibração do etanol e (C) região 3 (de 5555 a 6666 nm) usada para calibração na calibração da água.



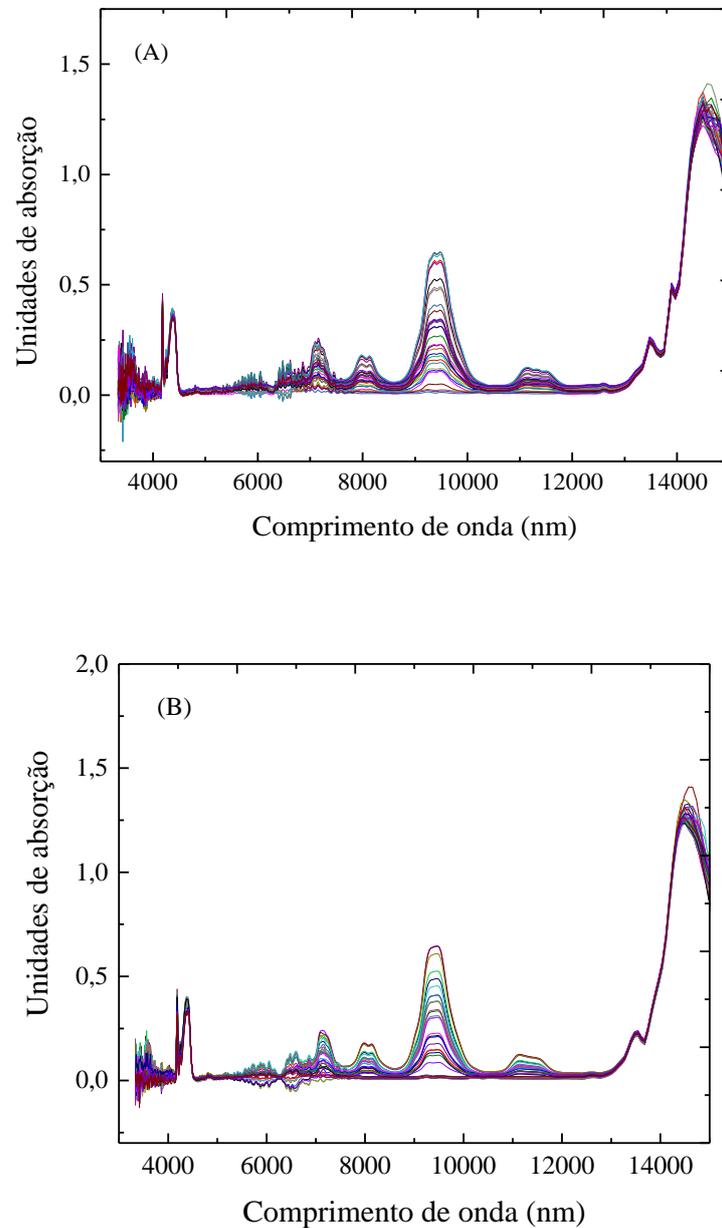


Fonte: autoria própria.

3.3.2 Processamento de dados

Os diferentes espectros correspondentes às frações molares do conjunto de calibração dos analitos etanol e água, são apresentados na **Figura 3.6**.

Figura 3.6: Espectros FT-MIR adquiridos na fases gasosa para as amostras da calibração dos analitos (A) etanol e (B) água.



Fonte: autoria própria.

A **Figura 3.6** mostra os dados espectrais FT-MIR brutos usados para calibração dos analitos etanol e água. O método calibração multivariada PLS foi utilizado, pois possibilitou a quantificação dos analitos (GABRIELSSON; TRYGG, 2006). Ambos os espectros utilizados para a calibração dos analitos etanol e água foram pré-processados aplicando os métodos de centralização da média (MC), média móvel de suavização (SMA), primeira derivada (1D) e

segunda derivada (2D) para remover a influência do ruído experimental e melhorar as características espectrais para a obtenção dos modelos PLS. O método MC foi utilizado para deslocar as coordenadas até a origem do sistema, onde cada variável teria média zero, descrevendo efetivamente a direção do conjunto de pontos (BRERETON, 2007). Um método de suavização de média foi usado para reduzir matematicamente o ruído, aumentando a relação sinal-ruído dos espectros, sendo o SMA aplicado para calcular as médias de janelas de comprimento “n” movendo-se ao longo do sinal analítico do espectro, um ponto por vez, na faixa de 3335 a 15411 nm, na resolução de 4,2 nm. Derivadas foram utilizadas como ferramentas matemáticas para melhorar a resolução dos sinais analíticos, embora tenha um efeito colateral como o aumento do ruído. Distintamente, a primeira derivada elimina os desvios aditivos da linha de base, enquanto a segunda derivada elimina os efeitos multiplicativos (AFSETH; KOHLER, 2012; ZIMMERMANN; KOHLER, 2013).

A técnica de validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV) foi aplicada ao conjunto de calibração dos analitos etanol e água, para indicar possível presença de *overfitting*, e os valores de RMSECV foram determinados. A capacidade preditiva dos modelos, determinada com dados não utilizados para calibração (conjunto de validação), foi obtida pelo cálculo do valor do erro de predição (RMSEP). O melhor modelo foi escolhido com base no menor erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV). Os parâmetros de desempenho do coeficiente de determinação (R^2), RPD e RER também foram determinados. Os valores para todos os parâmetros de desempenho de etanol e água são apresentados nas **Tabela 3.3** e **3.4**, respectivamente, para cada tratamento matemático avaliado.

Tabela 3.3: Principais resultados de desempenho para os modelos de espectroscopia de infravermelho médio de transformada de Fourier (FT-MIR) obtidos com diferentes pré-processamento de dados para etanol.

Modelos	LVs	Região	Processamento de dados	Modelos PLS FT-MIR					
				RMSECV (y_E)	RMSEC (y_E)	RMSEP (y_E)	R^2	RER	RPD
M _{E0}	4	1	NDP	0,000706	0,000624	0,000788	0,999	51,52	17,21
M _{E1}	2	1	MC	0,000711	0,000646	0,000880	0,999	46,14	15,41
M _{E2}	2	1	MC + SMA (7 pontos)	0,000711	0,000646	0,000880	0,999	46,14	15,41
M _{E3}	2	1	MC + SMA + 1D	0,000722	0,000664	0,000902	0,999	44,13	14,74
M _{E4}	3	1	MC + SMA + 2D	0,000669	0,000457	0,000773	0,999	52,52	17,54
M _{E5}	2	2	MC + SMA + 2D	0,000696	0,000500	0,000641	0,999	63,34	21,16

Abreviaturas: y_E fração molar de etanol; 1D, primeira derivada; 2D, segunda derivada; LV, número de variáveis latentes; MC, centralização média dos dados de absorvância; R^2 , coeficiente de determinação entre dados preditos e dados de referência; RER, razão de intervalo de erro; RMSECV, erro médio de validação cruzada; RMSEP, raiz quadrada do erro médio de predição; RPD, desvio de previsão residual; SMA, média móvel de suavização.

Tabela 3.4: Principais resultados de desempenho para os modelos de espectroscopia de infravermelho médio de transformada de Fourier (FT-MIR) obtidos com diferentes pré-processamento de dados para água.

Modelos	LVs	Região	Processamento de dados	Modelos PLS FT-MIR					
				RMSECV (yw)	RMSEC (yw)	RMSEP (yw)	R ²	RER	RPD
M _{w0}	2	3	NDP	0,01300	0,01250	0,01690	0,8942	6,11	1,70
M _{w1}	4	3	MC	0,00432	0,00291	0,00309	0,9884	33,43	9,29
M _{w2}	6	3	MC + SMA (7 pontos)	0,00299	0,00166	0,00165	0,9944	62,61	17,40
M _{w3}	4	3	MC + SMA + 1D	0,00332	0,00241	0,00238	0,9931	43,40	12,06
M _{w4}	4	3	MC + SMA + 2D	0,00362	0,00227	0,00451	0,9918	22,90	6,36

Abreviaturas: y_w fração molar de etanol; 1D, primeira derivada; 2D, segunda derivada; LV, número de variáveis latentes; MC, centralização média dos dados de absorbância; R², coeficiente de determinação entre dados preditos e dados de referência; RER, razão de intervalo de erro; RMSECV, erro médio de validação cruzada; RMSEP, raiz quadrada do erro médio de predição; RPD, desvio de previsão residual; SMA, média móvel de suavização.

Os modelos obtidos para etanol (M_E) e água (M_w) foram avaliados separadamente. O modelo M_{E0} obtido por meio dos espectros sem pré-processamento da região 1 (**Tabela 3.3**) e apresentou valores RMSECV de 0,000706 sendo referência para comparações posteriores. A precisão do modelo foi ligeiramente reduzida com a aplicação dos procedimentos MC (modelo M_{E1}) e SMA (modelo M_{E2}) (em ambos os casos houve aumento de RMSECV de 0,71%). Da mesma forma, o uso do método MC+SMA+1D (modelo M_{E3}) resultou em menor precisão do modelo em relação ao sem pré-processamento (M_{E0}), com RMSECV de 0,000722 (aumento de 2,26%). O procedimento de pré-processamento que apresentou melhor desempenho no aumento da precisão do modelo foi MC+SMA+2D (modelo M_{E4}), que reduziu o RMSECV em 5,24%, em relação à ao modelo M_{E0}.

Para a região 2, o método de pré-processamento utilizado foi o mesmo do melhor modelo para a região 1. O modelo 5 (M_{E5}), usando o mesmo pré-processamento espectral de M_{E4}, mas uma região de calibração diferente, proporcionou menor precisão, com aumento de 4,04% de RMSECV comparado com (M_{E4}).

A região espectral do modelo M_{E5} incluiu uma banda específica de etanol (região 1) e uma banda de água (região 2). A região 2 foi utilizada para avaliar a interferência da banda espectral da água no modelo de calibração do etanol, utilizando a mistura gasosa de ambos analitos. Observou-se que a banda de água não precisou ser considerada para o modelo de calibração do etanol mesmo em uma mistura gasosa com ambos analitos. Portanto, foi utilizada a região 1, incluindo apenas uma banda específica do etanol e o pré-processamento que combinou centralização média (MC), média móvel suavizada (SMA) e a segunda derivada (2D).

Para M_{E4} , o coeficiente de determinação obtido para o conjunto de calibração ($R^2 = 0,999$) indicou uma boa correlação entre os valores previstos pelos modelos multivariados e os valores obtidos pelos métodos de referência. O uso de M_{E4} com 3 variáveis latentes não apresentou *overfitting*, uma vez que os valores de RMSEP, RMSEC e RMSECV foram da mesma ordem de grandeza. O erro de validação externa (RMSEP, **Tabela 3.3**, M_{E4}) para o melhor modelo foi de 0,000773, correspondendo a menos de 1,9% do intervalo de dados, indicando a excelente capacidade preditiva do modelo PLS.

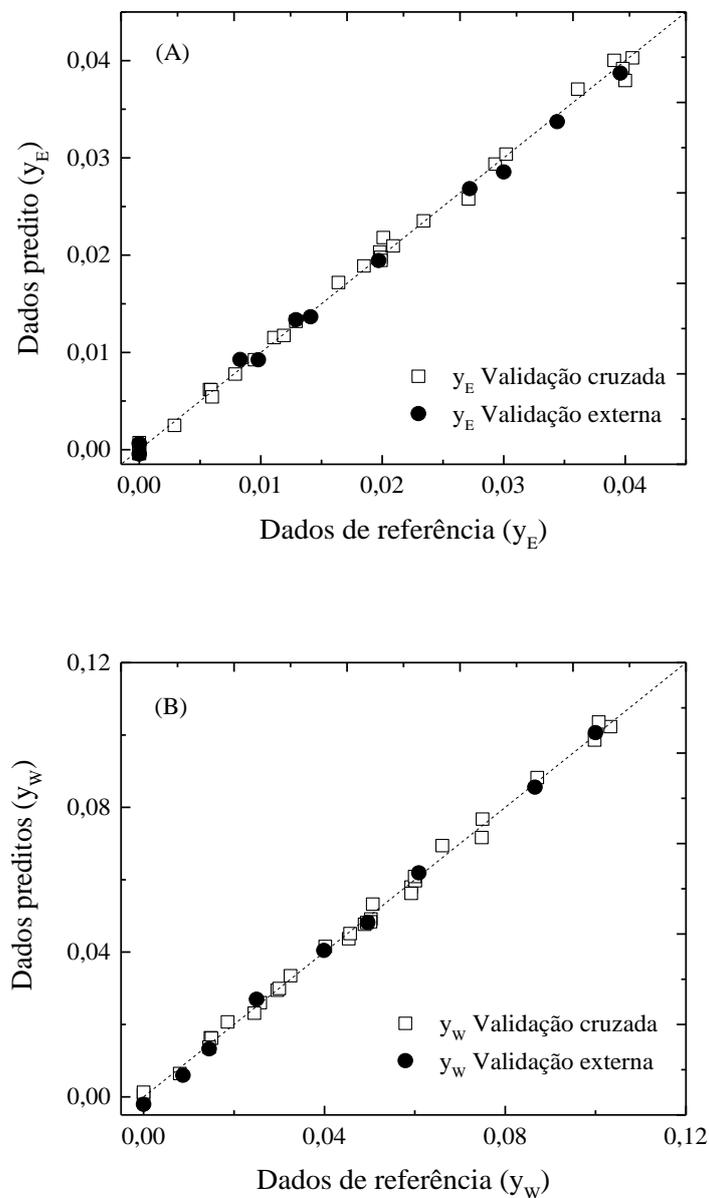
Os valores dos parâmetros de desempenho R^2 , RPD e RER são adimensionais, com seus limites de aceitabilidade dependendo da aplicação do modelo de quantificação. A acurácia do modelo (M_{E4}) foi avaliada considerando o coeficiente de determinação (R^2) (WILLIAMS, 2004). A utilidade prática do modelo foi avaliada usando a razão de erro de intervalo (RER) (WILLIAMS; NORRIS, 1987), enquanto a precisão preditiva foi avaliada usando o RPD (SAEYS; MOUAZEN; RAMON, 2005). O coeficiente de determinação para o modelo M_{E4} ($R^2 = 0,999$, maior que 0,91) classificou-o como tendo excelente precisão, com alto valor de utilidade prática (RER = 52,52, maior que 10) e excelente precisão (RPD = 17,54, maior que 3).

Os modelos referente ao analito água (M_W) foram avaliados e os resultados estão dispostos na **Tabela 3.4**. O modelo M_{W0} obtido por meio dos espectros sem pré-processamento da região 3 apresentou valores RMSECV de 0,0130 sendo referência para comparações posteriores. A precisão do modelo foi aumentada com a aplicação dos procedimentos MC (modelo M_{W1}), SMA (modelo M_{W2}), 1D (modelo M_{W3}) e 2D (modelo M_{W4}). Em todos os casos houve diminuição do RMSECV de 66,8; 77; 74,5 e 72,2%, respectivamente. O procedimento de pré-processamento que apresentou melhor desempenho no aumento da precisão do modelo foi MC+SMA (modelo M_{W2}), que reduziu o RMSECV em 77%, em relação ao modelo M_{W0} .

Para M_{W2} , o coeficiente de determinação obtido para o conjunto de calibração ($R^2 = 0,9944$) indicou uma boa correlação entre os valores previstos pelos modelos multivariados e os valores obtidos pelos métodos de referência. O uso de M_{W2} com 6 variáveis latentes não apresentou *overfitting*, uma vez que os valores de RMSEP, RMSEC e RMSECV foram da mesma ordem de grandeza. O erro de validação externa (RMSEP, **Tabela 3.4**, M_{W2}) para o melhor modelo foi de 0,00165, correspondendo a menos de 1,58% do intervalo de dados, indicando a excelente capacidade preditiva do modelo PLS. O coeficiente de determinação para o modelo M_{W2} ($R^2 = 0,9944$, maior que 0,91) classificou-o como tendo excelente precisão, com alto valor de utilidade prática (RER = 62,61, maior que 10) e excelente precisão (RPD = 17,40, maior que 3).

A Figura 6 mostra uma comparação dos valores de fração molar previstos obtidos para os melhores modelos PLS do etanol (**Figura 3.7a**, M_{E4}) e água (**Figura 3.7b**, M_{W2}) com os dados de referência calculados a partir das equações propostas, para LOOCV e validação externa.

Figura 3.7: Valores previstos versus valores de referência das frações de (A) etanol (y_E) e (B) água (y_W), para validação cruzada (símbolos vazios) e validação externa (símbolos fechados). As linhas pontilhadas representam correlações perfeitas. As previsões foram baseadas no melhor modelo PLS obtido para etanol (M_{E4}) e água (M_{W2}).

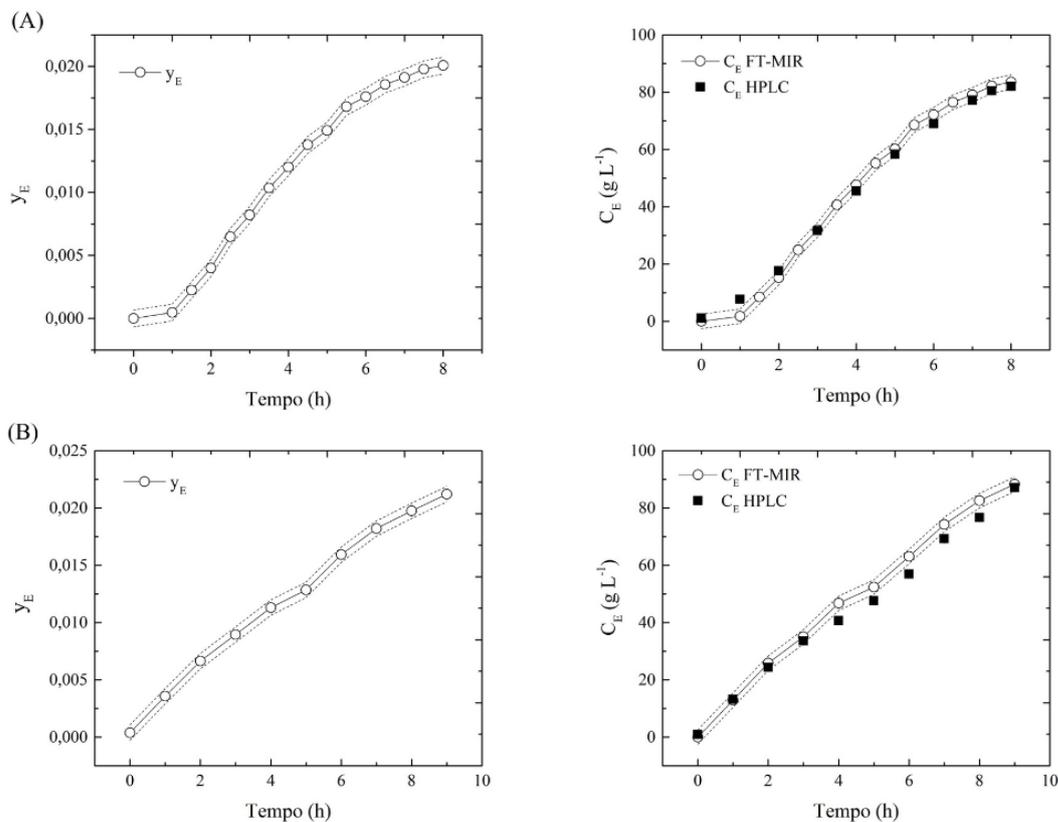


Fonte: autoria própria.

3.3.3 Monitoramento da fermentação etanólica utilizando o modelo PLS M_{E4} para quantificar o etanol

O melhor modelo PLS, M_{E4} , foi usado para monitoramento em tempo real da fração molar de etanol na corrente de gasosa (y_E) durante as fermentações batelada e batelada alimentada, conforme mostrado na **Figuras 3.8**. Os valores de y_E foram usados para determinar a concentração de etanol na fase líquida durante a fermentação, usando a **Equação 3.17**. As **Figuras 3.8a** e **3.8b** comparam os dados de referência obtidos por CLAE com os valores de C_E calculados a partir de y_E . Observa-se que para ambos os modos de operação houve excelente concordância entre os dados preditos pelo modelo e de referência, embora para o experimento realizado em modo batelada alimentada alguns dos pontos de dados preditos ultrapassaram ligeiramente os valores de RMSECV (**Figura 3.8b**).

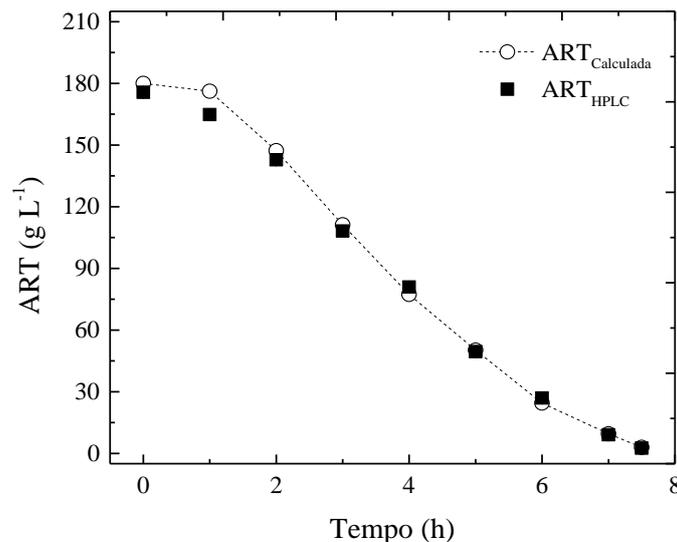
Figura 3.8: Dados de fração molar de etanol (y_E) utilizado para o cálculo da concentração de etanol (C_E): (A) batelada; e (B), batelada alimentada obtido pela técnica FT-MIR (linha sólida+símbolo vazio) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (símbolo sólido) durante as fermentações. As linhas pontilhadas representam RMSECV, que é uma aproximação dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão (SDs) obtidos para as análises de HPLC.



Fonte: autoria própria.

É importante destacar que embora parte da metodologia desenvolvida aqui destine-se a determinar a concentração de etanol no caldo durante a fermentação, também é possível inferir a concentração de substrato por meio do coeficiente de rendimento global substrato-produto ($Y_{P/S} = 0,46 \text{ g}_{\text{etanol}} \text{ g}_{\text{substrato}}^{-1}$) para o modo de operação de fermentação em batelada (**Equações 3.13-3.17**) conforme mostrado na **Figura 3.9**. Os dados obtidos pelo modelo PLS para etanol fornecem uma maneira útil de determinar a quantidade de substrato presente durante a fermentação descontínua. Isto constitui uma excelente alternativa indireta para determinação simultânea da concentração de substrato durante o processo de fermentação de produção de etanol, sem a necessidade de manipulação de amostras.

Figura 3.9: Concentração de substrato (ART) ao longo do tempo para o experimento em batelada estimado a partir dos $Y_{P/S}$ (linha pontilhada+símbolo vazio) e os valores obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (símbolo sólido) durante a fermentação.



Fonte: autoria própria.

A técnica de FT-MIR tem se mostrado uma ferramenta avançada e precisa para determinação de metabólitos durante fermentações alcólicas pelo grupo de pesquisa em Engenharia Bioquímica do DEQ/UFSCar (RODRIGUES et al., 2021; VELOSO et al., 2020). A presente abordagem de quantificação de etanol por meio da fase gasosa superou os desafios relacionados ao método de operação (não precisa de uma curva de qualibração para cada modo), à temperatura das amostras (a quantificação na fase gasosa independe da temperatura de operação do reator), à manipulação de amostras (diminuição de mão de obra), ao tempo de

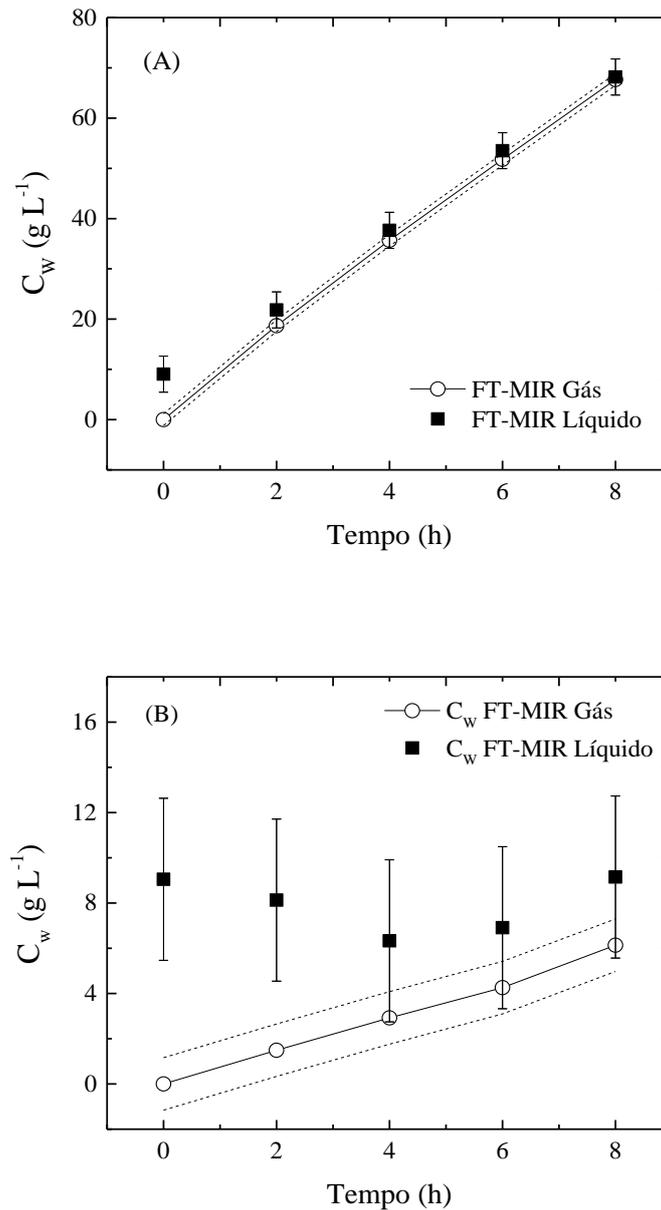
amostragem e acompanhamento da fermentação em tempo real com a minimização do esforço experimental nas análises de laboratório.

A partir da calibração desenvolvida foi possível acompanhar em tempo real a fermentação industrial de caldo de cana-de-açúcar indiferentemente do modo de operação com mínimo esforço humano e elevada rapidez de análise. Além do mais, a metodologia, pode ser adequada para o monitoramento de fermentações de bebidas alcólicas, fermentação etanólica de milho, fermentação de etanol de segunda geração, por exemplo.

3.3.4 Monitoramento da absorção de água proveniente de uma corrente gasosa de stripping de solução hidroalcoólica utilizando o modelo PLS MW2

O melhor modelo PLS M_{w2} foi utilizado para monitoramento em tempo real da fração molar de água na corrente de gasosa (y_w) durante a absorção de água proveniente de uma corrente gasosa de *stripping* de solução hidroalcoólica, conforme mostrado na **Figuras 3.10**. Os valores de y_w foram usados para determinar a concentração de água na fase líquida durante a absorção, usando as **Equações 3.24-3.40**. As **Figuras 3.10a** e **3.10b** comparam os dados de referência obtido por FT-MIR fase líquida com os valores de C_w calculados a partir de y_w para os absorvedores 1 e 2, respectivamente. Observa-se que para o absorvedor 1 houve excelente concordância entre os dados preditos e de referência. No entanto para o absorvedor 2 houve baixa concordância entre os dados preditos e de referência, devido a sensibilidade desses dados frente a erros associados a medição do volume e a baixa concentração da água absorvente.

Figura 3.10: Concentração de água (C_w) calculada por meio de dados da fração molar de água (y_w): (A) Absorvedor 1; e (B), Absorvedor 2 obtido pela técnica FT-MIR (linha sólida+símbolo vazio) na fase gasosa e FT-MIR (símbolo sólido) na fase líquida durante a absorção. As linhas pontilhadas representam RMSECV, que é uma aproximação dos valores do intervalo de confiança de 95%. As barras representam os desvios padrão (SDs) amostral.



Fonte: autoria própria.

A técnica de FT-MIR tem se mostrado uma ferramenta avançada para determinação das concentrações de etanol, água e monoetileno glicol (MEG) durante a etapa de absorção na fase líquida (RODRIGUES et al., 2021). No entanto, a presente abordagem de quantificação de

água por meio da fase gasosa superou os desafios relacionados à medida indireta da água, por densidade, para calibração. Com a mesma técnica de FT-MIR, mas medindo apenas a fase gasosa, evita-se o contato direto do operador com amostras tóxicas, diminui o tempo de amostragem, e pode-se acompanhar a absorção em tempo real com a minimização do esforço experimental nas análises de laboratório.

Outra vantagem da quantificação da fase gasosa, para ambos analitos estudados, é que essa técnica pode ser utilizada para acompanhar a etapa de absorção com outros absorventes sem a laborosa e prévia calibração do equipamentos desde que as frações molares de etanol e água estejam dentro da faixa de calibração. Portanto, a quantificação de água e etanol por FT-MIR empregando a fase gasosa abre possibilidades para realização de pesquisas diversas utilizando a mesma calibração de forma rápida e com alta grau de precisão.

3.4 Conclusão

Foram desenvolvidos modelos FT-MIR/PLS para monitorar as frações molares de etanol e água na fase gasosa. Modelos de calibração foram construídos relacionando os espectros para a fase gasosa contendo etanol e água com as frações molares de etanol e água obtidas a partir de cálculos termodinâmicos. A partir dos valores da fração molar na fase gasosa, foi possível obter as concentrações de etanol e substrato na fase líquida em fermentações realizadas em modo batelada e batelada alimentada, possibilitando o monitoramento em tempo real do processo, como também as concentrações de água na fase líquida de absorções com MEG. Para o modelo de calibração usado para quantificação de etanol, os parâmetros de desempenho mostraram que os valores de erro de validação cruzada (RMSECV) e erro de validação externa (RMSEP) foram inferiores a 1,6% e 1,9%, respectivamente, do intervalo de dados, quando os espectros do modelo foram pré-processados usando a centralização média (MC), procedimento de média móvel suavizada (SMA) e segunda derivada (2D). Os valores de $R^2 = 0,999$, $RPD = 17,54$ e $RER = 52,52$ mostraram que o modelo para o analito etanol apresentou boa capacidade preditiva e foi adequado para realizar análises quantitativas da composição molar do gás. O modelo de calibração utilizado para quantificação de água, apresentou valores de erro de validação cruzada (RMSECV) e erro de validação externa (RMSEP) inferiores a 2,89% e 1,58%, respectivamente, no intervalo de dados, quando os espectros do modelo foram pré-processados usando a centralização média (MC) e procedimento de média móvel suavizada (SMA). Os valores de $R^2 = 0,9944$, $RPD = 17,40$ e $RER = 62,61$ mostraram que o modelo para o analito água apresentou boa capacidade preditiva e foi

adequado para realizar análises quantitativas da composição molar do gás. A calibração desenvolvida possibilitou o monitoramento em tempo real da fermentação com mosto de caldo de cana industrial, independente do modo de operação, e ainda absorção de água no MEG, com mínimo esforço experimental e manipulação de amostras. A análise da fase gasosa utilizando a técnica FT-MIR/PLS pode ser utilizada de forma confiável no monitoramento em tempo real para quantificação da produção de etanol e a remoção de água em colunas de absorção, auxiliando na rápida tomada de decisão no controle do processo. Além disso, a metodologia desenvolvida poderá ser utilizada em outros setores industriais.

Capítulo 4 : Desidratação por adsorção da corrente gasosa de stripping de solução hidroalcoólica e de caldos de fermentação extrativa em batelada

4.1 Introdução

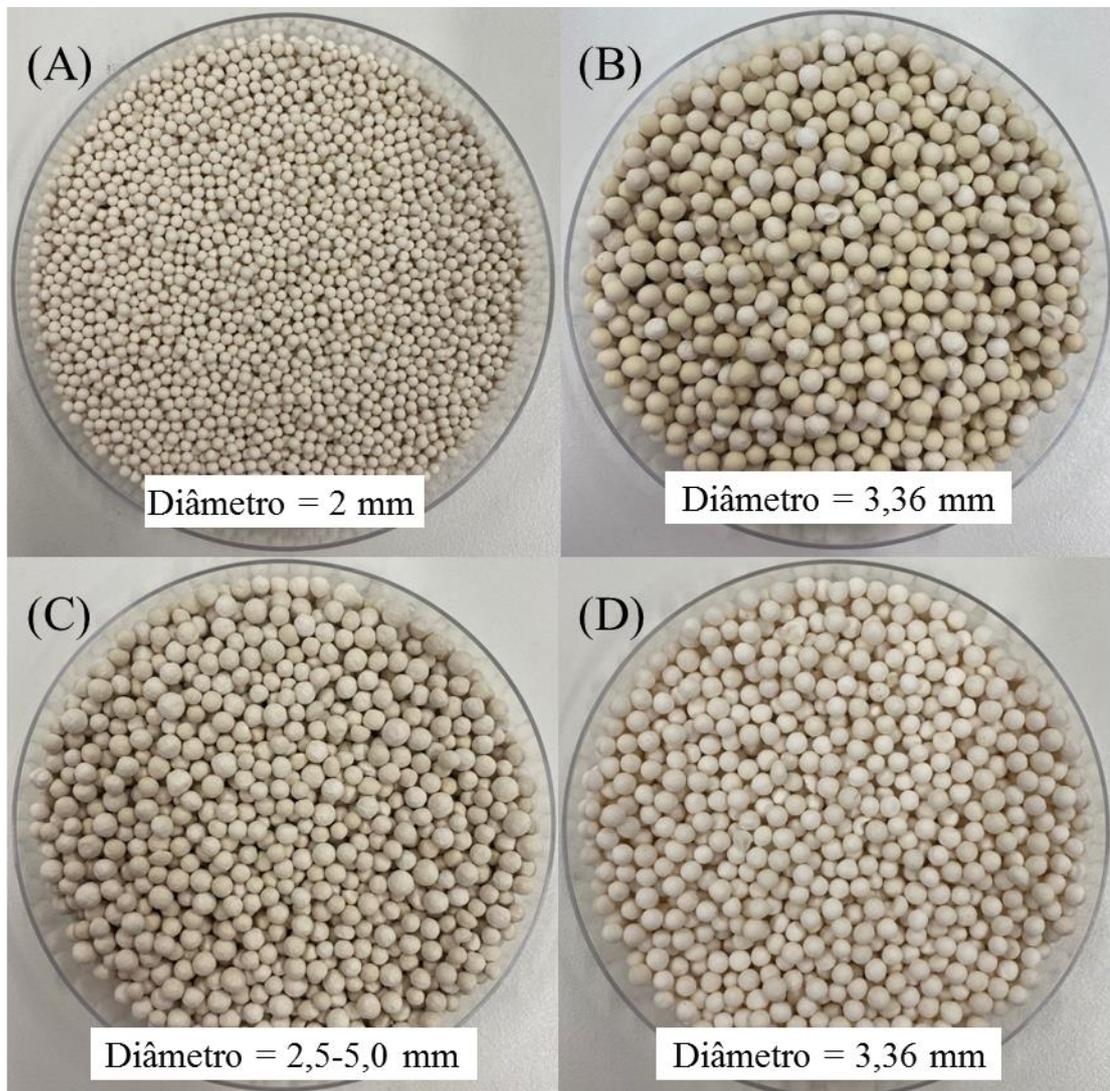
Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na etapa de desidratação da corrente gasosa proveniente do *stripping* de soluções hidroalcoólicas e de caldos de fermentação extrativa por meio do processo de adsorção em coluna de leito fixo preenchida com adsorventes hidrofílicos zeólita 3A e sagu de mandioca. Foram realizadas caracterizações físicas e químicas e curvas de rupturas de todos os adsorventes testados. Posteriormente, foram desidratadas as correntes gasosas provenientes de duas fermentações extrativas realizadas em modo batelada com concentrações inicial de substrato de 180 g L^{-1} por adsorção em coluna de leito fixo preenchida com adsorventes hidrofílicos zeólita 3A. Este experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho da coluna de adsorção em condições reais de operação, ou seja, durante fermentações extrativas realizadas em modo batelada em tempos de início de operação diferentes (0 h e 3 h).

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Adsorvente

Foram testadas a zeólita 3A em *pellet* esférico de três fabricantes diferentes gentilmente cedidas pela empresa GRF Dessecantes Ltda (Sorocaba, SP) denominadas Z₁, Z₂ e Z₃, com tamanho de partícula de 2; 3,36; 2,5-5,0 mm; e o adsorvente pérola de mandioca esféricas também conhecido como sagu de mandioca (S) com tamanho de partícula de 3,36 mm, conforme mostra a **Figura 4.1**. Todas as zeólitas são compostas por aluminossilicato cristalino hidratado com estrutura aberta, termicamente estável, com cátions predominantes de potássio e poros de 3 angstroms (0,3 nm), que permite a entrada de água em seus canais e a exclusão de outras moléculas maiores. O sagu de mandioca é composto por amido em partícula, gelatinizado e agregado. No interior do sagu o amido é gelatinizado e por isso possui pouca porosidade, enquanto que na superfície externa aloca estruturas de poros responsáveis pela maior parte da área superficial e capacidade adsortiva (KIM et al., 2011). O tamanho médio da partícula dos adsorventes foi fornecido pelo fabricante.

Figura 4.1: Fotografia dos adsorventes utilizados. Zeólita do tipo 3A, (A) Z₁, (B) Z₂ e (C) Z₃; e sagu de amido de mandioca, (D) S.



Fonte: autoria própria.

4.2.2 Análise morfológica dos materiais

A análise morfológica dos materiais foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micrografias das amostras foram obtidas utilizando o equipamento MEV FEG modelo FEI Magellan 400L.

4.2.3 Caracterização química dos adsorventes

A técnica da espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR – *Fourier transform infrared spectroscopy*) foi utilizada para verificar a presença de grupos superficiais nos materiais. A caracterização foi realizada em espectrofotômetro Bruker

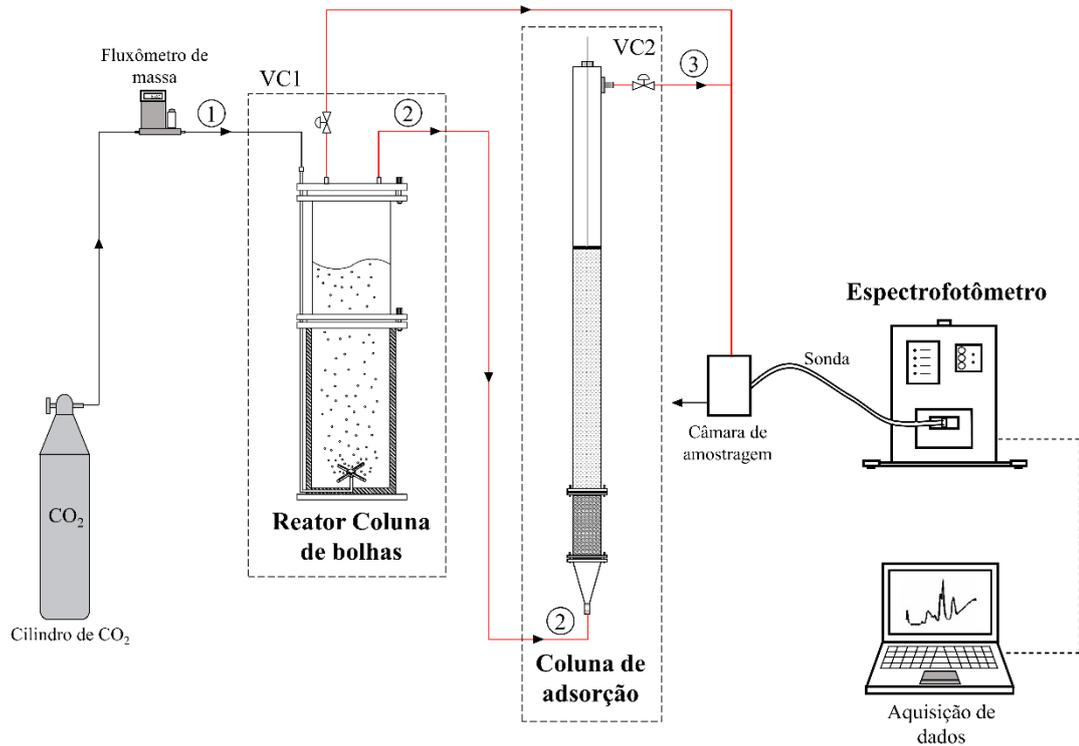
(EQUIXOX 55) equipado com reflectância difusa. Os espectros foram obtidos na faixa de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR - Spectroscopy in Near-Infrared) foi utilizada para a investigação da adsorção de água nas amostras. Essa técnica foi utilizada para estimar indiretamente o perfil de cobertura dos grupos OH na superfície das amostras através da determinação qualitativa da adsorção das moléculas de água na superfície das amostras usando o equipamento Perkin Elmer Spectrum 100.

4.2.4 Geração da corrente gasosa de solução hidroalcoólica por arraste com CO_2

A **Figura 4.2** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos de adsorção de água utilizando solução hidroalcoólica. Segundo Maiorella et al. (1983), em fermentações alcoólicas a inibição pelo etanol tem início em concentrações próximas de 25 g L^{-1} , com o processo sendo significativamente afetado em valores próximos de 80 g L^{-1} . Sendo assim, para representar o caldo fermentado ao final da fermentação usou-se soluções hidroalcoólicas com concentração inicial de 80 g L^{-1} (10% v v⁻¹) a 34 °C (RODRIGUES, 2019; SONEGO, 2016). A corrente gasosa gerada foi obtida por meio de um sistema de arraste de etanol (E) e água (W) pela passagem de corrente de gás (C) através de uma solução hidroalcoólica em um biorreator pneumático tipo coluna de bolhas com volume útil de 2 L. Amostras de 2 mL foram retiradas no início e no final da adsorção e o volume da fase líquida foi determinado medindo-se a altura da coluna de líquido após o desligamento da corrente de gás. O gás de arraste utilizado foi o dióxido de carbono (CO_2) proveniente de um cilindro comercial (99,5% de pureza), com vazão controlada por meio de um medidor de vazão mássica da marca AALBORG, modelo GFC 37.

Figura 4.2: Esquema do aparato experimental empregado nos ensaios de adsorção.



Fonte: autoria própria.

As frações molares de etanol (y_{E2} e y_{E3} , **Figura 4.2**) e de água (y_{W2} e y_{W3} , **Figura 4.2**) na corrente gasosa na saída da coluna de adsorção e do reator foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 20 minutos como descrito no item 3.2.1.

4.2.4.1 Balanço de massa no stripping

Um balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO₂) foi efetuado para determinar a quantidade de massa arrastada de etanol e água durante todo o processo de *stripping*. As correntes e volumes de controle (VC) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados na **Figura 4.2**. As composições molares na corrente 2 de água (y_{W2} , **Figura 4.2**) e etanol (y_{E2} , **Figura 4.2**) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{C2} , **Equação 4.1**) foi obtida pela diferença.

$$y_{C2} = 1 - y_{E2} - y_{W2} \quad (4.1)$$

Volume de controle 1 (VC1) – reator coluna de bolhas

A vazão molar correspondente à corrente 1 (\dot{n}_1) foi obtida admitindo-se que o comportamento do gás é ideal e negligenciando, no reator, a solubilidade de CO₂ na solução hidroalcoólica, por meio da **Equação 4.2**.

$$\dot{n}_1 = \frac{PQ_1}{RT} \quad (4.2)$$

onde P é a pressão absoluta (atm), Q_1 é a vazão volumétrica de CO₂ (L min⁻¹), T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante dos gases (0,08206 L atm K⁻¹ mol⁻¹).

A vazão molar da corrente 2 (\dot{n}_2 , **Equação 4.3**) foi obtida a partir de um balanço de massa no volume de controle 1 (CV1). Os valores \dot{n}_{E2} , \dot{n}_{W2} , \dot{n}_{C2} foram determinados usando as **Equações 4.3 a 4.6**.

$$\dot{n}_2 = \frac{\dot{n}_1 y_{C1}}{y_{C2}} \quad (4.3)$$

Onde y_{C1} é igual a 1 e corresponde a fração molar de CO₂ na corrente 1 proveniente do cilindro de CO₂.

$$\dot{n}_{E2} = \dot{n}_2 y_{E2} \quad (4.4)$$

$$\dot{n}_{W2} = \dot{n}_2 y_{W2} \quad (4.5)$$

$$\dot{n}_{C2} = \dot{n}_2 y_{C2} \quad (4.6)$$

A partir da vazão molar da corrente 2 (\dot{n}_2) foi determinada a vazão mássica para cada componente pelas **Equações 4.7-4.9**.

$$\dot{m}_{E2} = \dot{n}_2 MM_E \quad (4.7)$$

$$\dot{m}_{W2} = \dot{n}_2 MM_W \quad (4.8)$$

$$\dot{m}_{C2} = \dot{n}_2 MM_C \quad (4.9)$$

onde MM_i é a massa molar de água, etanol e CO₂. A massa molar admitida para cada componente foi: MM_W de 18,016 g mol⁻¹, MM_E de 46,07 g mol⁻¹ e MM_C de 44,01 g mol⁻¹.

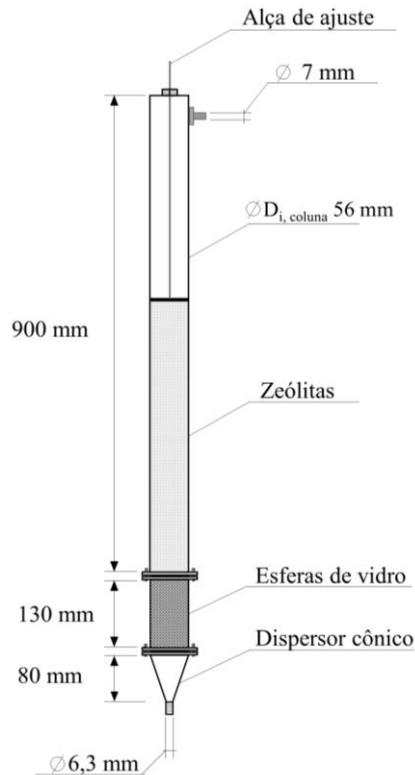
4.2.5 Ensaio de adsorção

Curva de ruptura para os diferentes adsorventes

A capacidade máxima de adsorção de água (q_w^*) foi determinada a partir da curva de ruptura para os quatros adsorventes, zeólitas A (Z_1, Z_2, Z_3) e sagu de mandioca S. Os ensaios foram realizados em uma coluna de adsorção de leito fixo com 56 mm de diâmetro preenchida com 650 g de adsorvente e alimentada com uma corrente gasosa proveniente de um sistema de arraste de etanol e água como descrito no item 4.2.4 (**Figura 4.2**). A vazão volumétrica de CO_2 utilizado foi de 4 L min^{-1} , usada frequentemente em fermentações extrativas, e correspondente a velocidade superficial na coluna de $0,026 \text{ m s}^{-1}$. A temperatura do leito foi mantida em $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por meio de resistências térmicas acopladas a controlador de temperatura e cobertas por um tecido isolante. As frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) na corrente gasosa da saída do reator e da coluna de adsorção foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 20 minutos.

A coluna de adsorção utilizada foi projetada a partir de um estudo prévio (discutido no texto de qualificação) baseada na velocidade superficial assegurada pela vazão específica de CO_2 e diâmetro da coluna de maneira que toda a água presente na corrente gasosa do *stripping* de soluções hidroalcoólica fosse adsorvida. Nesse sentido, a coluna de adsorção de leito fixo foi constituída de um distribuidor de corrente e o leito fixo de adsorção empacotado com o adsorvente em teste, conforme ilustra a **Figura 4.3**. O distribuidor possui uma parte inferior em formato cônico fechado por uma tela perfurada fixada por um flange, seguida de um cilindro de mesmo diâmetro da coluna preenchido com esferas de vidro de 5 mm de diâmetro, fechado por uma tela perfurada fixada por um flange. As partículas adsorventes foram suportadas em tela perfurada fixada por flange separando-as do distribuidor. Para garantir que o leito não se fluidizaria, na parte superior foi acoplado uma tela metálica perfurada ajustável por uma alça. A coluna de adsorvente possuía uma saída na qual conectou-se uma mangueira que direcionava a corrente gasosa para a câmara de amostragem do FT-MIR.

Figura 4.3: Representação esquemática da coluna de adsorção em leito fixo.



Fonte: autoria própria.

Balanço de massa na coluna de adsorção

Um balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO_2) foi aplicado para determinar a quantidade de massa de etanol e água adsorvida durante toda a corrida de adsorção. As correntes e volumes de controle (VC) considerados no balanço são mostrados na **Figura 4.2**. As composições molares na corrente 3 de água (y_{W3} , **Figura 4.2**) e etanol (y_{E3} , **Figura 4.2**) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-IR) e a composição molar de CO_2 (y_{C3} , **Equação 4.10**) foi obtida pela soma das frações mássicas.

$$y_{C3} = 1 - y_{E3} - y_{W3} \quad (4.10)$$

Volume de controle 2 (VC2) – coluna de adsorção

A vazão molar correspondente à corrente 2 (\dot{n}_2) e as frações molares são as mesmas obtidas no balanço de massa no VC1 (Item 4.2.4.1).

A vazão molar da corrente 3 (\dot{n}_3 , **Equação 4.11**) foi obtida a partir de um balanço de massa no volume de controle 2 (CV2). Os valores \dot{n}_{E3} , \dot{n}_{W3} , \dot{n}_{C3} foram determinados usando as **Equações 4.11 a 4.14**.

$$\dot{n}_3 = \frac{\dot{n}_2 y_{C2}}{y_{C3}} \quad (4.11)$$

onde y_{C3} é a fração molar de CO_2 na corrente 3.

$$\dot{n}_{E3} = \dot{n}_3 y_{E3} \quad (4.12)$$

$$\dot{n}_{W3} = \dot{n}_3 y_{W3} \quad (4.13)$$

$$\dot{n}_{C3} = \dot{n}_3 y_{C3} \quad (4.14)$$

A partir da vazão molar da corrente 3 (\dot{n}_3) foi determinada a vazão mássica para cada componente pelas **Equações 4.15-4.17**.

$$\dot{m}_{E3} = \dot{n}_3 MM_E \quad (4.15)$$

$$\dot{m}_{W3} = \dot{n}_3 MM_W \quad (4.16)$$

$$\dot{m}_{C3} = \dot{n}_3 MM_C \quad (4.17)$$

Parâmetros de desempenho da adsorção

Alguns parâmetros de desempenho da adsorção foram calculados. A capacidade máxima de adsorção dos adsorventes para o componente água (q_w^*), em que expressa a massa da molécula alvo adsorvida pela quantidade de massa do adsorvente, foi obtida por meio da **Equação 4.18**.

$$q_w^* = \frac{\int_0^t \dot{m}_{W2} dt - \int_0^t \dot{m}_{W3} dt}{m_{ads}} \quad (4.18)$$

onde \dot{m}_{W2} e \dot{m}_{W3} são as vazões mássicas de água da corrente gasosa que entram e saem da

coluna (g min^{-1}), respectivamente, e m_{ads} é a massa de adsorvente seco em gramas.

O tempo de ruptura para o componente água (t_R), expressa o instante de tempo em que ocorreu a ruptura da coluna ($y_{W3}/y_{W2} \neq 0$). Quanto maior esse valor, maior é o tempo em que a coluna consegue adsorver totalmente a molécula alvo sem a necessidade de substituir o adsorvente.

A longo da coluna de adsorção existe uma região de maior transferência de massa (ZTM). Quanto menor essa região mais próxima da idealidade o sistema se encontra. Para medir a ZTM frequentemente utiliza-se do tempo para o estabelecimento da zona de transferência de massa (t_{ZTM} , em h), definido como o intervalo de tempo compreendido entre ponto de ruptura e o ponto de exaustão, **Equação 4.19**.

$$t_{ZTM} = t_E - t_R \quad (4.19)$$

onde t_E é o instante de tempo em que ocorreu a exaustão da coluna ($y_{W3}/y_{W2} = 1$).

Uma vez que parte do etanol ficou retido na coluna de adsorção, foi também determinada a capacidade máxima de adsorção dos adsorventes para o componente etanol (q_E^*), **Equação 4.20** e o tempo de ruptura para o componente etanol ($t_{R,E}$), que é o instante de tempo em que ocorreu a ruptura da coluna ($y_{E3}/y_{E2} \neq 0$).

$$q_E^* = \frac{\int_0^{t_{E,E}} \dot{m}_{E2} dt - \int_0^{t_{E,E}} \dot{m}_{E3} dt}{m_{ads}} \quad (4.20)$$

onde \dot{m}_{E2} e \dot{m}_{E3} são as vazões mássicas de etanol da corrente gasosa que entra e sai da coluna em g min^{-1} , $t_{E,E}$ é o instante de tempo em que ocorreu a exaustão da coluna para o componente etanol ($y_{E3}/y_{E2} = 1$) em min.

Quanto menores os valores de q_E^* e $t_{R,E}$ menor é afinidade e quantidade de massa de etanol adsorvida.

4.2.6 Fermentação extrativa com desidratação da corrente de gasosa

Dois experimentos de fermentações extrativas em modo batelada (FEB) foram realizados para testar a coluna em uma situação real de desidratação da corrente resultante de *stripping*. Na primeira fermentação, o *stripping* e a adsorção tiveram início juntamente com a fermentação, ou seja no tempo zero (FEB0h). Na segunda, o *stripping* e a adsorção foram

iniciados após 3 horas de fermentação (FEB3h).

Microorganismo e meio de cultura

O microrganismo utilizado foi a cepa industrial liofilizada da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 (AB Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., Brasil). O mosto foi constituído por (em g L⁻¹) sacarose (171,0 equivalente a 180,0 g L⁻¹ de açúcares redutores totais, ART), extrato de levedura (9,71), KH₂PO₄ (8), ureia (7,3) e MgSO₄.7H₂O (2). O pH inicial foi ajustado em 4,6 pela adição de solução de HCl 1.0 M.

Procedimento experimental

Foram realizadas duas fermentações extrativas em batelada (FEB) com remoção de etanol e água por *stripping* com CO₂. Os ensaios ocorreram em biorreator coluna de bolha pneumático de 2 L de volume de trabalho (**Figura 3.1**). A levedura liofilizada (39 g) foi hidratada em 0,6 L de água destilada (inóculo correspondente a 30% do volume total) por 5 min com agitação mecânica de 800 rpm. Após 20 min adicionou-se o mosto (1,4 L), completando o volume de trabalho de (2 L) no biorreator e iniciando as fermentações em batelada. A agitação do caldo fermentativo, para a condição FEB3h foi mantida por agitação mecânica a 250 rpm nas 3 primeiras horas. Após esse período mistura foi mantida pela inserção do gás de arraste com vazão específica de 2 vvm. Para a condição FEB0h a mistura foi mantida do início ao final da fermentação pela inserção do gás de arraste com vazão específica de 2 vvm. Amostras líquidas (5 mL) foram retiradas a cada 1 hora para determinação das concentrações de sacarose, glicose, frutose, etanol e concentração de células. Os gases provenientes da fermentação e adsorção foram direcionados separadamente por meio de tubos de aço inoxidável de diâmetro de ¼ polegada aquecido por resistências a 80 °C até a câmara de amostragem gasosa do FT-MIR a 110 °C onde foram coletados os espectros FT-MIR em tempo real durante toda a fermentação (**Figura 2.1**).

Metodologia analítica

Amostras líquidas foram coletadas a cada hora e centrifugadas a 10.414 x g e 4 °C por 10 min. O precipitado foi seco em estufa por 24h para determinação de massa celular seca. O sobrenadante foi filtrado para a determinação das concentrações de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando um cromatógrafo Waters 717 autosampler plus equipado com detector de índice de refração (40 °C) e coluna Sugar-Pak I (300 × 6,5 mm, 10 µm, Waters) operando em temperatura de 80 °C

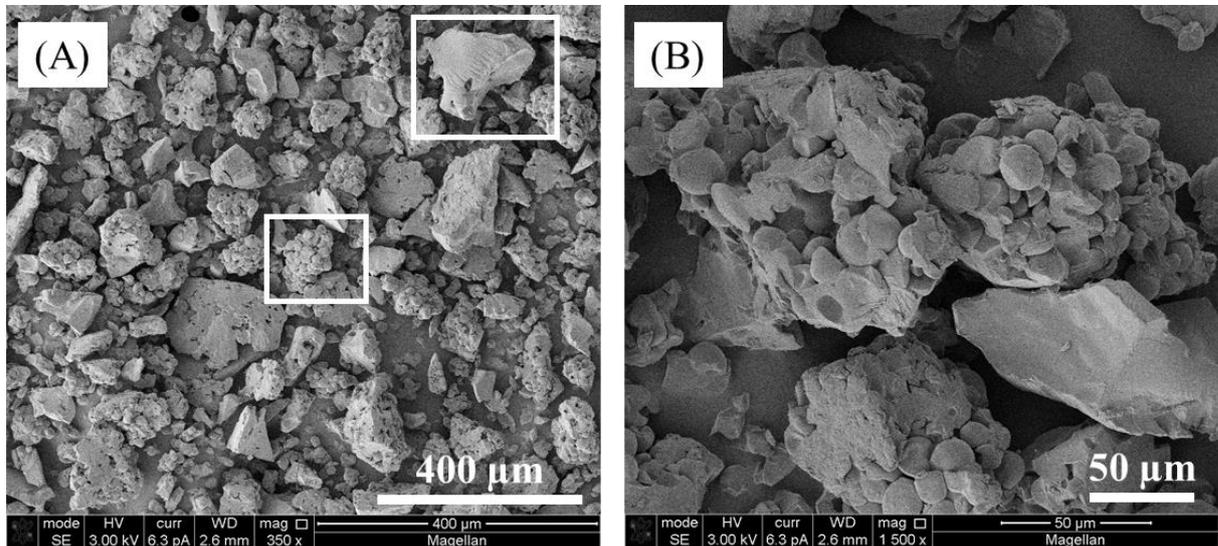
com água ultrapura e EDTA de cálcio a uma vazão de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ como eluente. Os padrões usados foram soluções de sacarose, glicose, frutose e etanol em concentrações entre $0,1$ e $10,0 \text{ g L}^{-1}$.

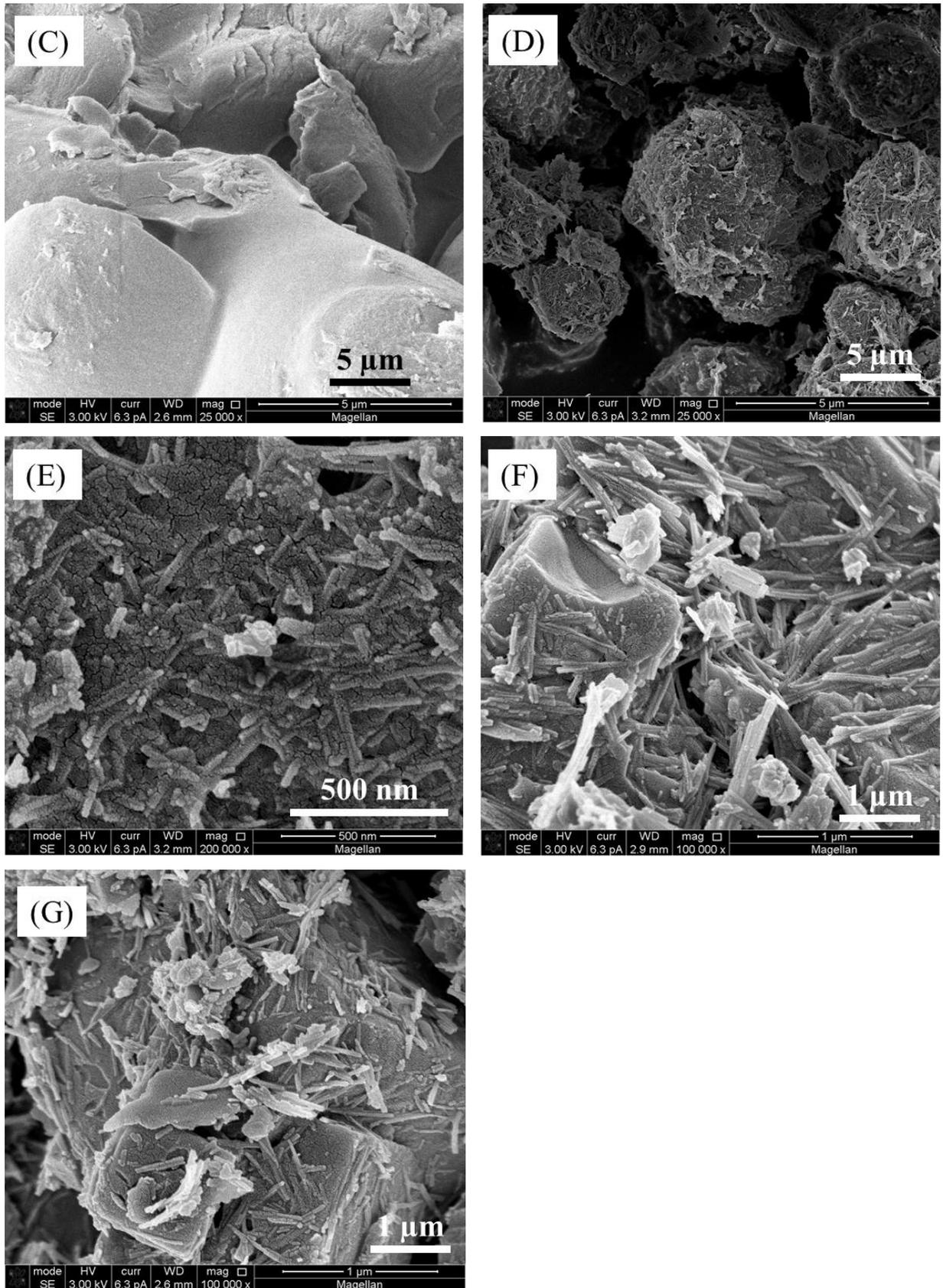
4.3 Resultados e discussões

4.3.1 Caracterização do adsorvente

As características físicas e químicas dos adsorventes foram avaliadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para analisar a morfologia dos materiais e espectroscopia na região do infravermelho para verificar a presença de grupos superficiais nos materiais. Todos os materiais são esféricos como mostra a **Figura 4.1** e a morfologia dos adsorventes são mostradas na **Figura 4.4**.

Figura 4.4: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos adsorvente zeólitas 3A e sagu. (A) partículas de sagu aumentadas 350x, (B) partículas de sagu aumentadas 150x, (C) partículas de sagu aumentadas 25.000x, (D) partículas de zeólitas 3A (Z_1) aumentadas 25.000x, (E) partículas de zeólitas 3A (Z_1) aumentadas 200.000x, (F) partículas de zeólitas 3A (Z_2) aumentadas 100.000x e (G) partículas de zeólitas 3A (Z_3) aumentadas 100.000x,



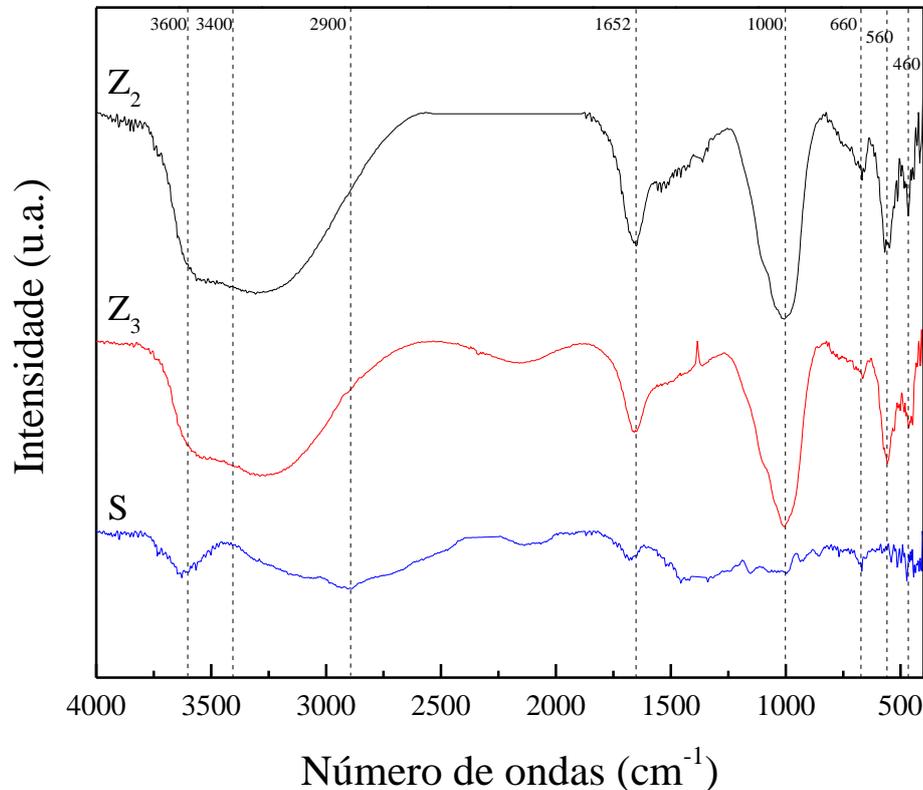


O sagu apresenta regiões de amido gelatinizado liso e agregado (**Figura 4.4a**). A região gelatinizada e pouco porosa fica no interior do sagu, enquanto que a região de amido

agregado fica na superfície fornecendo área de superfície para adsorção (KIM et al., 2011). As regiões de amido gelatinizado liso e agregado estão ampliadas nas **Figuras 4.4b**. Na região de amido agregado pôde-se notar uma forte presença de porosidade intraparticulas responsável por maior adsorção em relação as demais áreas segundo Kim *et al.* (2011) (**Figura 4.4c**). A zeólita 3A (Z_1) apresenta características superficiais bem diferentes do sagu como pode ser visto nas **Figuras 4.4d e 4.4e**, com conglomerados em forma bastonetes, cristais regulares e a presença de rachaduras que permite a difusão intraparticula. Essas características conferem ao material maior enrugamento e por consequência maior área superficial. As **Figuras 4.4f e 4.4g** mostram a morfologia das zeólitas 3A Z_2 e Z_3 , respectivamente, com as mesmas características da zeólita 3A Z_1 .

A **Figura 4.5** resume os resultados das análises de FTIR na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} . Para as zeólitas 3A Z_2 e Z_3 foi verificada a presença da banda espessa na região 3400 cm^{-1} , tipicamente atribuída ao estiramento das pontes de H onde ocorre interação nas cavidades da zeólita pela água adsorvida fisicamente pelo sólido e pelo oxigênio de superfície (CORONA et al., 2009; JACAS-RODRÍGUEZ et al., 2020; TOUNSI; MSEDDEI; DJEMEL, 2009). A região entre 3700 e 3400 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupo hidroxila (O-H) na forma de Si-OH, Si-OH-Al e -OH para as zeólitas 3A Z_2 e 3A Z_3 . Para o adsorvente sagu foi observado a banda pontual na região 3600 cm^{-1} na forma livre indicando que há grupos O-H ligados a matriz (SPYCHAJ; WILPISZEWSKA; ZDANOWICZ, 2013). Vibrações em torno de 1652 cm^{-1} observados em todos os adsorventes são atribuídas à curvatura do grupo OH na água adsorvida (TOUNSI; MSEDDEI; DJEMEL, 2009; ZHANG; TANG; JIANG, 2013). A existência de grupos O-H em cada adsorvente indica que todos os adsorventes possuem caráter hidrofílico, no entanto, foi observado que as bandas referentes a adsorção de água foram mais pronunciadas nas zeólitas do que no sagu.

Figura 4.5: Resultados do FTIR para as zeólitas 3A Z₂ e 3A Z₃ e sagu (S).



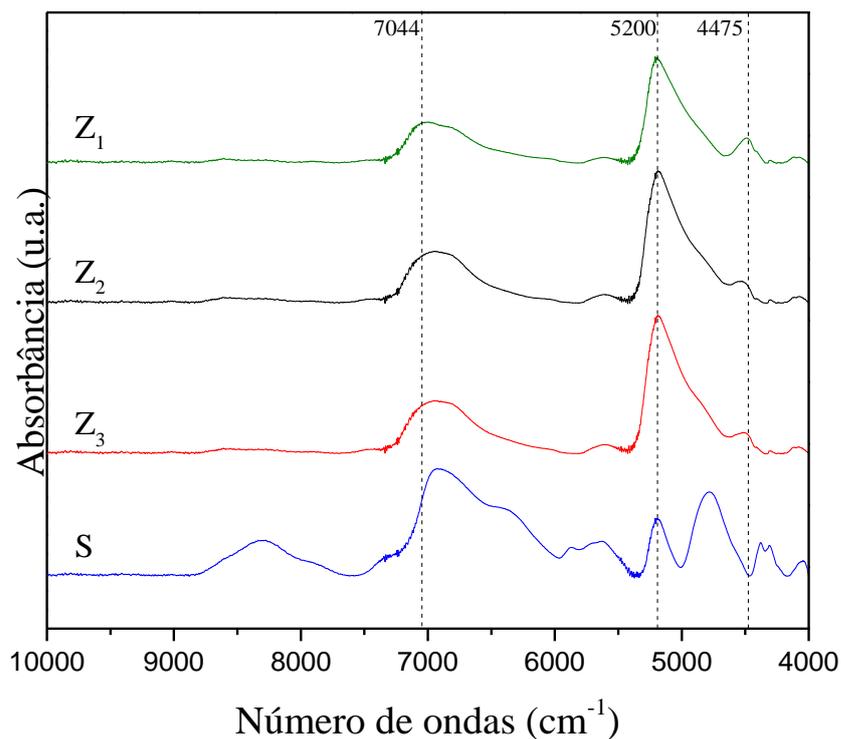
Os resultados da caracterização do FTIR também confirmam os grupos funcionais essenciais para cada adsorvente, como Si-O, Si-O-Al e Al-OH (1000 , 660 , 560 e 460 cm^{-1}) para as zeólitas 3A Z₂ e 3A Z₃. As vibrações refletidas a 1000 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de alongamento assimétricas características de Si-O (Si) e Si-O (Al) ligados em ponte ao tetraedros pertencentes a aluminossilicato com estrutura zeólita (JACAS-RODRÍGUEZ et al., 2020; MARKOVIC; DONDUR; DIMITRIJEVIC, 2003). As bandas de 660 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de estiramento simétricas das pontes de ligação Si-O-Al. As vibrações observadas em 560 cm^{-1} correspondem a uma banda complexa de superposição de diferentes bandas. As vibrações simétricas de estiramento do Si-O-Si e as vibrações de flexão correspondentes ao O-Si-O o compõem. As vibrações de deformação causam bandas fracas entre 500 e 400 cm^{-1} bandas. As vibrações em 460 cm^{-1} estão correlacionadas com as vibrações de flexão manifestadas em antiface para o O-Si-O que são vibrações características pertencentes aos anéis de 4 membros (JACAS-RODRÍGUEZ et al., 2020; MOZGAWA; KRÓL; BARCZYK, 2011).

Os resultados da caracterização do FTIR também confirmam os grupos funcionais essenciais para o sagu, como alongamento CH₂ na região 2900 cm^{-1} (SPYCHAJ;

WILPISZEWSKA; ZDANOWICZ, 2013). Além dessa banda, foi possível observar as bandas na região 1200 a 1000 cm^{-1} são consideradas bandas características do amido e são atribuídas a vibrações de deformação axial de C-O e a vibrações de deformação axial do sistema O-C-O (LIMA et al., 2012).

Também foi feita a análise de FTIR próximo na região 4000 a 10000 cm^{-1} , resultado mostrado na **Figura 4.6** para todos os adsorventes testados. Foram identificados picos na região 7044 cm^{-1} característicos de grupos silanol de estiramento OH e grupos silanol ligados a hidrogênio presentes em todas as zeólitas estudadas e banda de combinação de grupos hidroxila 4475 cm^{-1} . A banda 5200 cm^{-1} foi comum a todos adsorventes característico da banda de absorção das moléculas de água.

Figura 4.6: Resultados do FTIR próximo para as zeólitas 3A Z_2 e Z_3 e sagu (S).

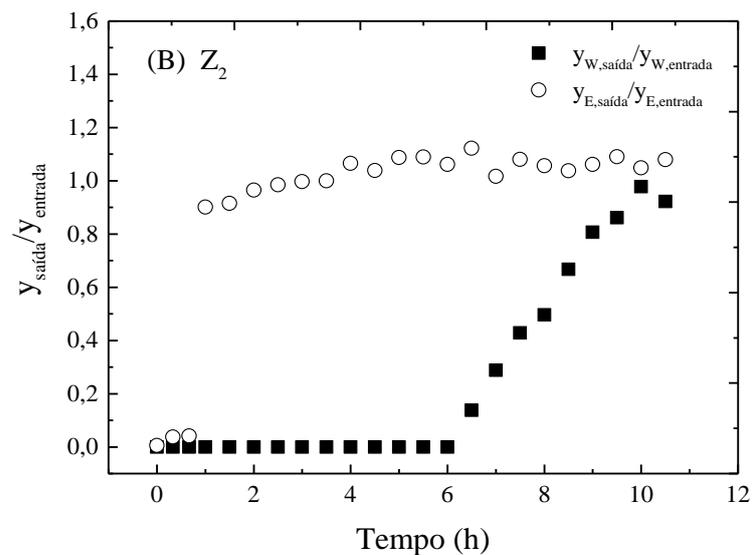
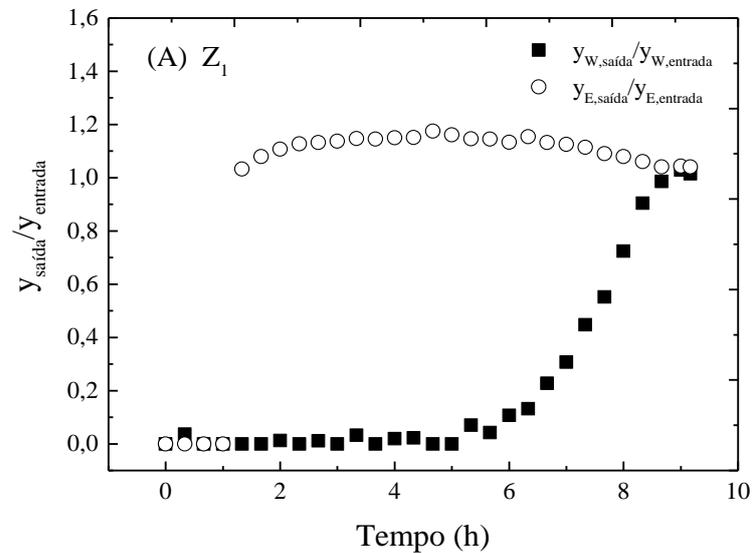


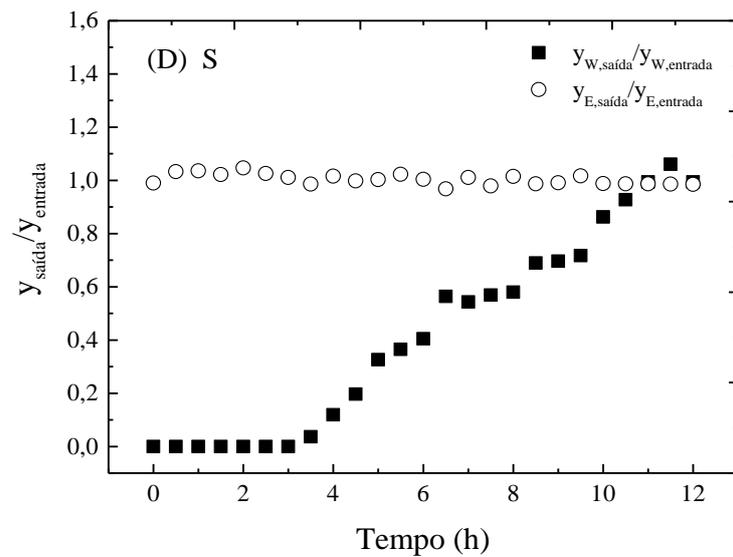
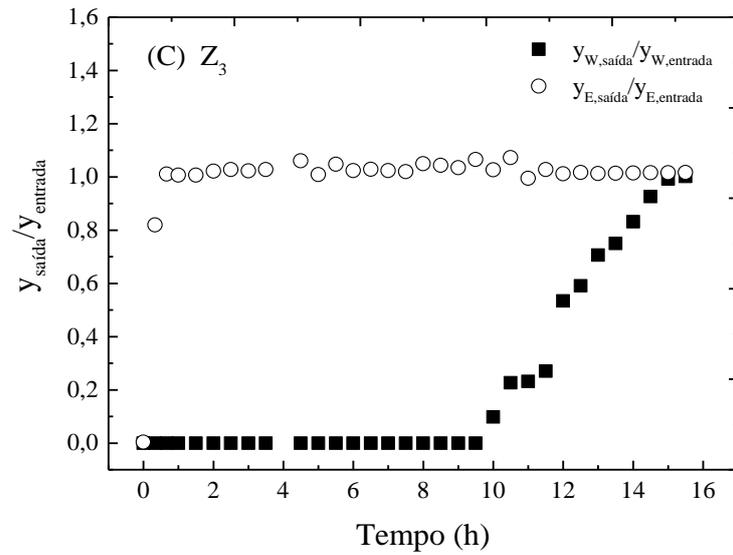
4.3.2 Curva de ruptura de adsorção de água da corrente proveniente por stripping de solução hidroalcoólica com CO_2

A vazão volumétrica de CO_2 (gás de arraste) utilizada nos ensaios foram baseadas na literatura, considerando um valor suficiente para reduzir a inibição pelo etanol durante as fermentações (SONEGO, 2016). Assim, a corrente gasosa de etanol e água foi gerada por

arraste gasoso com CO_2 em biorreator de coluna de bolhas de 2 L de volume útil em condições operacionais semelhantes a industriais (temperatura $34\text{ }^\circ\text{C}$ e concentração inicial de etanol 80 g L^{-1}) com vazões volumétricas de 4 L min^{-1} para avaliar a capacidade de adsorção de cada adsorvente testados. Na **Figura 4.7** mostramos as curvas de ruptura da água e etanol para os adsorventes 3A Z₁, 3A Z₂, 3A Z₃ e S.

Figura 4.7: Curvas de ruptura de água e etanol do leito fixo preenchido com os adsorventes (A) 3A Z₁, (B) 3A Z₂, (C) 3A Z₃ e (D) S.





Todos os adsorventes utilizados foram adequados para adsorção da água, com destaque a zeólita (3A Z_3) com maior tempo até a ruptura e ao sagu (S) sem qualquer adsorção do etanol. Os parâmetros de desempenho da adsorção de água e etanol dos diferentes adsorventes foram estimados e estão apresentados na **Tabela 4.1**.

Tabela 4.1: Parâmetros de desempenho da adsorção de água e etanol

Tipo de adsorvente	3A Z_1	3A Z_2	3A Z_3	S
$t_{R,W}$ (h)	6,67	6,00	10,00	3
$t_{ZTM,W}$ (h)	2,33	4,50	5,50	8,5
q^*_{W} ($g_W \cdot g_{Adsorvente}^{-1}$)	0,0971	0,0577	0,1231	0,0474
$t_{R,E}$ (h)	1,33	1	0,67	0
q^*_{E} ($g_E \cdot g_{Adsorvente}^{-1}$)	0,0080	0,0073	0,0029	0

Dentre os adsorventes testados a zeólita 3A Z₃ se destacou por adsorver toda a água da corrente gasosa de *stripping* por mais tempo (10 h), possuir a maior afinidade pela água (0,1231 g_w·g_{Adsorvente}⁻¹), e a menor afinidade pelo etanol entre as zeólitas. A zeólita 3 apresentou o tempo de formação de zona de transferência de massa (t_{ZTM,W}) maior entre as zeólitas, e o e baixa afinidade ao etanol (q*_E igual a 0,0029 g_E·g_{Adsorvente}⁻¹), o que tem sido vantajoso para etapa de separação. A zeólita 3A Z₁ apresentou o menor t_{ZTM,W} e elevada afinidade pela água (0,0971 g_w·g_{Adsorvente}⁻¹). A zeólita 3A Z₂ apesar de adsorver toda água por quase mesmo intervalo de tempo que Z₁, apresentou baixa capacidade adsortiva de água.

Apesar do adsorvente sagu apresentar menor tempo de ruptura, maior tempo de t_{ZTM,W} e menor q*_w, foi o único adsorvente a não interagir com o etanol. O sagu não apresentou os melhores parâmetros de desempenho para adsorção da água, no entanto, devido seu baixo valor agregado e ser um adsorvente verde, o sagu possui potencial para adsorção de água quando a corrente é gasosa em larga escala.

Para prosseguir com pesquisa a zeólita 3A Z₃ foi escolhida por suas ótimas características estruturais, físico-químicas e excelente parâmetros de desempenho de adsorção de água da corrente gasosa de *stripping*.

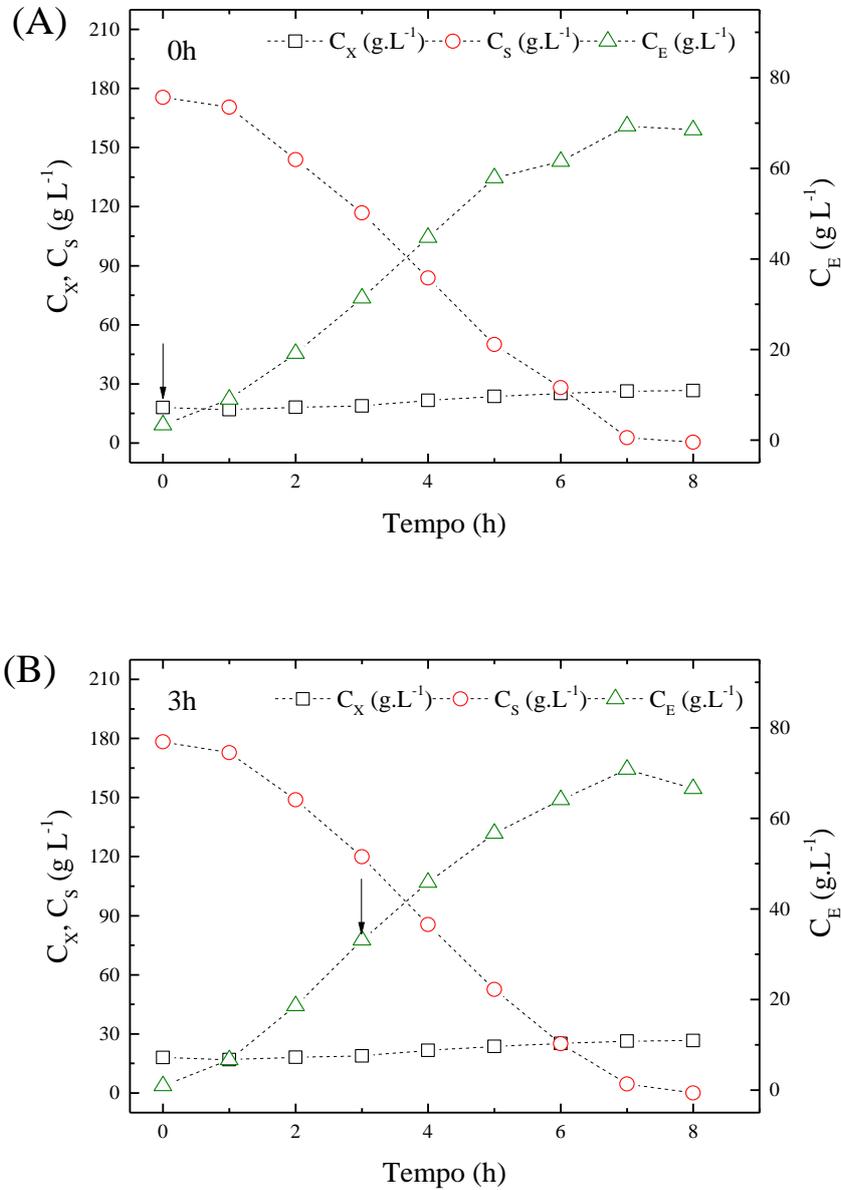
4.3.3 Desidratação por adsorção da corrente gasosa proveniente da fermentação extrativa em batelada

Com intuito de simular uma situação real de desidratação da corrente gasosa de *stripping* foram feitas 2 condições de fermentação extrativa em batelada como remoção de água e etanol iniciada em 0h (FEB0h) e 3h (FEB3h). A concentração inicial de ART foi de 180 g L⁻¹ e vazão específica de 2 vvm.

Cinéticas de crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol

Os resultados experimentais de concentração de células (C_x), substrato (C_s) e etanol (C_E) da fermentação em batelada com remoção de etanol em 0h (FEB0h) e 3h (FEB3h) são mostrados na **Figura 4.8**. O consumo total de substrato (ART) ocorreu em 7 horas de fermentação e a concentração de etanol no biorreator (C_E) foi de 68,49 e 66,5 g L⁻¹, valores consideravelmente menores que os observados em fermentações convencionais (80,1 g L⁻¹), devido à remoção de etanol por *stripping* (RODRIGUES, 2019), porém maior do que nas fermentações extrativas descritas por Rodrigues (2019).

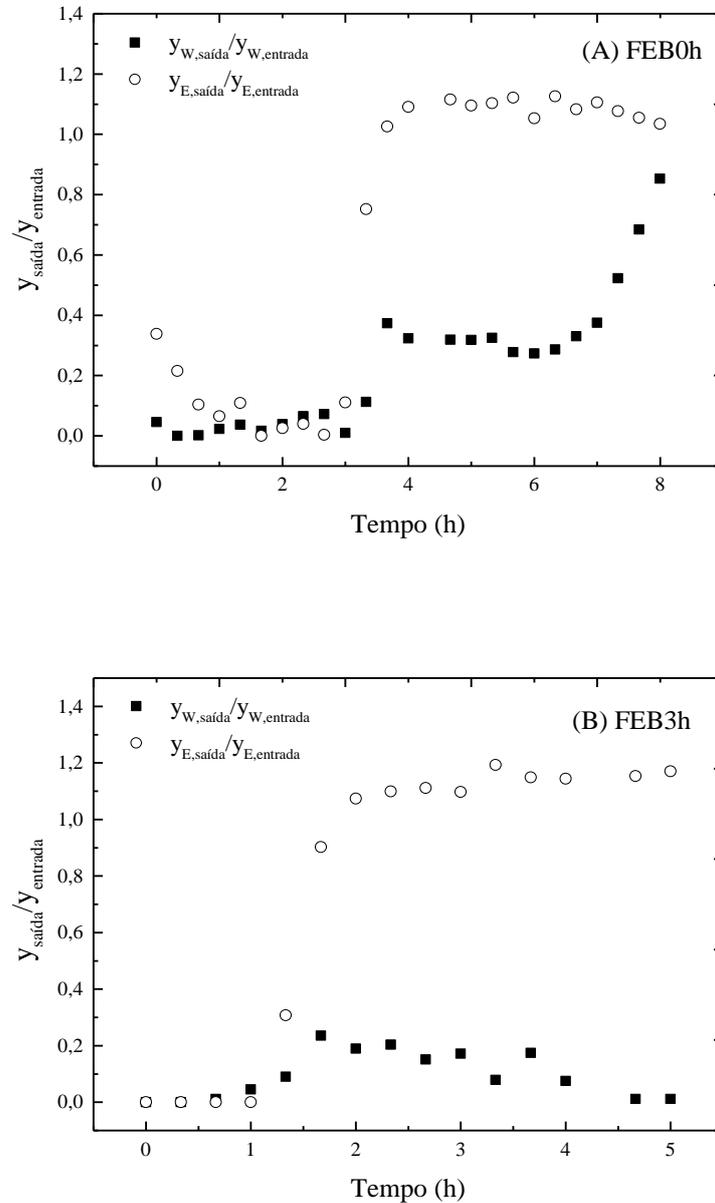
Figura 4.8: Valores experimentais de concentração de substrato (C_S), células viáveis (C_X) e etanol (C_E) ao longo do tempo na fermentação extrativa (A) 0h e (B) 3h do processo integrado com adsorção.



Processo integrado de fermentação extrativa e desidratação por adsorção

A água removida por arraste gasoso durante as fermentações foi adsorvida por adsorção em coluna de leito fixo. A **Figura 4.9** mostra as relações de fração molar $y_{saí}/y_{entra}$ de água e etanol provenientes da corrente gasosa das fermentações extrativas iniciadas em 0 h (FEB0h) e em 3 h (FEB3h).

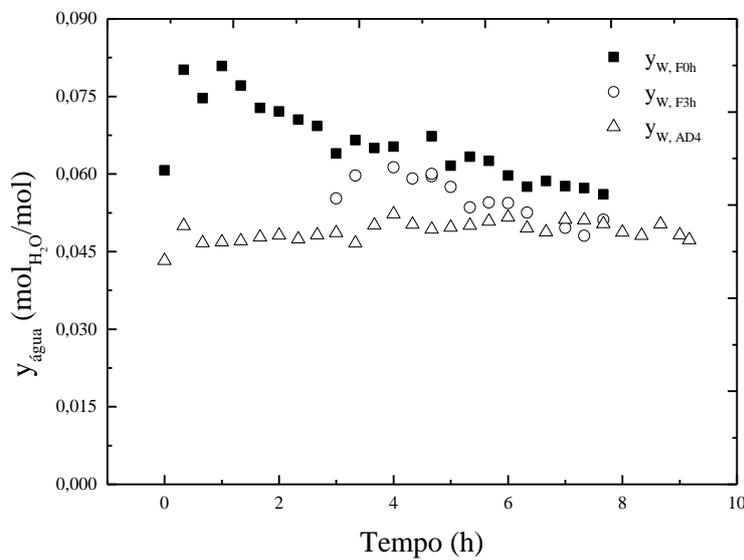
Figura 4.9: Relação de fração molar $y_{saí}/y_{entra}$ de água e etanol provenientes da corrente gasosa das fermentações extrativas iniciadas em: A) 0 h e em B) 3 h.



Observou-se que até a primeira hora os valores da relação de fração molar $y_{saí}/y_{entra}$ de água para fermentação com *stripping* iniciado na 3^a hora foi muito semelhante às curvas de ruptura obtidas no ensaio utilizando solução hidroalcoólica com 80 g L⁻¹ de etanol, adsorvendo água e etanol, no entanto parte da água saiu junto com etanol quando iniciou a saída do etanol. Quando comparada as duas fermentações extrativas, verificou-se que as frações molares de água na corrente de saída da FEB3h foi menor do que a FEB0h. Isso reflete diretamente no desempenho da adsorção de água na coluna (**Figura 4.9a e 4.9b**) pois perturbações na

quantidade de adsorvato podem diminuir a eficiência da coluna. Ao comparar a fração molar de água na saída do reator nas diferentes fermentações extrativas (FEB0h e FEB3h, **Figura 4.10**) e solução hidroalcoólica, observou-se que a fração molar de água na fermentação extrativa iniciada na hora 0 foi muito maior. Dessa forma, foi verificado que a fração molar da corrente de alimentação da coluna implica diretamente no desempenho da coluna.

Figura 4.10: Fração molar de água na saída do reator das fermentações extrativas (FEB0h e FEB3h) e fração molar de água da corrente de entrada na coluna de adsorção com vazão volumétrica 4 L min^{-1} (AD4) em solução hidroalcoólica.



Os resultados mostraram que a adsorção como método de desidratação da corrente gasosa de *stripping* mostraram-se promissores visto que torna a corrente gasosa rica em etanol, que pode ser recuperado por uma outra operação unitária como condensação, adsorção ou absorção. Pensando na absorção, a desidratação da corrente gasosa pode ser utilizada visto que poderá diminuir a quantidade de água a ser absorvida e potencializar a absorção do etanol sem a necessidade da utilização de reciclo de corrente gasosa para recuperação do etanol que ainda deixa a corrente final dos absorvedores, como no trabalho de Rodrigues (2019). Além do mais, integração dos processos de desidratação e recuperação do etanol pode viabilizar a utilização da corrente de CO₂ gerada na própria fermentação no processo *stripping*.

4.4 Conclusões

O processo de adsorção de água em coluna de leito fixo preenchida com zeólita 3A e

sagu de mandioca (S) foi estudado como método de desidratação da corrente gasosa proveniente da corrente gasosa do *stripping* de solução hidroalcoólica e da fermentação extrativa. As zeólitas 3A e o sagu (S) foram capazes de remover água de correntes gasosas provenientes de *stripping* com CO₂ de soluções hidroalcoólicas e fermentações extrativas. A zeólita 3A Z₃ se destacou por adsorver toda a água da corrente gasosa de *stripping* por mais tempo (10 h), possuir a maior afinidade pela água (0,1231 g_w.g_{Adsorvente}⁻¹), e a menor afinidade pelo etanol entre as zeólitas. Enquanto o sagu, apesar de apresentar menor tempo de ruptura (3 h) e menor afinidade pela água (0,0474 g_w.g_{Adsorvente}⁻¹), foi o único adsorvente a não interagir com o etanol.

A desidratação por adsorção da corrente gasosa proveniente de fermentações extrativas apresentou comportamento ligeiramente diferente dos ensaios com solução hidroalcoólica. Apesar do uso de soluções hidroalcoólicas para simular um meio fermentativo seja uma abordagem frequente no presente grupo de pesquisa, as frações molares geradas foram ligeiramente diferentes e isso pode ter ocasionado a divergência de resultados da curva de ruptura. Nesse sentido, a integração com outra operação unitária como processo de recuperação de etanol pode ser uma alternativa para a viabilização da integração do sistema remoção, separação e reutilização do CO₂ da própria fermentação no processo *stripping*.

Capítulo 5 : Estudo da associação dos processos de stripping, adsorção e absorção para recuperação do etanol removido de soluções hidroalcoólicas e de caldos de fermentação extrativa em batelada

5.1 Introdução

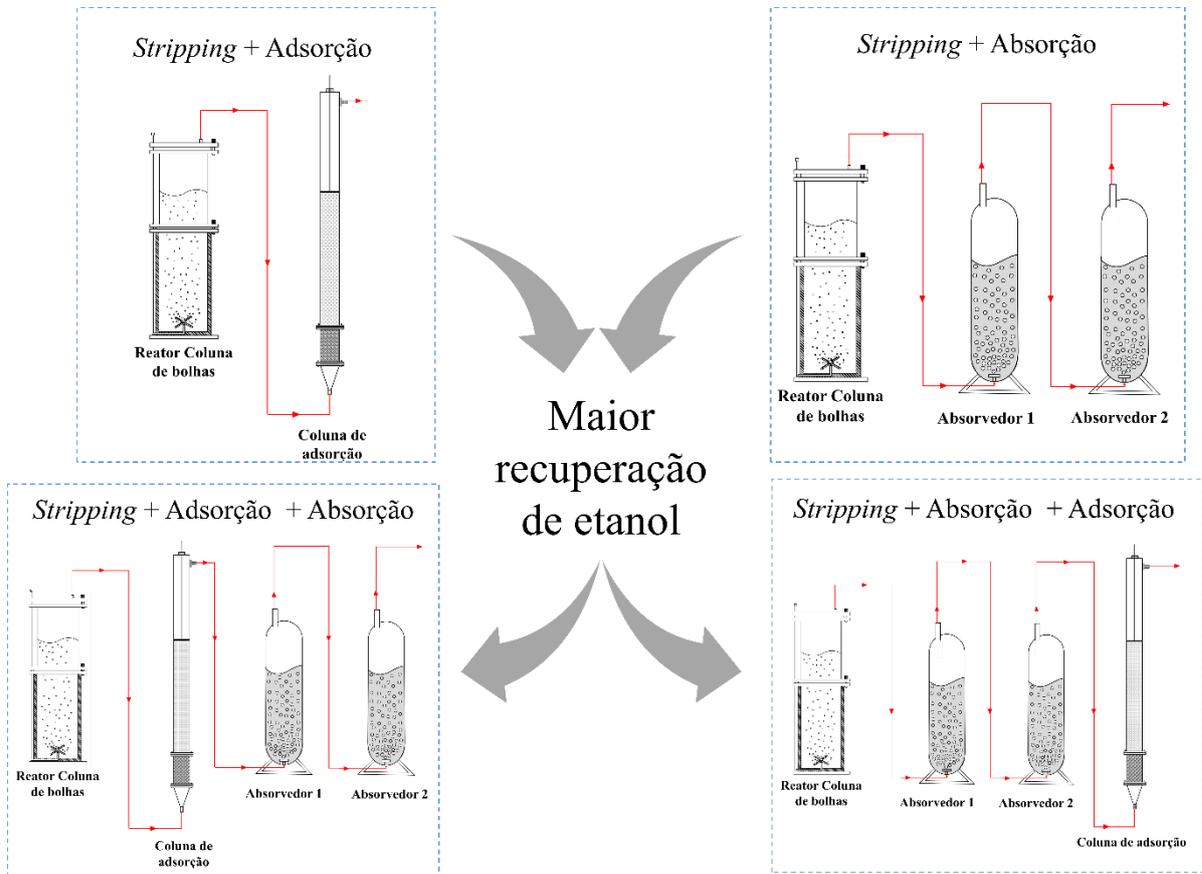
Neste capítulo são apresentados os resultados da integração dos processos de adsorção e absorção em diferentes configurações para recuperação do etanol removido por *stripping* de soluções hidroalcoólicas e de caldos de fermentação extrativa em batelada. Foram realizados ensaios de *stripping* utilizando soluções hidroalcoólicas com o intuito de estudar o desempenho das etapas de adsorção e absorção em diferentes ordens de associação dessas operações. Essas mesmas configurações foram também avaliadas em fermentações extrativas em batelada. Foi realizado um ensaio de fermentação convencional em modo batelada com o objetivo de obter os parâmetros cinéticos do processo para uso nas simulações das fermentações extrativas. Todos os experimentos desta etapa foram realizados com o objetivo de se determinar a melhor configuração (sequência a ser empregada das etapas de adsorção e absorção) com o objetivo de maximizar a recuperação de etanol.

5.2 Materiais e métodos

5.2.1 Planejamento dos ensaios associando as etapas de stripping com CO₂, adsorção e absorção

Após verificar que o processo de adsorção de água da corrente de *stripping* descrito no capítulo 4 produz uma corrente gasosa rica em etanol, buscou-se alternativas para sua recuperá-lo por meio de etapas já estudadas pelo grupo de pesquisa. Dessa forma, as etapas avaliadas para recuperação do etanol foram a absorção e a adsorção. Para avaliar a melhor disposição e associação entre esses processos, quatro arranjos experimentais foram avaliados (**Figura 5.1**).

Figura 5.1: Ilustração dos quatro arranjos experimentais entre as etapas de adsorção e absorção avaliados.



Fonte: autoria própria.

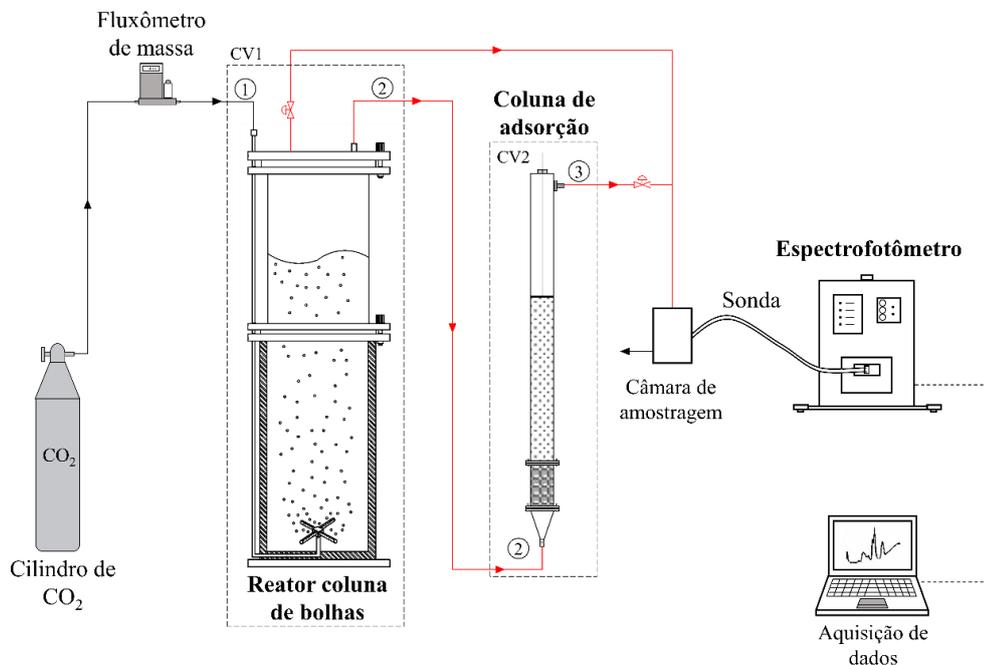
A primeira configuração associou, após o *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou de caldos de fermentação extrativa, uma coluna de adsorção. Nessa configuração esperava-se que a corrente gasosa proveniente da etapa de *stripping* fosse desidratada e tornando-se mais rica em etanol. Na segunda configuração foi associada ao *stripping* de soluções hidroalcoólica ou de caldos de fermentação extrativa dois absorvedores em série conforme sugerido por Rodrigues (2019). Essa disposição de operações foi avaliada para verificar se apenas a absorção era capaz de absorver a água e o etanol provenientes da etapa de esgotamento. A terceira configuração associou, após o *stripping* de soluções hidroalcoólica ou de caldos de fermentação extrativa, uma coluna de adsorção e dois absorvedores em série, nesta ordem. Essa disposição de operação foi avaliada para verificar o efeito da desidratação da corrente gasosa antes da etapa de absorção do etanol proveniente do stripping. A quarta configuração associou ao *stripping* de soluções hidroalcoólica ou de caldos de fermentação extrativa dois absorvedores em série e uma coluna de adsorção, nesta ordem. Essa disposição de operações foi avaliada para verificar

o efeito da mudança da ordem entre as operações estudadas na recuperação global de etanol proveniente do esgotamento de gases.

5.2.2 Ensaio associando as etapas de stripping com CO₂ e adsorção

A **Figura 5.2** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos em que associou a adsorção ao *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou fermentações extrativas em batelada. O *stripping* da soluções hidroalcoólicas e adsorção seguiu o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.5. As fermentações extrativas em batelada seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.6 com início do *stripping* na terceira hora e foi designada como “Fer+Ads”. O adsorvente escolhido para todos os experimentos foi a zeólita 3A (Z₃)_ devido ao seu melhor desempenho de adsorção entre os diferentes adsorventes estudados no presente trabalho. A massa de adsorvente foi alterada para 1044 g, de modo a possibilitar maior tempo de operação, e as frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) na corrente gasosa da saída do reator e da coluna de adsorção foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 30 minutos.

Figura 5.2: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* com CO₂ de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação e adsorção (Fer+Ads).



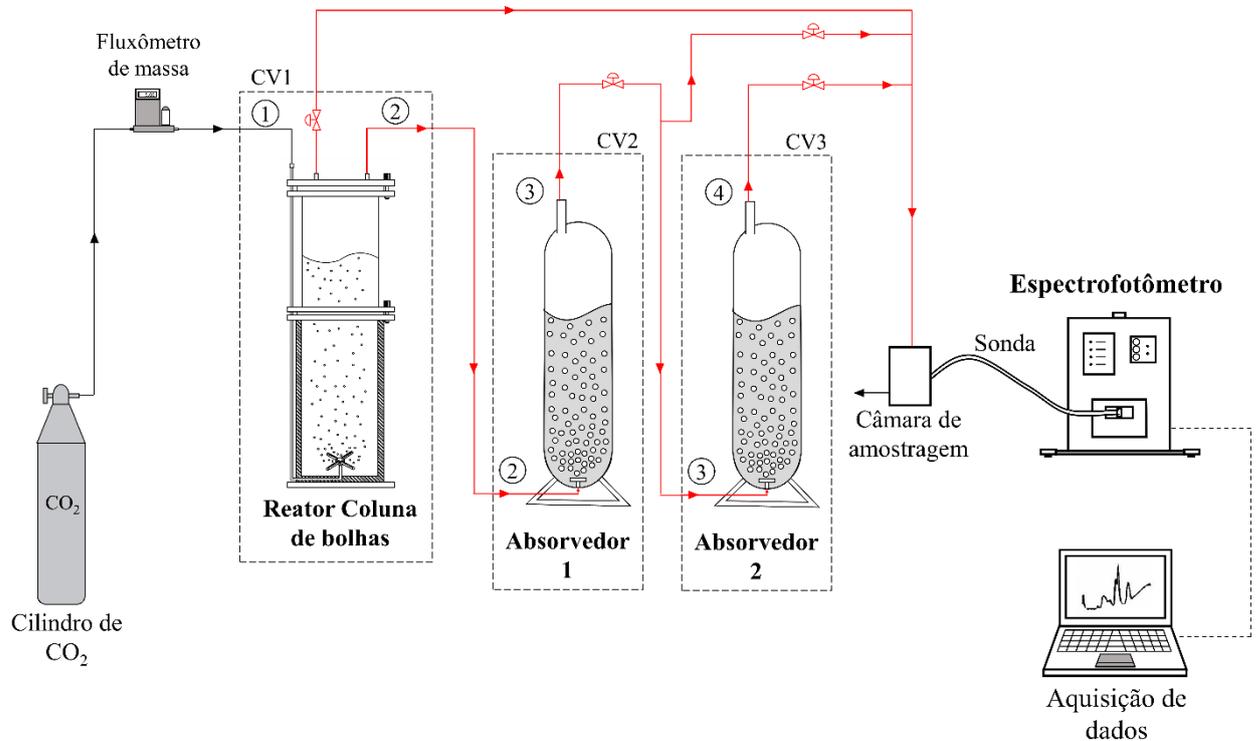
CV: Volume de controle definido nas unidades para realização dos balanços de massa.

Fonte: autoria própria.

5.2.3 Ensaios experimentais *stripping* com CO₂ e absorção

A **Figura 5.3** ilustra o aparato experimental utilizado nos experimentos associando *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou de caldos de fermentações extrativas em batelada com a etapa de absorção. Os ensaios de *stripping* de soluções hidroalcoólicas seguido de absorção seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 3.2.9. As fermentações extrativas em batelada seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.6 com início do *stripping* na terceira hora designando-as como “Fer+Abs”. Como sugerido por Rodrigues (2019), o absorvente utilizado foi o monoetileno glicol (MEG) em colunas com volume de cada absorvedor correspondendo a 40% do volume útil do biorreator e mantidas a 25°C. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e tiveram duração de 8 h. As frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) nas correntes gasosas da saída do reator, do absorvedor 1 e do absorvedor 2 foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 30 minutos e as variações dos volumes dos absorvedores absorvedores foram medidas a cada 2 h.

Figura 5.3: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação com CO₂ e absorção (Fer+Abs).



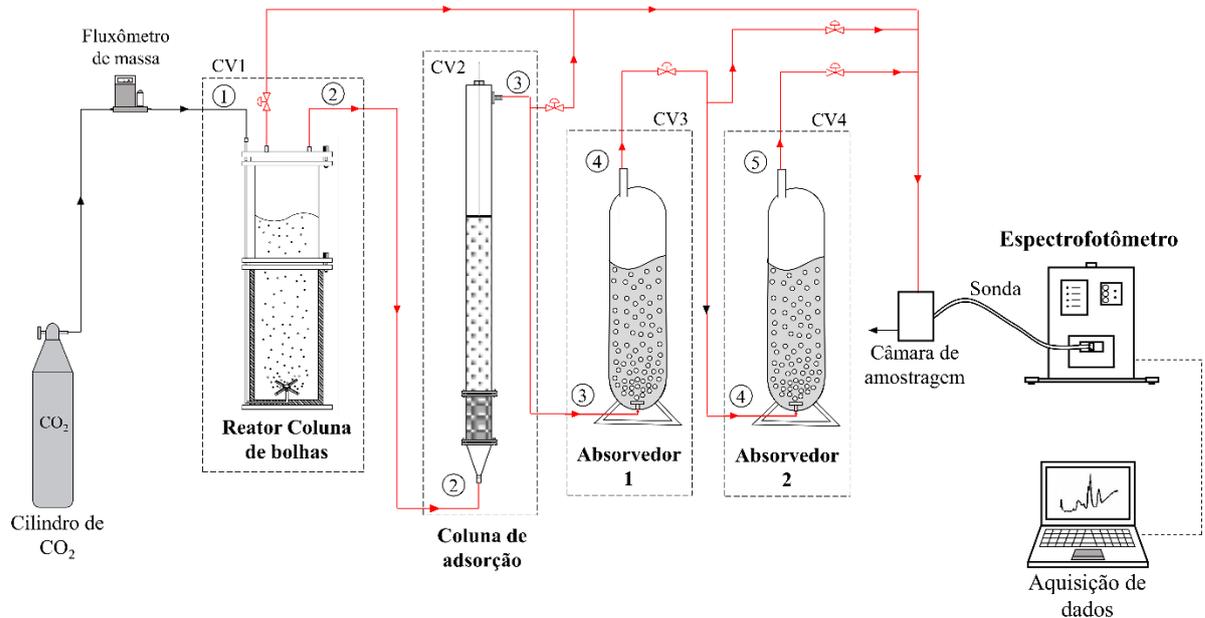
CV: Volume de controle definido nas unidades para realização dos balanços de massa.

Fonte: autoria própria.

5.2.4 Ensaios associando *stripping* com CO₂, adsorção e absorção

A **Figura 5.4** ilustra o aparato experimental utilizado nos ensaios associando *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou de caldos de fermentações extrativas em batelada com as etapas de adsorção e absorção. Os ensaios de *stripping* de soluções hidroalcoólicas seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 3.2.9.1. A adsorção da corrente gasosa proveniente do *stripping* seguiu o mesmo procedimento experimental descrito no item 5.2.2. A absorção da corrente gasosa de saída da coluna de adsorção seguiu o mesmo procedimento experimental descrito no item 5.2.3. As fermentações extrativas em batelada seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.6, com início do *stripping* na terceira hora sendo designada como “Fer+Ads+Abs”. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e tiveram duração e 8 h. As frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) nas correntes gasosas da saída do reator, da coluna de adsorção, do absorvedor 1 e do absorvedor 2 foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 30 minutos e as variações de volume dos absorvedores foram medidas a cada 2 horas.

Figura 5.4: Aparato experimental utilizado nos ensaios associando as etapas de *stripping* de soluções alcoólicas ou de caldos de fermentação com CO₂, adsorção e absorção (Fer+Ads+Abs).



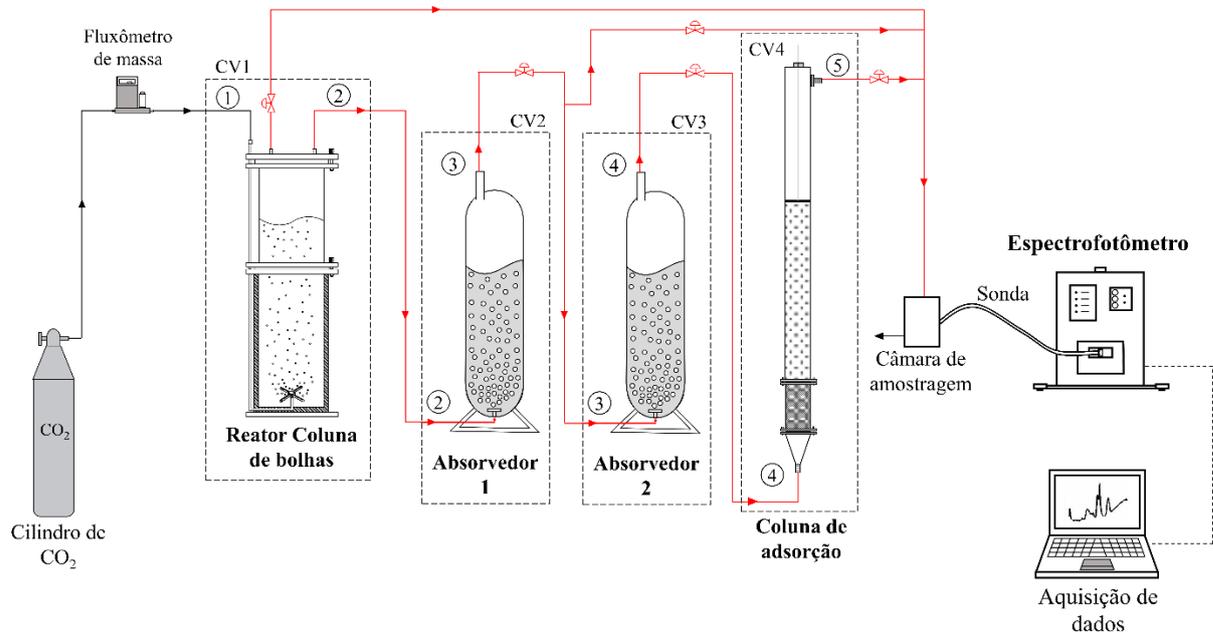
CV: Volume de controle definido nas unidades para realização dos balanços de massa.

Fonte: autoria própria.

5.2.5 Ensaio associando *stripping* com CO₂, absorção e adsorção

A **Figura 5.5** ilustra o aparato experimental utilizado nos ensaios associando *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou de caldos de fermentações extrativas em batelada com as etapas de absorção e adsorção. Os ensaios de *stripping* de soluções hidroalcoólicas seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 3.2.9.1. A absorção da corrente gasosa proveniente do *stripping* seguiu o mesmo procedimento experimental descrito no item 5.2.3. A adsorção da corrente gasosa de saída do absorvedor 2 seguiu o mesmo procedimento experimental descrito no item 5.2.2. As fermentações extrativas em batelada seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no item 4.2.6 com início do *stripping* na terceira hora foi designada como “Fer+Abs+Ads”. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e tiveram duração de 8 h. As frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) nas correntes gasosas da saída do reator, do absorvedor 1, absorvedor 2 e da coluna de adsorção foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) a cada 30 minutos e as variações de volume dos absorvedores foram medidas a cada 2 horas.

Figura 5.5: Aparato experimental utilizado na associação entre os processos de *stripping* com CO₂, absorção e adsorção (Fer+Abs+Ads).



CV: Volume de controle definido nas unidades para realização dos balanços de massa.

Fonte: autoria própria.

5.2.6 Parâmetros de desempenho das configurações avaliadas nos processos de adsorção e absorção

Massa de etanol e água removida de soluções hidroalcoólica e fermentação extrativas em batelada por stripping

Um balanço de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO₂) foi realizado para determinar a quantidade arrastada de água e etanol (em massa) durante os processos de *stripping* em soluções hidroalcoólicas e em fermentações extrativas em batelada. As correntes e volumes de controle (CV) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados na **Figura 5.2**. As equações de balanços estão descritas no item 4.2.4.1 e a massa de água e massa de etanol foram determinadas a partir da integração das **Equações 4.7 e 4.8**, resultando nas **Equações 5.1 e 5.2**.

$$m_{ER} = \int_{t_i}^{t_f} \dot{m}_{E2} dt \quad (5.1)$$

$$m_{WR} = \int_{t_i}^{t_f} \dot{m}_{W2} dt \quad (5.2)$$

onde t_i e t_f são os tempos inicial e final do experimento.

Massas de etanol e de água adsorvidas

Balanços de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO₂) foram realizados para determinar as massas de água e de etanol adsorvidas durante todo o processo, seja puramente adsorptivo, seja no processo combinado de adsorção e absorção. Para facilitar a compreensão, as correntes de entrada na coluna foram identificadas com o subíndice “i” e as correntes de saída da coluna com “s”. As correntes e volumes de controle (CV) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados nas **Figuras 5.2, 5.4 e 5.5**. As composições molares de água (y_{Wi}) e etanol (y_{Ei}) na corrente de entrada foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{Ci}) foi obtida pela soma das frações mássicas (Equação 5.3).

$$y_{Ci} = 1 - y_{Ei} - y_{Wi} \quad (5.3)$$

A vazão molar da corrente de entrada da coluna de adsorção (\dot{n}_2) nos ensaios com *stripping* de soluções hidroalcoólicas ou de caldos fermentações extrativas em batelada

adsorção foi a mesma obtida no balanço de massa aplicado no VC1 (Item 4.2.4.1, **Equação 4.3**).

No caso em que a coluna de adsorção está disposta após aos absorvedores, a vazão molar da corrente de entrada da coluna de adsorção (\dot{n}_4) foi obtida por meio do balanço de massa aplicado no VC4 (**Figura 5.5**).

$$\dot{n}_4 = \frac{\dot{n}_3 y_{C3}}{y_{C4}} \quad (5.4)$$

onde y_{C3} é a fração molar de CO₂ na corrente 3, y_{C4} é a fração molar de CO₂ na corrente 4, sendo calculadas pela **Equação 5.3**.

As vazões molares de cada espécie na entrada da coluna são obtidas por meio das **Equações 5.5-5.7**.

$$\dot{n}_{Ei} = \dot{n}_i y_{Ei} \quad (5.5)$$

$$\dot{n}_{Wi} = \dot{n}_i y_{Wi} \quad (5.6)$$

$$\dot{n}_{Ci} = \dot{n}_i y_{Ci} \quad (5.7)$$

As vazões mássicas de cada componente foram calculadas a partir das respectivas vazões molares pelas **Equações 5.8-5.10**.

$$\dot{m}_{Ei} = \dot{n}_{Ei} MM_E \quad (5.8)$$

$$\dot{m}_{Wi} = \dot{n}_{Wi} MM_W \quad (5.9)$$

$$\dot{m}_{Ci} = \dot{n}_{Ci} MM_C \quad (5.10)$$

onde $MM_W=18,016 \text{ g mol}^{-1}$, $MM_E=46,07 \text{ g mol}^{-1}$ e $MM_C=44,01 \text{ g mol}^{-1}$.

A composição molar na corrente de saída da coluna de adsorção para os componentes água (y_{Ws}) e etanol (y_{Es}) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{Cs}) foi obtida pela soma das frações mássicas (Equação 5.11).

$$y_{Cs} = 1 - y_{Es} - y_{Ws} \quad (5.11)$$

A vazão molar da corrente de saída na coluna de adsorção (\dot{n}_3) nos ensaios de *stripping* seguido adsorção foi a mesma obtida no balanço de massa no VC1 (Item 4.2.4.2, **Equação 4.11**).

No caso em que a coluna de adsorção está disposta após aos absorvedores, a vazão molar correspondente à corrente de saída da coluna de adsorção (\dot{n}_5) foi obtida por meio do balanço de massa no VC4 (**Figura 5.5**), resultando na Equação (5.12).

$$\dot{n}_5 = \frac{\dot{n}_4 y_{C4}}{y_{C5}} \quad (5.12)$$

onde y_{C4} corresponde a fração molar de CO₂ na corrente 4, y_{C5} corresponde a fração molar de CO₂ na corrente 5, ambas calculadas utilizando **Equação 5.11**.

As vazões molares para cada espécie na saída da coluna de adsorção foram calculadas empregando as **Equações 5.13-5.15**.

$$\dot{n}_{Es} = \dot{n}_s y_{Es} \quad (5.13)$$

$$\dot{n}_{Ws} = \dot{n}_s y_{Ws} \quad (5.14)$$

$$\dot{n}_{Cs} = \dot{n}_s y_{Cs} \quad (5.15)$$

As vazões mássicas de cada componente foram calculadas a partir das respectivas vazões molares pelas **Equações 5.16-5.18**.

$$\dot{m}_{Es} = \dot{n}_{Es} M M_E \quad (5.16)$$

$$\dot{m}_{Ws} = \dot{n}_{Ws} M M_W \quad (5.17)$$

$$\dot{m}_{Cs} = \dot{n}_{Cs} M M_C \quad (5.18)$$

As massas de etanol e água adsorvidas foram calculadas por meio da integração ao longo do tempo da diferença entre as vazões mássicas de entrada e saída de cada componente na coluna de adsorção.

$$m_{E,ADS} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Ei} - \dot{m}_{Es}) dt \quad (5.19)$$

$$m_{W,ADS} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Wi} - \dot{m}_{Ws}) dt \quad (5.20)$$

onde t_i e t_f são os tempos inicial e final do experimento.

Massas de etanol e de água absorvidas

Balanços de massa para as espécies envolvidas (etanol, água e CO₂) foram realizados para determinar as quantidades de massa de água e etanol retidas durante processo, seja puramente absorptivo ou combinado de absorção e adsorção. Para facilitar a compreensão, a corrente de entrada no primeiro absorvedor foi identificada com o subíndice “i”, a corrente que sai do absorvedor 1 e entra no absorvedor 2 foi identificada com o subíndice “i,s” e a corrente de saída do absorvedor 2 foi identificada com o subíndice “s”. As correntes e os volumes de controle (CV) considerados para realização dos balanços de massa são mostrados nas **Figuras 5.3, 5.4 e 5.5**. As composições molares de água (y_{Wi}) e etanol (y_{Ei}) na corrente de entrada foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO₂ (y_{Ci}) foi obtida pela soma das frações mássicas (**Equação 5.3**).

A vazão molar da corrente de entrada no absorvedor 1 (\dot{n}_2) nos ensaios de *stripping* seguido de absorção foi obtida a partir do balanço de massa no VC1 (Item 4.2.4.1, **Equação 4.3**).

Para o caso em que os absorvedores foram dispostos após a coluna de adsorção, a vazão molar da corrente do absorvedor 1 (\dot{n}_4) foi obtida pelo balanço de massa no VC4 (**Figura 5.4**).

$$\dot{n}_4 = \frac{\dot{n}_3 y_{C3}}{y_{C4}} \quad (5.21)$$

onde y_{C3} é a fração molar de CO₂ na corrente 3, y_{C4} é a fração molar de CO₂ na corrente 4, ambas calculadas por meio da **Equação 5.3**.

As vazões molares para cada espécie na entrada do primeiro absorvedor foram calculadas pelas **Equações 5.5-5.7** e as vazões mássicas para cada componente pelas **Equações 5.8-5.10**.

Para o caso em que os absorvedores foram dispostos após a coluna de adsorção, a vazão molar correspondente à corrente do absorvedor 1 (\dot{n}_4) foi obtida a partir do balanço de massa no VC4 (**Figura 5.4**).

$$\dot{n}_4 = \frac{\dot{n}_3 y_{C3}}{y_{C4}} \quad (5.21)$$

Onde y_{C3} corresponde a fração molar de CO_2 na corrente 3, y_{C4} corresponde a fração molar de CO_2 na corrente 4 e foram calculadas por meio da **Equação 5.3**.

Para a corrente que sai do absorvedor 1 e entra no absorvedor 2 a composição molar de água ($y_{Wi,s}$) e etanol ($y_{Ei,s}$) foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO_2 ($y_{Ci,s}$) foi obtida pela soma das frações mássicas (**Equação 5.3**).

A vazão molar correspondente à corrente entre os absorvedores 1 e 2 ($\dot{n}_{i,s}$) foi obtida no balanço de massa no volume de controle no absorvedor 1.

$$\dot{n}_{i,s} = \frac{\dot{n}_i y_{Ci,i}}{y_{C,s}} \quad (5.22)$$

As vazões molares para cada espécie da corrente entre os absorvedores 1 e 2 foram calculadas pelas **Equações 5.23-5.25**.

$$\dot{n}_{Ei,s} = \dot{n}_{i,s} y_{Ei,s} \quad (5.23)$$

$$\dot{n}_{Wi,s} = \dot{n}_{i,s} y_{Wi,s} \quad (5.24)$$

$$\dot{n}_{Ci,s} = \dot{n}_{i,s} y_{Ci,s} \quad (5.25)$$

A partir das vazões molares da corrente que sai do absorvedor 1 e alimenta o absorvedor 2 ($\dot{n}_{i,s}$), foram calculadas as respectivas vazões mássicas para cada componente pelas **Equações 5.26-5.28**.

$$\dot{m}_{Ei,s} = \dot{n}_{Ei,s} MM_E \quad (5.26)$$

$$\dot{m}_{Wi,s} = \dot{n}_{Wi,s} MM_W \quad (5.27)$$

$$\dot{m}_{Ci,s} = \dot{n}_{Ci,s} MM_C \quad (5.28)$$

As frações molares de água (y_{Ws}) e etanol (y_{Es}) na corrente de saída do absorvedor 2 foram quantificadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) e a composição molar de CO_2 (y_{Cs}) foi obtida pela soma das frações mássicas (**Equação 5.11**).

Nos ensaios de *stripping* de absorção, a vazão molar da corrente de saída do absorvedor 2 (\dot{n}_4) foi obtida a partir do balanço de massa no absorvedor 2 (**Figuras 5.3 e 5.5**).

$$\dot{n}_4 = \frac{\dot{n}_3 y_{C3}}{y_{C4}} \quad (5.29)$$

Para o caso em que os absorvedores foram dispostos após a coluna de adsorção, a vazão molar correspondente à corrente de saída do absorvedor 2 (\dot{n}_5) foi obtida a partir do balanço de massa no absorvedor 2 (**Figura 5.4**).

$$\dot{n}_5 = \frac{\dot{n}_4 y_{C4}}{y_{C5}} \quad (5.30)$$

onde y_{C4} corresponde a fração molar de CO₂ na corrente 4, y_{C5} corresponde a fração molar de CO₂ na corrente 5 e foram calculadas por meio da **Equação 5.11**.

As vazões molares para cada espécie na saída do absorvedor 2 foram calculadas pelas **Equações 5.13-5.15** e as vazões mássicas pelas **Equações 5.16-5.18**.

As massas de etanol e água absorvidas no primeiro absorvedor foram calculadas pela integração ao longo do tempo da diferença entre as vazões mássicas de entrada e saída de cada componente (**Equações 5.31 e 5.32**).

$$m_{E,ABS1} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Ei} - \dot{m}_{Ei,s}) dt \quad (5.31)$$

$$m_{W,ABS1} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Wi} - \dot{m}_{Wi,s}) dt \quad (5.32)$$

onde t_i e t_f são os tempos inicial e final do experimento.

As massas de etanol e água absorvidas no segundo absorvedor foram calculadas pela integração ao longo do tempo da diferença entre as vazões mássicas de entrada e saída de cada componente (**Equações 5.33 e 5.34**).

$$m_{E,ABS2} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Ei,s} - \dot{m}_{Es}) dt \quad (5.33)$$

$$m_{W,ABS2} = \int_{t_i}^{t_f} (\dot{m}_{Wi,s} - \dot{m}_{Ws}) dt \quad (5.34)$$

Recuperação global de etanol e percentual de remoção de água

A recuperação global de etanol das diferentes associações das etapas de adsorção e

absorção foi calculada pela **Equação 5.35**, que relaciona a massa total retida nas etapas e a massa total arrastada por *stripping* (**Equação 5.35**).

$$\text{Recuperação global}_{Etanol} = \frac{m_{E,rec}}{m_{E,rem}} \times 100 \quad (5.35)$$

onde $m_{E,rec}$ é a somatória das massas de etanol recuperadas nas etapas de adsorção e/ou absorção e $m_{E,rem}$ é a massa de etanol removida por *stripping*.

O percentual de desidratação também foi calculado para se avaliar o quão eficiente foi cada uma das diferentes disposições avaliadas das etapas de adsorção e absorção para remoção de água da corrente gasosa (**Equação 5.36**).

$$\text{Percentual de desidratação} = \frac{m_{W,ret}}{m_{W,rem}} \times 100 \quad (5.36)$$

onde $m_{W,ret}$ é a somatória das massas de água retida pelos processos de adsorção e/ou absorção e $m_{W,rem}$ é a massa de água removida pelo *stripping*.

5.2.7 Modelagem matemática da fermentação convencional em batelada

O modelo matemático empregado para descrever a fermentação convencional em batelada foi constituído de quatro equações diferenciais ordinárias (**Equações 5.37-5.39**) resultantes dos balanços de massa para células (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.

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_X \quad (5.37)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X \quad (5.38)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X \quad (5.39)$$

onde C_X é a concentração de células (g L^{-1}), μ é velocidade específica de crescimento celular (h^{-1}), C_S é a concentração de substrato limitante (ART, g L^{-1}), $Y_{X/S}$ é o coeficiente de rendimento de substrato a células ($\text{g}_X \text{g}_S^{-1}$), C_E é a concentração de etanol (g L^{-1}) e $Y_{E/S}$ é o coeficiente de rendimento de substrato a etanol ($\text{g}_E \text{g}_S^{-1}$).

O modelo cinético adotado para representar a velocidade específica de crescimento celular utilizado foi o híbrido de Andrews (1968)-Levenspiel (1980) (**Equação 5.40**), que considera inibições por substrato e produto.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \cdot \left(1 - \frac{C_E}{C_{Emax}}\right)^n \quad (5.40)$$

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.

Os coeficientes de rendimento globais de substrato a células e etanol, $Y_{E/S}$ e $Y_{X/S}$, foram calculados pelas **Equações 5.41 e 5.42**, respectivamente.

$$Y_{E/S} = \frac{C_{EV} - C_{E0}V_0}{C_{S0}V_0 - C_{SV}} \quad (5.41)$$

$$Y_{X/S} = \frac{C_{XV} - C_{X0}V_0}{C_{S0}V_0 - C_{SV}} \quad (5.42)$$

onde o subscrito “0” representa o tempo inicial da fermentação.

5.2.8 Modelagem matemática da fermentação extrativas em batelada

O modelo matemático empregado para descrever a fermentação extrativa em batelada foi obtido por meio do balanço de massa para as células (X), de substrato (S) e etanol (E), bem como foi considerada as remoções de etanol (E) e água (W), bem como as alterações do volume de caldo (V) devido ao arraste por CO_2 . O modelo de primeira ordem descrito por Sonogo (2016) foi utilizado para representar as remoções de etanol e de água do caldo de fermentação. As **Equações 5.43 a 5.46** foram usadas para descrever o modelo.

$$\frac{dC_X}{dt} = \left(\mu - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt}\right) C_X \quad (5.43)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_S \quad (5.44)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_E - k_E C_E \quad (5.45)$$

$$\frac{dV}{dt} = - \frac{(k_E C_E + k_W (\rho_W - C_E)) \cdot V}{\rho_W} \quad (5.46)$$

onde V é o volume de caldo (L), k_E é constante da velocidade de remoção de etanol (h^{-1}), k_W é constante da velocidade de remoção de água (h^{-1}) e ρ_W é a massa específica da água.

5.2.9 Resolução numérica das equações matemática

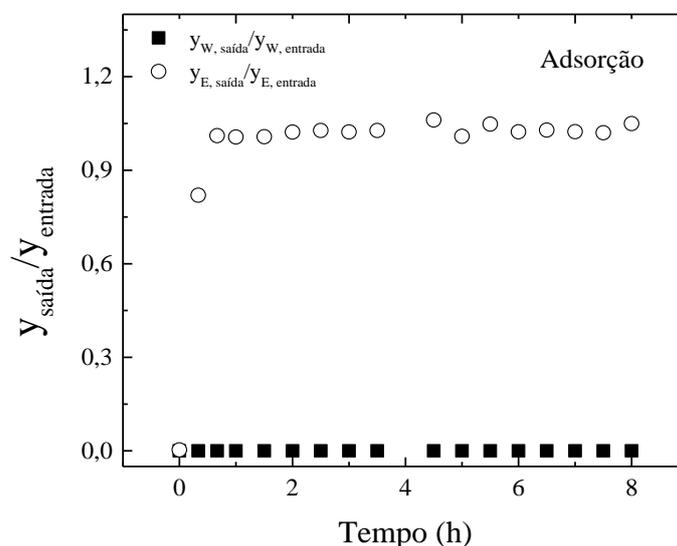
As equações diferenciais ordinárias (**Equações 5.37-5.39 e 5.43-5.46**) foram integradas usando o método Runge-Kutta e os parâmetros cinéticos do modelo de crescimento celular (μ_{\max} , K_S , K_{IS} , $C_{E\max}$ e n) foram estimados utilizando algoritmo genético (GA, *Genetic Algorithm*). O algoritmo foi implementado usando o *software* Scilab (versão 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.

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Avaliação das etapas de adsorção e absorção da corrente gasosa de stripping de soluções hidroalcoólicas

Nos ensaios em que a corrente gasosa de *stripping* de soluções hidroalcoólicas alimentou apenas a coluna de adsorção preenchida com zeólita 3A, foi observado que toda água removida por arraste gasoso foi adsorvida (100%), como era esperado e já verificado no Capítulo 4, visto que a zeólita 3A tem poros de tamanhos específicos para as moléculas da água (**Figura 5.6 e Tabela 5.1**). Também foi verificado que parte do etanol (3,5% m/m) ficou retido na coluna. Isso se deve a afinidade do adsorvente por moléculas polares como o etanol ocasionando uma retenção superficial.

Figura 5.6: Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada da coluna de adsorção (y_{sai}/y_{entra}) ao longo do tempo relativas ao *stripping* de solução hidroalcoólica seguido de adsorção.



Fonte: autoria própria.

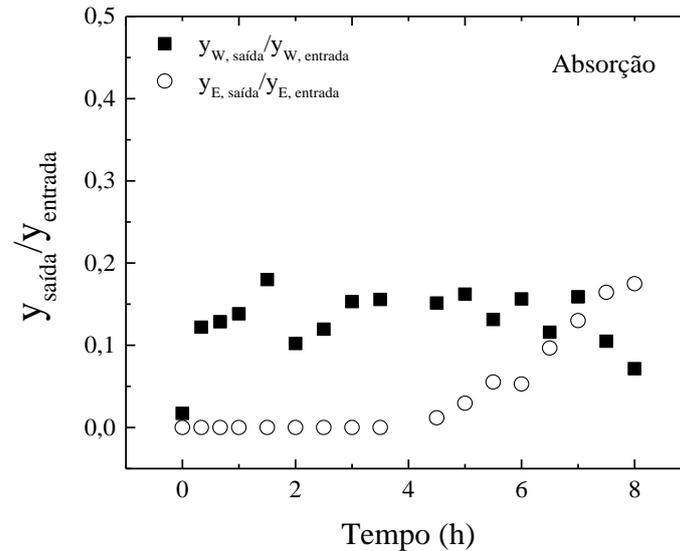
Tabela 5.1: Parâmetros de desempenho das etapas de recuperação de etanol e desidratação da corrente gasosa proveniente do *stripping* de soluções hidroalcoólicas para as diferentes configurações das etapas de adsorção/absorção.

Ensaio	Massa removida por <i>stripping</i> (g)		Massa adsorvida (g)		Massa absorvida (g)		Recuperação global (%)	
	Água (g)	Etanol (g)	Água	Etanol	Água	Etanol	Água	Etanol
Adsorção	52,4	54	52,4 (100%)	1,9 (3,5%)			100	3,5
Absorção	74,8	53,6			65,4 (87,5%)	51,9 (96,8%)	87,5	96,8
Adsorção+Absorção	63,3	52,7	61,4 (97%)	1,8 (3,5%)	2,1 (3%)	48,9 (92,8%)	100	96,3
Absorção+Adsorção	58,7	53,6	0 (0%)	0,5 (1%)	58,7 (100%)	50,5 (94%)	100	95,1

Nos ensaios em que a corrente gasosa de *stripping* de solução hidroalcoólica alimentou o sistema formado por dois absorvedores em série preenchidos com MEG ocorreu a absorção de 87,5% de água e 96,8% de etanol removidos por arraste gasoso. Esse percentual foi superior ao descrito por Rodrigues (2019), que reportou 93,1% de recuperação para o etanol (**Figura 5.7** e **Tabela 5.1**). No presente trabalho, as condições experimentais de absorção foram as mesmas, salvo a vazão específica de CO₂ que foi reduzida de 2,5 para 2,0 vvm. Apesar da redução de vazão específica de CO₂, o menor valor aumenta o tempo de residência do gás nos absorvedores, o que pode ter contribuído para o aumento do percentual de recuperação do etanol. No entanto, apenas etapa de absorção não foi capaz de recuperar todo o etanol da

corrente de gasosa proveniente do *stripping* (Figura 5.7).

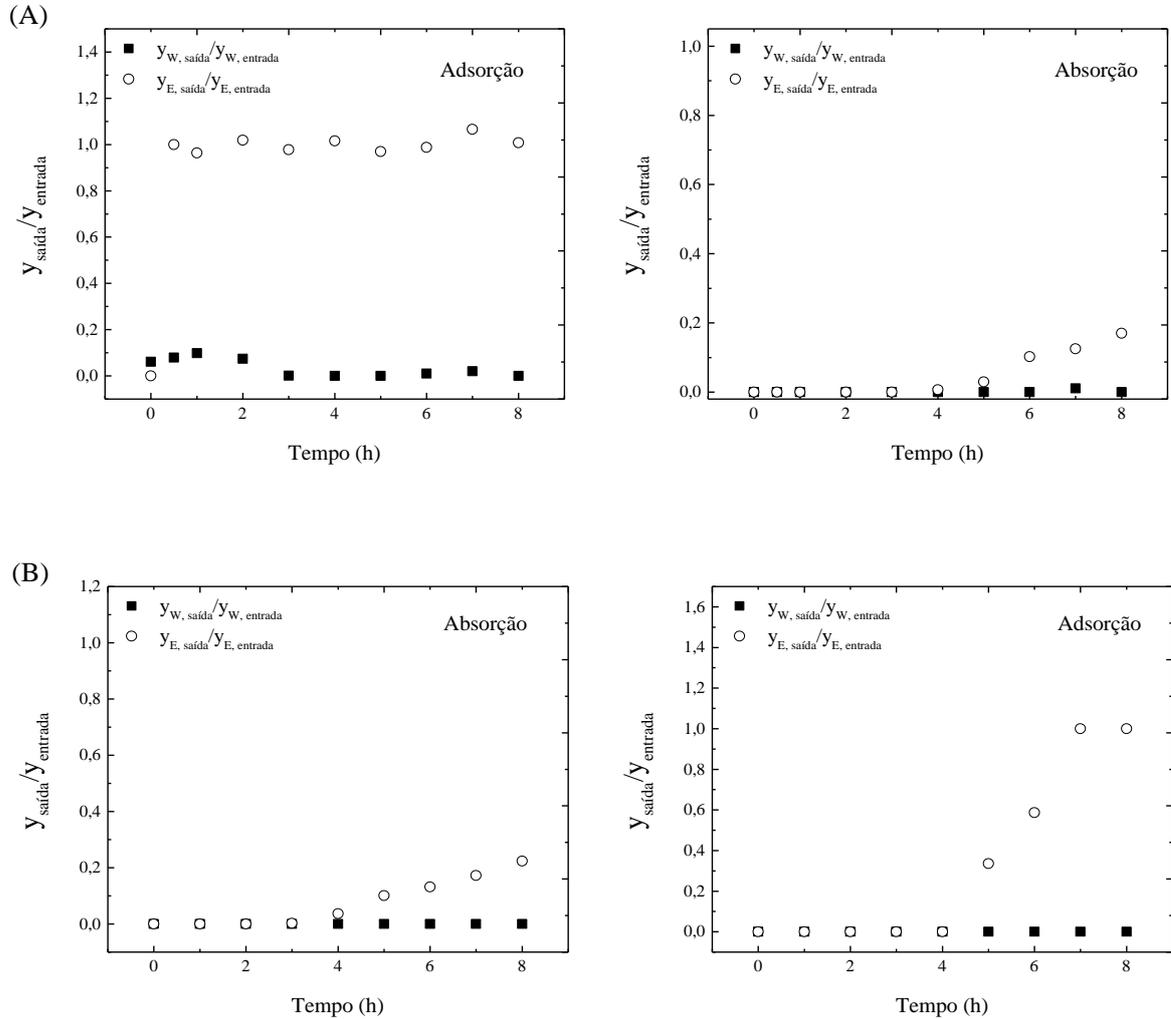
Figura 5.7: Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada da etapa de absorção em duas colunas em série (y_{sai}/y_{entra}) ao longo do tempo relativas ao *stripping* de solução hidroalcoólica seguido de absorção.



Fonte: autoria própria.

Somando as características da adsorção de água na zeólita 3A e a recuperação de etanol por absorção em MEG, duas combinações entre as operações foram testadas. A primeira associou o *stripping* de soluções hidroalcoólicas com adsorção seguida de absorção. A segunda associou o *stripping* de soluções hidroalcoólicas com absorção seguida de adsorção. A Figura 5.8 ilustra as relações entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada das etapas associadas de absorção e/ou adsorção (y_{sai}/y_{entra}) dos componentes água e etanol para as duas combinações de operações testadas.

Figura 5.8: Razão entre as frações molares de água e etanol na saída e na entrada (y_{sai}/y_{entra}) ao longo do tempo: (A) *stripping* de solução hidroalcoólica seguida das etapas de adsorção e absorção. (B) *stripping* de solução hidroalcoólica seguida das etapas de absorção e adsorção.



Fonte: autoria própria.

A partir dos dados apresentados na **Figura 5.8a** e dos valores da **Tabela 5.1**, observa-se que para os ensaios onde o *stripping* de solução hidroalcoólica seguida das etapas de adsorção-absorção, a água foi majoritariamente adsorvida (97%) ficando uma pequena parte de etanol (3,5% m/m) retida na coluna de adsorção. Conseqüentemente, a corrente resultante da etapa de adsorção foi enriquecida em etanol e foi absorvida em MEG, sendo que 92,8% do etanol e 3% da água removidos por *stripping* foram absorvidos, resultando em uma recuperação global de etanol de 96,3% e a completa desidratação da corrente gasosa.

Na **Figura 5.8b** e na **Tabela 5.1** são apresentados os resultados dos ensaios de

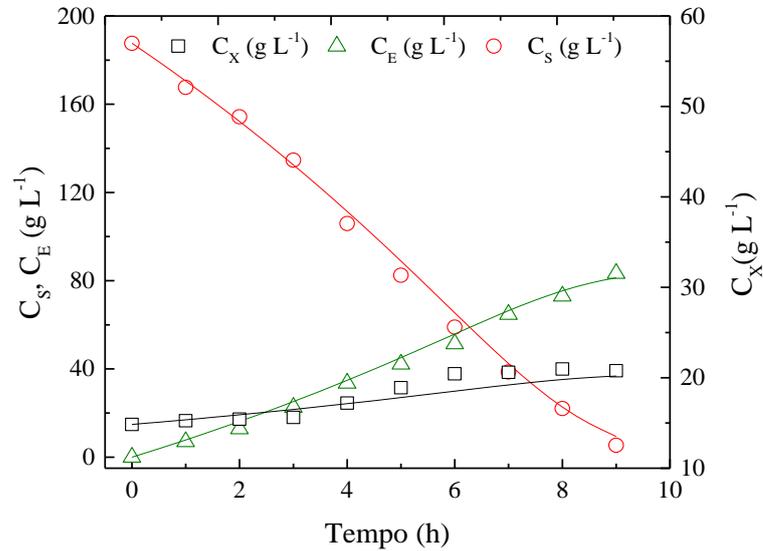
stripping de solução hidroalcoólica seguido das etapas de absorção-adsorção. A água proveniente da corrente *stripping* foi completamente absorvida (100%) e uma grande parcela do etanol (94,1%) foi recuperada, sendo que 1% do etanol da corrente resultante do processo de absorção ficou retido na coluna de adsorção, resultando em uma recuperação global de etanol de 95,1%, valor ligeiramente menor do que a associação da adsorção-absorção.

5.3.2 Avaliação do *stripping* de fermentações extrativas em batelada com recuperação por adsorção e absorção

Parâmetros cinéticos de crescimento celular

Os dados experimentais e simulados de concentração de células (C_X), ART (C_S) e etanol (C_E) para o experimento de fermentação em batelada convencional são mostrados na **Figura 5.9**. O consumo de 97% do substrato (ART) ocorreu em 9 h de fermentação e a concentração final de etanol no caldo foi de 83,3 g L⁻¹. A eficiência fermentativa e a produtividade em etanol foram de 90% e 9,26 g L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Comparando os dados obtidos com trabalho em que se realizou fermentação sob as mesmas condições (Veloso, 2019), verificou-se um atraso no consumo de substrato e consequente diminuição no valor da produtividade em etanol, que pode estar associada a viabilidade da levedura utilizada. A partir dos dados experimentais foram determinados os coeficientes de rendimento de substrato a células e etanol, $Y_{E/S}$ e $Y_{X/S}$. Os parâmetros cinéticos μ_{max} , K_S , K_{IS} , $C_{E_{max}}$ e n foram estimados a partir do ajuste do modelo aos dados experimentais (**Equações 5.37-5.40**). Os valores são mostrados na **Tabela 5.2**. Os valores de $Y_{E/S}$, $Y_{X/S}$, K_{IS} , μ_{max} , K_S , $C_{E_{max}}$ e n foram ligeiramente diferentes de valores reportados na literatura (VELOSO, 2019). A escolha do modelo cinético de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), que incorpora inibição mista por substrato e produto, foi adequado para representar o comportamento do processo (**Figura 5.9**).

Figura 5.9: Resultados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo da fermentação convencional em batelada ($C_{S0}=180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: autoria própria.

Tabela 5.2: Parâmetros cinéticos da fermentação convencional em batelada ($C_{S0}=180 \text{ g L}^{-1}$).

Parâmetro	Valor
$Y_{X/S}^a$ (gX gS^{-1})	0,030
$Y_{E/S}^a$ (gX gS^{-1})	0,46
μ_{\max}^b (h^{-1})	0,13
K_S^b (g L^{-1})	42,02
K_{IS}^b (g L^{-1})	107,19
$C_{E\max}^b$ (g L^{-1})	100,52
n^b (-)	0,18

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

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

Principais resultados das fermentações extrativas em batelada

Diferentes condições de fermentação extrativa em batelada foram utilizadas na análise da melhor associação entre as etapas de recuperação por adsorção e absorção. A concentração inicial de substrato (C_{S0}) foi de 180 g L^{-1} . Na **Tabela 5.3** mostra os principais resultados das fermentações extrativas (Fer+Ads, Fer+Abs, Fer+Ads+Abs e Fer+Abs+Ads) e da fermentação convencional em batelada (FCB), utilizada como referência.

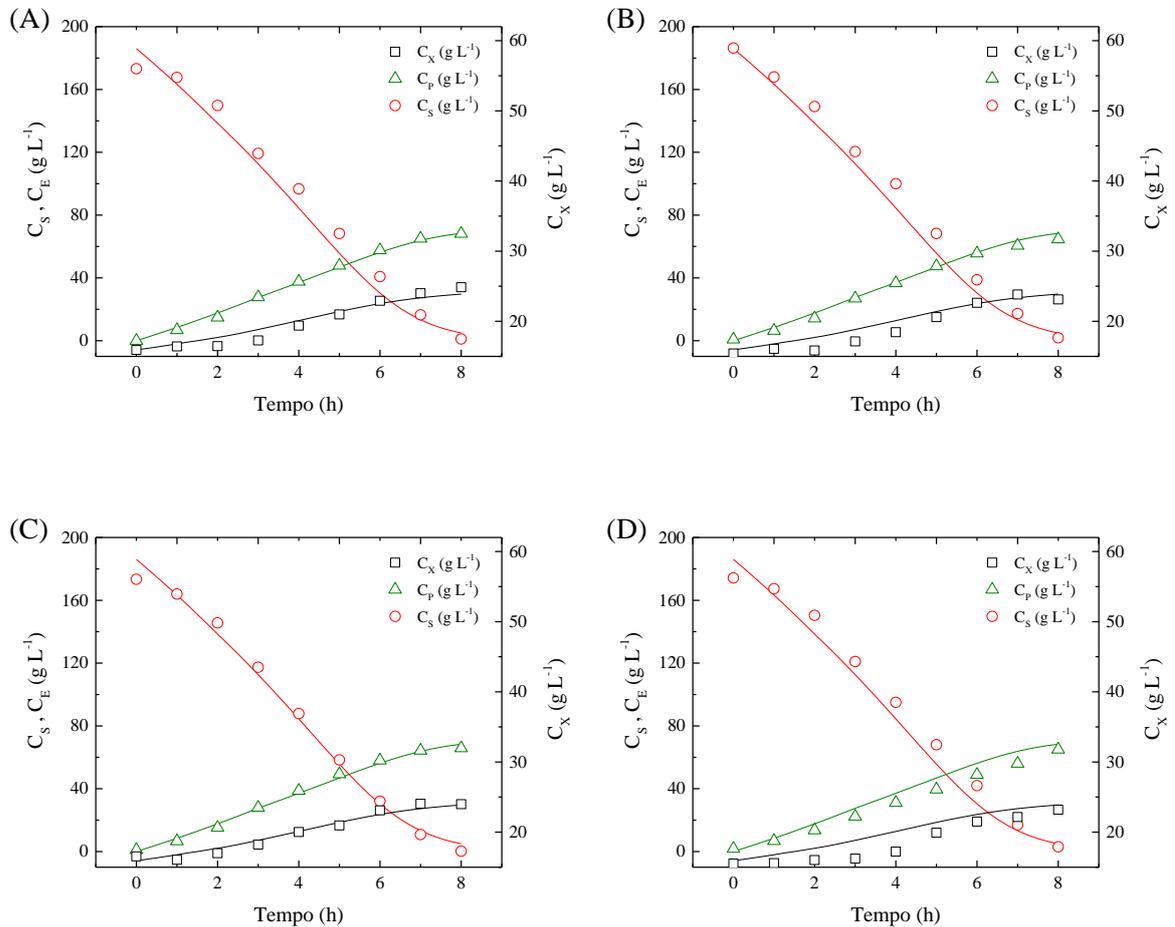
Tabela 5.3: Principais resultados das fermentações extrativas em batelada e fermentação convencional com concentração inicial de substrato de 180 g L⁻¹.

Variável	FCB	Fer+Ads	Fer+Abs	Fer+Ads+Abs	Fer+Abs+Ads
C _{S0} (g L ⁻¹)	183,64	173,2	180,37	173,4	174,23
C _{Ef} (g L ⁻¹)	83,3	68,14	64,66	65,9	65,5
C _{ET} (g L ⁻¹)	83,3	83,61	78,73	80,45	80,4
C _{ET} (°GL)	10,55	10,59	9,97	10,19	10,19
P _E (g L ⁻¹ h ⁻¹)	9,26	10,45	9,84	10,06	10,05

C_{S0}: concentração total de substrato inicial, C_{Ef}: concentração final de etanol no caldo de fermentação, C_{ET}: concentração total de etanol produzido, P_E: produtividade volumétrica em etanol.

Como pode ser observado na **Tabela 5.3**, os resultados das fermentações extrativas em batelada foram similares entre si. As concentrações de etanol total produzida (C_{ET}) nas condições de fermentação convencional e fermentação extrativa foram semelhantes, visto que a quantidade de substrato disponível foi similar. Diferentemente, os valores das produtividades volumétricas de etanol (P_E) nas fermentações extrativas foram superiores aos da fermentação convencional, devido a aumento da velocidade de consumo de substrato, uma vez que o etanol é removido pela corrente de *stripping* ao longo da fermentação e, conseqüentemente, há a diminuição do tempo de fermentação e aumento da produtividade (SONEGO, 2016). A **Figura 5.10** ilustra os resultados experimentais e simulados da concentração de células (C_X), ART (C_S) e etanol (C_E) para todas as fermentações extrativas (Fer+Ads, Fer+Abs, Fer+Ads+Abs e Fer+Abs+Ads). As concentrações finais de etanol no biorreator (C_E) foram entre 68,14 e 64,66 g L⁻¹, valores inferiores ao da fermentação convencional, devido à remoção do etanol por arraste gasoso (**Figura 5.9**).

Figura 5.10: Resultados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo das fermentações extrativas em batelada ($C_{S0}=180 \text{ g L}^{-1}$): (A) fermentação seguida adsorção, (B) fermentação seguida de absorção, (C) fermentação seguida de adsorção e absorção e (D) fermentação seguida de absorção e adsorção.



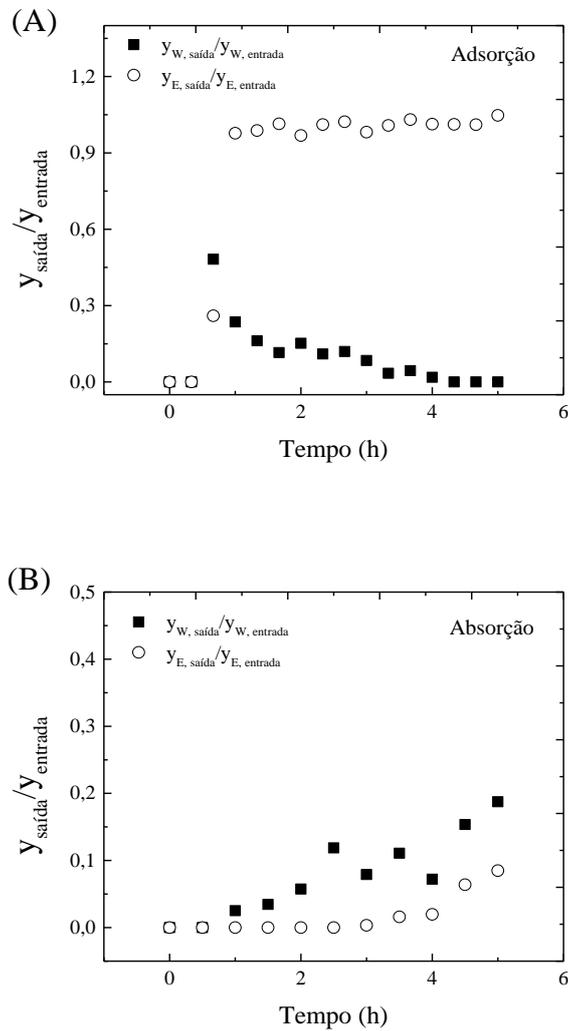
Fonte: autoria própria.

Principais resultados da associação das fermentações extrativas em batelada com as etapas de adsorção e absorção

Nos ensaios associando fermentação extrativa e adsorção em coluna preenchida com zeólita 3A, foi observado que 76% da água removida por arraste gasoso foi adsorvida, como era esperado e já verificado no Capítulo 4, e parte do etanol (9,6%) ficou retido na coluna (**Figura 5.11a** e **Tabela 5.4**). Nos ensaios em que a corrente gasosa proveniente da dorna de fermentação extrativa alimentou dois absorvedores em série preenchido com MEG, ocorreu a absorção de 93% da água e 98,28% do etanol removidos por arraste gasoso. Esses percentuais foram superiores ao descrito por Rodrigues (2019), com recuperação de 93,1% do etanol (**Figura 5.11b** e **Tabela 5.4**). No presente trabalho as condições experimentais de absorção

foram as mesmas, salvo a vazão específica de CO₂ que foi diminuída de 2,5 para 2,0 vvm. Apesar da ligeira redução de vazão específica de CO₂, seu menor valor aumentou o tempo de residência do gás nos frascos absorvedores, o que pode ter favorecido o aumento do percentual de recuperação do etanol, no entanto, só a absorção não foi capaz de recuperar todo o etanol da corrente de gasosa proveniente do *stripping* (Figura 5.7).

Figura 5.11: Razão entre as frações molares de água e etanol (y_{sai}/y_{entra}) provenientes do *stripping* das fermentações extrativas em batelada nas etapas de: (A) adsorção e (B) absorção.



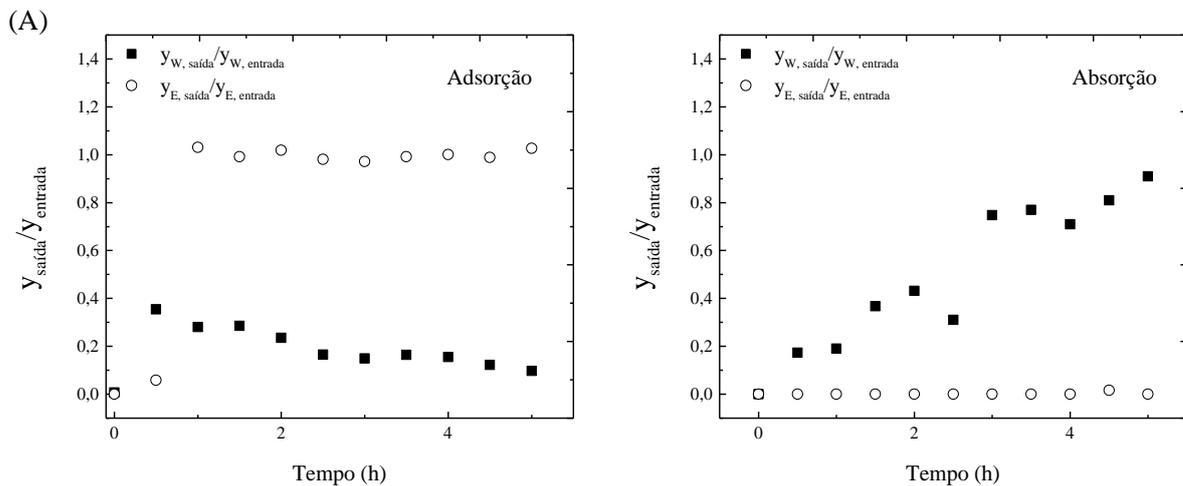
Fonte: autoria própria.

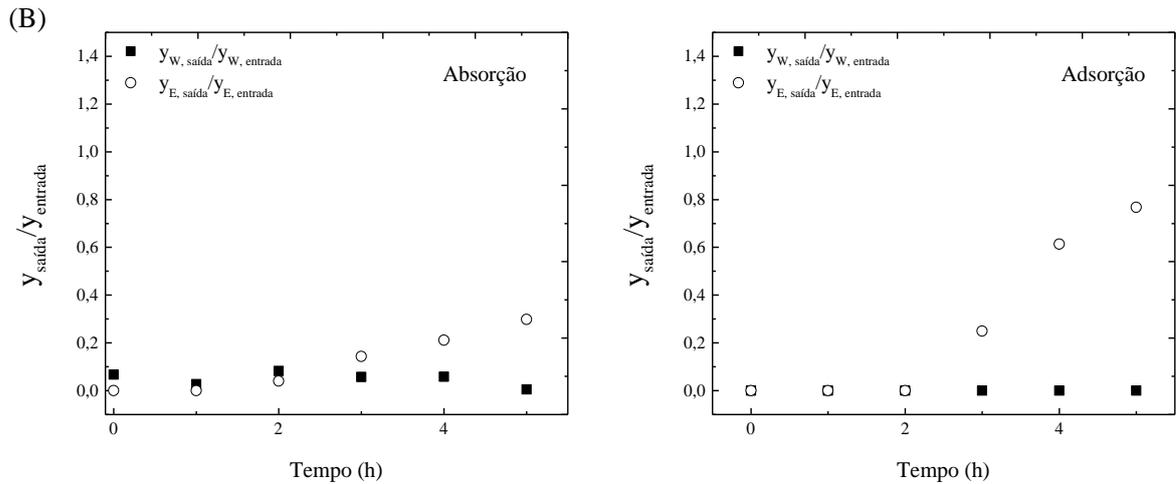
Tabela 5.4: Parâmetros de desempenho das etapas de recuperação de etanol e desidratação da corrente gasosa proveniente do *stripping* do caldo de fermentação extrativa em batelada para as diferentes configurações das etapas de adsorção/absorção.

Ensaio	Remoção por <i>Stripping</i>		Massa adsorvida (g)		Massa absorvida (g)		Recuperação global (%)	
	Água (g)	Etanol (g)	Água	Etanol	Água	Etanol	Água	Etanol
Adsorção	54,4	27,9	41,36 (76%)	2,7 (9,6%)			76	9,6
Absorção	48,5	28,1			45,1 (93%)	28,14 (98,3%)	93,0	98,3
Adsorção+Absorção	48,9	29,1	39,7 (81,2%)	2,9 (9,8%)	4,7 (9,7%)	26,2 (90,2%)	91	100
Absorção+Adsorção	46	28,6	2,3 (4,9%)	1,6 (5,6%)	43,7 (95,1%)	25,3 (88,3%)	100	93,9

Somando as características da adsorção de água em zeólita 3A e a recuperação de etanol por absorção em MEG, duas combinações entre as operações foram testadas também em situações reais de fermentações extrativas. A primeira associou a fermentação extrativa em batelada com adsorção e subsequente a absorção. E a segunda associou a fermentação extrativa em batelada com absorção e subsequente a adsorção. A **Figura 5.12** mostra as relações de fração molar $y_{saída}/y_{entrada}$ dos componentes água e etanol para as duas combinações de operações testadas.

Figura 5.12: Razão entre as frações molares de água e etanol ($y_{saída}/y_{entrada}$) provenientes do *stripping* das fermentações extrativas em batelada nas etapas de: (A) adsorção seguida de absorção e (B) absorção seguida de adsorção.





Fonte: autoria própria.

A **Figura 5.12a** e os dados da **Tabela 5.4** mostram que nas fermentações extrativas em batelada seguidas das etapas de adsorção e absorção, a água foi majoritariamente adsorvida (81,2%) e uma parte de etanol (9,8%) ficou retida na coluna de adsorção. A corrente resultante da etapa de adsorção tornou-se rica em etanol e foi absorvida em MEG, sendo recuperados 90,2% de etanol e 9,7% de água arrastados, resultando em uma recuperação global de etanol de 100% e a considerável desidratação da corrente gasosa (90,8%). A **Figura 5.12b** e a **Tabela 5.4** mostram que nas fermentações extrativas em batelada seguidas das etapas de absorção e adsorção, água proveniente da corrente gasosa de *stripping* foi quase completamente absorvida (95,1%) e uma grande parte do etanol (88,3%) foi recuperado, sendo que 5,6% do etanol da corrente resultante da etapa de absorção ficaram retidos na coluna de adsorção, resultando em uma recuperação global de etanol de 93,9%, valor menor do que na associação da adsorção seguida de absorção, com desidratação completa da corrente gasosa.

5.4 Conclusões

Os processos de adsorção e absorção e suas combinações foram estudados para avaliar a recuperação do etanol proveniente das correntes gasosas de *stripping*. A adsorção e absorção foram avaliadas separadamente em ensaios de *stripping* de soluções hidroalcoólicas e de caldos de fermentação extrativa em batelada. Utilizando apenas a absorção com vazão inferior ao de estudos anteriores, foi verificado altos índices de recuperação global de etanol (96,8% utilizando soluções hidroalcoólicas e 98,3% em fermentações extrativas em batelada). A

adsorção foi capaz de desidratar as correntes de *stripping* provenientes de soluções hidroalcoólicas (100%) e de fermentações extrativas em batelada (76%).

Somando as características da adsorção e absorção, combinações dessas etapas de foram estudadas de modo a possibilitar a maior recuperação de etanol e desidratação da corrente gasosa. Tanto para *stripping* de soluções hidroalcoólicas como para fermentações extrativas em modo batelada, a desidratação por adsorção com zeólita 3A e, subsequente recuperação de etanol por absorção em MEG, proporcionou a maior recuperação global de etanol (96,3% para soluções hidroalcoólicas e 100% em fermentações extrativas em batelada) e considerável desidratação da corrente gasosa (100% para soluções hidroalcoólicas e 91% em fermentações extrativas em batelada). Essa combinação se mostrou promissora para aplicação em maior escala, visto que todo o etanol removido pode ser recuperado. Além do mais, com a prévia desidratação da corrente gasosa, os absorvedores seriam menos exigidos possibilitando a aplicação dessa mesma combinação em fermentações extrativas em batelada alimentada com alta carga de substrato, em que o tempo de operação é maior.

Capítulo 6 : Fermentação alcoólica extrativa em batelada alimentada com arraste de etanol com CO₂ e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção

6.1 Introdução

Neste capítulo são apresentados os resultados da integração dos processos de produção de etanol por fermentação extrativa em batelada alimentada com *stripping* de CO₂ e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção. Foi realizado um ensaio de fermentação convencional em modo batelada alimentada com o intuito de obter parâmetros cinéticos de crescimento celular para serem utilizados nas simulações das fermentações extrativas. Posteriormente, duas fermentações extrativas em modo batelada alimentada foram conduzidas alimentando mostos com concentrações total de substrato de 180 g L⁻¹ (fermentação tradicional) e 240 g L⁻¹ (com alta carga de substrato).

6.2 Materiais e métodos

6.2.1 Microrganismo e meio de cultura

O microrganismo utilizado nos ensaios foi o mesmo descrito no item 3.2.8.1. O meio de cultivo possuía fonte de nitrogênio orgânica (extrato de levedura 9,71 g L⁻¹ e ureia 7,6 g L⁻¹), fonte de potássio e fósforo (KH₂PO₄ 8 g L⁻¹), fonte de magnésio (MgSO₄.7H₂O 2 g L⁻¹) mimetizando o mosto industrial empregado nas destilarias brasileiras (VELOSO et al., 2019). A concentração de sacarose foi de 171 g L⁻¹ (equivalente a 180 g L⁻¹ de ART) e 228 g L⁻¹ (equivalente a 240 g L⁻¹ de ART). As concentrações de KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, extrato de levedura e ureia foram aumentadas em 20% nas fermentações com concentração de ART superior a 180 g L⁻¹. O pH inicial dos meios foi ajustado para 4,6 pela adição de solução de HCl 1,0 M.

6.2.2 Fermentação convencional em batelada alimentada

Procedimento experimental

Uma fermentação convencional em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado (C_{SA}) de 180 g L^{-1} , denominada FC, foi realizada com o objetivo de obter parâmetros cinéticos de crescimento celular para serem utilizados na simulação das fermentações extrativas. O biorreator pneumático tipo coluna de bolhas com volume útil de 2 L foi operado como um reator do tipo torre, sem injeção de gás. A levedura liofilizada (30 g) foi hidratada em 0,6 L de água destilada (inóculo correspondente a 30% do volume final total) por 5 min com agitação mecânica a 800 rpm. 1,4 L de mosto foi alimentado por 5 h à vazão constante de $0,28 \text{ L h}^{-1}$ utilizando uma bomba peristáltica (Modelo 120U, Watson-Marlow), resultando em um volume final de 2 L e uma concentração de ART alimentado de 180 g L^{-1} . A agitação do caldo fermentativo foi mantida a 250 rpm por meio de um agitador mecânico com dois impelidores. Para prevenir a formação de espuma excessiva, quando necessário foi adicionado agente antiespumante comercial (Qualifoam, diluído 1:10). A temperatura foi mantida a $34 \text{ }^\circ\text{C}$ recirculando água proveniente de um banho termostático duplo (SL-152, Solab) pela camisa do biorreator. Amostras de 5 mL foram retiradas a cada 1 h para determinação das concentrações de células (método da massa seca) e de sacarose, glicose, frutose, etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As fermentações prosseguiram até ao esgotamento total do substrato ($\sim 9 \text{ h}$).

Modelagem matemática

O modelo matemático empregado para descrever a fermentação convencional em batelada alimentada foi constituído de quatro equações diferenciais ordinárias (**Equações 6.1-6.4**) resultantes dos balanços de massa para células (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. O modelo matemático descreve as duas fases do processo: a fase em batelada alimentada com alimentação do mosto por 5 h ($F \neq 0$) e a etapa subsequente em batelada ($F=0$), que se estende até o consumo completo dos açúcares, como ocorre na condição industrial.

$$\frac{dC_X}{dt} = \left(\mu - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_X \quad (6.1)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F}{V} C_{SM} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_S \quad (6.2)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_E \quad (6.3)$$

$$\frac{dV}{dt} = F \quad (6.4)$$

onde C_X é a concentração de células (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 ($\text{g}_X \text{g}_S^{-1}$), C_E é a concentração de etanol (g L^{-1}), e $Y_{E/S}$ é o coeficiente de rendimento de substrato em etanol ($\text{g}_E \text{g}_S^{-1}$).

O modelo cinético para representar a velocidade específica de crescimento celular utilizado foi o híbrido de Andrews (1968)-Levenspiel (1980) (**Equação 6.5**), que considera inibições por substrato e por produto.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \cdot \left(1 - \frac{C_E}{C_{E_{max}}}\right)^n \quad (6.5)$$

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}), $C_{E_{max}}$ 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.

Os coeficientes globais de rendimento de substrato a células e a etanol, $Y_{E/S}$ e $Y_{X/S}$, foram determinados usando as **Equações 6.6 e 6.7**, respectivamente.

$$Y_{E/S} = \frac{C_{Ef}V_f - C_{E0}V_0}{C_{SM}V_M - C_{Sf}V_f} \quad (6.6)$$

$$Y_{X/S} = \frac{C_{Xf}V_f - C_{X0}V_0}{C_{SM}V_M - C_{Sf}V_f} \quad (6.7)$$

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

6.2.3 Fermentação extrativas integradas a recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção

Duas fermentações em batelada alimentada com *stripping* com CO₂ foram realizadas com concentrações de substrato alimentado (C_{SA}) de 180 g L⁻¹ e 240 g L⁻¹, denominadas por FE180 e FE240, respectivamente. O tempo de enchimento do reator no ensaio FE180 foi de 5 h, enquanto que no ensaio FE240 foi de 8 h, de modo a evitar altas concentrações de substrato no caldo e a limitação do processo fermentativo por inibição pelo substrato (THATIPAMALA; ROHANI; HILL, 1992).

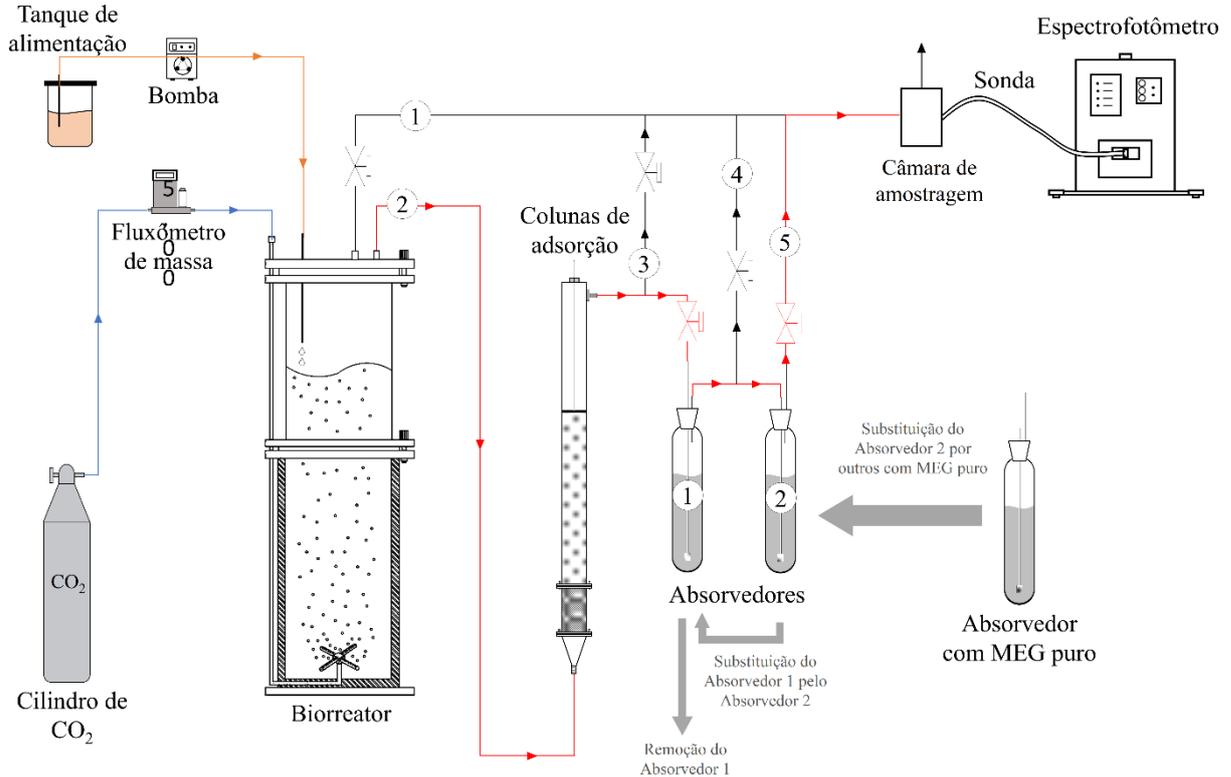
A **Figura 6.1** ilustra o aparato experimental utilizado. As fermentações seguiram o mesmo procedimento experimental da fermentação convencional (item 5.2.2), contudo foi injetado pelo fundo do reator o gás CO₂ para promover o arraste de etanol. O *stripping* foi realizado conforme o item 4.2.6.2. As fermentações foram realizadas em duplicatas com retiradas de amostra de 5 mL a cada hora para determinação das concentrações de sacarose, glicose, frutose, etanol e de células. As composições das correntes gasosas foram também monitoradas em tempo real para determinação das frações molares de água e etanol.

O sistema de recuperação de etanol foi constituído pela associação de uma coluna de adsorção de água e dois absorvedores de etanol, nessa ordem. A coluna de adsorção foi preenchida com 1044 g de zeólita 3A e mantida a 40 °C conforme descrito no item (5.2.2). Foram determinadas as frações molares de etanol (y_E) e de água (y_W) das correntes de entrada e saída da coluna por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR) conforme descrito no item (3.2.8.2). O desempenho da coluna foi avaliado por meio do percentual de desidratação, calculado a partir da **Equação 5.36**.

Subsequente à coluna de adsorção foi conectada dois absorvedores em série (**Figura 6.1**) contendo 0,8 L (40% do volume de trabalho do biorreator) de monoetilenoglicol (MEG) em cada um, sendo ambos mantidos a 25 °C, conforme descrito no item 5.2.4. Amostras iniciais e finais da fase líquida dos absorvedores foram retiradas para quantificação de etanol e água por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR). O volume da fase líquida foi determinado a partir da altura da coluna de líquido a cada hora após o desligamento do gás. As frações molares y_E e y_W foram quantificadas nas entradas dos absorvedores 1 e 2 e na saída do absorvedor 2 em tempo real por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-MIR). O desempenho da recuperação

foi avaliado por meio da porcentagem de recuperação de etanol (RC_E), calculada a partir da **Equação 5.35**.

Figura 6.1: Aparato experimental utilizado nas fermentações extrativas integradas a recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção.



Fonte: autoria própria.

Na fermentação FE240, de duração maior, foi necessário realizar a troca dos absorvedores durante a fermentação para evitar problemas com transbordamento e a saturação da solução, conforme esquematizado na **Figura 6.1**. O primeiro absorvedor (com maior concentração de etanol) foi removido do sistema e substituído pelo segundo (com menor concentração de etanol). Um terceiro absorvedor contendo MEG puro foi adicionado no lugar do segundo. O procedimento foi realizado uma vez durante a fermentação FE240 (7,5 h).

Modelagem matemática

O modelo matemático empregado para descrever a fermentação extrativa em batelada alimentada foi constituído de quatro equações diferenciais ordinárias (**Equações 6.8-6.11**) resultantes dos balanços de massa para células (X), substrato (S) e etanol (E) e balanço de massa

total. Foram adotadas as mesmas hipóteses do item 6.2.2.2 e consideradas a remoção de etanol e água por arraste e a variação de volume devido ao arraste. O modelo matemático possui a representação genérica das três fases características do processo:

- i. alimentação de mosto sem arraste gasoso até a 3^a h ($F \neq 0$, $k_{ES}=0$ e $k_{WS}=0$),
- ii. início do arraste gasoso na 3^a h até o final do enchimento da dorna ($F \neq 0$, $k_{ES} \neq 0$ e $k_{WS} \neq 0$),
- iii. etapa em batelada com arraste gasoso após o final da alimentação até o consumo completo dos açúcares ($F=0$, $k_{ES} \neq 0$ e $k_{WS} \neq 0$).

$$\frac{dC_X}{dt} = \left(\mu - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_X \quad (6.8)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F}{V} C_{SM} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} C_S \quad (6.9)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \mu C_X - \left(k_{ES} \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) C_E \quad (6.10)$$

$$\frac{dV}{dt} = F - \frac{V}{\rho_S} [k_{ES} C_E + k_{WS} (\rho_S - C_E)] \quad (6.11)$$

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.

6.2.4 Métodos analíticos

Amostras foram coletadas a cada hora e centrifugadas a 10.414xg e 4 °C por 10 min. O precipitado foi seco em estufa por 24 h para determinação da concentração celular por massa seca (C_X). O sobrenadante foi filtrado para a determinação das concentrações de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando um cromatógrafo Waters 717 autosampler plus equipado com detector de índice de refração (40 °C) e coluna Sugar-Pak I (300 × 6,5 mm, 10 μm, Waters) operando em temperatura de 80 °C com água ultrapura e EDTA de cálcio a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹ como eluente. Os padrões usados foram soluções de sacarose, glicose, frutose e etanol em concentrações entre 0,1 e 10,0 g L⁻¹.

A técnica de espectroscopia de infravermelho espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-MIR) com o método de regressão multivariada dos mínimos quadrados parciais (PLS) foi utilizada para determinar as frações molares de etanol (y_E) e de

água (y_w) das correntes gasosas 2, 3, 4, 5 e 6, conforme ilustrado na **Figura 6.1** e apresentado no **Capítulo 3**. Por meio dos dados coletados das correntes gasosas foi possível acompanhar os processos de adsorção e absorção em tempo real.

6.2.5 Procedimentos numéricos

As equações diferenciais ordinárias (**Equações 6.1-6.4 e 6.8-6.11**) 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 (versão 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.

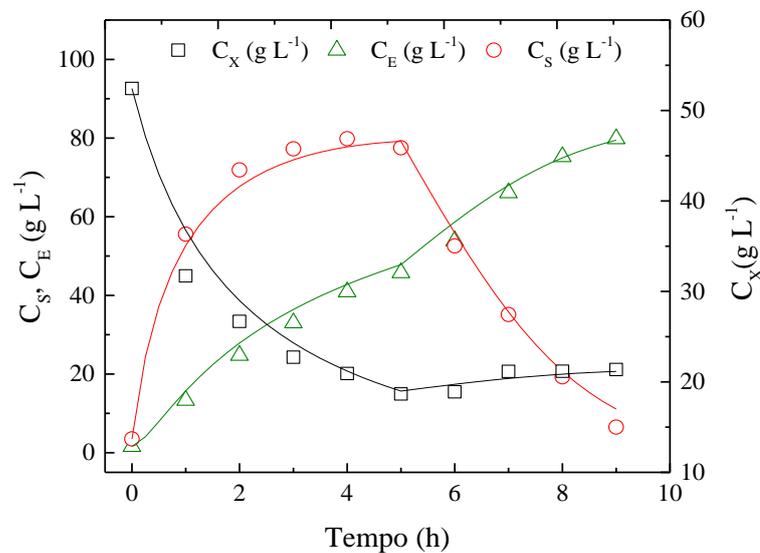
6.3 Resultados e discussão

6.3.1 Parâmetros cinéticos de crescimento celular

Os dados experimentais e simulados da concentração de células (C_X), ART (C_S) e etanol (C_E) obtidos durante a fermentação em batelada alimentada convencional são mostrados na **Figura 6.2**. O consumo de 96% do substrato (ART) ocorreu em 9 h de fermentação e a concentração final de etanol no caldo foi de 79,8 g L⁻¹. A eficiência fermentativa e a produtividade em etanol foram de 90% e 8,87 g L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Comparando esses valores com os reportados por Rodrigues (2019) e Veloso et al. (2019), verificou-se que houve um atraso no consumo de substrato e, conseqüentemente, uma diminuição da produtividade volumétrica em etanol, que pode estar associada à variação de lote e tempo de abertura de embalagem. A partir dos dados experimentais das concentrações de etanol e substrato foram determinados os coeficientes globais de rendimento de substrato a células e a etanol, $Y_{E/S}$ e $Y_{X/S}$. Os parâmetros cinéticos, μ_{\max} , K_S , K_{IS} , $C_{E\max}$ e n foram determinados a partir do ajuste do modelo aos dados experimentais empregando as **Equações 5.1-5.4**. Os valores dos parâmetros são mostrados na **Tabela 6.1**. Os valores dos parâmetros $Y_{E/S}$, $Y_{X/S}$, K_{IS} , μ_{\max} , K_S , $C_{E\max}$ e n foram similares aos valores encontrados na literatura (RODRIGUES, 2019; VELOSO et al., 2019). A escolha do modelo cinético híbrido de Andrews (1968)-Levenspiel (1980), que

incorpora as inibições por substrato e produto, foi adequado para representar o comportamento do processo (**Figura 6.2**). As condições experimentais da fermentação em batelada alimentada convencional foram similares às empregadas em processos industriais de produção de etanol e, assim, foi utilizado como referência para comparação com as fermentações batelada alimentada extrativas.

Figura 6.2: Dados experimentais e simulados das concentrações de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) ao longo da fermentação convencional em batelada alimentada ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: autoria própria.

Tabela 6.1: Parâmetros cinéticos do modelo utilizado para representar a fermentação convencional em batelada alimentada ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$).

Parâmetro	Valor
$Y_{X/S}^a$ (g _X g _S ⁻¹)	0,032
$Y_{E/S}^a$ (g _E g _S ⁻¹)	0,46
μ_{\max}^b (h ⁻¹)	0,12
K_S^b (g L ⁻¹)	96,98
K_{IS}^b (g L ⁻¹)	132,31
C_{\max}^b (g L ⁻¹)	102,66
n^b (-)	0,07

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

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

6.3.2 Processo integrado de fermentação extrativa e recuperação de etanol por associação de adsorção e absorção

Duas condições de fermentações extrativas com recuperação de etanol por meio da associação de adsorção e absorção foram testadas. Uma com concentração de substrato alimentado (C_{SA}) de 180 g L^{-1} (FEBA1) e outra com 240 g L^{-1} (FEBA2). Na **Tabela 6.2** são apresentados os principais parâmetros calculados para as fermentações extrativas (FEBA1 e FEBA2) e fermentação convencional em batelada (FCBA), utilizada como referência uma vez que representa as condições do processo industrial.

Tabela 6.2: Principais resultados das fermentações extrativas em batelada alimentada com concentração total de substrato alimentado de 180 g L^{-1} (FEBA1) e 240 g L^{-1} (FEBA2) e da fermentação convencional (FC).

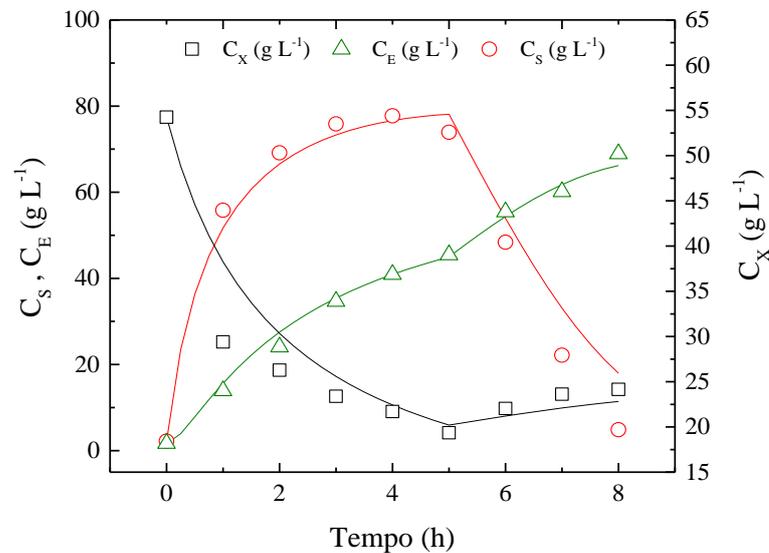
Variável	FCBA	FEBA1	FEBA2
$C_{SA}^a \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	179,9	180,0	240,0
$C_{EF}^b \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	79,8	68,94	83,51
$C_{ET}^d \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	79,8	81,75	117,59
$C_{ET}^e \text{ (}^\circ\text{GL)}$	10,11	10,36	14,9
$P_E^f \text{ (g L}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)}$	8,87	10,21	9,04

^a C_{SA} : concentração total de substrato alimentado, ^b C_{EF} : concentração final de etanol no caldo de fermentação, ^c C_{ET} : concentração total de etanol produzido, ^d P_E : produtividade volumétrica em etanol.

Como pode ser observado na **Tabela 6.2**, os resultados da fermentação FEBA1 foram similares aos da fermentação FCBA. As concentrações de etanol total produzida (C_{ET}) nas fermentações convencional e extrativa foram semelhantes, uma vez que as quantidades de substrato disponíveis foram similares. Diferentemente, a produtividade volumétrica em etanol (P_E) na fermentação extrativa FEBA1 foi maior do que na fermentação convencional (FCBA1). Associa-se a esse comportamento o aumento da velocidade de consumo de substrato devido à remoção do etanol e, conseqüentemente, à diminuição do tempo de fermentação e aumento da produtividade (SONEGO, 2016). A **Figura 6.3** elaborada a partir dos dados experimentais e simulados da concentração de células (C_X), ART (C_S) e etanol (C_E) para fermentação extrativa FEBA1 mostra que o consumo de 97% do substrato ocorreu em 8 h, resultado semelhante ao reportado por (RODRIGUES, 2019) utilizando a mesma condição e levedura. A concentração final de etanol no biorreator (C_E) foi de $68,94 \text{ g L}^{-1}$, valor notoriamente menor do que aquele observado na fermentação convencional, devido à remoção do etanol por arraste gasoso. Na

fermentação industrial, caldos mais diluídos levam à produção de vinhos com menor concentração de etanol que demandam maior consumo de vapor na etapa destilação e maior produção de vinhaça. No entanto, a baixa concentração de etanol abre espaço para alimentação do reator com mostos mais concentrados, estratégia esta utilizada na fermentação FEBA2.

Figura 6.3: Dados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) durante o tempo de fermentação extrativa em batelada alimentada ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$).

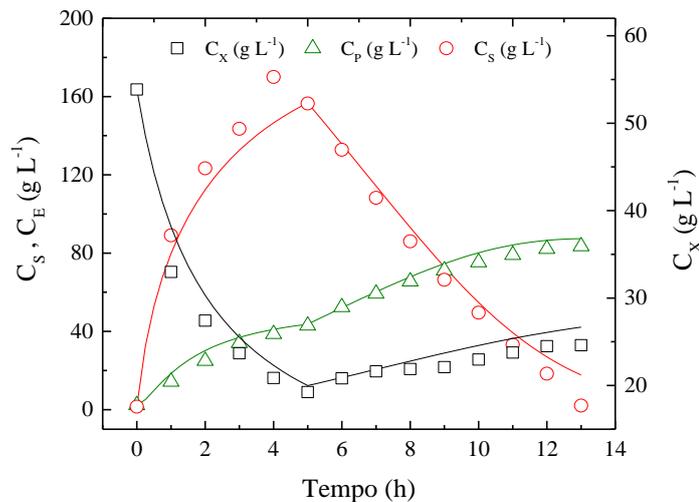


Fonte: autoria própria.

A **Figura 6.4** mostra os dados experimentais e simulados de C_X , C_S e C_E da fermentação FEBA2. Durante a alimentação do mosto com alta carga de açúcar alimentada a concentração de substrato foi ligeiramente superior ao limite de inibição pelo substrato (160 g L^{-1}) (THATIPAMALA et al., 1992; ZHANG et al., 2015). No entanto, nesse experimento ocorreu o consumo de 99% do substrato em 13 h. Diferentemente da fermentação FEBA1, a concentração final de etanol no caldo ($83,5 \text{ g L}^{-1}$, **Tabela 6.2**) foi similar a 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 $83,5 \text{ g L}^{-1}$, valor menor que o máximo tolerado pela levedura ($C_{E_{max}}=102,66 \text{ g L}^{-1}$, **Tabela 6.2**) 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 ($117,6 \text{ g L}^{-1}$, $14,9 \text{ }^\circ\text{GL}$) foi 47 % superior a obtida na fermentação convencional (FC), o que representa uma redução no volume de vinhaça gerada e

uma economia de energia na etapa de destilação. Por fim, a produtividade em etanol em FEAB2 foi de $9,05 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, similar ao processo convencional (FCBA), o que poderia ser incrementado com aumento da concentração inicial de células (BARBOSA et al., 2016; VELOSO et al., 2020), procedimento praticado em destilarias (BASSO et al., 2008).

Figura 6.4: Dados experimentais e simulados de concentração de substrato (C_S), células (C_X) e etanol (C_E) durante o tempo de fermentação extrativa em batelada alimentada ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: autoria própria.

Os valores simulados de C_X , C_S e C_E nas fermentações FEBA1 e FEBA2 foram obtidos a partir da simulação do modelo para fermentação extrativa (**Equações 6.1-6.7**) usando os parâmetros cinéticos estimados para a fermentação convencional em batelada alimentada (μ_{max} , K_S , K_{IS} , $C_{E_{max}}$ e n , **Tabela 6.1**), juntamente com os parâmetros de arraste gasoso, $k_{ES}=0,0528 \text{ h}^{-1}$ e $k_{WS}=0,0074 \text{ h}^{-1}$, estimados no **Capítulo 4**. Os valores de $Y_{E/S}=0,465 \text{ g}_E \text{ g}_S^{-1}$ e $Y_{X/S}=0,032 \text{ g}_X \text{ g}_S^{-1}$ utilizados foram os mesmos obtidos para a fermentação convencional em batelada alimentada (**Tabela 6.1**). O modelo não foi capaz de descrever com precisão o comportamento das fermentações com alta carga de substrato ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$). Tal fato está relacionado com o parâmetro “n” do 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, a depender da faixa de concentração de etanol. Na fermentação convencional em batelada alimentada (FCBA), por exemplo, a concentração máxima de etanol alcançada foi de

79,8 g L⁻¹, enquanto que na fermentação FEBA2 foi de 83,5 g L⁻¹, sendo que nesta condição a levedura permaneceu um tempo maior (4 h) exposta a concentrações elevadas de etanol (71,2-83,5 g L⁻¹, **Figura 6.4**) em comparação às outras fermentações. Dessa forma, novos ajustes foram realizados alterando apenas o parâmetro “n”. O novo valor encontrado foi de 0,33 para a fermentação FEBA2. A **Tabela 6.3** mostra os valores do desvio padrão residual (RSD, *residual standard deviation*, **Equação 6.12**) (RIVERA et al., 2006) 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 da fermentação FEBA2 (**Figuras 6.4**) comprova a adequabilidade do modelo para descrever o processo. Nos trabalhos de fermentação etanólica em condições semelhantes ao reportado no presente trabalho o valor de “n” também precisou ser corrigido para as condições com elevada concentração de etanol, corroborando os resultados do presente trabalho (RODRIGUES, 2019; VELOSO et al., 2019).

$$RSD(\%) = \frac{\sqrt{\frac{1}{NP} \sum_{j=1}^{NP} (C_{exp}(t_j) - C_{sim}(t_j))^2}}{\hat{C}_{exp}} \quad (6.12)$$

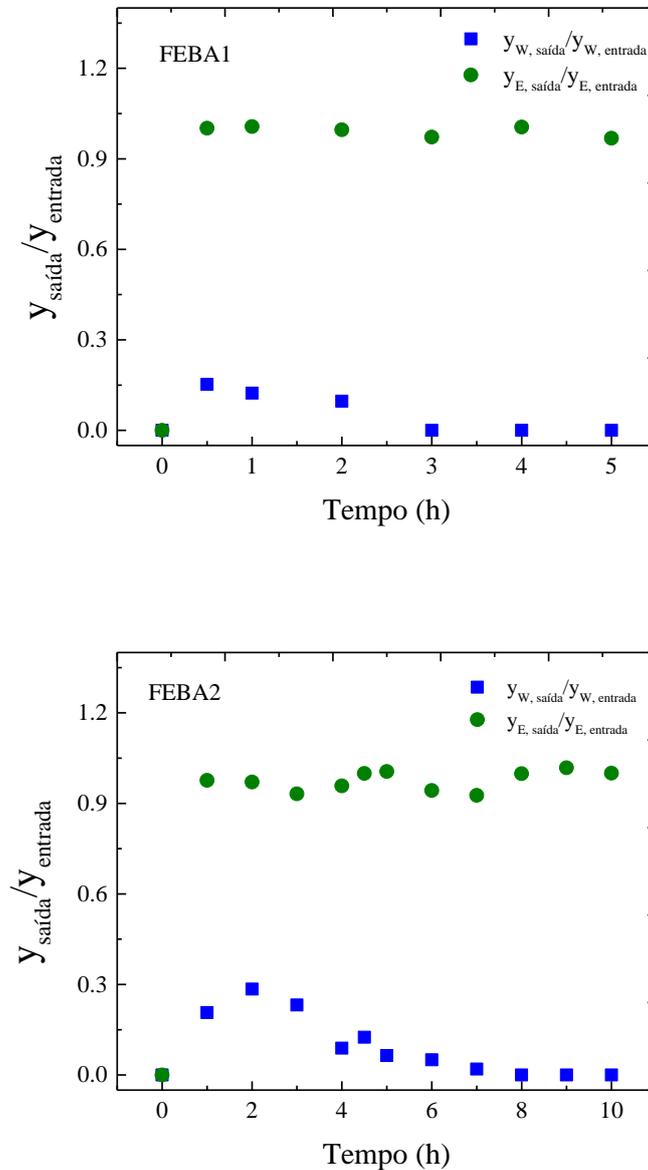
onde \hat{C}_{exp} é a média das concentrações experimentais e NP é o número dos pontos experimentais.

Tabela 6.3: Valores de RSD para concentração de células totais (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) mostrando o desempenho do modelo para a fermentação extrativa FEBA2 (C_S = 240 g L⁻¹) antes e após a correção do parâmetro “n”.

n	RDS (%)		
	C _X	C _P	C _S
0,07	9,5	19,6	24,5
0,33	7,8	6,6	11,8

A água removida por arraste gasoso durante as fermentações FEBA1 e FEBA2 foi adsorvida utilizando uma coluna preenchida de zeólita 3A. A **Figura 5.5** mostra as relações entre frações molares ($y^{saída}/y^{entrada}$) dos componentes água e etanol na etapa de adsorção.

Figura 6.5: Relação entre frações molares ($y_{saída}/y_{entrada}$) dos componentes água e etanol na etapa de adsorção das fermentações extrativas em batelada alimentada: (A) $C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA1) e (B) $C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA2).



Fonte: autoria própria.

A **Figura 6.5** mostra que em ambas as fermentações foi observado que água não foi totalmente adsorvida na coluna como visto nos ensaios empregando soluções hidroalcoólicas. Como já discutido no **Capítulo 4**, as frações molares de água da corrente de *stripping* ($y_{W, entrada}$) de caldos de fermentação foram maiores que as da corrente gasosa obtidas nos ensaios de *stripping* com soluções hidroalcoólicas, impactando diretamente na eficiência de adsorção de água. Além disso, na **Figura 6.5** foi observado que a dessorção do etanol, adsorvido

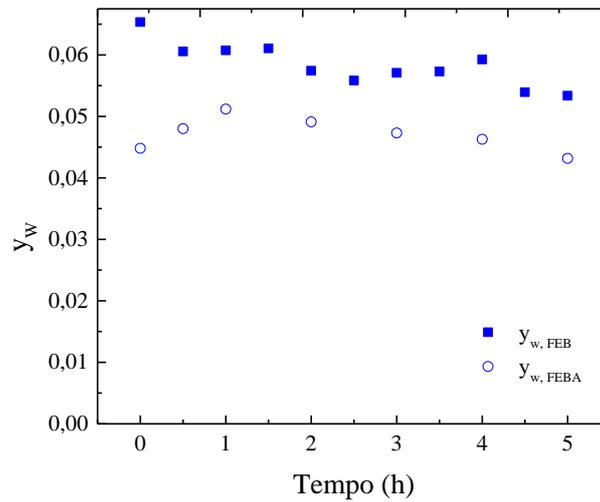
inicialmente, alavancou a saída de água, visto que ocorreu um aumento do valor da fração molar rapidamente com posterior declínio. Esse mesmo comportamento foi visto em fermentações em batelada no **Capítulo 5**. A **Tabela 6.4** mostra as massas de etanol e água removidas por *stripping* durante as fermentações e as eficiências dos processos de adsorção e absorção, separadamente e global.

Tabela 6.4: Massas de etanol e água removidas por *stripping* durante das fermentações extrativas em batelada alimentada $C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA1) e $C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$ (FEBA2), porcentagens adsorvidas, absorvidos e recuperação global.

Ensaio	Componente	Massa removida por <i>stripping</i> (g)	% Adsorvida (%AD)	% Absorvida (%AB)	Recuperação Global (%)
FEBA1	Água (W)	39,45	94,7	5,3	100,0
	Etanol (E)	26,47	7,3	92,7	100,0
FEBA2	Água (W)	92,53	90,2	9,2	99,4
	Etanol (E)	68,16	3,0	97,0	100,0

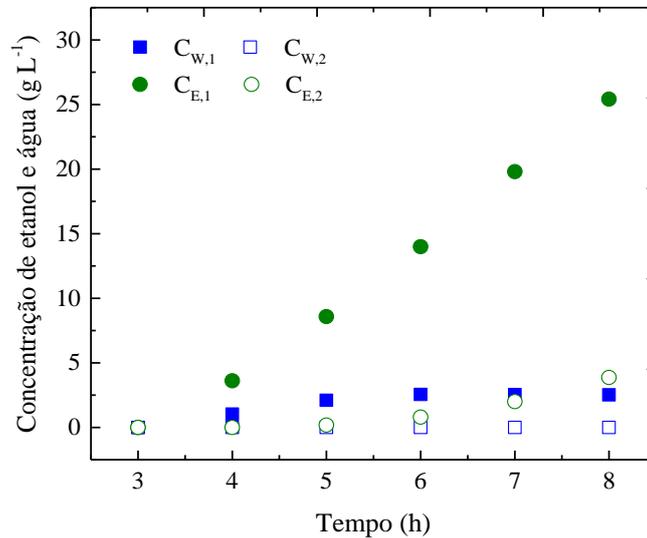
As porcentagens de água adsorvida (%AD_w, **Tabela 6.4**) foram de 94,7% em FEBA1 e 90,2% em FEBA2. Estes valores são maiores que o valor obtido no ensaio de fermentação extrativa em batelada (81,2%) apresentado no **Capítulo 5**, conduzido na mesma configuração de etapas (Fermentação extrativa+adsorção+absorção), mostrando que ordem das operações unitárias foi adequada para remoção de água, com maior eficiência para ambos os modos de operação. Comparando a fração molar de água na saída do reator entre a fermentação extrativa batelada (**Tabela 5.4, Figura 6.6**) e fermentação extrativa batelada alimentada (**Tabela 6.4, Figura 6.6**) observou-se que a fermentação extrativa batelada alimentada possuiu menores valores, que pode ser atribuído a maior condensação no *headspace* do reator (MARTINS, 2020).

Figura 6.6 : Dados da fração molar de água na saída do reator durante a fermentação extrativa batelada (**FEB**) e fermentação extrativa batelada alimentada (**FEBA**).



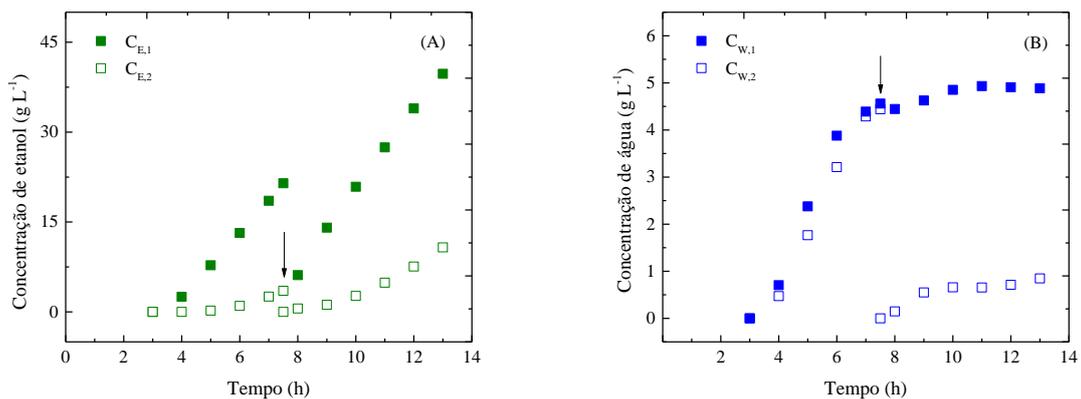
O processo de adsorção de água tornou as correntes gasosas mais desidratadas e enriquecidas em etanol. Para a recuperação do etanol empregou-se a absorção em MEG, processo já estudado no grupo de pesquisa (RODRIGUES, 2019). Foram utilizados dois absorvedores em série com volume inicial de 0,8 L de MEG em cada absorvedor. Os dados experimentais de concentração de etanol e água ao longo do tempo nos absorvedores para as fermentações FEBA1 e FEBA2 são mostrados nas **Figuras 6.7 e 6.8**, respectivamente.

Figura 6.7: Valores de concentrações de etanol e água ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor: símbolos preenchidos, 2º absorvedor: símbolos vazios) para a fermentação FEBA1 ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: autoria própria.

Figura 6.8: Valores de concentrações de) etanol (A) e água (B) ao longo do tempo nos absorvedores (1º absorvedor: símbolos preenchidos, 2º absorvedor: símbolos vazios) para a fermentação FEBA2 ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$). As setas indicam os instantes em que os absorvedores foram trocados.



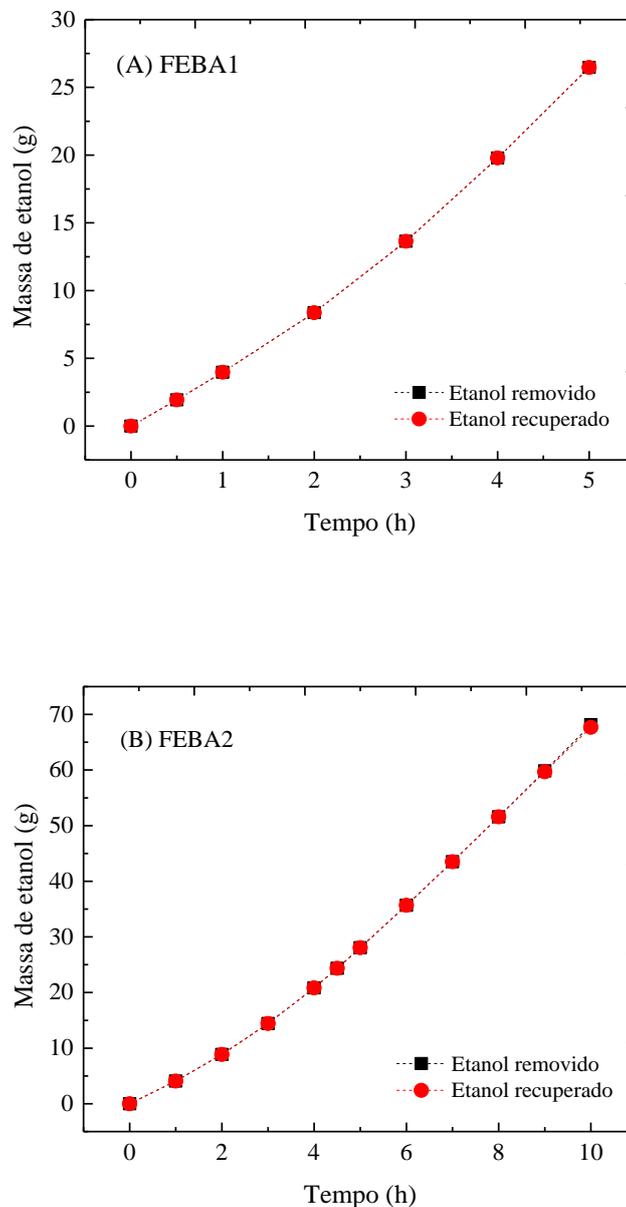
Fonte: autoria própria.

As porcentagens de recuperação de etanol por meio da absorção (ER, **Tabela 6.3**) foram de 92,7% em FEBA1 e 97% em FEBA2. Estes valores são maiores que os valores obtidos no ensaio de fermentação extrativa em batelada (90,2%) apresentados no **Capítulo 5** para a mesma configuração do processo (Fermentação extrativa+adsorção+absorção). Esse fato mostra que ordem das operações unitárias foram adequadas para recuperação do etanol para

ambos os modos de operação.

A **Figura 6.9** compara as massas removida por arraste gasoso e recuperada pela associação de adsorção e absorção ao longo do tempo nas fermentações FEBA1 e FEBA2. O arranjo proposto no presente estudo foi eficiente durante todo o processo, recuperando 100% do etanol arrastado em ambas as fermentações.

Figura 6.9: Comparação das massas removida por arraste gasoso e recuperada pela associação de adsorção e absorção durante as fermentações extrativas: (A) FEBA1 ($C_{SA}=180 \text{ g L}^{-1}$) e (B) FEBA2 ($C_{SA}=240 \text{ g L}^{-1}$).



Fonte: autoria própria.

Os resultados mostraram o excelente desempenho da associação das etapas de adsorção e absorção para a recuperação do etanol removido durante as fermentações extrativas em batelada alimentada. Rodrigues (2019), usando a operação de absorção e reciclo da corrente gasosa recuperou cerca de 90% do etanol, enquanto a associação de adsorção e absorção recuperou 100% do etanol em fermentações extrativas em batelada alimentada com $C_s=180 \text{ g L}^{-1}$, como também em fermentações extrativas em batelada alimentada com maior carga de substrato. Além do mais, todo CO_2 produzido, livre de etanol e com baixo teor de água, pode ser reutilizado no processo de *stripping* em fermentações extrativas e o excedente pode se tornar um novo produto da cadeia sucoenergética contribuindo para redução dos índices de emissão de carbono do processo produtivo do etanol de cana-de-açúcar.

6.4 Conclusões

A combinação do processo de adsorção e subsequente absorção foi utilizado para recuperar o etanol proveniente de fermentações extrativas em batelada alimentada. O modelo cinético híbrido de Andrews-Levenspiel proporcionou excelente ajuste aos dados experimentais da fermentação convencional em batelada alimentada, propiciando a obtenção dos parâmetros cinéticos do processo. A fermentação extrativa em batelada alimentada associada à recuperação por adsorção e absorção permitiu a conversão de 240 g L^{-1} de substrato com produção de etanol de $117,6 \text{ g L}^{-1}$ (14,9 °GL), valor 47 % maior que aquele obtido na fermentação convencional em batelada alimentada (condição praticada na indústria).

A integração da etapa de adsorção seguida absorção foi uma excelente estratégia para desidratação da corrente de *stripping* da fermentação em alimentada com valor de C_{SA} similar à encontrada em instalações industriais (100%) e fermentações extrativas com maior carga de substrato (99,4%). Essa combinação também se mostrou eficaz para recuperação de etanol em ambas as condições de fermentação, sendo o sistema capaz de recuperar todo o etanol removido por arraste. O processo combinado de fermentação em batelada alimentada, arraste gasoso e recuperação de etanol proposto mostrou-se promissor frente aos processos convencionais, uma vez que pode ser alimentado maior quantidade de substrato com constante remoção de etanol levando ao aumento da produtividade em etanol. Além do mais, a combinação dos processos de adsorção e absorção promoveu a recuperação de todo o etanol, o que leva ao aumento da capacidade produtiva industrial.

Capítulo 7 : Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros

A partir dos resultados obtidos nesta tese, conclui-se que:

- 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 para realizar o monitoramento das frações molares de etanol e água da corrente gasosa. A partir desses valores foi possível determinar a concentração de etanol na fase líquida em fermentações realizadas nos modos batelada e batelada alimentada, bem como o monitoramento da absorção de água em monoetileno glicol (MEG). Os modelos de calibração apresentaram excelentes resultados de validação, com os erros das validações cruzada (RMSECV) e externa (RMSEP) inferiores a 2% dos intervalos dos valores de fração molar de etanol e água utilizados na calibração.
- Os processos de adsorção utilizando como adsorventes a zeólita 3A e o sagu de mandioca foram eficientes para promover a desidratação da corrente gasosa proveniente do *stripping* de soluções hidroalcoólicas. A zeólita 3A (Z_3) se destacou por adsorver toda a água da corrente gasosa por maior período de tempo (10 h), possuir maior afinidade pela água ($0,1231 \text{ g}_W \text{ g}_{\text{Adsorvente}}^{-1}$) e menor afinidade pelo etanol entre as zeólitas avaliadas. O adsorvente sagu de mandioca, apesar de apresentar menor tempo de ruptura (3 h) e menor afinidade pela água ($0,0474 \text{ g}_W \cdot \text{g}_{\text{Adsorvente}}^{-1}$) foi o único que não interagiu com o etanol.
- Dentre as configurações avaliadas, a associação da etapa de adsorção (coluna de leito fixo preenchida com zeólita 3A) e seguida de absorção (absorvedores conectados em série e preenchidos com monoetileno glicol (MEG)) foi a melhor combinação para recuperação do etanol arrastado pela corrente de *stripping*. Essa configuração proporcionou maior recuperação global de etanol (96,3% para soluções hidroalcoólicas e 100% em fermentações extrativas operadas em modo batelada) e resultou em excelentes valores da desidratação da corrente gasosa (100% em soluções hidroalcoólicas e 91% em fermentações extrativas em modo batelada).
- O processo integrado de fermentação extrativa em batelada alimentada e recuperação por adsorção seguida de absorção permitiu a conversão de 240 g L^{-1} de substrato, obtendo $117,6 \text{ g L}^{-1}$ de etanol ($14,9 \text{ }^\circ\text{GL}$). Este valor foi 47 % maior que

o obtido na fermentação convencional em modo batelada alimentada (condição similar à industrial). A combinação da etapa de adsorção seguida de absorção mostrou-se uma excelente estratégia tanto para desidratação da corrente gasosa quanto para recuperação do etanol de fermentação extrativa em batelada alimentada, na qual se empregou concentração total de substrato alimentado (C_{SA}) similar à utilizada em instalações industriais (adsorção de 100% da água) e fermentações extrativas com maior carga de substrato (adsorção de 99,4% da água). Em ambas as fermentações, o sistema conseguiu recuperar todo o etanol removido por arraste.

Como sugestões para trabalhos futuros propõe-se:

- Realizar estudos avaliando diferentes condições de operação da etapa de adsorção (temperatura, adsorvente empregado, diâmetro da coluna, vazão de alimentação, massa de adsorvente, altura de recheio etc.) visando melhorar a eficiência da desidratação por adsorção e obter a mínima adsorção de etanol em experimentos empregando corrente de *stripping* de fermentações extrativas realizadas em batelada alimentada.
- Analisar a viabilidade técnico-econômica do processo integrado de fermentação alcoólica extrativa com arraste gasoso seguido de desidratação por adsorção e recuperação do etanol por absorção.
- Analisar a viabilidade técnico-econômica do processo integrado de fermentação alcoólica extrativa com arraste gasoso seguido de desidratação por adsorção e recuperação do etanol por condensação.

Referências Bibliográficas

AACC. **AACC method 39-00.01 - Near-infrared methods—guidelines for model development and maintenance** St. Paul, Minnesota AACC, , 1999.

AFSETH, N. K.; KOHLER, A. Extended multiplicative signal correction in vibrational spectroscopy, a tutorial. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 117, p. 92–99, 2012.

ASTM E1655-05. **Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis** ASTM International, 2017. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Standard+Practices+for+Infrared+Multivariate+Quantitative+Analysis#0>>

AZEVEDO, E. G.; ALVES, A. M. **Engenharia de processos de separação**. 2. ed. Lisboa - PT: IST Press, 2013.

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.

BARBOSA, H. S. et al. Efficient very-high-gravity fermentation of sugarcane molasses by industrial yeast strains. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 2, p. 329–333, jun. 2016.

BASSO, L. C. et al. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. **FEMS Yeast Res**, v. 8, p. 1155–1163, 2008.

BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. **Ethanol Production in Brazil : The Industrial Process and Its Impact on Yeast Fermentation**. [s.l.: s.n.]. v. 1530

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A Practical Guide**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1998.

BEERY, K. E. et al. Effect of Enzyme Modification of Corn Grits on their Properties as an Adsorbent in a Skarstrom Pressure Swing Cycle Dryer. **Adsorption**, v. 4, n. 3, p. 321–335, 1998.

BIECHELE, P. et al. Sensor systems for bioprocess monitoring. p. 469–488, 2015.

BRERETON, R. G. **Applied Chemometrics for Scientists**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2007.

BRO, R.; SMILDE, A. K. **Principal component analysis**. [s.l.: s.n.]. v. 6

CARDOSO, V. M. **Estudo da absorção do vapor de etanol carregado por gás carbônico em diferentes solventes**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2015.

CARVALHO, L. C. et al. **CANA-DE-AÇÚCAR E ÁLCOOL COMBUSTÍVEL : HISTÓRICO , SUSTENTABILIDADE E SEGURANÇA ENERGÉTICA** Centro Científico Conhecer, , 2013. (Nota técnica).

CASTRITIUS, S. et al. Rapid Determination of the Attenuation Limit of Beer Using Middle-Infrared (MIR) Spectroscopy and a Multivariate Model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 25, p. 6341–6348, 27 jun. 2012.

CHOUDHURY, J. P.; GHOSH, P. Ethanol separation from molasses based fermentation broth by reverse osmosis. **Biotechnology Letters**, v. 8, n. 10, p. 731–734, 1986.

CLAES, S. et al. Preparation and benchmarking of thin film supported PTMSP-silica pervaporation membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 389, p. 265–271, 2012.

CORONA, O. L. et al. Adsorption properties in zeolites containing 8-membered rings I. Microporosity and external surface area. **Revista Materia**, v. 14, n. 3, p. 918–931, 2009.

CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. 1. ed. Campinas: Unicamp, 2008.

CRUZ, M. L.; RESENDE, M. M. DE; RIBEIRO, E. J. Evaluation of process conditions in the performance of yeast on alcoholic fermentation. **Chemical Engineering Communications**, v. 205, n. 6, p. 846–855, 2018.

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, n. 1, p. 27, 2017.

ENGEL, J. et al. Breaking with trends in pre-processing? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 96–106, out. 2013.

GABRIELSSON, J.; TRYGG, J. Recent developments in multivariate calibration. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 36, n. 3–4, p. 243–255, 2006.

GIELEN, D. et al. The role of renewable energy in the global energy transformation. **Energy Strategy Reviews**, v. 24, n. June 2018, p. 38–50, 2019.

GREEN, D. W.; PERRY, R. H. **Perry's Chemical Engineers' Handbook, Eighth Edition**. 8th ed. / ed. New York: McGraw-Hill Education, 2008.

GREGG, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption surface area and porosity**. 2^a ed. London: Academic Press Inc., 1982.

GROBBEN, N. G. et al. With Integrated Membrane Extraction. **Time**, p. 494–498, 1993.

HAALAND, D. M.; THOMAS, E. V. Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. **Analytical Chemistry**, v. 60, n. 11, p. 1193–1202, 1 jun. 1988.

HASHI, M.; TEZEL, F. H.; THIBAUT, J. Ethanol recovery from fermentation broth via carbon dioxide stripping and adsorption. **Energy and Fuels**, v. 24, n. 9, p. 4628–4637, 2010.

HASSAN, M. H.; KALAM, M. A. An overview of biofuel as a renewable energy source: Development and challenges. **Procedia Engineering**, v. 56, p. 39–53, 2013.

HONDA, H.; TAYA, M.; KOBAYASHI, T. Ethanol Fermentation Associated With Solvent

Extraction Using Immobilized Growing Cells of *Saccharomyces Cerevisiae* and its Lactose-Fermentable Fusant. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 19, n. 4, p. 268–273, 1986.

JACAS-RODRÍGUEZ, A. et al. Mixed matrix membranes prepared from polysulfone and linde type A zeolite. **Science and Engineering of Composite Materials**, v. 27, n. 1, p. 236–244, 2020.

JONES, R. A. et al. Enhanced ethanol production through selective adsorption in bacterial fermentation. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 16, n. 3, p. 531–541, 2011.

JUN, Z.; HONG-JUAN, L.; DE-HUA, L. Effect of Different Types of Gas in Gas Stripping Ethanol Fermentation (GSEF). **The Chinese Journal of Process Engineering**, v. 5, n. 3, p. 1–4, 2005.

KANSIZ, M. et al. Sequential Injection/Mid-Infrared Spectroscopic Analysis of an Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation: Analyte Cross-Correlation Effects. **Spectroscopy Letters**, v. 38, n. 6, p. 677–702, 1 nov. 2005.

KARIMI, S.; TAVAKKOLI, M.; KARRI, R. R. A comprehensive review of the adsorption mechanisms and factors influencing the adsorption process from the perspective of bioethanol dehydration. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, n. July 2018, p. 535–553, 2019.

KIM, Y. et al. Cassava starch pearls as a desiccant for drying ethanol. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 14, p. 8678–8685, 2011.

KOOHSARYAN, E.; ANBIA, M. Nanosized and hierarchical zeolites : A short review. v. 37, n. 4, p. 447–467, 2016.

LANDGREBE, D. et al. On-line infrared spectroscopy for bioprocess monitoring. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 88, n. 1, p. 11–22, 2010.

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, maio 2018.

LEMOS, D. A. et al. Improvement of ethanol production by extractive fed-batch fermentation in a drop column bioreactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 12, p. 2295–2303, 2020.

LIMA, B. N. B. et al. Characterization of Commercial Edible Starch Flours. **Polimeros**, v. 22, n. 5, p. 486–490, 2012.

LIMA, K. M. G. et al. Sensores ópticos com detecção no infravermelho próximo e médio. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1635–1643, 2009.

LIMA, U. DE A. et al. **Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2001.

LIMA, U. DE A. Produção de etanol com matérias-primas sacarinas. In: ALTERTHUM, F. et al. (Eds.). **Biotecnologia industrial**. 2° ed. São Paulo: Blucher, 2019. p. 19–69.

MARKOVIC, S.; DONDUR, V.; DIMITRIJEVIC, R. FTIR spectroscopy of framework aluminosilicate structures: Carnegieite and pure sodium nepheline. **Journal of Molecular Structure**, v. 654, n. 1–3, p. 223–234, 2003.

MARTINS, T. B. et al. Mass Transfer Performance of Ethanol Removal by CO₂ Stripping in Different Pneumatic Bioreactors 1. **Industrial Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 1–10, 2020.

MASCARENHAS, A. J. S.; OLIVEIRA, E. C. Materiais porosos formam-. 2001.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engeneering**. 5. ed. [s.l.] McGraw-Hill Book, 1993.

MENEZES, T. J. B. **Etanol, o combustível do Brasil**. 1. ed. São Paulo: Agrônomicas Ceres, 1980.

METCALFE, G. D.; SMITH, T. W.; HIPPLER, M. On-line analysis and in situ pH monitoring of mixed acid fermentation by *Escherichia coli* using combined FTIR and Raman techniques. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 26, p. 7307–7319, 2020.

MINIER, M.; GOMA, G. Production of Ethanol By Coupling fermentation and solvent extraction. **Biotechnology Letters**, v. 408, n. 8, p. 405–408, 1981.

MOREIRA, A. M. **Separação adsortiva de misturas etanol-água por processo PSA**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2005.

MOZGAWA, W.; KRÓL, M.; BARCZYK, K. FT-IR studies of zeolites from different structural groups. **Chemik**, v. 65, n. 7, p. 671–674, 2011.

NAES, T. et al. **User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification**. Chichester, UK: Nir Pubns, 2002.

NAKANO, 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, 1 jan. 1980.

NASCIMENTO, R. F. et al. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.

NEUMAN, R. et al. Water sorption properties of a polysaccharide adsorbent. **Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals**, v. 25, n. 3, p. 422–425, 1 ago. 1986.

NOVA CANA. Atualização da produção de etanol 2021/22 – 2^a quinzena de janeiro. **NOVA CANA**, fev. 2022.

ORNELAS, N. J. R. et al. Study on the liquid phase adsorption by starchy and zeolite materials in the amoxicillin-water system. **Ciencia y Engenharia/ Science and Engineering Journal**, v. 12, n. 1, p. 89–94, 2003.

PAIVA, D. L. et al. Espectroscopia no infravermelho. In: **Introdução à espectroscopia**. 2. ed. [s.l.] Cengage Learning, 2015. p. 15–59.

PASQUINI, C. Princípios da Espectroscopia no Infravermelho Próximo. In: TIBOLA, C. S. et

al. (Eds.). . **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para Avaliar Indicadores de Qualidade Tecnológica e Contaminantes em Grãos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2018. p. 200.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W. Equipament for distillation, gas absorption, phase dispersion, and phase separation. In: **Perry's chemical engineers' handbook**. 8. ed. New York: McGraw-Hill Book, 2008. p. 1–129.

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.

PINTO, A. S. S.; RIBEIRO, M. P. A.; FARINAS, C. S. Fast spectroscopic monitoring of inhibitors in the 2G ethanol process. **Bioresource Technology**, v. 250, n. November 2017, p. 148–154, 2018.

POLING, B. E.; PRAUSNITZ, J. M.; O'CONNELL, J. P. **The Properties of Gases and Liquids**. 5. ed. [s.l.] McGraw Hill, 1959. v. 12

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.

QUINTERO ARENAS, M. A. et al. Quantification of adulterants in mezcal by means of FT-MIR and FT-NIR spectroscopy coupled to multivariate analysis. **CyTA - Journal of Food**, v. 18, n. 1, p. 229–239, 1 jan. 2020.

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.

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.

ROBERTS, J. D.; CASEIRO, M. C. **Propriedades espectroscópicas de álcoois**, 26 mar. 2021. Disponível em: <<https://chem.libretexts.org/@go/page/22264>>

RODRIGUES, K. C. S. et al. Modeling and simulation of continuous extractive fermentation with CO₂ stripping for bioethanol production. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 132, p. 77–88, 2018a.

RODRIGUES, K. C. S. et al. Real-Time Monitoring of Bioethanol Fermentation with Industrial Musts Using Mid-Infrared Spectroscopy. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 32, p. 10823–10831, 2018b.

RODRIGUES, K. C. S. **Fermentação alcoólica extrativa com remoção de etanol por arraste com CO₂ e recuperação por absorção**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2019.

RODRIGUES, K. C. S. et al. Ethanol Recovery from Stripping Gas Mixtures by Gas Absorption: Experimental and Modeling. **Energy & Fuels**, v. 33, n. 1, p. 369–378, 17 jan. 2019.

RODRIGUES, K. C. S. et al. Mid-infrared spectroscopy as a tool for real-time monitoring of

ethanol absorption in glycols. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 99, n. 1, p. 401–409, 2021.

RUMBO, J. Y. et al. Separation and Purification Technology Parametric study and control of a pressure swing adsorption process to separate the water-ethanol mixture under disturbances. **Separation and Purification Technology**, v. 236, n. October 2019, p. 116214, 2020.

RUTHVEN, D. **Principle of adsorption e adsorption processes**. Fredericton: John Wiley & Sons, 1984.

SAEYS, W.; MOUAZEN, A. M.; RAMON, H. Potential for Onsite and Online Analysis of Pig Manure using Visible and Near Infrared Reflectance Spectroscopy. v. 91, p. 393–402, 2005.

SALES, P. B. DA P. **Desenvolvimento de adsorventes para remoção de benzotiofeno**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: Bioenergia, açúcar e etanol**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1627–1639, 1 jul. 1964.

SCHULZ, H. E. **O essencial em fenômenos de transporte**. São Carlos: EESC-USP, 2003.

SEADER, D.; HENLEY, E. J. **Separation process principles**. 2. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 1999. v. 36

SENA, M. M. et al. Spectroscopic Methods in Food Analysis. In: FRANCA, A. S.; NOLLET, L. M. L. (Eds.). . **Spectroscopic Methods in Food Analysis**. Boca Raton, FL : CRC Press, Taylor & Francis Group, 2017.: CRC Press, 2017. p. 273–314.

SENA, M. M.; ALMEIDA, M. R. Quimiometria Aplicada aos Dados Espectrais no Infravermelho Próximo. In: TIBOLA, C. S. et al. (Eds.). . **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para Avaliar Indicadores de Qualidade Tecnológica e Contaminantes em Grãos**. 1. ed. Brasília - DF: EMBRAPA, 2018. p. 31–50.

SHIBATA, F. S. **Absorção de gás carbônico para beneficiamento de biogás utilizando carbonatos em coluna recheada**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2017.

SONEGO, J. L. S. et al. Extractive Fed-Batch Ethanol Fermentation with CO₂ Stripping in a Bubble Column Bioreactor: Experiment and Modeling. **Energy and Fuels**, v. 30, n. 1, p. 748–757, 2016.

SONEGO, J. L. S. **Estudo da produção de etanol de sacarose por fermentação extrativa utilizando arraste com dióxido de carbono**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2016.

SOUSA, J. S. I.; PEIXOTO, M. A.; TOLEDO, F. F. **Enciclopédia Agrícola Brasileira**. 1. ed. São Paulo: EDUSP, 1995.

SPYCHAJ, T.; WILPISZEWSKA, K.; ZDANOWICZ, M. Medium and high substituted carboxymethyl starch: Synthesis, characterization and application. **Starch/Staerke**, v. 65, n. 1–2, p. 22–33, 2013.

SRIVASTAVA, N. C.; EAMES, I. W. A review of adsorbents and adsorbates in solid \pm vapour adsorption heat pump systems. v. 18, 1998.

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

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. **Fermentation inhibitors in ethanol processes and different strategies to reduce their effects**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2011.

TAYLOR, F. et al. No Title. **Biotechnol. Prog.**, v. 11, p. 693, 1995.

TAYLOR, F. et al. Kinetics of continuous fermentation and stripping of ethanol. **Biotechnology Letters**, v. 20, n. 1, p. 67–72, 1998.

TAYLOR, F. et al. No Title. **Bioresour. Technol.**, v. 101, p. 4403, 2010.

THATIPAMALA, R.; ROHANI, S.; HILL, G. A. 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, jun. 1992.

THOMAS, W. J.; CRITTENDEN, B. **Adsorption Technology and Design**. [s.l.] Elsevier Science & Technology Books, 1998.

TOUNSI, H.; MSEDDEI, S.; DJEMEL, S. Preparation and characterization of Na-LTA zeolite from Tunisian sand and aluminum scrap. **Physics Procedia**, v. 2, n. 3, p. 1065–1074, 2009.

TREYBAL, R. E. Interphase mass transfer. In: **Mass-transfer operations**. 3. ed. New York: McGraw-Hill Book, 1980. p. 104–138.

VANE, L. M. Separation technologies for the recovery and dehydration broths. **Biofuels Bioproducts e Biorefinning**, v. 2, p. 553–588, 2008.

VARELI, G. D.; DEMERTZIS, P. G.; AKRIDA-DEMERTZI, K. Water and ethanol adsorption on starchy and cellulosic substrates as biomass separation systems. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 205, n. 3, p. 204–208, 1997.

VELOSO, I. I. K. 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.

VELOSO, I. I. K. **Modelagem e otimização da fermentação alcoólica em batelada alimentada à baixa temperatura**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2019.

VELOSO, I. I. K. et al. Temperature influence in real-time monitoring of fed-batch ethanol fermentation by mid-infrared spectroscopy. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 41, p. 18425–18433, 2020.

VRANA, D. L. et al. Pervaporation of Model Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation Product Solutions Using Polytetrafluoroethylene Membranes. **Separation Science and Technology**, v. 28, n. 13–14, p. 2167–2178, 2007.

WALTER, A. et al. Perspectives on fuel ethanol consumption and trade. v. 32, p. 730–748,

2008.

WELTY, J. R.; RORRER, G. L.; FOSTER, D. G. **Fundamentals of momentum, heat, and mass transfer**. 6. ed. New York: Wiley, 2013. v. 1

WILLIAMS, P. **Near-infrared technology: getting the best out of light: a short course in the practical implementation of near-infrared spectroscopy for the user**. [s.l.] PDK Projects, Incorporated, 2004.

WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. In: WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. (Eds.). . 2. ed. Saint Paul, Minnesota: Cereals & Grains Assn, 2001. p. 145–169.

WILLIAMS, P.; NORRIS, K. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc., 1987.

WITKIEWICZ, K.; NASTAJ, J. Modeling of regeneration stage of 3A and 4A zeolite molecular sieves in TSA process used for dewatering of aliphatic alcohols. v. 337, n. October 2017, p. 416–427, 2018.

ZHANG, X.; TANG, D.; JIANG, G. Synthesis of zeolite NaA at room temperature: The effect of synthesis parameters on crystal size and its size distribution. **Advanced Powder Technology**, v. 24, n. 3, p. 689–696, 2013.

ZIMMERMANN, B.; KOHLER, A. Optimizing savitzky-golay parameters for improving spectral resolution and quantification in infrared spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 67, n. 8, p. 892–902, 2013.