

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE CALOR EM FERMENTAÇÕES  
ALCOÓLICAS CONVENCIONAL E EXTRATIVA**

**LETÍCIA PEREIRA ALMEIDA**

**SÃO CARLOS - SP  
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE CALOR EM FERMENTAÇÕES**  
**ALCOÓLICAS CONVENCIONAL E EXTRATIVA**

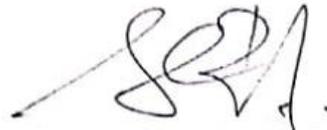
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para obtenção do título de mestre em Engenharia Química

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior**  
**CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz**

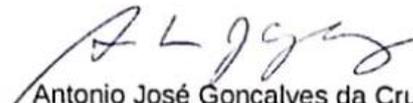
**SÃO CARLOS – SP**  
**2019**

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LETÍCIA PEREIRA ALMEIDA APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 26 DE FEVEREIRO DE 2019.

BANCA EXAMINADORA:



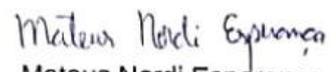
Alberto Colli Badino Junior  
Orientador, UFSCar



Antonio José Gonçalves da Cruz  
Co-orientador, UFSCar



Fernanda Perpétua Casciotori  
UFSCar



Mateus Nordi Esperança  
Mateus Nordi Esperança  
IFSP

*"Buscar as coisas do Alto. Não podemos ter medo de sonhar com grandes ideais. Triste de quem se acomoda e se apequena com reduzidos propósitos. A vida é feita de grandes projetos. O ser humano é chamado para grandes ideais. Os grandes sonhos nos dão força para superarmos os pequenos e grandes obstáculos."  
(Padre Léo Tarcísio).*

*Dedico este trabalho aos meus pais, Antônio e  
Lúcia. Aos meus irmãos, Larissa e Vinícius, e  
ao meu amor, Izaque.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela presença constante em minha vida e sem o qual nada seria possível.

Ao Prof. Dr. Alberto Colli Badino Júnior, um exemplo de professor e orientador, pela oportunidade de orientação, ensinamentos transmitidos e entusiasmo com a pesquisa. Agradeço pela confiança depositada em mim para desenvolver este trabalho, pela amizade e preocupação ao longo do nosso convívio.

Ao Prof. Dr. Antonio José Gonçalves Cruz pela orientação, sugestões e ensinamentos fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por estar sempre de portas abertas para me auxiliar.

Aos meus amados pais, Antônio e Lúcia, que sempre estiveram presentes em minha vida e por me incentivarem na busca dos meus sonhos.

Ao meu namorado Izaque pelo amor, compressão e paciência ao longo desta etapa da minha vida.

Aos amigos de laboratório Taíse, Marina, Rauber, Mateus, Jorge, Ivan e Kaio, pela companhia no dia-a-dia e pelos momentos de descontração e risadas. Sentirei falta!

Ao técnico de laboratório Amadeus e ao técnico mecânico Oscar pela ajuda cedida no desenvolvimento deste trabalho.

À todos que contribuíram não somente no aspecto profissional, mas também, pessoal através da amizade e companheirismo.

Às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química pelo apoio institucional.

## RESUMO

O efeito inibitório do etanol sobre a levedura e o aumento da temperatura durante a fermentação são os principais inconvenientes do processo convencional de produção de etanol. Nesse sentido, tem sido investigado o emprego da fermentação extrativa com arraste gasoso por CO<sub>2</sub> a fim de superar essas limitações. No presente trabalho foram avaliadas fermentações alcoólicas convencional e extrativa com remoção de etanol e água por CO<sub>2</sub>, com base nos balanços de massa e energia. Os experimentos foram conduzidos em batelada em biorreator coluna de bolhas com volume útil de 10 L à temperatura de 34 °C. Primeiramente, os parâmetros cinéticos do processo foram estimados por meio da modelagem da fermentação convencional, considerando o consumo de substrato, crescimento celular e a produção de etanol. O modelo cinético híbrido de Andrews-Levenspiel mostrou um excelente ajuste aos dados experimentais. A partir do balanço de energia foi possível obter um valor de calor gerado na fermentação (Q<sub>G</sub>) 5% menor do que o calculado através de um modelo clássico de literatura. Na sequência, foram realizadas fermentações alcoólicas extrativas em batelada, com vazões específicas de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ) de 0,5 e 1,0 vvm, bem como a modelagem do processo em termos de balanços de massa e energia. Através da avaliação energética do processo verificou-se que a fermentação alcoólica extrativa com *stripping* com CO<sub>2</sub> foi capaz de auxiliar na remoção de calor da dorna, reduzindo o consumo de água de resfriamento em até 62,7%.

**Palavras-chaves:** Fermentação alcoólica extrativa. *Stripping* por CO<sub>2</sub>. Balanços de massa e energia. Modelagem.

## ABSTRACT

The inhibitory effect of ethanol on yeast and the temperature rise during the fermentation are the major drawbacks of the conventional ethanol production process. The use of extractive alcoholic fermentation with CO<sub>2</sub> stripping has been investigated in order to overcome these limitations. In the present work aims conventional and extractive alcoholic fermentation with ethanol and water removal by CO<sub>2</sub> were evaluated based on the mass and energy balances. The batch ethanol fermentations were carried out in a 10 L bubble column bioreactor at 34 °C. First, the process kinetic parameters were estimated by modeling of conventional fermentation, considering substrate consumption, cell growth and ethanol production. The hybrid Andrews–Levenspiel model showed an excellent fit to the experimental data. From the energy balance modeling it was obtained a heat generation during fermentation 5 % lower than the heat calculated using a classical theoretical model. Subsequently, extractive batch ethanol fermentations were performed with specific CO<sub>2</sub> flow rate ( $\Phi_{CO_2}$ ) of 0.5 and 1.0 vvm and modelled. The energetic evaluation showed that the extractive alcoholic fermentation with CO<sub>2</sub> stripping was capable of removing the heat released in the tank, decreasing the cooling water consumption by up to 62,7%.

**Keywords:** Extractive ethanol fermentation. CO<sub>2</sub> stripping. Mass and energy balances. Modeling.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 –Esquema simplificado do processo em batelada alimentada. ....	12
Figura 2.2 – Esquema simplificado da fermentação contínua.....	13
Figura 2.3 – Esquema geral de produção de açúcar, álcool e energia a partir da cana-de-açúcar. .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
Figura 2.4 – Via metabólica simplificada da fermentação alcoólica na <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	16
Figura 2.5 – Representação esquemática do balanço de entalpia para o substrato .....	18
Figura 2.6 – Possíveis alvos do etanol na célula. ....	21
Figura 2.7 – Curvas de ajuste dos resultados de uma experiência idealizada de fermentação.	23
Figura 2.8 – Relação entre crescimento celular e formação de produto, sendo “P” o produto e “X” as células. ....	25
Figura 3.1 – Esquema ilustrativo do aparato experimental. 1) cilindro de CO <sub>2</sub> , 2) fluxômetro de massa, 3) biorreator coluna de bolhas e 4) banho termostático	34
Figura 3.2 – Esquema do aparato experimental para a fermentação convencional.1) aquisição de dados, 2) biorreator, 3) bomba peristáltica, 4) banho termostático e 5) Arduino.....	36
Figura 3.3 – Fluxos de energia presentes na fermentação alcoólica convencional. ....	39
Figura 3.4 – Ilustração do aparato experimental para fermentação com arraste gasoso. 1) aquisição de dados, 2) biorreator, 3) bomba peristáltica, 4) banho termostático, 5) Arduino e 6) cilindro de CO <sub>2</sub> . ....	41
Figura 3.5 – Fluxos de energia presentes na fermentação alcoólica extrativa. ....	42
Figura 4.1 – Valores simulados (–) e experimentais de C <sub>E</sub> (▲) e C <sub>W</sub> (●) durante os experimentos de arraste por CO <sub>2</sub> , com vazões específicas de alimentação de CO <sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ) de a) 1,0 vvm e b) 0,5 vvm	45
Figura 4.2 – Valores simulados (–) e experimentais de C <sub>X</sub> (●), C <sub>S</sub> (■) e C <sub>E</sub> (▲) ao longo do tempo da fermentação convencional em batelada .....	47
Figura 4.3 – Ajuste da Equação 24 aos dados experimentais de $(T-T_{amb})/(T_0-T_{amb})$ em função do tempo de resfriamento para a determinação do coeficiente global de transferência de calor (U).....	48
Figura 4.4 – Comparação entre os valores de taxa de geração de calor (QG): (a) valores teóricos (Equação 3.14 – Shuler e Kargi (2002)) e (b) valores experimentais (Equação 3.13 - balanço de energia). ....	49
Figura 4.5 – Variação da taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ : –) e da velocidade de crescimento celular	

( $r_X$ :●) ao longo da fermentação alcoólica. ....	50
Figura 4.6 – Variação ao longo da fermentação alcoólica da taxa de geração de calor pelo crescimento celular (QG: ▲), da taxa de remoção de calor pela água de resfriamento (QW: ●) e da taxa de perda de calor pela parede do reator (QP: ■).....	50
Figura 4.7 – Comparação entre os valores simulado (–) e experimentais de $C_X$ (●), $C_S$ (■) e $C_E$ (▲) obtidos na fermentação extrativa com $\Phi_{CO_2}=0,5$ vvm.....	51
Figura 4.8 –Comparação entre os valores simulado (–) e experimentais de $C_X$ (●), $C_S$ (■) e $C_E$ (▲) obtidos na fermentação extrativa com $\Phi_{CO_2}=1,0$ vvm.....	52
Figura 4.9 – Comparação entre os valores de taxa de geração de calor (QG) ao longo das fermentações extrativas: a) $\Phi_{CO_2} = 0,5$ vvm e b) $\Phi_{CO_2} = 1,0$ vvm. ....	53
Figura 4.10 – Energia dissipada ao longo das fermentações alcoólicas extrativas: a) $\Phi_{CO_2}=0,5$ vvm e b) $\Phi_{CO_2} = 1$ vvm. Taxa de remoção de calor pela água de resfriamento (QW: ◆), taxa de perda de calor pela parede do reator (QP: ▲), taxa de remoção de calor pela variação de entalpia do $CO_2$ (QC $_{O_2}$ : ■) e taxa de remoção de calor devido à vaporização de etanol e água (Qvap: ●). ....	54
Figura 4.11 – Comparação entre valores de vazão de água de resfriamento (VW) ao longo das fermentações alcoólicas convencional (■) e extrativas com $\Phi_{CO_2} = 0,5$ vvm (▲) e $\Phi_{CO_2} = 1,0$ vvm (●). ....	55

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 2.1 – Modelos matemáticos de crescimento celular para fermentação alcoólica e suas condições. ....	27
Tabela 4.1 – Valores das constantes de remoção de etanol ( $k_E$ ) e água ( $k_W$ ) obtidos nos experimentos de arraste gasoso com $CO_2$ . ....	46
Tabela 4.2 – Valores estimados dos parâmetros cinéticos da fermentação convencional. ....	46
Tabela 4.3 – Comparação entre a fermentação convencional e extrativa. ....	52
Tabela 4.4 – Consumo de água de resfriamento. ....	56

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>1.1.</b>	<b>Objetivo</b> .....	9
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	10
<b>2.1.</b>	<b>Etanol no Brasil</b> .....	10
<b>2.2.</b>	<b>Classificação dos Processos Fermentativos para Produção de Etanol</b> .....	10
2.2.1.	Processo em Batelada .....	11
2.2.2.	Processo em Batelada Alimentada.....	11
2.2.3.	Processo Contínuo .....	12
<b>2.3.</b>	<b>Descrição Genérica do Processo de Produção de Etanol</b> .....	14
<b>2.4.</b>	<b>Bioquímica da Fermentação Alcoólica</b> .....	16
<b>2.5.</b>	<b>Calor Gerado na Fermentação Alcoólica</b> .....	17
<b>2.6.</b>	<b>Fatores que Interferem na Fermentação Alcoólica</b> .....	19
2.6.1.	pH.....	19
2.6.2.	Concentração de Substrato.....	20
2.6.3.	Contaminação Bacteriana .....	20
2.6.4.	Etanol .....	21
2.6.5.	Temperatura .....	22
<b>2.7.</b>	<b>Cinética da Fermentação Alcoólica</b> .....	22
<b>2.8.</b>	<b>Modelos Cinéticos de Crescimento Celular</b> .....	26
<b>2.9.</b>	<b>Transferência de calor em biorreatores</b> .....	28
<b>2.10.</b>	<b>Fermentação Extrativa</b> .....	29
2.10.1.	<i>Flash</i> a Vácuo .....	29
2.10.2.	Pervaporação.....	30
2.10.3.	Extração Líquido-Líquido.....	30
2.10.4.	Arraste Gasoso ( <i>Stripping</i> ) .....	30

<b>2.11. Estudos Relacionados com a Fermentação Extrativa por Arraste Gasoso</b> .....	31
<b>3. MATERIAIS E METODOLOGIAS</b> .....	34
<b>3.1. Arraste Gasoso</b> .....	34
3.1.1. Metodologia Experimental .....	34
3.1.2 Modelagem da remoção de etanol e água por arraste gasoso.....	35
<b>3.2 Fermentação Alcoólica</b> .....	35
3.2.1 Microrganismo e Meio de Cultivo .....	35
3.2.2. Procedimento Experimental .....	35
3.2.3. Métodos Analíticos.....	36
3.2.4 Modelagem Matemática da Fermentação em Batelada Convencional.....	37
3.2.5. Determinação dos Parâmetros Cinéticos .....	40
3.2.6 Fermentação Alcoólica Extrativa por Arraste Gasoso .....	40
3.2.6.1. Modelagem Matemática da Fermentação Alcoólica Extrativa com Arraste Gasoso ..	41
<b>3.3. Determinação do Coeficiente Global de Transferência de Calor (U)</b> .....	43
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
<b>4.1. Avaliação da Remoção de Etanol e Água por Arraste Gasoso com CO<sub>2</sub></b> .....	45
<b>4.2. Fermentação em Batelada Convencional</b> .....	46
4.2.1 Ajuste do Modelo e Estimativa dos Parâmetros Cinéticos.....	46
4.2.2 Avaliação do Coeficiente Global de Transferência de Calor .....	47
4.2.3. Avaliação da Transferência de Calor.....	48
<b>4.3 Fermentação Alcoólica Extrativa com Arraste Gasoso</b> .....	51
4.3.1 Avaliação da Transferência de Massa .....	51
4.3.2. Avaliação da Transferência de Calor.....	53
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda energética e a preocupação com as emissões de gases de efeito estufa (GEE) impulsionaram a busca por fontes alternativas de energia renováveis, sustentáveis e economicamente viáveis (Joshi *et al.*, 2017). O bioetanol é considerado um combustível alternativo com grande potencial para substituir os combustíveis fósseis e reduzir de forma significativa a emissão de GEE (Kang *et al.*, 2015).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol, com produção de 27,76 bilhões de litros na safra 2017/2018, aproximadamente 26% da produção mundial (CONAB, 2018; RFA, 2018). Nas destilarias brasileiras, o etanol é obtido em larga escala através da fermentação de mosto preparado a partir do caldo da cana-de-açúcar concentrado, melão diluído com água ou uma mistura de ambos (Amorim *et al.*, 2011; Ponce *et al.*, 2016). Os açúcares redutores (glicose e frutose) gerados pela hidrólise da sacarose presente no mosto são convertidos em etanol, CO<sub>2</sub> e energia pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* sob condições anaeróbicas com cerca de 90 % de eficiência em etanol em relação ao rendimento teórico ( $0,511 \text{ g}_{\text{etanol}}/\text{g}_{\text{substrato}}$ ) (Amorim *et al.*, 2011; Wheals *et al.*, 1999).

Embora a produção industrial de etanol seja um processo clássico e bem estabelecido, a fermentação alcoólica apresenta duas grandes limitações ao longo do processo, a elevação da temperatura das dornas e a inibição pelo produto. O aumento da temperatura favorece a contaminação bacteriana e torna a levedura mais sensível à toxidez do etanol. A inibição pelo produto é resultado da alteração da fluidez da membrana celular, ocasionando o acúmulo do etanol em concentrações tóxicas no interior da célula. Nas destilarias brasileiras facilmente se ultrapassa a temperatura de 38 °C durante a fermentação, tornando-se uma variável de difícil controle no processo (Basso, Basso e Rocha, 2011; Phisalaphong, Srirattana e Tanthapanichakoon, 2006).

O etanol atua como inibidor não-competitivo do metabolismo, cessando completamente o crescimento da levedura *S. cerevisiae* em concentrações próximas a 95 g.L<sup>-1</sup> (Maiorella, Blanch e Wilke, 1983). Devido à inibição pelo produto, uma baixa concentração de etanol é obtida no caldo ao final da fermentação, resultando na geração de um alto volume de vinhaça (10-15 L<sub>vinhaça</sub>/L<sub>etanol</sub>) com consumo de vapor em torno de 2,6 kg<sub>vapor</sub>/kg<sub>etanol</sub> na destilação (Mohana, Acharya e Madamwar, 2009; Morandin *et al.*, 2011).

A fermentação alcoólica extrativa com arraste gasoso por CO<sub>2</sub>, operação conhecida por esgotamento ou *stripping*, é uma forma eficiente para contornar tanto o efeito da inibição pelo

etanol quanto a elevação da temperatura na dorna de fermentação, uma vez que as vaporizações do etanol e da água pela passagem da corrente gasosa remove calor do caldo fermentativo (fase líquida) (Silva, C.R. *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 1996). O arraste gasoso não remove os nutrientes do caldo e não prejudica as células, além de ser uma técnica de relativa simplicidade possibilitando a utilização do dióxido de carbono produzido na fermentação como gás de arraste para a remoção de etanol (Park e Geng, 1992; Ponce *et al.*, 2016).

Dessa forma, o arraste gasoso por CO<sub>2</sub> é uma técnica atraente para aplicação em destilarias brasileiras, podendo auxiliar no resfriamento das dornas de fermentação que demandam um alto volume de água para o controle da temperatura. No entanto, não são encontrados na literatura trabalhos relacionados com a modelagem e quantificação da remoção de calor no arraste gasoso de etanol por CO<sub>2</sub> ao longo da fermentação alcoólica.

### 1.1. Objetivo

Diante dos benefícios da técnica de arraste gasoso (*stripping*), o objetivo deste trabalho foi avaliar as fermentações alcoólicas convencional e extrativa com *stripping* de etanol e água por CO<sub>2</sub> com base nos balanços de massa e energia.

O trabalho foi desenvolvido obedecendo as seguintes etapas:

- análise da influência da vazão específica de CO<sub>2</sub> nas remoções de etanol e água no processo de arraste gasoso.
- modelagem e validação experimental da fermentação alcoólica convencional com base nos balanços de massa e energia, estimativa dos parâmetros cinéticos do modelo híbrido de Andrews–Levenspiel e dos termos de energia presentes no processo.
- simulação e validação experimental da fermentação alcoólica extrativa com base na remoção de calor do processo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Etanol no Brasil

No Brasil, a produção de álcool combustível iniciou-se em 1927 continuando até os primeiros anos da década seguinte. Porém, devido à crise do petróleo, somente a partir da década de 1970 a produção de etanol foi alçada ao primeiro plano com a criação do Programa Nacional do Álcool (ProÁlcool) que teve como objetivo reduzir a dependência do país sobre o petróleo importado (Lopes, Paulillo, *et al.*, 2016; Mussatto *et al.*, 2010). Com a evolução da indústria sucroalcooleira, as políticas evoluíram e o ProÁlcool foi extinto em 1999, possibilitando mais incentivos para investimentos privados e reduzindo a intervenção estatal (Mussatto *et al.*, 2010).

A introdução da tecnologia *flex-fuel* na indústria automotiva favoreceu o consumo e a consolidação do etanol como um dos combustíveis veiculares mais utilizados no país. A fabricação de veículos bicombustíveis tornou-se um marco para a indústria de automóveis e para o setor sucroenergético (Ponce, 2015). Desde então, o uso de etanol como biocombustível no Brasil tem sido o programa mais bem-sucedido para substituir os combustíveis fósseis em todo o mundo (Lopes, Paulillo, *et al.*, 2016).

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol. Durante a safra 2017/2018, 633,26 milhões de toneladas de cana-de-açúcar foram colhidas, sendo produzidos 37,8 milhões de toneladas de açúcar e 27,76 bilhões de litros de etanol. Deste total, 11,09 bilhões de litros foram de etanol anidro utilizado na mistura com a gasolina e 16,67 bilhões de litros de álcool hidratado utilizado nos veículos *flex-fuel* (CONAB, 2017).

### 2.2. Classificação dos Processos Fermentativos para Produção de Etanol

As fermentações industriais são classificadas de acordo com o modo em que a dorna é alimentada com o substrato (mosto) e a forma como o produto é retirado, ou seja, os processos podem ser contínuos ou descontínuos. Na fermentação contínua o caldo fermentado é retirado da dorna com a mesma vazão de alimentação de mosto, enquanto que a fermentação descontínua é intermitente, podendo ocorrer em batelada ou em batelada alimentada (Hendler, 2011).

### 2.2.1. Processo em Batelada

O processo de fermentação em batelada clássico foi muito empregado na produção de etanol nas destilarias brasileiras até o início dos anos 60. Pode ser operado em dois sistemas, o sistema de cortes ou o sistema de cultura pura (pé-de-cuba). O sistema de cortes consiste em realizar a primeira fermentação, então o volume de mosto é dividido em duas dornas, completando ambas com mosto e deixando fermentar até o total consumo de substrato. Os cortes podem ser feitos na fase de crescimento mais intensivo, quando se deseja propagar o inóculo ou após o término da fermentação. No sistema de cultura pura, para cada fermentação utiliza-se uma cultura pura e adiciona-se o mosto até completar o volume da dorna (Carvalho e Sato, 2001; Tosetto, 2002).

A fermentação em batelada é considerada a mais segura no que se refere à manutenção das condições de assepsia, pois ao final de cada batelada o reator é esterilizado, recebendo uma nova carga de mosto e inóculo, o qual poderá sofrer todos os controles necessários, a fim de assegurar a presença única do microrganismo responsável pelo processo (Schmidell *et al.*, 2001).

### 2.2.2. Processo em Batelada Alimentada

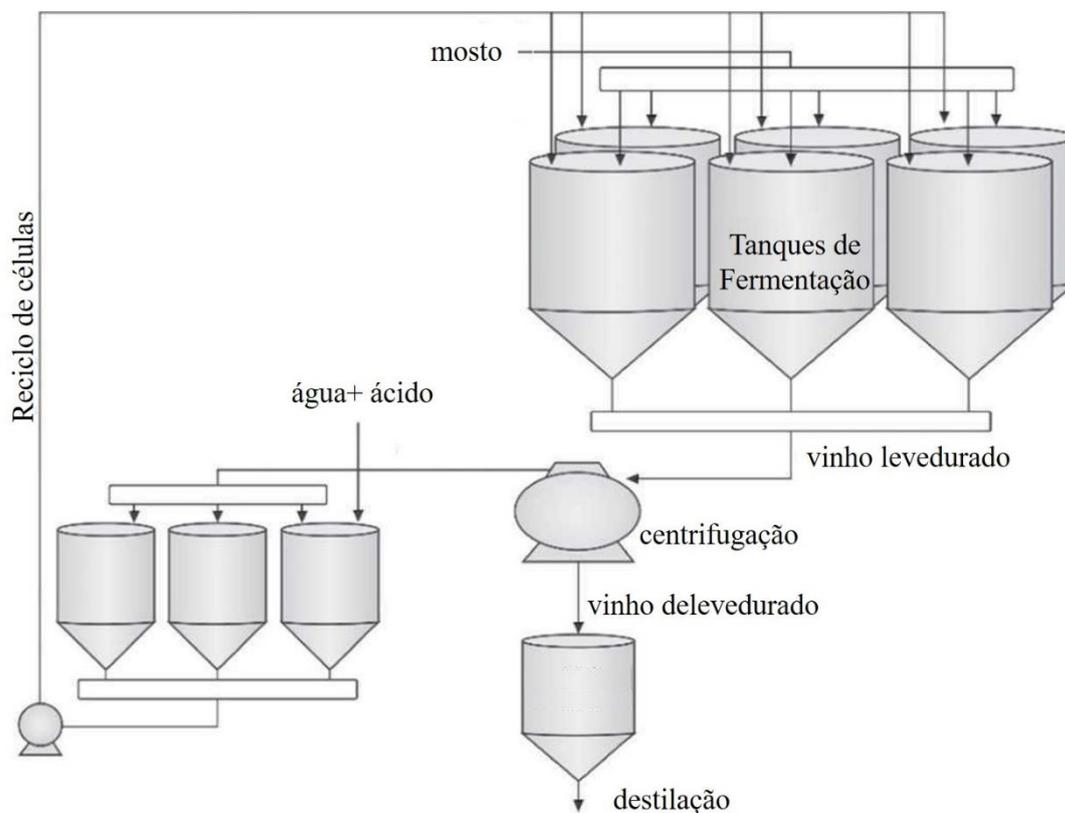
Na batelada alimentada um ou mais nutrientes são adicionados à dorna durante o cultivo e os produtos permanecem nela até o final da fermentação. A vazão de alimentação pode ser constante ou variar com o tempo e a adição de mosto pode ser de forma contínua ou intermitente. A flexibilidade no ajuste da vazão possibilita o controle da concentração de substrato no fermentador, de modo que o metabolismo microbiano seja deslocado para uma determinada via metabólica, levando ao acúmulo do produto de interesse (Ponce *et al.*, 2016).

No processo em batelada alimentada, representado esquematicamente na Figura 2.1, ocorre o emprego do processo Melle-Boinot, em que as células de leveduras são recuperadas através de uma etapa de centrifugação e submetidas a um tratamento ácido, tendo como finalidade eliminar contaminantes e permitir a reutilização das células na fermentação seguinte (Hendler, 2011). A aplicação do reciclo de leveduras trouxe vários benefícios à fermentação alcoólica, sendo o principal a reutilização do fermento, que antes era enviado para a coluna de destilação juntamente com o vinho. Aumentou-se, assim, a eficiência do processo fermentativo, pois com uma menor quantidade de açúcar se produz um maior volume de etanol, uma vez que

se reduz a quantidade de açúcar destinada a produção de células (Amorim, 2005).

Outas vantagens da fermentação em batelada alimentada são eliminação de contaminantes pela centrifugação do meio fermentado; fermentação mais pura devido ao tratamento ácido; eliminação da necessidade de cultura pura no preparo do “pé de cuba”, prática exigida no processo clássico, diminuindo a complexidade das operações na planta. (Andrietta, 1994).

Figura 2.1 –Esquema simplificado do processo em batelada alimentada.



Fonte: Adaptado, LOPES et al. (2016b).

### 2.2.3. Processo Contínuo

A fermentação contínua, apresentada esquematicamente na Figura 2.2, não sofre interrupções, pois a dorna é alimentada com vazões constantes de mosto e de células e o caldo fermentado é retirado com uma vazão de saída igual às de alimentação (Tosetto, 2002). O volume do meio é mantido constante para que o sistema atinja o regime permanente. Desse modo, as concentrações de células, de substrato e produto permanecem constantes ao longo do tempo de fermentação (Facciotti, 2001). A produção de etanol empregando sistemas contínuos



### 2.3. Descrição Genérica do Processo de Produção de Etanol

A cana-de-açúcar é a principal matéria-prima empregada nas destilarias brasileiras para a produção de etanol, destacando-se devido ao seu baixo custo e disponibilidade, bem como por ser uma fonte rica de carbono com elevada concentração de açúcares (Atala, 2004). A cana apresenta em sua composição 12–17% de açúcares (90% sacarose e 10% glicose) e 68–72% de água em massa. A extração média em uma usina de açúcar e álcool é de aproximadamente 95% do açúcar da cana e o resíduo sólido gerado na extração é a fibra da cana (bagaço) (Wheals *et al.*, 1999).

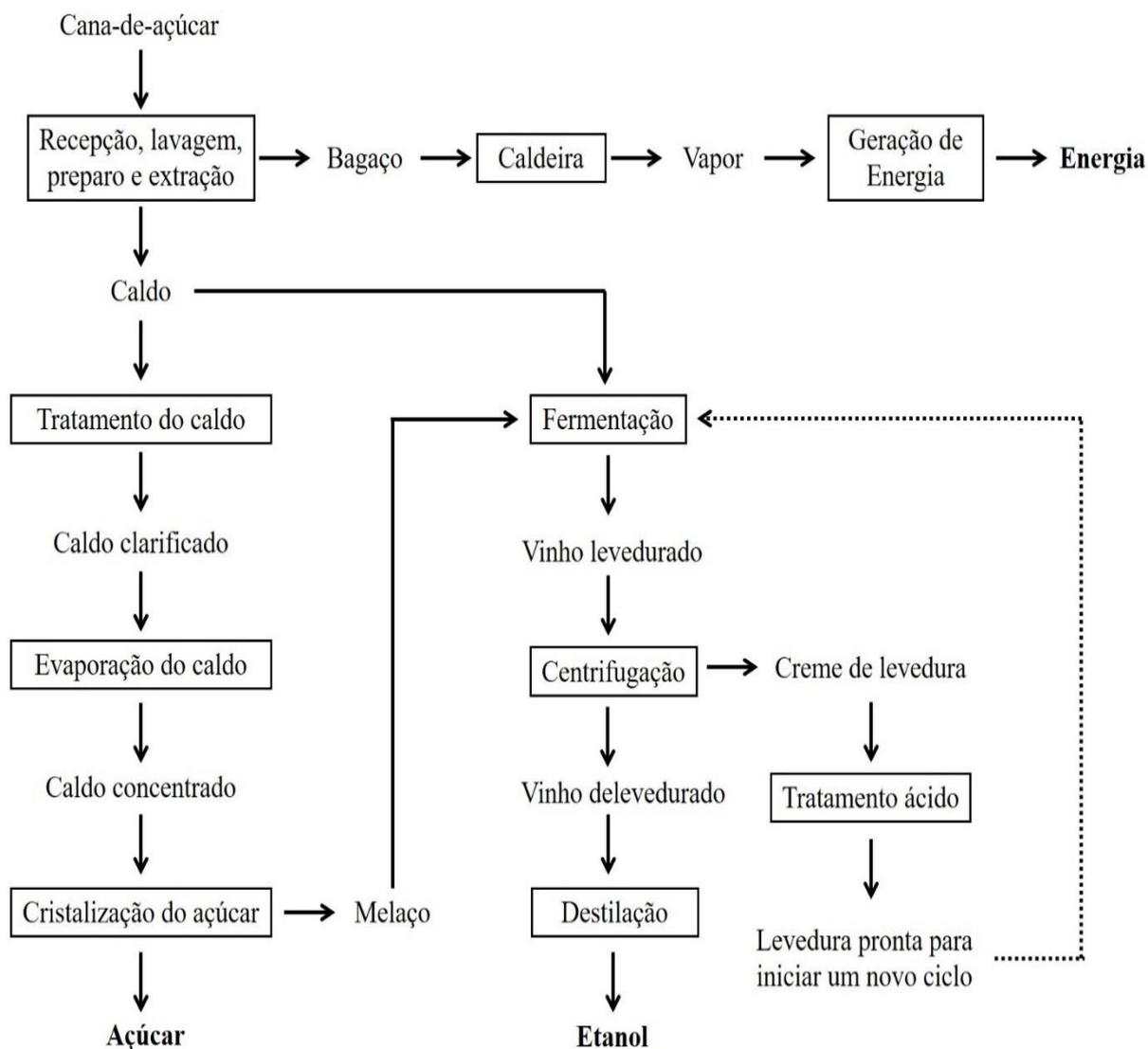
No setor sucroalcooleiro, o processo integrado de produção de açúcar e álcool é predominante. Cerca de 70% das instalações industriais são plantas produtoras de açúcar com destilarias anexas e as demais são destilarias autônomas. Além do açúcar e do etanol, o setor sucroalcooleiro também incorporou a energia elétrica aos seus produtos básicos (Hendler, 2011).

Na Figura 2.3 está representado um esquema geral da produção de açúcar, etanol e energia a partir da cana-de-açúcar. O processo tem início com a colheita e limpeza da cana-de-açúcar. Os açúcares presentes na cana são extraídos e permanecem em uma solução denominada caldo. O bagaço de cana-de-açúcar, com baixa umidade e um residual mínimo de açúcares é enviado às caldeiras para geração de vapor e energia (Ponce, 2015).

O caldo obtido na extração é peneirado, tratado quimicamente e aquecido, visando coagular, flocular e precipitar suas impurezas. Em seguida, o caldo segue para a decantação e o sobrenadante é o caldo clarificado, no qual os açúcares estão solubilizados (Hendler, 2011). Em destilarias isoladas pode-se evaporar o caldo para o preparo do mosto e início da fermentação. Nas destilarias anexas à fábrica de açúcar, o melaço obtido na centrifugação do açúcar é utilizado para o preparo do mosto, sendo diluído com água ou com caldo de cana (Wheals *et al.*, 1999).

O mosto deve ser ajustado de forma a facilitar a sua fermentação, pois concentrações de açúcares elevadas exercem efeito de inibição sobre o metabolismo da levedura (Maiorella, Blanch e Wilke, 1983). As fermentações são realizadas simultaneamente em várias dornas dentro de um período de 6 a 12 horas. A concentração final de etanol no caldo de fermentação atinge 7-11% (v/v) e os níveis de açúcar residual deixados no vinho permanecem abaixo de 0,1% (Amorim *et al.*, 2011).

Figura 2.3 – Esquema geral de produção de açúcar, álcool e energia a partir da cana-de-açúcar.



Fonte: O autor.

O vinho é centrifugado e separado das células de levedura, prosseguindo para as colunas de destilação, nas quais o etanol é separado do vinho com base nos diferentes pontos de ebulição dos componentes desta mistura (Manochio *et al.*, 2017). As células de levedura concentradas recebem um tratamento com ácido sulfúrico (pH 2,0-2,5) para reduzir a contaminação bacteriana. Após 1-3 h, as células de fermento retornam para as dornas de fermentação para iniciar um novo ciclo. Por esta razão, quantidades muito elevadas de biomassa celular de levedura são recicladas pelas destilarias todos os dias (Amorim *et al.*, 2011).

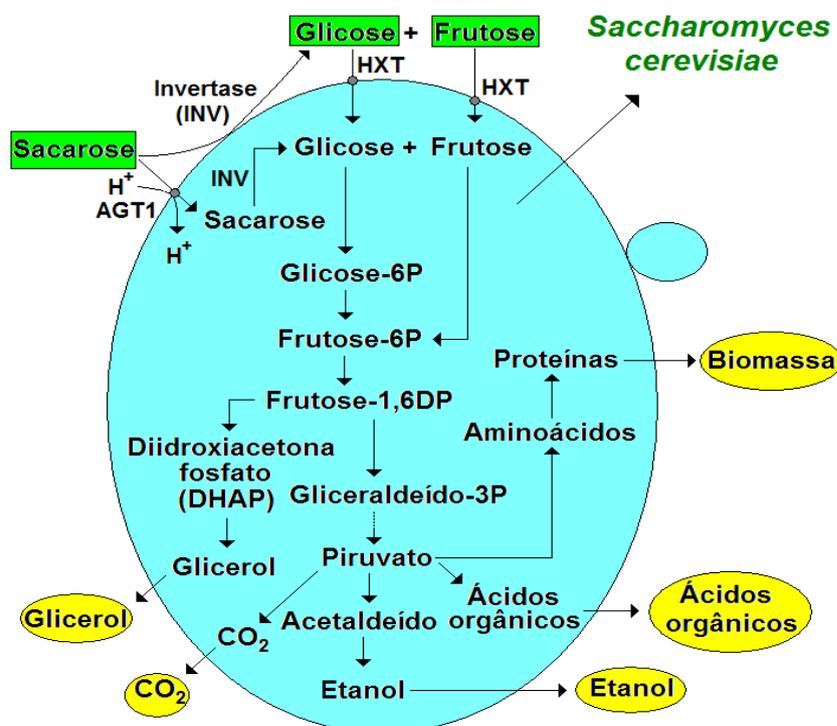
Após a destilação do vinho é gerado um alto volume de vinhaça, cerca de 10 a 15 litros para cada litro de etanol produzido (Basso, Basso e Rocha, 2011). A vinhaça apresenta alto poder poluente por ter elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO), baixo pH, matéria orgânica, além de elevada temperatura na saída dos destiladores (Silva, 2012). Em

contrapartida, apresenta valor agregado a lavoura, podendo ser utilizada como fertilizante, adicionando ao solo potássio, cálcio, magnésio, micronutrientes e matérias orgânicas. A aplicação da vinhaça na lavoura deve ser efetuada com dosagens adequadas, principalmente no que diz respeito ao potássio, pois a concentração elevada poderá criar problemas nutricionais na cana (Lopes, Gabriel e Borges, 2011).

## 2.4. Bioquímica da Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é a ação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis presentes em uma solução. A levedura utilizada nas usinas brasileiras é a *Saccharomyces cerevisiae*. Um microrganismo anaeróbico facultativo que em condições de anaerobiose produz etanol em uma rota metabólica específica. A fermentação alcoólica se dá através de reações sequencialmente ordenadas, cada qual catalisada por uma enzima específica. A Figura 2.4 apresenta um esquema simplificado da via metabólica da fermentação alcoólica. O objetivo principal da levedura ao metabolizar o açúcar pela via anaeróbia é gerar energia (ATP) para a manutenção das atividades vitais e do crescimento microbiano (Lima, Basso e Amorim, 2001).

Figura 2.4 – Via metabólica simplificada da fermentação alcoólica na *Saccharomyces cerevisiae*.



Fonte: Adaptado, Rodrigues et al. (2018).

O etanol pode ser formado pelas leveduras somente a partir de monossacarídeos, sendo necessário decompor a sacarose nas hexoses glicose e frutose pela ação da enzima invertase presente na levedura, conforme a Equação 2.1 (Lopes, Gabriel e Borges, 2011).



As hexoses glicose e a frutose são convertidas em piruvato durante a glicólise e o piruvato é convertido a etanol e CO<sub>2</sub> em um processo de duas etapas. Na primeira etapa, o piruvato é descarboxilado gerando acetaldeído. Na segunda etapa, o acetaldeído é reduzido a etanol (Nelson e Cox, 2008 ). A equação simplificada de Gay-Lussac, Equação 2.2, apresenta a conversão das hexoses em etanol e CO<sub>2</sub>.



O coeficiente de rendimento estequiométrico da fermentação alcoólica é 0,511 kg de etanol por kg de hexose consumida e de 0,489 kg de CO<sub>2</sub> por kg de hexose. Na prática, este valor não é observado, devido à utilização de parte da hexose para o crescimento celular e produção de outros compostos como glicerol e álcoois superiores, substâncias necessárias para síntese de material celular e manutenção da levedura (Sonego, 2016).

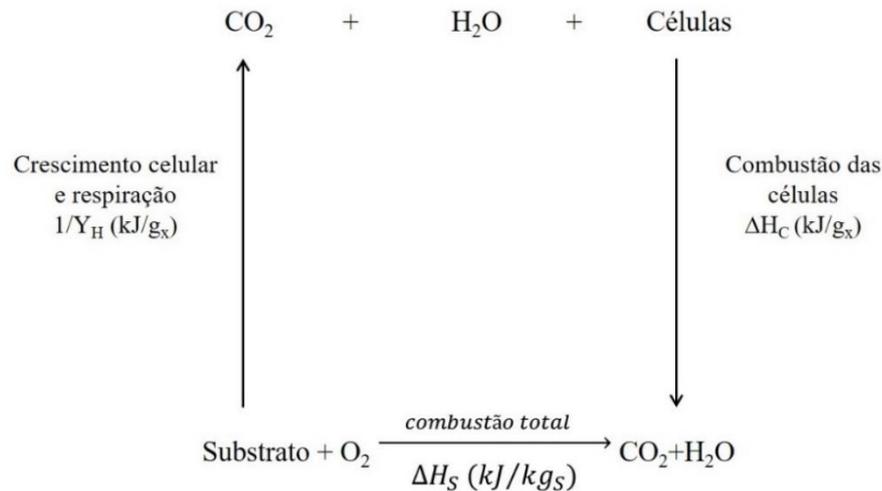
## 2.5. Calor Gerado na Fermentação Alcoólica

Ao longo do processo fermentativo, as atividades metabólicas da levedura são acompanhadas pela geração de calor. Parte da energia liberada é conservada em ATP (adenosina trifosfato), fornecendo energia para a biossíntese de componentes celulares e outras atividades microbianas, o restante da energia original do substrato é liberado como calor. Além da produção de calor durante o catabolismo das moléculas nutrientes ricas em energia, a maior parte da energia na forma de ATP também é liberada como calor durante a sua utilização nas atividades celulares, fornecendo suporte para o crescimento microbiano e outras funções celulares. A quantidade de calor produzido está relacionada com o tipo de via catabólica pela qual o substrato orgânico é metabolizado, com a geração de ATP e com a biossíntese dos componentes celulares (Luong, Yerushalmi e Volesky, 1983).

De acordo com Shuler e Kargi (2002), o calor gerado durante o crescimento microbiano

pode ser calculado a partir do calor da combustão do substrato e do material celular. A Figura 2.5 apresenta um esquema de um balanço de entalpia para a oxidação do substrato.

Figura 2.5 – Representação esquemática do balanço de entalpia para o substrato



Fonte: Adaptado, Shuler e Kargi (2002).

O calor de combustão do substrato é igual à soma do calor metabólico e do calor de combustão do material celular (Shuler e Kargi, 2002), conforme a Equação 2.3.

$$\frac{\Delta H_S}{Y_{X/S}} = \Delta H_C + \frac{1}{Y_H} \quad (2.3)$$

onde  $\Delta H_S$  é a entalpia de combustão do substrato ( $\text{kJ.g}_S^{-1}$ ),  $\Delta H_C$  é a entalpia de combustão da célula ( $\text{kJ.g}_X^{-1}$ ) e  $\frac{1}{Y_H}$  é o calor metabólico envolvido por grama produzido de célula ( $\text{kJ.g}_X^{-1}$ ).

O calor total gerado em uma fermentação em batelada é apresentado pela Equação 2.4 (Shuler e Kargi, 2002).

$$\dot{Q}_G = \frac{V \cdot \mu \cdot C_X}{Y_H} \quad (2.4)$$

onde  $\dot{Q}_G$  é a taxa de geração de calor da fermentação ( $\text{kJ.h}^{-1}$ )

Devido à característica exotérmica da fermentação alcoólica, é necessário o controle da temperatura na dorna de fermentação. O resfriamento da dorna é realizado por um sistema composto por trocadores de calor de placas externos às dornas, onde o vinho em fermentação é bombeado ao trocador, retornando em circuito fechado (SILVA, 2014). Entretanto, mesmo com o resfriamento, em dias com temperaturas elevadas torna-se difícil manter a temperatura adequada nas dornas.

## 2.6. Fatores que Interferem na Fermentação Alcoólica

As células de levedura são submetidas a vários tipos de estresse à medida que as condições do meio mudam, tanto em situações naturais como durante o processo de fermentação alcoólica (Folch-mallol *et al.*, 2004). Alguns fatores que afetam negativamente as células são oriundos do meio, tais como a deficiência de nutrientes, alta temperatura e contaminação. Outros fatores são do metabolismo celular da levedura, como a concentração de etanol. Muitos desses fatores são sinérgicos, afetando as células mais severamente em comparação com apenas um efeito estressante, o que leva à redução da viabilidade celular e menor rendimento em etanol (Bai, Anderson e Moo-Young, 2008). Os principais fatores causadores de stress na levedura *Saccharomyces cerevisiae* estão descritos nos itens abaixo.

### 2.6.1. pH

O pH é um fator significativo para as fermentações industriais devido à sua importância tanto no controle da contaminação bacteriana quanto ao seu efeito sobre o crescimento da levedura, velocidade de fermentação e formação de subprodutos (AMORIM *et al.*, 1996).

Os valores de pH dos mostos industriais encontram-se geralmente na faixa de 4,5 a 5,5, mas as leveduras mantêm uma homeostase de forma quase independente dos valores de pH do meio, por isso toleram o tratamento ácido (AMORIM *et al.*, 1996). Fermentações conduzidas em meio ácido resultam em maiores rendimentos em etanol, pois se restringe o crescimento da levedura, conseqüentemente, há a redução na formação de outros produtos, como o glicerol (Lima, Basso e Amorim, 2001).

No processo de fermentação com reutilização da levedura, faz-se seu tratamento com adição de ácido sulfúrico que leva o pH a valores entre 2,0 e 3,2 durante 1-3 h, visando a redução da carga bacteriana. Embora o tratamento ácido se mostre estressante à levedura, ainda apresenta efeito benéfico de controlar a contaminação reduzindo significativamente o número

de bactérias (AMORIM *et al.*, 1996).

### 2.6.2. Concentração de Substrato

Altas concentrações de substrato (acima de  $100 \text{ g.L}^{-1}$ ) podem ocasionar inibição na levedura (Shuler e Kargi, 2002). O estresse osmótico ocorre quando uma elevada concentração extracelular de açúcares gera uma perturbação no gradiente de pressão osmótica através da membrana plasmática. Se o soluto não for transportado através da membrana celular, a água fluirá para fora da célula, ocasionando a redução do volume celular, a fim de equilibrar a pressão osmótica. Isso pode resultar em um potencial efeito tóxico e também em um aumento na demanda de energia para a manutenção celular, uma vez que a célula trabalha mais para manter uma concentração intracelular de eletrólitos constante (Helle *et al.*, 2003).

### 2.6.3. Contaminação Bacteriana

Devido à temperatura, acidez, concentração de açúcares e de nutrientes, entre outros fatores, ocorre o desenvolvimento de outros tipos de microrganismos na fermentação que são considerados contaminantes. Os microrganismos contaminantes competem com a levedura pelo mesmo substrato e geram subprodutos que são inibidores do crescimento da levedura. As instalações de usinas geralmente não são projetadas para trabalhar com culturas puras, entretanto infecções crônicas devem ser eliminadas, pois afetam o rendimento da produção de etanol (Daré, 2008).

As bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus* são os principais contaminantes do meio fermentativo (Souza, 2009). Diversos autores verificaram influência dos ácidos acético e láctico na inibição do crescimento e na queda da viabilidade celular de *S. cerevisiae*, quando em cultura mista com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. Contaminação bacteriana com níveis superiores a  $10^6$ - $10^7$  células.mL<sup>-1</sup> de mosto podem ocasionar uma significativa queda no rendimento alcoólico (Alcarde, Nobre e Horii, 2007).

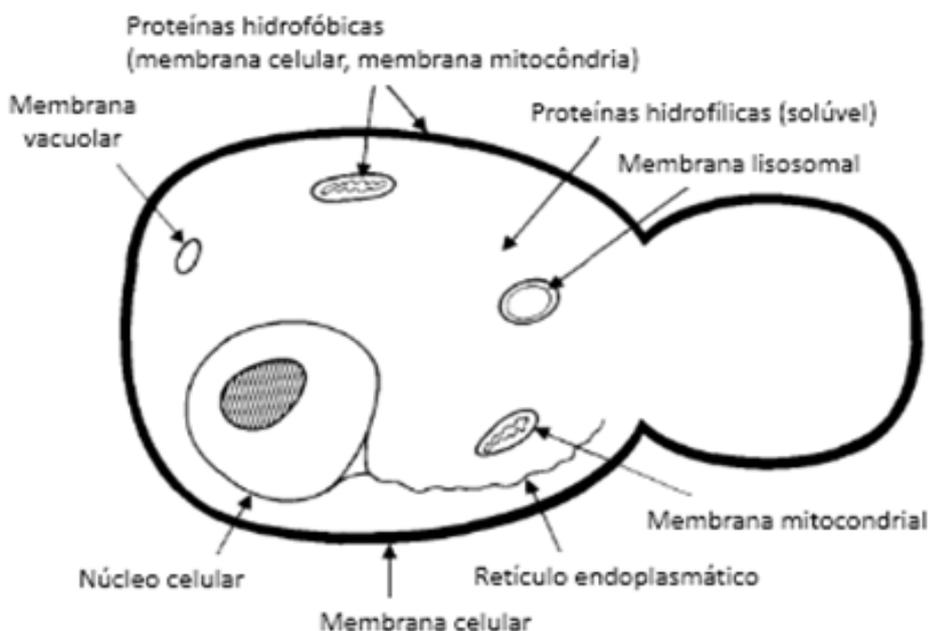
O maior problema ocasionado pela contaminação bacteriana é a floculação. A falta de homogeneidade do vinho fermentado faz com que a centrífuga não opere de forma eficiente provocando sérios danos ao processo (Andrietta, Steckelberg e Andrietta, 2006).

#### 2.6.4. Etanol

O etanol acumulado no caldo durante a fermentação é o principal componente tóxico para a levedura *S. cerevisiae*, resultando em diminuições no crescimento da levedura e na produção de etanol à medida que a concentração de etanol aumenta no caldo (Sonego *et al.*, 2016). A temperatura, a aeração e a composição do meio são fatores que influenciam na sensibilidade da levedura ao etanol, agindo de forma direta ou indireta sobre as propriedades da membrana plasmática, provocando modificações na membrana lipídica e nos sistemas de transporte de soluto e ação de algumas enzimas (Atala, 2004).

O etanol atua em algumas enzimas específicas do ciclo glicolítico, como por exemplo a hexoquinase, que possui elevada sensibilidade ao etanol. Entretanto, as membranas de algumas organelas e a membrana celular são consideradas como os principais alvos de ataques do etanol (Casey e Ingledew, 1986). Na Figura 2.6 são apresentados alguns pontos da célula que podem ser afetados pelo etanol em alta concentração.

Figura 2.6 – Possíveis alvos do etanol na célula.



Fonte: Adaptado, D'Amore e Stewart (1987).

Luong (1985) verificou que o etanol apresentou um efeito significativo sobre a velocidade de crescimento celular em concentrações acima de 15 g. L<sup>-1</sup> e que a concentração

máxima de etanol a partir da qual as células cessam o crescimento foi de aproximadamente 100 g.L<sup>-1</sup>. Observou também que em concentração de 105 g.L<sup>-1</sup> a capacidade da levedura *S. cerevisiae* de produção de etanol foi completamente inibida.

#### 2.6.5. Temperatura

A temperatura ótima para as fermentações industriais situa-se na faixa 26-35 °C, entretanto, nas destilarias facilmente se ultrapassa a temperatura de 38 °C. O aumento da temperatura favorece a contaminação bacteriana e torna a levedura mais sensível à toxidez do etanol (Lima, Basso e Amorim, 2001).

Em temperaturas elevadas o crescimento celular da levedura é inibido, este efeito é resultado da alteração da fluidez da membrana celular, ocasionando o acúmulo de substâncias tóxicas no interior da célula, incluindo o etanol. Altas temperaturas são responsáveis pela desnaturação de proteínas e enzimas (Phisalaphong, Srirattana e Tanthapanichakoon, 2006).

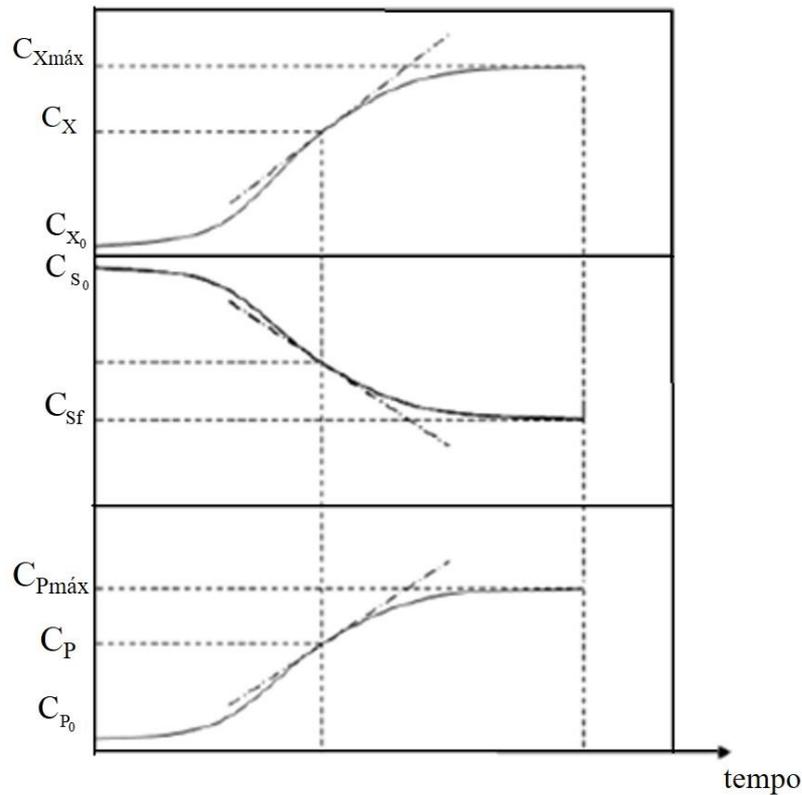
Segundo Dias (2008), as alterações ocasionadas no comportamento da levedura diminuem o teor alcoólico do vinho, elevando o consumo de energia durante a etapa de destilação e a relação volume de vinhaça/volume de etanol produzidos, o que corresponde a um maior custo de produção. O controle desta variável é bastante complexo, sendo a temperatura considerada um fator crítico do processo fermentativo.

### 2.7. Cinética da Fermentação Alcoólica

Estudar a cinética das fermentações é importante para quantificar a velocidades de crescimento celular, consumo de substrato, formação de produtos e demais parâmetros relacionados. Permite também verificar as influências de fatores externos como pH, temperatura e inibidores, na cinética de fermentação. No caso da fermentação alcoólica, estes valores são essenciais para se projetar adequadamente uma unidade industrial de produção de etanol (Viegas, 1996).

Considerando as variáveis concentração de substrato (S), concentração de células (X) e concentração de produto (P) presente no caldo em um instante t, a Figura 2.7 apresenta a evolução de um processo fermentativo em batelada.

Figura 2.7 – Evolução das concentrações de células ( $C_X$ ), substrato ( $C_S$ ) e produto ( $C_P$ ) ao longo de uma fermentação em batelada.



Fonte: Schmidell et al. (2001).

A partir da curva apresentada na Figura 2.7 é possível determinar as velocidades médias de transformações num período de tempo ( $\Delta t$ ) (Daré, 2008), conforme as Equações 2.5, 2.6 e 2.7.

$$\bar{r}_S = \frac{\Delta C_S}{\Delta t} = \frac{(C_{S_0} - C_{Sf})}{(t_f - t_0)} \quad (2.5)$$

$$\bar{r}_P = \frac{\Delta C_P}{\Delta t} = \frac{(C_{Pf} - C_{P_0})}{(t_f - t_0)} \quad (2.6)$$

$$\bar{r}_X = \frac{\Delta C_X}{\Delta t} = \frac{(C_{Xf} - C_{X_0})}{(t_f - t_0)} \quad (2.7)$$

onde  $\bar{r}_S$  é a velocidade média de consumo de substrato ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ),  $\bar{r}_P$  é a velocidade média de formação de produto ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ),  $\bar{r}_X$  é a velocidade média de crescimento celular ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ),  $C_S$

é a concentração de substrato ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{S_0}$  é a concentração inicial de substrato ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{S_f}$  é a concentração final de substrato ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_P$  é a concentração de produto ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{P_0}$  é a concentração inicial de produto ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{P_f}$  é a concentração final de produto ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_X$  é a concentração de biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{X_0}$  é a concentração inicial de biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{X_f}$  é a concentração final de biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $t$  é o tempo (h),  $t_0$  é o tempo inicial (h) e  $t_f$  é o tempo final (h).

Em alguns casos é de grande interesse a medição de velocidades instantâneas no processo fermentativo, como mostrado pelas Equações 2.8, 2.9 e 2.10 (Daré, 2008).

$$r_S = -\frac{dC_S}{dt} \quad (2.8)$$

$$r_P = \frac{dC_P}{dt} \quad (2.9)$$

$$r_X = \frac{dC_X}{dt} \quad (2.10)$$

O estudo da cinética dos processos fermentativos exige o conhecimento e a utilização de parâmetros que possibilitem a análise da produção de células e produtos. Entre estes parâmetros encontram-se a velocidade específica de crescimento celular ( $\mu_X$  ou simplesmente  $\mu$ ), velocidade específica de consumo de substrato ( $\mu_S$ ), e a velocidade específica de formação de produto ( $\mu_P$ ), descritas pelas Equações 2.11, 2.12 e 2.13 (DARÉ, 2008).

$$\mu_X = \mu = \frac{r_X}{C_X} \quad (2.11)$$

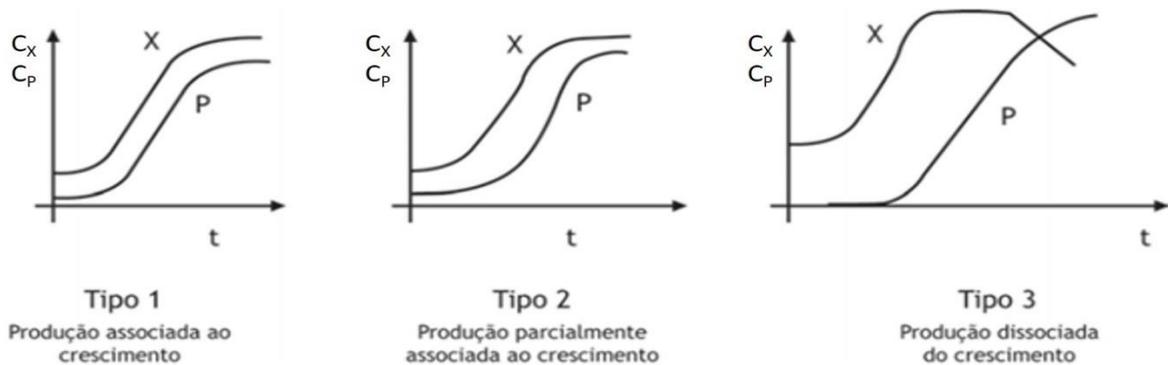
$$\mu_S = -\frac{r_S}{C_X} \quad (2.12)$$

$$\mu_P = \frac{r_P}{C_X} \quad (2.13)$$

A produção de um dado metabólito pode estar intimamente associada ao crescimento celular, de forma que só haverá formação de produto quando ocorrer crescimento. O surgimento do produto durante a fermentação pode ocorrer de três formas: produção associada ao

crescimento (Tipo 1), produção parcialmente associada ao crescimento (Tipo 2) e produção dissociada do crescimento (Tipo 3), conforme ilustrado na Figura 3.6 (Bastos, 2010).

Figura 2.8 – Relação entre crescimento celular e formação de produto, sendo “P” o produto e “X” as células.



Fonte: Bastos (2010).

Luedeking e Piret propuseram em 1959 o modelo para representar a formação do produto num cultivo em batelada, conforme a Equação 2.14.

$$r_p = \underbrace{\alpha \cdot r_x}_{\left( \begin{array}{c} \text{termo de produção} \\ \text{associado ao} \\ \text{crescimento} \end{array} \right)} + \underbrace{\beta \cdot C_x}_{\left( \begin{array}{c} \text{termo de produção} \\ \text{associado a} \\ \text{massa celular} \end{array} \right)} \quad (2.14)$$

Assim,

$$\text{Tipo 1: } \mu_p = \alpha \cdot \mu_x \quad (2.15)$$

$$\text{Tipo 2: } \mu_p = \alpha \cdot \mu_x + \beta \quad (2.16)$$

$$\text{Tipo 3: } \mu_p = \beta \quad (2.17)$$

O modelo de Luedeking-Piret é o que apresenta maior aplicação para explicar o surgimento do produto. Em cultivos do “tipo 1”, o termo associado ao crescimento ( $\alpha$ ) é muito superior ao termo associado à quantidade de biomassa ( $\beta$ ) e reflete os casos em que o surgimento do produto está fortemente associado ao crescimento celular. Por outro lado, nos cultivos do “tipo 3” o parâmetro  $\beta$  é muito superior a  $\alpha$ , caracterizando a produção de muitos metabólitos secundários ou o surgimento de produtos na fase estacionária de crescimento, conforme visto na Figura 2.7. Os cultivos “tipo 2” apresentam um comportamento

intermediário (Bastos, 2010).

A geração de etanol pela *S. cerevisiae* é associada ao crescimento celular, ou seja, a produção de etanol ocorre conjuntamente à multiplicação celular, sendo classificada como “tipo 1” (SILVA, 2014).

## 2.8. Modelos Cinéticos de Crescimento Celular

Segundo Bailey e Ollis (1986), os modelos cinéticos utilizados para expressar o crescimento celular em processos fermentativos podem ser classificados em:

- não-estruturados e não-segregados: as células de microrganismo são consideradas como soluto;
- estruturados e não-segregados: onde as células são tratadas como seres individuais de múltiplos componentes. Porém, com composição média semelhante;
- não-estruturados e segregados: onde as células são tratadas como seres distintos. No entanto, descritos por um único componente;
- estruturados e segregados: onde as células de microrganismo são consideradas como indivíduos distintos e formadas por múltiplos componentes.

A cinética da fermentação alcoólica é muito complexa, na qual a velocidade de crescimento celular muda continuamente com o consumo do substrato e a formação do produto. Desta forma, os modelos do tipo não-estruturados e não-segregados são os mais encontrados na literatura para descrever o crescimento celular durante a fermentação alcoólica (Moulin, Boze e Galzy, 1980). Apesar da imprecisão que possa ocorrer com a utilização de modelos mais simples, há compensação pela facilidade de obtenção e diminuição do número de parâmetros cinéticos necessários (Andrietta, 1994)

A equação mais simples e popular para descrever o crescimento microbiano é a equação de Monod, que assume a presença de substrato como limitante para o crescimento celular (Han e Levenspiel, 1988). A cinética de Monod está demonstrada na Equação 2.18:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_s}{C_s + K_s} \quad (2.18)$$

onde  $\mu_{\max}$  é a velocidade específica máxima de crescimento celular ( $h^{-1}$ ),  $C_s$  é a concentração de substrato limitante ( $g.L^{-1}$ ) e  $K_s$  é a constante de saturação ( $g.L^{-1}$ ).

A equação de Monod somente é válida para sistemas que não possuem interferências significativas de inibidores. Entretanto, além da limitação pelo substrato durante a fermentação alcoólica, o crescimento celular também pode ser afetado por inibidores que podem ser o substrato, produto (etanol), as próprias células ou outras substâncias presentes no meio (Han e Levenspiel, 1988). A cinética de crescimento celular da fermentação alcoólica foi estudada por diversos autores que propuseram modelos (Tabela 2.1) levando em consideração os diferentes tipos de inibição simples e mistas.

Tabela 2.1 – Modelos matemáticos de crescimento celular para fermentação alcoólica e suas condições.

Modelo	Condições	Autores
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{\left( C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}} + K_S \right)}$	-Substrato limitante -Inibição pelo substrato	Andrews (1968)
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{\left( C_S + K_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}} \right)} \cdot \left( 1 - \frac{C_E}{C_{E\max}} \right)$	-Substrato limitante -Inibição pelo substrato -Inibição linear pelo produto	Ghose e Tyagi (1979)
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{(C_S + K_S)} \cdot \left( 1 - \frac{C_E}{C_{E\max}} \right)^n$	- Substrato limitante - Sem inibição pelo substrato - Inibição de potência pelo produto	Levenspiel (1980)
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{(C_S + K_S)} \cdot \left( 1 - \frac{C_E}{C_{E\max}} \right)^n \cdot \left( 1 - \frac{C_X}{C_{X\max}} \right)^m$	-Substrato limitante - Sem inibição pelo substrato - Inibição de potência pelo produto - Inibição por altas concentrações de biomassa	Lee, Pagan e Rogers (1983)
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{\left( C_S + K_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}} \right)} \cdot \left( 1 - \frac{C_E}{C_{E\max}} \right)^n$	-Substrato limitante - Inibição pelo substrato - Inibição de potência pelo produto	Andrews (1968)/ Levenspiel (1980)

Fonte: O autor.

onde  $K_{IS}$  é a constante de inibição pelo substrato ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $C_{E_{\max}}$  é a concentração máxima de etanol a partir da qual cessa o crescimento celular ( $\text{g.L}^{-1}$ ) e a produção de etanol,  $C_{X_{\max}}$  é a concentração máxima de células a partir da qual cessa o crescimento celular ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $m$  e  $n$  são constantes adimensionais.

## 2.9. Transferência de calor em biorreatores

A caracterização de processos de transferência de calor em um biorreator pode ser realizada de diferentes maneiras. Em aplicações reais (processos fermentativos), os balanços de energia podem se tornar muito complexos se diversos fluxos de calor estiverem presentes. Portanto, simplificações são às vezes necessárias (Müller *et al.*, 2018).

Avaliando a fermentação alcoólica, estão presentes termos de geração (calor de reação) e perdas de energia no processo. Devido à liberação do calor gerado pelo crescimento microbiano é necessário realizar o resfriamento das dornas de fermentação, visto que as células realizam as atividades metabólicas em condições ótimas de temperatura. A remoção contínua de energia do caldo de fermentação pode ser efetuada através da circulação de água em camisas ou serpentinas.

Perdas de energia ao longo da fermentação também podem ocorrer através da convecção pelas paredes da dorna e por evaporação. A perda de calor por convecção para o ambiente está relacionada com o coeficiente global de transferência de calor ( $U$ ), Equação 2.19. Deve-se lembrar que  $U$  engloba os coeficientes convectivos individuais internos e externos, espessura e condutividade térmica do material da parede do biorreator.

$$U = \frac{1}{\frac{1}{h_i} + \frac{1}{h_e} + \frac{e}{\lambda}} \quad (2.19)$$

onde  $U$  é o coeficiente global de transferência de calor ( $\text{W/m}^2\cdot^\circ\text{C}$ ),  $h_i$  é o coeficiente de convecção interna ( $\text{W/m}^2\cdot^\circ\text{C}$ ),  $h_e$  é o coeficiente de convecção externa ( $\text{W/m}^2\cdot^\circ\text{C}$ ), “ $e$ ” é a espessura da parede do biorreator e  $\lambda$  é a condutividade térmica da parede do biorreator ( $\text{W/m}\cdot^\circ\text{C}$ ).

O valor do coeficiente convectivo interno ( $h_i$ ) varia com a natureza do mosto e a agitação mecânica no tanque, mas o impacto de tais variações no balanço de energia é insignificante. Para estimar o coeficiente convectivo externo ( $h_e$ ), dois casos devem ser considerados:

(i) convecção natural: quando o escoamento de ar devido à mudança de densidade perto da parede é vertical.

(ii) convecção forçada: quando o escoamento de ar é horizontal e rápido, como é o caso dos tanques em salas ou tanques ventilados ao ar livre (Colombié, Malherbe e Sablayrolles, 2007).

Na literatura existem vários trabalhos relacionados com a perda de energia por evaporação, sendo os resultados de taxas de evaporação do etanol divergentes (de 0,083 até 1,36%), dependendo das condições de cultivo (Colombié, Malherbe e Sablayrolles, 2007). Devido à pequena significância da energia perdida por evaporação quando comparado a outros termos de energia presentes no processo, geralmente esta variável pode ser desconsiderada para fins de simplificação.

## 2.10. Fermentação Extrativa

A fermentação extrativa é caracterizada pela retirada de produtos inibidores do meio reacional à medida que são formados. A remoção do inibidor do caldo de fermentação melhora o desempenho do processo e aumenta a produtividade. Os itens a seguir abordarão os principais métodos extrativos para a remoção do produto inibidor do caldo fermentativo.

### 2.10.1. *Flash* a Vácuo

A fermentação a vácuo é baseada na remoção de compostos voláteis presentes no meio fermentativo através da despressurização do ambiente. Com a queda de pressão, os componentes que possuem alta pressão de vapor como o etanol, são transferidos da fase líquida para a fase vapor (Ponce, 2015).

Atala (2004) desenvolveu um sistema em que um fermentador foi acoplado a um evaporador *flash*. Quando o caldo rico em etanol entra no tanque *flash*, uma fração do etanol, que é mais volátil, evapora e, posteriormente, é condensado em outro reservatório. O uso do evaporador *flash* possibilitou a alimentação de um mosto com maiores concentrações de açúcares no reator, o que tem como consequência uma maior produção de etanol. O sistema *flash* manteve a concentração de etanol no caldo em até 40 g.L<sup>-1</sup>, valor pouco inibitório para a levedura no processo, mesmo com alimentações concentradas de melão com até 330 g.L<sup>-1</sup> de açúcar.

### 2.10.2. Pervaporação

A fermentação extrativa por pervaporação é um processo no qual o caldo de fermentação é colocado em contato com um lado de uma membrana polimérica, enquanto se aplica uma purga de vácuo ou é bombeado um gás inerte objetivando a criação de uma corrente de vapor que passa pela membrana e arrasta o produto a ser recuperado. Alguns componentes do meio se difundem através da superfície da membrana e são transferidos para a fase gasosa, sendo necessária uma etapa posterior de condensação para recuperação dos componentes voláteis de interesse (Vane, 2008).

### 2.10.3. Extração Líquido-Líquido

Neste tipo de extração, o caldo de fermentação é colocado em contato com um solvente e os compostos solúveis no solvente, como o etanol, são seletivamente extraídos. O contato pode ser direto, por meio de um dispositivo de mistura, ou indireto, combinado com um processo de separação por membrana, também conhecido como "perstração". Para reutilizar o solvente, os compostos absorvidos devem ser removidos em uma unidade de regeneração (Vane, 2008).

Diversos solventes foram testados por pesquisadores para a recuperação do etanol e o grande desafio tem sido o de encontrar um solvente adequado. As características importantes para um solvente apropriado são alto coeficiente de partição e seletividade ao etanol e não ser tóxico à levedura (Vane, 2008).

### 2.10.4. Arraste Gasoso (*Stripping*)

O *stripping* é um processo físico no qual os contaminantes voláteis presentes numa solução líquida são transferidos para uma corrente gasosa, ou seja, a solução líquida contaminada é colocada em contato com uma corrente de um gás insolúvel que remove grande parte dos contaminantes voláteis existentes, devido à volatilidade dos mesmos (SILVA, 2014). Vários tipos de gases podem ser utilizados no arraste gasoso, dependendo das condições do reator e da miscibilidade do componente que se deseja recuperar (Mulholland e Sheppard, 1987).

A fermentação extrativa por arraste gasoso é bastante atraente para produção em larga escala, devido à relativa simplicidade e à possibilidade de utilizar o dióxido de carbono

produzido na fermentação como gás de arraste para a remoção de etanol. Além disso, o arraste gasoso não remove os nutrientes do caldo e não prejudica as células (Park e Geng, 1992). De acordo com Sonego (2016), para cada 1 L de etanol produzido são gerados cerca de 425 L de CO<sub>2</sub>. Atualmente, o CO<sub>2</sub> gerado nas dornas de fermentação é descartado sem ser utilizado pelas destilarias. Assim, as usinas possuem à disposição um grande volume de dióxido de carbono para ser empregado como gás de arraste durante a fermentação.

A transferência de massa do etanol da fase líquida para a fase gasosa (dióxido de carbono) pode ser explicada de acordo com a teoria dos dois filmes, formulada por Lewis e Whitman (1924). A bolha de CO<sub>2</sub> encontra-se coberta por uma película estagnada de líquido. A resistência à transferência de massa é proporcional à espessura dessa película. O aumento da vazão do gás de arraste proporciona uma maior turbulência e, conseqüentemente, uma redução na espessura da película estagnada. Dessa forma, a resistência à transferência de massa diminui fazendo com que a velocidade de transferência de massa seja aumentada, ou seja, uma vez que a vazão de gás é aumentada, a remoção de etanol é aumentada proporcionalmente. Portanto, a vazão do gás de arraste é considerada uma variável de extrema importância no processo.

Sonego (2016) estudou a influência da vazão de CO<sub>2</sub> para recuperação de etanol por arraste gasoso. O autor verificou que valores elevados de vazão específica de CO<sub>2</sub> favorecem o arraste de água juntamente com o etanol, o que por sua vez tem um impacto negativo, pois resultam em uma corrente diluída na saída do reator.

O arraste gasoso também promove a remoção de energia do processo, visto que durante a operação de *stripping* ocorre a vaporização dos componentes voláteis que são removidos pela corrente gasosa. A vaporização ocorre quando certa fração de moléculas da superfície adquire a energia mínima necessária para vencer as forças intermoleculares, escapando do líquido. No processo de vaporização, quando as moléculas adquirem energia e escapam do líquido para fase vapor, a tendência é que a temperatura do meio diminua, pois as moléculas de maior energia deixam o líquido e ficam apenas as de menor energia (SILVA, 2014).

## **2.11. Estudos Relacionados com a Fermentação Extrativa por Arraste Gasoso**

Diversos estudos sobre fermentação extrativa com arraste gasoso (*stripping*) são encontrados na literatura. Nos parágrafos seguintes são citados alguns destes.

Sato et al. (1988) estudaram um sistema de fermentação em estado sólido utilizando farelo de milho. A levedura termotolerante *S. cerevisiae* (1031R) foi utilizada durante as fermentações alcoólicas. O etanol foi produzido e simultaneamente removido por arraste por

CO<sub>2</sub> no decorrer da fermentação conduzida a uma temperatura de 40 °C. A eficiência de fermentação foi de 87%, sendo duas vezes maior que a da fermentação convencional e a recuperação total do etanol produzido foi de 96%.

Pham et al. (1989) desenvolveram um processo de fermentação extrativa acoplada a uma coluna de retificação e reciclo de células de levedura. Dióxido de carbono foi injetado no caldo fermentativo para realizar o arraste do etanol. Com o emprego da vazão de CO<sub>2</sub> de 4 L.min<sup>-1</sup> foi possível eliminar a inibição pelo etanol e alcançar uma produtividade de 13.2 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> com consumo de glicose de até 292 g.L<sup>-1</sup>.

Taylor et al. (1995) avaliaram o arraste do etanol por CO<sub>2</sub> durante a fermentação contínua em um biorreator de 2 L. O sistema foi operado por 150 dias sem contaminação sendo alcançadas conversões de 100, 95 e 90% para alimentações de glicose de 200, 400 e 600 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em outro trabalho, Taylor et al. (2010) estudaram a fermentação extrativa por arraste gasoso com CO<sub>2</sub> em um fermentador contínuo de 70 L alimentado com xarope de milho hidrolisado. O sistema foi operado por 60 dias, alcançando uma conversão de 95% do amido e resultando em 88% de eficiência em etanol.

Sonego et al. (2014) estudaram a fermentação extrativa com arraste por dióxido de carbono em biorreator tipo coluna de bolhas. A fermentação foi conduzida à temperatura de 34,0 °C e vazão específica de CO<sub>2</sub> de 2,0 vvm. O experimento em que o *stripping* foi iniciado após 3 h de fermentação quando a concentração inicial de etanol no caldo era de 43,3 g.L<sup>-1</sup>, resultou em um aumento de produtividade em etanol (em g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) de até 25% em relação ao sistema convencional sem remoção de etanol. Além disso, o substrato foi completamente consumido 2 h antes quando comparado com a fermentação convencional.

Silva et al.(2015) estudaram o *stripping* em vinho delevedurado em escala de bancada e planta piloto. Os experimentos foram realizados sem controle de temperatura, com tempo de operação de 6 h, variando-se a vazão específica de CO<sub>2</sub> e a temperatura inicial da solução. Nos experimentos realizados em escala de bancada, o sistema alcançou um fator de redução de temperatura ( $F_T$ ) de 27,5% em um processo com temperatura inicial de solução de 60 °C e vazão específica de alimentação de CO<sub>2</sub> de 0,5 vvm. Na planta piloto, o valor máximo de  $F_T$  obtido foi de 31,4 % nos experimentos com temperatura inicial de solução de 65 °C e vazão específica de alimentação de CO<sub>2</sub> de 0,3 vvm. De acordo com os autores, a redução da temperatura do meio foi ocasionada pela mudança de fase do etanol (da fase líquida para a fase vapor) durante o arraste na corrente de CO<sub>2</sub>.

A operação de arraste gasoso na fermentação alcoólica mostra-se como uma alternativa promissora para contornar efeito da inibição pelo etanol na levedura e para a redução de

temperatura do processo fermentativo, tornando-se uma técnica de interesse para as usinas, pois o controle de temperatura nas dornas de fermentação é um grande desafio em regiões de clima tropical como o Brasil, sendo necessários grandes volumes de água, além de altos gastos com insumos nos sistemas de resfriamento.

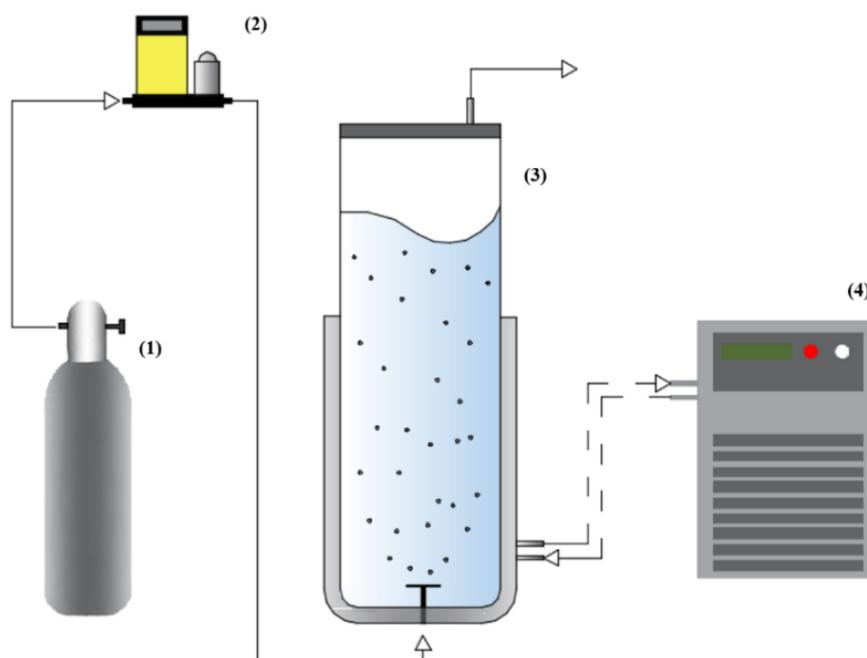
### 3. MATERIAIS E METODOLOGIAS

#### 3.1. Arraste Gasoso

##### 3.1.1. Metodologia Experimental

Os experimentos foram conduzidos em biorreator pneumático coluna de bolhas com volume útil de 10 L (49,5 cm de altura líquida, 75,0 cm de altura total e 16,0 cm de diâmetro interno). A Figura 3.1 ilustra o esquema do aparato experimental utilizado. Soluções de etanol com concentração inicial de  $80 \text{ g.L}^{-1}$  foram utilizadas como fase líquida, variando a vazão específica do gás de arraste (0,5 e 1 vvm). O gás de arraste utilizado foi dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) comercial armazenado em cilindro (25 kg e 60 atm quando cheio). Foi utilizado um fluxômetro de massa AALBORG, modelo GFC 37, para controlar a vazão de gás. A temperatura da solução foi monitorada com um termômetro digital e mantida a  $34 \text{ }^\circ\text{C}$  com a recirculação da água de um banho termostático passando pela camisa do biorreator. Os experimentos foram realizados até a obtenção de concentração de etanol na fase líquida de  $40 \text{ g.L}^{-1}$ . Amostras foram coletadas a cada 1 hora e o volume da fase líquida (V) foi verificado a fim de se determinar a concentração ( $C_E$ ) e a massa ( $m_E$ ) de etanol ao longo do tempo.

Figura 3.1 – Esquema do aparato experimental. 1) cilindro de  $\text{CO}_2$ , 2) fluxômetro de massa, 3) biorreator coluna de bolhas e 4) banho termostático



Fonte: acervo da autora.

### 3.1.2 Modelagem da remoção de etanol e água por arraste gasoso

O modelo utilizado nesse estudo para descrever o processo de arraste gasoso foi proposto por Rodrigues et al. (2018), considerando as remoções de etanol, água e a variação de volume ao longo do tempo. O modelo é representado pelos balanços de massa para etanol (E), água (W) e total descritos pelas equações que seguem:

$$\frac{dC_E}{dt} = -\left(k_E + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt}\right) \cdot C_E \quad (3.1)$$

$$\frac{dC_W}{dt} = -\left(k_W + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt}\right) \cdot C_W = -\left(k_W + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt}\right) \cdot (\rho_S - C_E) \quad (3.2)$$

$$\frac{dV}{dt} = \frac{-(k_E C_E + k_W C_W) \cdot V}{\rho_S} \quad (3.3)$$

onde  $C_E$  é a concentração de etanol na solução ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $k_E$  é constante de velocidade de remoção de etanol ( $\text{h}^{-1}$ ),  $C_W$  é a concentração de água na solução ( $\text{g.L}^{-1}$ ),  $k_W$  é constante da velocidade de remoção de água ( $\text{h}^{-1}$ ),  $\rho_S$  é a densidade da solução ( $\text{g.L}^{-1}$ ) e  $V$  é o volume da fase líquida (L).

## 3.2 Fermentação Alcoólica

### 3.2.1 Microrganismo e Meio de Cultivo

Levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann®) na forma liofilizada foi o microrganismo utilizado na fermentação.

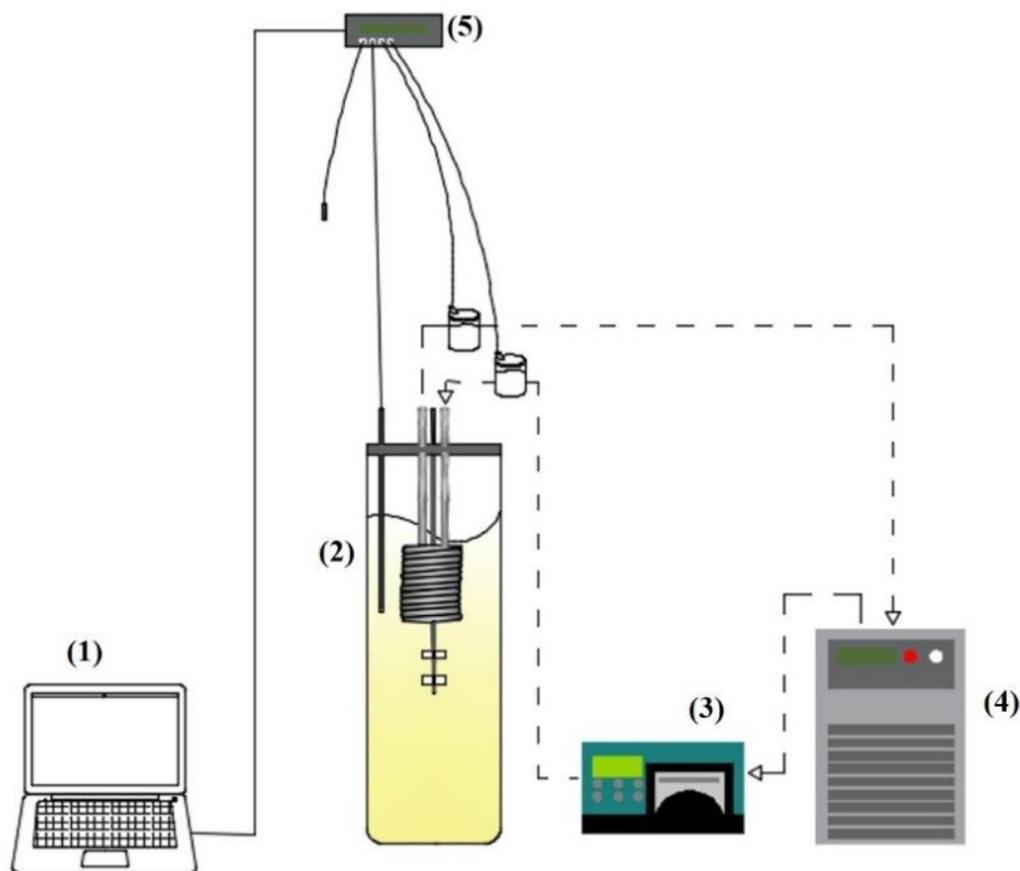
O meio de cultivo simulou o melaço da cana-de-açúcar diluído empregado nas destilarias brasileiras, apresentando a seguinte composição em ( $\text{g.L}^{-1}$ ): sacarose (180,0),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (5,6),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1,4), extrato de levedura (6,8) e ureia (5,32). O pH do meio de cultivo foi ajustado para 4,6 com a adição de solução de HCl 5 M.

### 3.2.2. Procedimento Experimental

*S. cerevisiae* foi inoculada na forma seca com concentração inicial de  $18 \text{ g.L}^{-1}$  de células viáveis. Um tempo de 20 min foi adotado para a ambientação da levedura antes da retirada da primeira amostra. Antiespumante comercial (Qualifoam, diluído 1:10) foi adicionado no início

do cultivo para impedir a formação excessiva de espuma. A frequência de agitação do eixo do agitador foi mantida em 200 rpm e a temperatura em aproximadamente 34 °C através da recirculação de água de resfriamento a 30 °C pela serpentina. O controle da vazão água de resfriamento foi realizado de forma manual com o auxílio de uma bomba peristáltica. Amostras de 30 mL foram retiradas a cada 1 hora para posterior análise. A temperatura do caldo, das correntes de entrada e saída de água da serpentina e do ambiente foram monitoradas por sensores conectados a microcontrolador (Arduino). Os sensores (DS18B20) foram previamente calibrados em bloco de calibração (DB – 35L, Techne). A Figura 3.2 ilustra o aparato experimental utilizado.

Figura 3.2 –Aparato experimental utilizado na fermentação convencional: (1) aquisição de dados, (2) biorreator, (3) bomba peristáltica, (4) banho termostático e (5) microcontrolador.



Fonte: acervo da autora.

### 3.2.3. Métodos Analíticos

A concentração celular ( $C_x$ ), em base de massa seca, foi obtida através da centrifugação das amostras a 9500 rpm e 4°C por 10 min. O corpo de fundo foi lavado com água destilada e

seco em estufa a 80°C por 24 h.

A contagem de células viáveis foi realizada em câmara de Neubauer utilizando um microscópio óptico (Olympus, BX50F-3), empregando o método de coloração com azul de metileno (Lee, Robinson e Wang, 1981).

As concentrações de sacarose, glicose, frutose e etanol ( $C_E$ ) foram determinadas por HPLC (Waters, USA), equipado com detector de índice de refração e coluna Sugar-Pak I (300 x 6,5 mm, 10  $\mu$ m, Waters) operada a 80 °C. Água ultrapura foi utilizada como eluente a uma vazão de 0,5 mL. min<sup>-1</sup>. Soluções de sacarose, glicose, frutose e etanol em concentrações entre 0,1 e 8,0 g. L<sup>-1</sup> foram utilizadas como padrões.

A concentração de substrato limitante ( $C_S$ ) foi considerada como sendo a concentração de açúcares redutores totais (ART) obtida como a soma das concentrações de glicose, frutose e a de sacarose multiplicada pelo fator de hidrólise (360 g<sub>ART</sub>/342 g<sub>Sacarose</sub>).

### 3.2.4 Modelagem Matemática da Fermentação em Batelada Convencional

O modelo matemático proposto para fermentação em batelada convencional considerou os balanços de massa e de energia no sistema.

#### *Balanço de Massa*

O modelo assumiu a geração do etanol associada ao crescimento celular e desprezou variações no volume e na densidade do caldo. O modelo é composto pelos balanços de massa para células (X), substrato (S) e etanol (E), descritos pelas Equações 3.4, 3.5 e 3.6.

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu \cdot C_X \quad (3.4)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X \quad (3.5)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X \quad (3.6)$$

onde  $C_X$  é a concentração celular (g.L<sup>-1</sup>),  $C_S$  é a concentração de substrato limitante (g.L<sup>-1</sup>),  $C_E$  é a concentração de etanol (g.L<sup>-1</sup>),  $Y_{X/S}$  é o coeficiente de rendimento de substrato a células (g<sub>X</sub>.g<sub>S</sub><sup>-1</sup>),  $Y_{E/S}$  é o coeficiente de rendimento de substrato a etanol (g<sub>E</sub>.g<sub>S</sub><sup>-1</sup>) e  $\mu$  é a velocidade

específica de crescimento celular ( $h^{-1}$ ).

O modelo cinético híbrido de Andrews–Levenspiel (Andrews, 1968; Levenspiel, 1980) com inibição pelo produto e pelo substrato representou a velocidade específica de crescimento celular ( $\mu$ ).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_S}{\left( K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}} \right)} \cdot \left( 1 - \frac{C_E}{C_{E_{\max}}} \right)^n \quad (3.7)$$

onde  $\mu_{\max}$  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 cessa o crescimento celular ( $g.L^{-1}$ ) e a produção de etanol e  $n$  é constante adimensional.

Os coeficientes de rendimento de células e etanol,  $Y_{X/S}$  e  $Y_{E/S}$ , foram obtidos pelas seguintes equações:

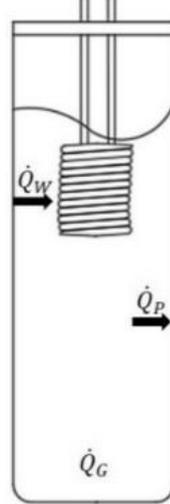
$$Y_{X/S} = \frac{C_X - C_{X_0}}{C_{S_0} - C_S} \quad (3.8)$$

$$Y_{E/S} = \frac{C_E - C_{E_0}}{C_{S_0} - C_S} \quad (3.9)$$

### *Balanço de Energia*

A modelagem considerou a taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) devido ao crescimento celular da *S. cerevisiae*, a taxa de perda de calor por convecção pela parede do reator ( $\dot{Q}_P$ ) e a taxa de remoção de calor pela água de resfriamento ( $\dot{Q}_W$ ). A Figura 3.3 ilustra os fluxos de energia presentes no processo.

Figura 3.3 – Termos de geração e transferência de calor na dorna de fermentação alcoólica convencional.



Fonte: acervo da autora.

O balanço de energia em regime permanente considerando a fase líquida como volume de controle é representado pela Equação 3.10.

$$\dot{Q}_G = \dot{Q}_P + \dot{Q}_W \quad (3.10)$$

A taxa de perda de calor pela parede ( $\dot{Q}_P$ ) e a taxa de remoção de calor pela água da serpentina ( $\dot{Q}_W = \Delta\dot{H}_W$ ), são obtidos, respectivamente, pelas Equações 3.11 e 3.12.

$$\dot{Q}_P = U \cdot A \cdot (T - T_{\text{amb}}) \quad (3.11)$$

$$\Delta\dot{H}_W = \left( \frac{\dot{V}_W \cdot \rho_W}{MM_W} \right) \cdot C_{P,W} \cdot (T_{W,s} - T_{W,e}) \quad (3.12)$$

onde  $U$  é o coeficiente global de troca térmica ( $\text{J}/(\text{h} \cdot ^\circ\text{C} \cdot \text{m}^2)$ ),  $A$  é a área de troca térmica ( $\text{m}^2$ ),  $T$  é a temperatura do caldo ( $^\circ\text{C}$ ),  $T_{\text{amb}}$  é a temperatura ambiente ( $^\circ\text{C}$ ),  $T_{W,e}$  a temperatura da água na entrada da serpentina ( $^\circ\text{C}$ ),  $T_{W,s}$  é a temperatura da água na saída da serpentina ( $^\circ\text{C}$ ),  $\dot{V}_W$  é a vazão da água na serpentina ( $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ),  $C_{P,W}$  é a capacidade calorífica da água à pressão constante ( $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ ),  $\rho_W$  é a densidade da água ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e  $MM_W$  é a massa molar da água ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

Substituindo as Equações 3.11 e 3.12 na Equação 3.10, tem-se:

$$\dot{Q}_G = U \cdot A \cdot (T - T_{\text{amb}}) + \left( \frac{\dot{V}_W \cdot \rho_W}{MM_W} \right) \cdot C_{P,W} \cdot (T_{W,s} - T_{W,e}) \quad (3.13)$$

A área de transferência de calor ( $A$ ) foi de  $0,357 \text{ m}^2$ , a temperatura ambiente ( $T_{\text{amb}}$ ) variou entre  $22$  e  $24 \text{ }^\circ\text{C}$ , a temperatura de entrada da água na serpentina ( $T_{W,e}$ ) foi de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . O coeficiente global de transferência de calor ( $U$ ) foi determinado experimentalmente.

A taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) determinada experimentalmente a partir do balanço de energia foi comparada a geração de calor teórica, Equação 3.14, proposta por Shuler e Kargi (2002):

$$\dot{Q}_{G,T} = \frac{\mu \cdot C_X \cdot V}{Y_H} \quad (3.14)$$

onde ( $\dot{Q}_{G,T}$ ) taxa de geração de calor na fermentação ( $\text{J}\cdot\text{h}^{-1}$ ) e  $1/Y_H$  é o calor metabólico produzido pelo crescimento celular ( $\text{J}\cdot\text{g}_x^{-1}$ ).

O valor de  $Y_H$  utilizado nos cálculos considerando a glicose como substrato foi de  $0,099 \text{ g}_x\cdot\text{J}^{-1}$ .

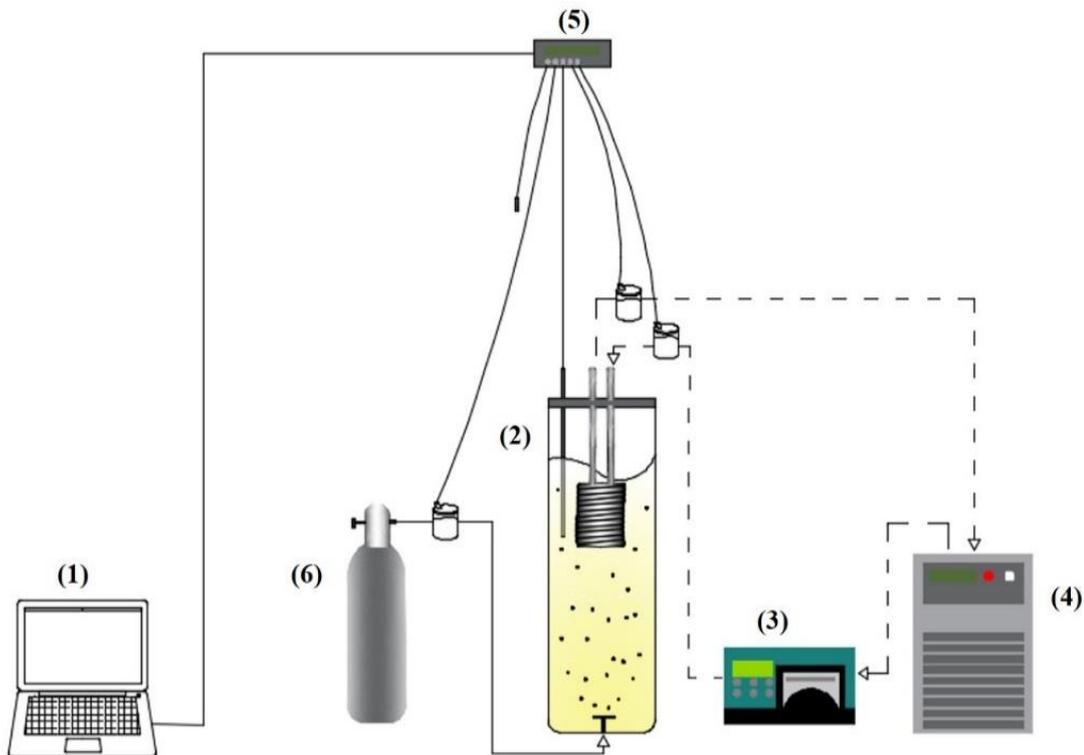
### 3.2.5. Determinação dos Parâmetros Cinéticos

Os parâmetros cinéticos para o modelo de remoção de etanol e água ( $k_E$  e  $k_W$ ) e do modelo de inibição híbrida para a fermentação ( $\mu_{\text{max}}$ ,  $K_S$ ,  $K_{IS}$ ,  $C_{E\text{max}}$  e  $n$ ) foram estimados utilizando o método de regressão não-linear de Nelder e Mead (1965), juntamente com o algoritmo de Runge-Kutta para solução numérica das equações diferenciais. O critério utilizado para a melhor otimização e ajuste de parâmetros foi a minimização da soma dos quadrados dos resíduos. O software Scilab 5.4.1 foi utilizado na implementação do algoritmo.

### 3.2.6 Fermentação Alcoólica Extrativa por Arraste Gasoso

A Figura 3.4 ilustra o esquema experimental para a fermentação com arraste gasoso. O  $\text{CO}_2$  foi injetado como gás de arraste através de um aspersor instalado na base do biorreator coluna de bolhas, com vazões específicas ( $\Phi_{\text{CO}_2}$ ) de  $0,5$  e  $1,0 \text{ vvm}$ .

Figura 3.4 –Aparato experimental utilizado na fermentação extrativa com arraste gasoso: (1) aquisição de dados, (2) biorreator, (3) bomba peristáltica, (4) banho termostático, (5) Arduino e (6) cilindro de CO<sub>2</sub>.



Fonte: acervo da autora.

### 3.2.6.1. Modelagem Matemática da Fermentação Alcoólica Extrativa com Arraste Gasoso

#### *Balanco de Massa*

Considerando as remoções de etanol e água pelo arraste por CO<sub>2</sub> e a variação de volume do caldo, a modelagem da fermentação alcoólica extrativa é descrita pelas Equações 3.15 a 3.18, derivadas do balanço de massa total e dos balanços de massa para células (X), substrato (S) e etanol (E).

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu \cdot C_X - C_X \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} \quad (3.15)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X - C_S \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} \quad (3.16)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X - C_E \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} - k_E \cdot C_E \quad (3.17)$$

$$\frac{dV}{dt} = \frac{-(k_E \cdot C_E + k_W \cdot (\rho_W - C_E)) \cdot V}{\rho_W} \quad (3.18)$$

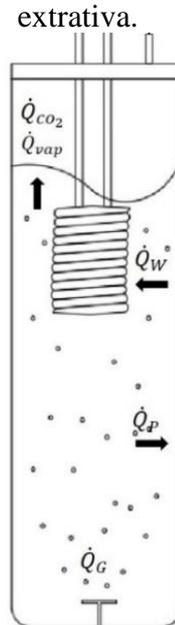
onde  $V$  é o volume do caldo (L) e  $\rho_w$  é a densidade da água ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

*Balço de Energia*

Este modelo considera as remoções de etanol e água da fase líquida pela corrente de  $\text{CO}_2$  devido à vaporização de ambos, conforme Figura 3.5. O balanço de energia considerando a fase líquida como volume de controle é representado por:

$$\dot{Q}_G = \dot{Q}_P + \dot{Q}_W + \dot{Q}_{\text{CO}_2} + \dot{Q}_{\text{VAP}} \quad (3.19)$$

Figura 3.5 – Termos de geração e transferência de calor na dorna de fermentação alcoólica extrativa.



Fonte: acervo da autora.

A taxa de remoção de calor devido à vaporização de etanol e água ( $\dot{Q}_{vap} = \Delta\hat{H}_{vap}$ ) é representada pela seguinte equação:

$$\Delta\dot{H}_{vap} = \frac{k_E \cdot C_E \cdot V}{MM_E} \cdot \Delta\hat{H}_{vap,E} + \frac{k_W \cdot (\rho_w - C_E) \cdot V}{MM_W} \cdot \Delta\hat{H}_{vap,W} + \left( \frac{k_E \cdot C_E \cdot V}{MM_E} + \frac{k_W \cdot (\rho_w - C_E) \cdot V}{MM_W} \right) \cdot \Delta\hat{H}_{Mist} \quad (3.20)$$

onde  $MM_E$  é a massa molar do etanol ( $\text{g.mol}^{-1}$ ),  $MM_W$  a massa molar da água ( $\text{g.mol}^{-1}$ ),  $\Delta\hat{H}_{vap,E}$  é a entalpia específica de vaporização do etanol ( $\text{J.mol}^{-1}$ ),  $\Delta\hat{H}_{vap,W}$  é a entalpia específica de vaporização da água ( $\text{J.mol}^{-1}$ ) e  $\Delta\hat{H}_{Mist}$  é a entalpia específica da mistura ( $\text{J.mol}^{-1}$ ).

A entalpia da mistura ( $\Delta\hat{H}_{Mist}$ ) foi calculada conforme equação proposta por Boyne e Williamson (1967).

$$\Delta\hat{H}_{Mist} \text{ (J. mol}^{-1}\text{)} = x_E \cdot (1 - x_E) \cdot [1580 + 1785 \cdot (1 - 2x_E) + 3487 \cdot (1 - 2x_E)^2 + 3187 \cdot (1 - 2x_E)^3 + 1957 \cdot (1 - 2x_E)^4] \quad (3.21)$$

onde  $x_E$  é a fração molar de etanol na fase líquida.

A Equação 3.22 representa a taxa de remoção de calor devido à variação de entalpia da vazão de  $\text{CO}_2$  no sistema ( $\dot{Q}_{\text{CO}_2} = \Delta\dot{H}_{\text{CO}_2}$ )

$$\Delta\dot{H}_{\text{CO}_2} = \dot{n}_{\text{CO}_2} \cdot C_{P,\text{CO}_2} \cdot (T_{\text{CO}_2,s} - T_{\text{CO}_2,e}) \quad (3.22)$$

onde  $\dot{n}_{\text{CO}_2}$  é a vazão molar de dióxido de carbono ( $\text{mol.h}^{-1}$ ),  $C_{P,\text{CO}_2}$  é a capacidade calorífica do dióxido de carbono à pressão constante ( $\text{J.mol}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ) e  $T_{\text{CO}_2,e}$  é a temperatura do dióxido de carbono na entrada ( $\text{°C}$ ) e  $T_{\text{CO}_2,s}$  é a temperatura do dióxido de carbono na saída ( $\text{°C}$ )

Substituindo as Equações 3.20 e 3.22 na Equação 3.19, resulta na equação que segue, a partir da qual pode-se calcular a taxa de geração de calor na fermentação alcoólica extrativa por balanço de energia (em  $\text{J.h}^{-1}$ ):

$$\begin{aligned} \dot{Q}_G = & U \cdot A \cdot (T - T_{\text{amb}}) + \frac{\dot{V}_W \cdot \rho_W \cdot C_{P,W}}{MM_W} \cdot (T_{W,s} - T_{W,e}) + \frac{k_E \cdot C_E \cdot V}{MM_E} \cdot \Delta\hat{H}_{\text{vap,E}} + \frac{k_W \cdot (\rho_W - C_E) \cdot V}{MM_W} \cdot \Delta\hat{H}_{\text{vap,W}} \\ & + \left( \frac{k_E \cdot C_E \cdot V}{MM_E} + \frac{k_W \cdot (\rho_W - C_E) \cdot V}{MM_W} \right) \cdot \Delta\hat{H}_{\text{Mist}} + \dot{n}_{\text{CO}_2} \cdot C_{P,\text{CO}_2} \cdot (T_{\text{CO}_2,s} - T_{\text{CO}_2,e}) \end{aligned} \quad (3.23)$$

### 3.3. Determinação do Coeficiente Global de Transferência de Calor (U)

O coeficiente global de troca térmica (U) foi determinado experimentalmente através de ensaios de resfriamento do sistema, conforme proposto por Silva et al. (2015). Para tal, o biorreator coluna de bolhas foi preenchido com água a  $50 \text{ °C}$  e a diminuição da temperatura da água foi monitorada durante 6 h com termômetro digital. A partir de um balanço de energia foi obtida a Equação 3.24, cujo ajuste aos dados experimentais de temperatura da água ( $T_W$ ) versus tempo proporcionou a estimativa de U:

$$\frac{T_w - T_{amb}}{T_{w,0} - T_{amb}} = \exp\left(\frac{-U \cdot A \cdot t}{m_w \cdot C_{p,w}}\right) \quad (3.24)$$

onde  $T_w$  é a temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_{w,0}$  é a temperatura inicial da água,  $m_w$  é a massa de água (g) e  $t$  é o tempo (h).

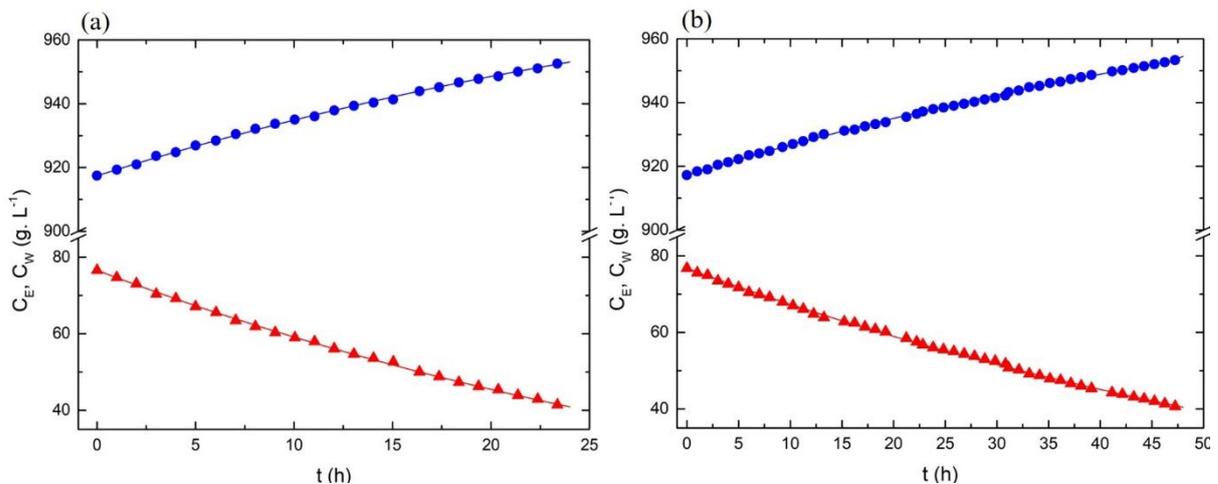
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Avaliação da Remoção de Etanol e Água por Arraste Gasoso com CO<sub>2</sub>

A Figura 4.1 ilustra as variações das concentrações de etanol ( $C_E$ ) e água ( $C_W$ ) ao longo do tempo nos experimentos de arraste gasoso em diferentes condições de vazão específica de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ). Pode-se verificar um decaimento na concentração de etanol ( $C_E$ ) e um ligeiro aumento na concentração de água ( $C_W$ ) ao longo do experimento, mostrando o arraste preferencial do etanol pelo CO<sub>2</sub>. Sonogo et al. (2014) obtiveram resultados similares ao estudar o arraste de etanol e água de solução hidroalcoólica por CO<sub>2</sub> em diferentes condições de volume inicial de solução e concentração inicial de etanol.

Figura 4.1 – Valores simulados (–) e experimentais de  $C_E$  (▲) e  $C_W$  (●) durante os experimentos de arraste por CO<sub>2</sub>, com vazões específicas de alimentação de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ):

(a) 1,0 vvm e (b) 0,5 vvm



Os valores das constantes de remoção de etanol ( $k_E$ ) e água ( $k_W$ ) foram obtidos a partir do ajuste do modelo proposto (Equações 3.1, 3.2 e 3.3) aos dados experimentais de concentrações de etanol ( $C_E$ ) e água ( $C_W$ ) e volume da fase líquida ( $V$ ). A densidade da solução ( $\rho_S$ ) foi considerada semelhante à da água devido à baixa concentração do etanol no intervalo estudado (40 – 80 g.L<sup>-1</sup>).

Os valores obtidos de  $k_E$  e  $k_W$  mostrados na Tabela 4.1 estão próximos à faixa presente na literatura. Sonogo et al. (2014) conduziram experimentos de arraste gasoso a 34 °C e 0,5 vvm de vazão específica de CO<sub>2</sub>, alcançando valores de  $k_E$  e  $k_W$  equivalentes a 0,024 e 0,0021 h<sup>-1</sup>, respectivamente. Rodrigues et al. (2018), em ensaios realizados a 32 °C e 1,0 vvm de vazão

específica de CO<sub>2</sub>, obtiveram valores de  $k_E$  e  $k_W$  iguais a 0,025 e 0,0029 h<sup>-1</sup>, respectivamente.

Analisando os resultados, observa-se que  $k_E$  e  $k_W$  aumentaram com a elevação da vazão específica de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ) dentro da faixa estudada. O aumento de  $\Phi_{CO_2}$  ocasionou maior fragmentação das bolhas de gás, proporcionando um maior número de bolhas e, conseqüentemente, um aumento da área interfacial específica de transferência de massa entre gás e líquido, promovendo maior remoção de etanol e água para a fase gasosa (Silva et al., 2015).

Tabela 4 1– Valores das constantes de remoção de etanol ( $k_E$ ) e água ( $k_W$ ) obtidos nos experimentos de arraste gasoso com CO<sub>2</sub>.

Experimento	$\Phi_{CO_2}$ (vvm)	$k_E$ (h <sup>-1</sup> )	$k_W$ (h <sup>-1</sup> )
E1	0,5	0,016±0,00150	0,0019±0,00010
E2	1,0	0,031±0,00069	0,0032±0,00017

## 4.2. Fermentação Convencional em Batelada

### 4.2.1 Ajuste do Modelo e Estimativa dos Parâmetros Cinéticos

Os coeficientes de rendimento de substrato a células e etanol,  $Y_{X/S}$  e  $Y_{E/S}$ , foram calculados pelas Equações 3.8 e 3.9, a partir dos dados experimentais de  $C_X$ ,  $C_S$  e  $C_E$ . Posteriormente, os parâmetros cinéticos do modelo híbrido de Andrews-Levenspiel ( $\mu_{max}$ ,  $K_S$ ,  $K_{IS}$ ,  $C_{Emax}$  e  $n$ ) foram estimados através da utilização do algoritmo de Nelder Mead, para realizar a otimização, e do método de Runge-Kutta, para solução numérica do conjunto de equações diferenciais (Equações 3.4, 3.5 e 3.6). Os parâmetros foram obtidos com base no melhor ajuste entre os valores calculados e experimentais de  $C_X$ ,  $C_S$  e  $C_E$ .

A Tabela 4.2 apresenta os valores estimados dos parâmetros da fermentação convencional em batelada, onde observa-se que os parâmetros estão próximos à faixa de valores encontrados na literatura (Ghose e Tyagi, 1979; Sonogo *et al.*, 2014; Veloso *et al.*, 2018).

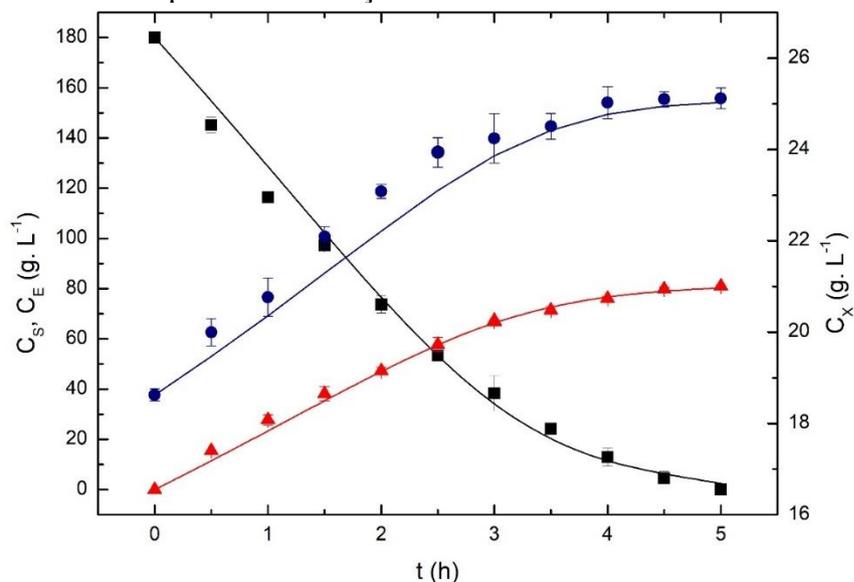
Com base na observação da Figura 4.2, a comparação entre os valores experimentais e simulados indica que o modelo apresentou um bom ajuste aos dados experimentais, mostrando que o modelo híbrido de Andrews-Levenspiel (inibição por substrato e produto) foi adequado para descrever o comportamento cinético da cultura em batelada convencional.

Tabela 4.2 – Valores estimados dos parâmetros cinéticos da fermentação convencional.

Parâmetro	Valor
$\mu_{\text{máx}}$ ( $\text{h}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$0,23 \pm 0,003$
$K_S$ ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$63,23 \pm 3,2$
$K_{IS}$ ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$171,9 \pm 8,4$
$C_{E\text{max}}$ ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$90,6 \pm 4,1$
$n$ <sup>a</sup>	$0,34 \pm 0,01$
$Y_{X/S}$ ( $\text{g}_X\cdot\text{g}_S^{-1}$ )	$0,036 \pm 0,0004$
$Y_{E/S}$ ( $\text{g}_E\cdot\text{g}_S^{-1}$ )	$0,455 \pm 0,0001$

<sup>a</sup> intervalo de confiança de 95%

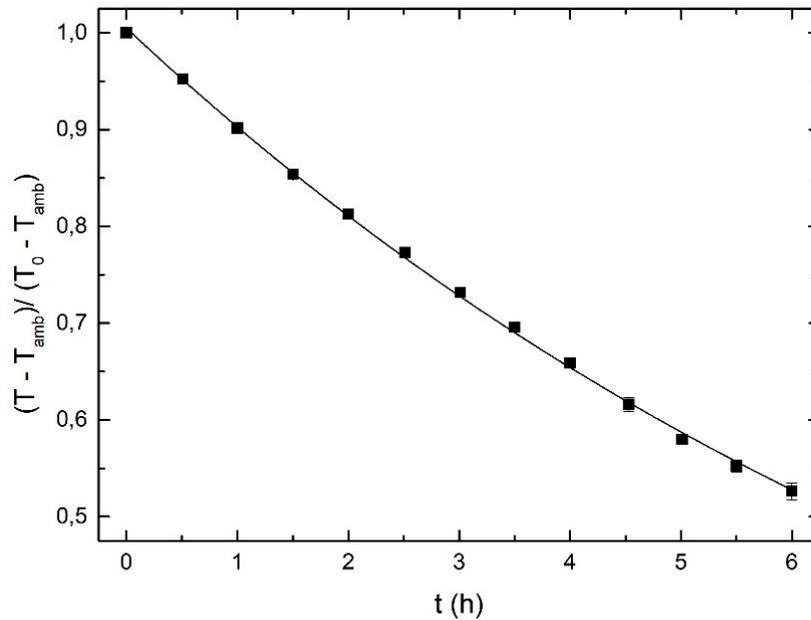
Figura 4.2 – Valores simulados (–) e experimentais de  $C_X$  (●),  $C_S$  (■) e  $C_E$  (▲) ao longo do tempo da fermentação convencional em batelada



#### 4.2.2 Avaliação do Coeficiente Global de Transferência de Calor

O coeficiente global de transferência de calor ( $U$ ) foi obtido a partir do ajuste da Equação 3.24 aos dados experimentais utilizando-se o *software* Origin<sup>®</sup>. A Figura 4.3 apresenta o decaimento do termo  $(T-T_{\text{amb}})/(T_0-T_{\text{amb}})$  ao longo do tempo, onde pode-se observar o excelente ajuste obtido.

Figura 4.3 – Ajuste da Equação 24 aos valores experimentais de  $(T - T_{amb}) / (T_0 - T_{amb})$  em função do tempo de resfriamento para a determinação do coeficiente global de transferência de calor (U).



O valor determinado para o coeficiente de transferência de calor foi de  $3,62 \pm 0,10$  W/(m<sup>2</sup>.°C), próximo de valores reportados na literatura. Silva et al. (2015) avaliaram o decaimento da temperatura ao longo do tempo em biorreator coluna de bolhas na escala de bancada e planta piloto, obtendo valores de U entre 3,30 e 4,23 W/(m<sup>2</sup>.°C), respectivamente.

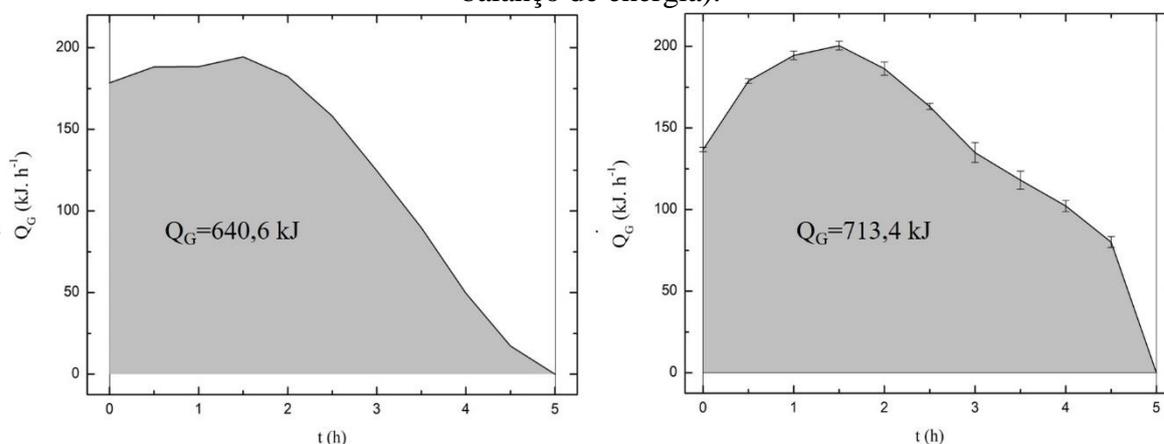
#### 4.2.3. Avaliação da Transferência de Calor

Como já mencionado, a fermentação alcoólica é uma reação exotérmica, pois a energia química (ATP) para o crescimento da levedura *S. cerevisiae* é obtida da conversão da glicose a etanol e CO<sub>2</sub> por uma série de reações de oxirredução e acompanhada por uma geração de calor. A Figura 4.4 ilustra a comparação entre os valores de taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) calculados a partir das Equações 3.13 e 3.14, apresentadas anteriormente.

$$\dot{Q}_G = U \cdot A \cdot (T - T_{amb}) + \dot{V}_w \cdot \rho_w \cdot C_{p,w} \cdot (T_{w,s} - T_{w,e}) \quad (3.13)$$

$$\dot{Q}_{G,T} = \frac{\mu \cdot C_X \cdot V}{Y_H} \quad (3.14)$$

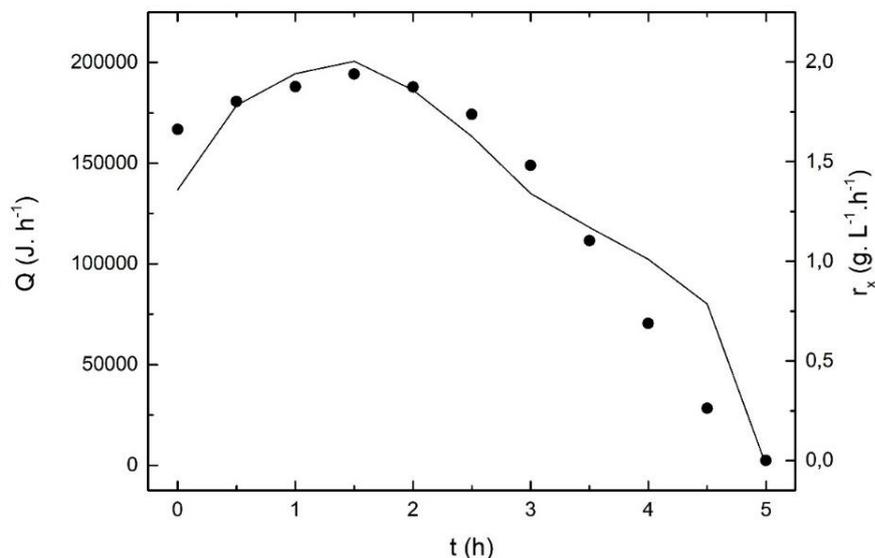
Figura 4.4 – Comparação entre os valores de taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ): (a) valores teóricos (Equação 3.14 – Shuler e Kargi, 2002) e (b) valores experimentais (Equação 3.13 - balanço de energia).



Através do cálculo da área sob a curva de  $\dot{Q}_G$  em função do tempo ( $t$ ) foi possível obter os valores do calor total gerado ( $Q_G$ ) pelo crescimento celular durante a fermentação alcoólica convencional. Os valores teórico e experimental foram, respectivamente, de 640,6 kJ e 713,4 kJ. Pode-se verificar uma boa concordância entre os valores obtidos experimentalmente e através da equação proposta por Shuler e Kargi (2002), com diferença de 10,2% entre eles, indicando que as considerações propostas no balanço de energia foram adequadas para descrever o comportamento energético do processo fermentativo.

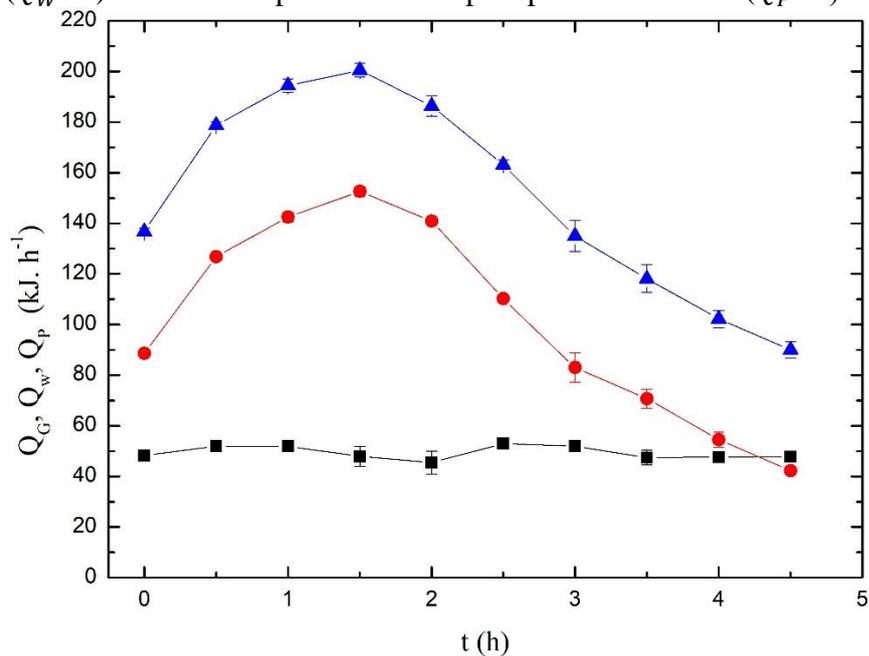
A Figura 4.5 ilustra os perfis de evolução do calor gerado ao longo do experimento ( $\dot{Q}_G$  em J.h<sup>-1</sup>) e a velocidade de crescimento da levedura *S. cerevisiae* ( $r_X$  em g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Pode-se observar que os valores de  $\dot{Q}_G$  obtidos a partir de medidas experimentais e do balanço de energia refletem o processo de crescimento celular, apresentando um valor máximo após 1,5 h de fermentação, ou seja, na fase de crescimento exponencial da levedura. A partir de 3,5 h de fermentação, os valores de taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) e da velocidade de crescimento celular ( $r_X$ ) apresentaram um pequeno distanciamento. A diferença de comportamento pode ser devido à rápida redução na liberação de calor a partir do momento em que o cultivo alcançou a fase estacionária. Esta redução em um período de tempo relativamente curto comprometeu a quantificação exata dos valores de calor liberado até o final do experimento.

Figura 4.5 – Variação da taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ : —) e da velocidade de crescimento celular ( $r_x$ : ●) ao longo da fermentação alcoólica convencional.



A Figura 4.6 ilustra os termos de calor quantificados experimentalmente a partir do balanço de energia. Os resultados mostram que a taxa de remoção de calor pela água de resfriamento ( $\dot{Q}_W$ ) é mais significativa que a taxa de perda de calor pela parede do reator ( $\dot{Q}_P$ ). O termo ( $\dot{Q}_W$ ) representa em média 67 % do valor total de calor gerado pelo crescimento da levedura ( $\dot{Q}_G$ ).

Figura 4.6 – Variação ao longo da fermentação alcoólica convencional da taxa de geração de calor pelo crescimento celular ( $\dot{Q}_G$ : ▲), da taxa de remoção de calor pela água de resfriamento ( $\dot{Q}_W$ : ●) e da taxa de perda de calor pela parede do reator ( $\dot{Q}_P$ : ■).



### 4.3 Fermentação Alcoólica Extrativa em Batelada com Arraste Gasoso

#### 4.3.1 Avaliação da Transferência de Massa

Os parâmetros cinéticos do modelo de remoção de etanol e água (Tabela 4.1) e do modelo híbrido de inibição da fermentação alcoólica convencional (Tabela 4.2) foram utilizados em conjunto com o modelo matemático para fermentação alcoólica extrativa (Equações 3.15 a 3.18) para avaliar o efeito da remoção de etanol por  $\text{CO}_2$  na fermentação em batelada. Nas Figuras 4.7 e 4.8 é possível observar as comparações entre os valores simulados e experimentais das fermentações extrativas conduzidas com vazões específicas de  $\text{CO}_2$  ( $\Phi_{\text{CO}_2}$ ) de 0,5 e 1,0 vvm. Verifica-se que o modelo proposto foi capaz de descrever com precisão o comportamento da fermentação extrativa.

A velocidade de consumo de substrato ( $r_s = -dC_s/dt$ ) foi superior nas fermentações extrativas, dessa forma, o completo consumo de substrato nas fermentações conduzidas com  $\Phi_{\text{CO}_2}$  de 0,5 e 1,0 vvm foi observado após 4,5 e 4,0 h, respectivamente, enquanto que na fermentação convencional o consumo total de substrato foi observado após 5 h. Os menores tempos foram resultados da retirada de etanol do caldo ao longo das fermentações, minimizando o efeito da inibição pelo etanol sobre a levedura. Sonogo et al. (2014) avaliaram a fermentação extrativa com arraste gasoso aplicando uma vazão específica de  $\text{CO}_2$  de 2,0 vvm, com tempo total de fermentação reduzido em até 2 h.

Figura 4.7 – Comparação entre os valores simulados (—) e experimentais de  $C_X$  (●),  $C_S$  (■) e  $C_E$  (▲) obtidos na fermentação extrativa com  $\Phi_{\text{CO}_2} = 0,5$  vvm.

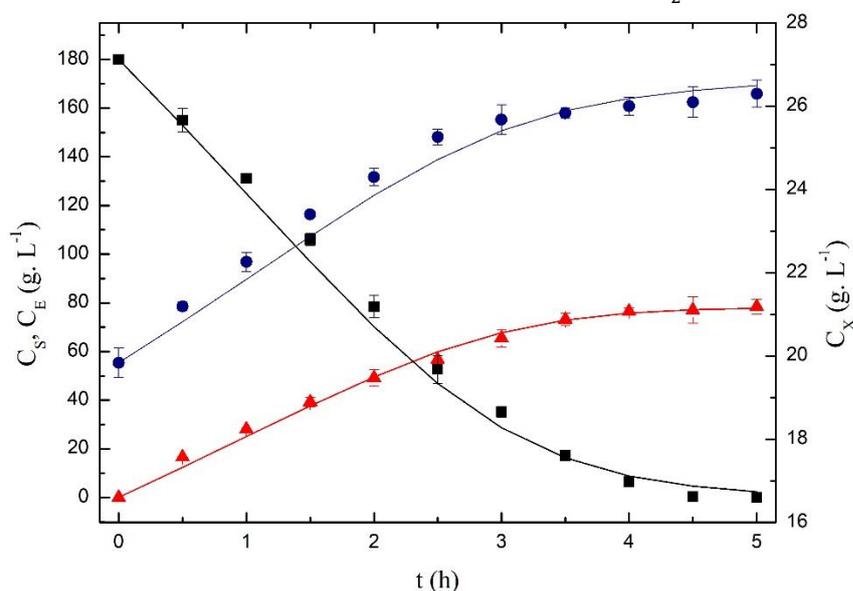
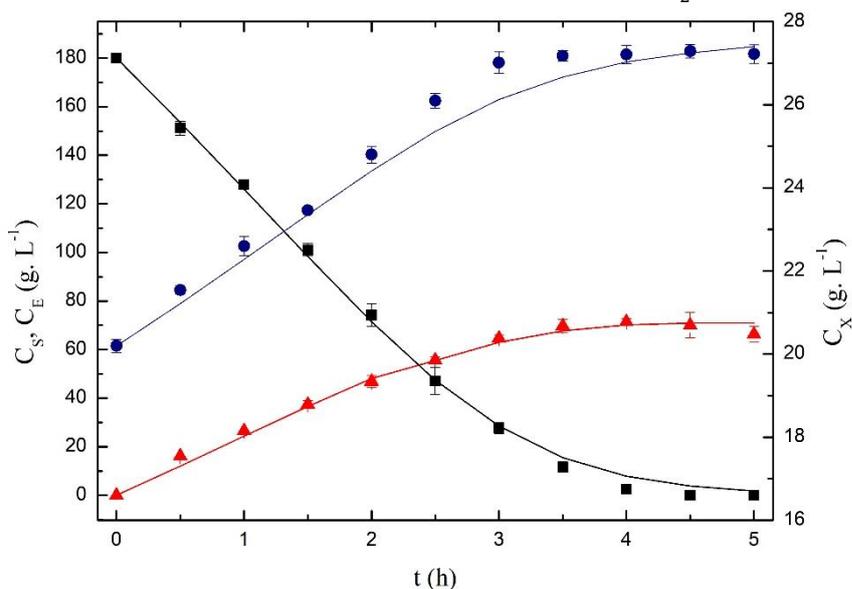


Figura 4.8 – Comparação entre os valores simulados (–) e experimentais de  $C_X$  (●),  $C_S$  (■) e  $C_E$  (▲) obtidos na fermentação extrativa com  $\Phi_{CO_2} = 1,0$  vvm.



As fermentações extrativas apresentaram produtividade volumétrica em etanol ( $P_E$ ) (Tabela 4.3) de 18,0 e 20,2 quando conduzidas com  $\Phi_{CO_2}$  de 0,5 e 1,0 vvm, respectivamente. A produtividade para a fermentação realizada com vazão de gás de arraste de 1,0 vvm foi cerca de 23 % superior quando comparada a fermentação convencional. Este melhor desempenho foi devido à remoção de etanol por *stripping* durante o processo.

Tabela 4.3 – Comparação entre os desempenhos das fermentações convencional e extrativa.

Fermentação	$\Phi_{CO_2}$ (vvm)	$C_E$ (caldo) (g.L <sup>-1</sup> )	$P_E$ (g.L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )
Convencional	–	82,4	16,4
Extrativa	0,5	77,1	18,0*
Extrativa	1,0	71,4	20,2*

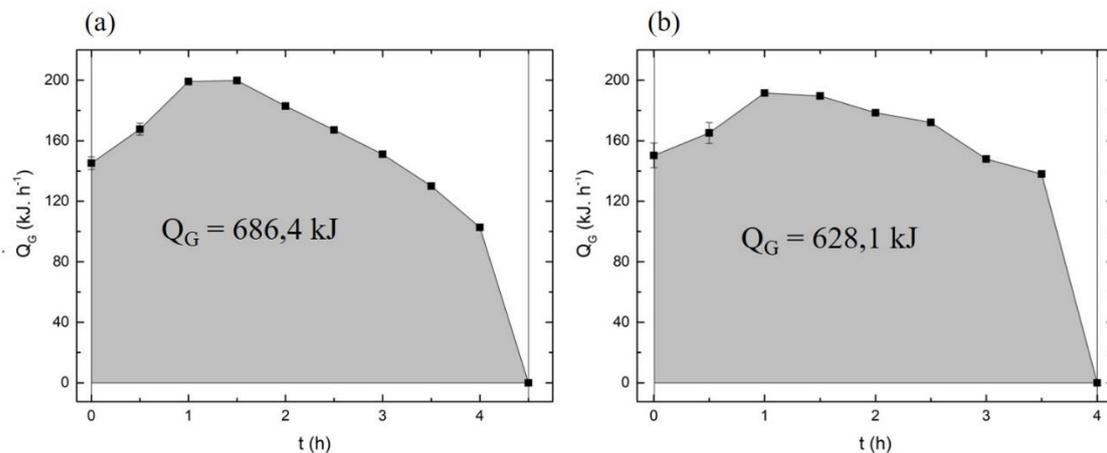
\* Valores calculados considerando  $Y_{E/S} = 0,45$  g<sub>E</sub>.g<sub>S</sub><sup>-1</sup>.

As concentrações máximas de etanol obtidas nas fermentações extrativas utilizando  $\Phi_{CO_2}$  de 0,5 e 1,0 vvm foram iguais a 77,1 e 71,4 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Observa-se que os valores de  $C_E$  nas fermentações com arraste gasoso estão abaixo do valor encontrado na fermentação convencional (82,4 g.L<sup>-1</sup>), evidenciando que houve remoção significativa do etanol produzido. É importante ressaltar que o alto valor de produtividade obtido na fermentação em batelada convencional (16,4 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) foi devido à condição adotada para  $C_X$  no presente estudo, cerca de 18,0 g.L<sup>-1</sup> em células viáveis, o que reduziu o tempo de fermentação.

#### 4.3.2. Avaliação da Transferência de Calor

Nesta seção, são apresentados e avaliados os efeitos do arraste gasoso por  $\text{CO}_2$  no balanço energético da fermentação extrativa. Primeiramente, as taxas de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) foram calculadas pela Equação 3.23. A Figura 4.9 apresenta a comparação entre os valores de  $\dot{Q}_G$  para as fermentações extrativas realizadas com vazões específicas de  $\text{CO}_2$  ( $\Phi_{\text{CO}_2}$ ) de 0,5 e 1,0 vvm. Observa-se que o modelo energético proposto apresentou comportamento similar ao da fermentação convencional. Os valores do calor total gerado ( $Q_G$ ) obtidos com  $\Phi_{\text{CO}_2}$  de 0,5 e 1,0 vvm foram iguais a 686,4 e 628,1 kJ, respectivamente, apresentando variação menor que 12 % em comparação ao valor quantificado na fermentação convencional de 713,4 kJ. A precisão e a reprodutibilidade dos dados foram adequadas, com baixos valores de desvios-padrão.

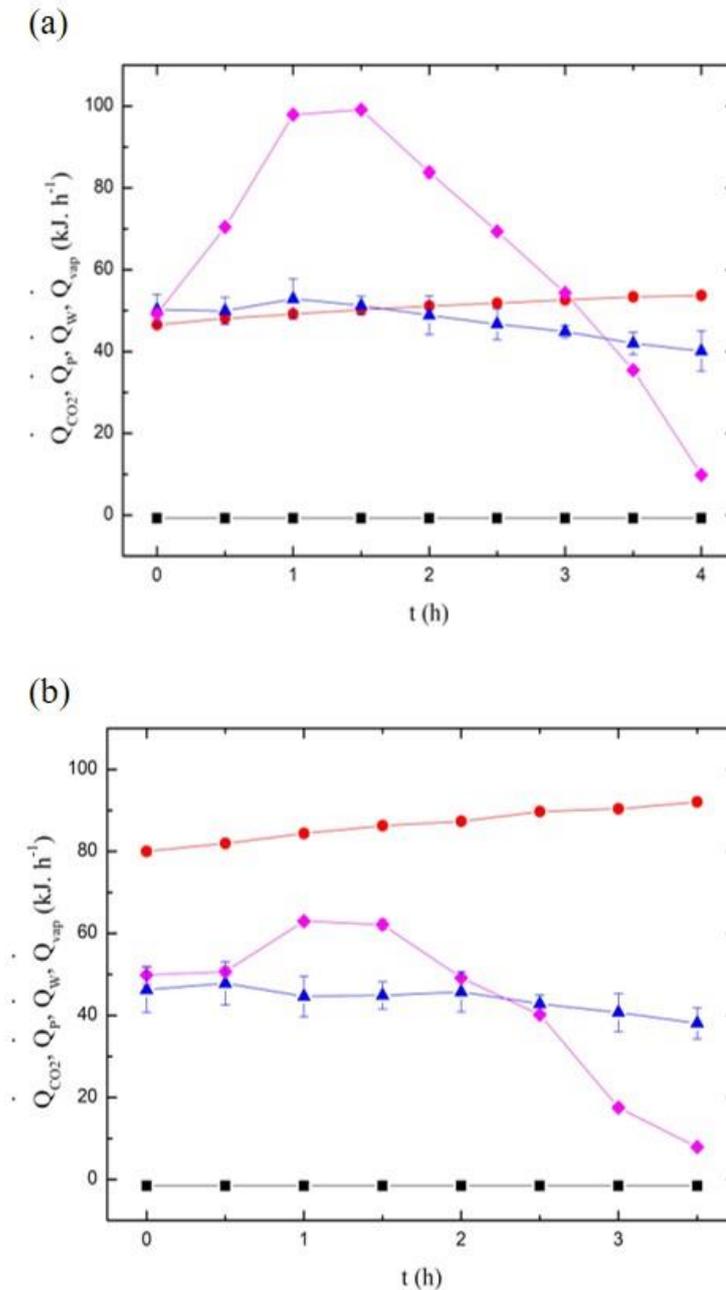
Figura 4.9 – Comparação entre os valores de taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) ao longo das fermentações extrativas: a)  $\Phi_{\text{CO}_2} = 0,5$  vvm e b)  $\Phi_{\text{CO}_2} = 1,0$  vvm.



A Figura 4.10 ilustra as taxas de dissipação de calor no reator durante as fermentações realizadas com  $\Phi_{\text{CO}_2}$  0,5 e 1,0 vvm, respectivamente. Nos experimentos realizados com vazão de 0,5 vvm, observa-se que o termo de energia mais significativo é a taxa de remoção de calor pela água de resfriamento ( $\dot{Q}_W$ ), seguido pela taxa de remoção de calor por vaporização ( $\dot{Q}_{vap}$ ). O termo  $\dot{Q}_W$  representa em média 40% da taxa total de dissipação de calor. O termo  $\dot{Q}_{vap}$  aumenta continuamente ao longo do experimento, uma vez que é dependente das concentrações de etanol e água presentes no meio em fermentação. Portanto, o acúmulo de etanol na fase final da fermentação provoca maior remoção de calor por vaporização. Outra observação importante é o pequeno efeito da taxa de remoção de calor pela variação de entalpia do  $\text{CO}_2$ , podendo ser

considerado desprezível no balanço de energia.

Figura 4.10 – Energia dissipada ao longo das fermentações alcoólicas extrativas: (a)  $\Phi_{CO_2} = 0,5$  vvm e (b)  $\Phi_{CO_2} = 1$  vvm. Taxa de remoção de calor pela água de resfriamento ( $\dot{Q}_W$ :  $\blacklozenge$ ), taxa de perda de calor pela parede do reator ( $\dot{Q}_P$ :  $\blacktriangle$ ), taxa de remoção de calor pela variação de entalpia do  $CO_2$  ( $\dot{Q}_{CO_2}$ :  $\blacksquare$ ) e taxa de remoção de calor devido à vaporização de etanol e água ( $\dot{Q}_{vap}$ :  $\bullet$ ).

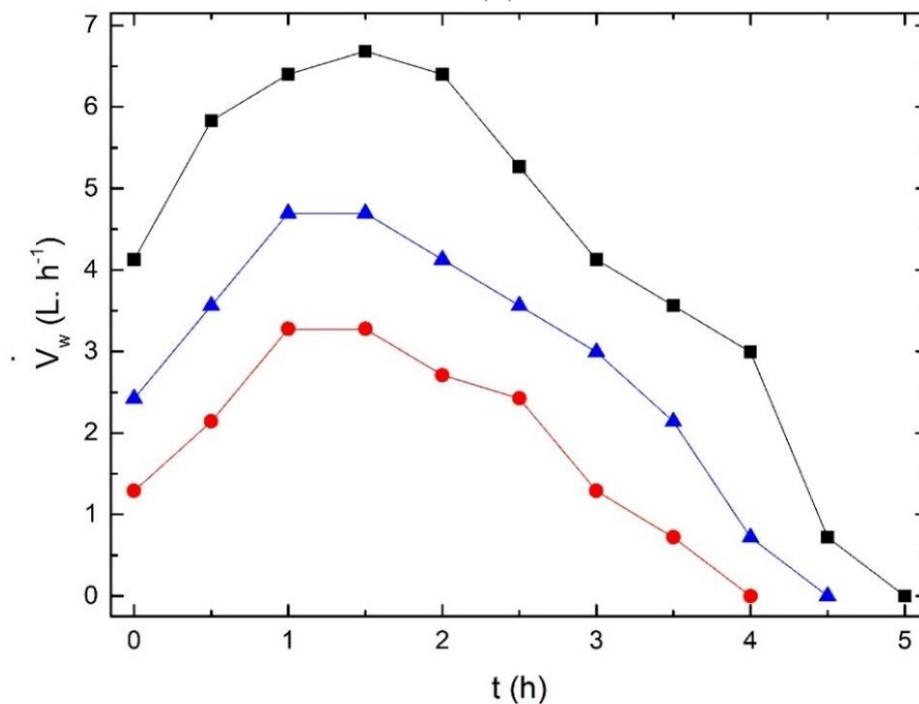


Nas fermentações extrativas conduzidas a 1,0 vvm, o termo  $\dot{Q}_{vap}$  foi mais significativo, correspondendo em média a 52% da taxa total de dissipação de calor no reator. O aumento da  $\Phi_{CO_2}$  promoveu uma maior transferência de massa de etanol e água para a fase gasosa, consequentemente, uma maior quantidade de energia da fase líquida foi removida para promover a vaporização dos componentes. O calor removido por vaporização é decorrente da variação de entalpia, sendo a diferença entre a entalpia do vapor saturado e a do líquido saturado à mesma temperatura. As moléculas na fase gasosa não possuem a mesma energia de atração presente na fase líquida, desse modo, energia deve ser fornecida para que ocorra a vaporização (Poling, Prausnitz e O'Connell, 2001).

A Figura 4.11 apresenta a comparação entre as vazões de água ( $\dot{V}_W$  em  $L \cdot h^{-1}$ ) utilizadas para resfriar o biorreator ao longo das fermentações alcoólicas convencional e extrativa a 0,5 e 1,0 vvm. A área sob as curvas de vazão de alimentação de água na camisa ( $\dot{V}_W = f(t)$ ) ao longo das fermentações fornece os volumes totais de água de resfriamento consumidos ( $V_W$  em L):

$$V_W = \int_0^t \dot{V}_W dt \quad (4.1)$$

Figura 4.11 – Comparação entre valores de vazão de água de resfriamento ( $\dot{V}_W$ ) ao longo das fermentações alcoólicas convencionais (■) e extrativas com  $\Phi_{CO_2} = 0,5$  vvm (▲) e  $\Phi_{CO_2} = 1,0$  vvm (●).



Os valores encontrados de  $V_W$  (Tabela 4.4) nas fermentações convencionais e extrativas com vazões de  $\text{CO}_2$  de 0,5 vvm e 1,0 vvm foram iguais a 22,0; 13,8 e 8,2 L, respectivamente. A fermentação extrativa conduzida com  $\Phi_{\text{CO}_2} = 0,5$  vvm foi capaz de reduzir o volume de água de resfriamento em 37,3% quando comparada a fermentação convencional, enquanto que a fermentação extrativa com  $\Phi_{\text{CO}_2} = 1,0$  vvm alcançou uma economia no consumo de água equivalente a 62,7%. Observa-se que o aumento da vazão do gás de arraste proporcionou um incremento na remoção de calor por vaporização de tal forma que foi possível reduzir o volume de água necessário para manter a temperatura do reator em torno de 34 °C.

Tabela 4.4 – Consumo de água de resfriamento.

<b>Fermentação</b>	<b><math>\Phi_{\text{CO}_2}</math> (vvm)</b>	<b><math>V_W</math> (L)</b>	<b>Redução (%)</b>
Convencional	–	22,0	0
Extrativa	0,5	13,8	37,3
Extrativa	1,0	8,2	62,7

Em escala industrial, o sistema de resfriamento das dornas de fermentação geralmente é composto por trocador de calor externo à dorna que recebe como fluido frio água da torre de resfriamento. Um tratamento químico é necessário para reabastecer a água nos circuitos da torre de resfriamento, a fim de controlar o crescimento bacteriano que com o tempo pode causar corrosão, incrustações, obstrução da vazão de água e diminuição da transferência de calor (Chavez-Rodriguez *et al.*, 2013). Dessa forma, a redução no consumo de água de resfriamento proporcionada pela fermentação extrativa implica também na redução de consumo de insumos, anti-incrustantes e inibidores de corrosão, utilizados ao longo do processo fermentativo.

Neste contexto, o presente estudo comprova que a aplicação da fermentação extrativa por *stripping* de etanol com  $\text{CO}_2$  apresenta como vantagens não apenas a diminuição do efeito inibitório do etanol sobre a levedura, mas também um efeito positivo no controle da temperatura do processo através da remoção de calor do caldo de fermentação, tornando-se uma técnica de interesse para as usinas, visto que pode contribuir na redução de custos do processo fermentativo.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo proposto para a remoção de etanol e água por arraste gasoso com CO<sub>2</sub> apresentou excelente ajuste aos dados experimentais de concentrações de etanol e água ao longo do tempo. O aumento da vazão específica de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ) proporcionou o aumento nas remoções de etanol e água.

A modelagem matemática da fermentação convencional, composta pelos balanços de massa e pelo balanço de energia, descreveu de forma satisfatória o processo fermentativo. Avaliando a transferência de energia, a evolução da taxa de geração de calor ( $\dot{Q}_G$ ) apresentou comportamento similar ao crescimento celular da levedura. O calor total gerado na fermentação ( $Q_G$ ) foi igual 713,4 kJ, apresentando variação de 4,5% em comparação com resultado teórico baseado em modelo de literatura.

Os balanços de massa e energia propostos descreveram também de forma satisfatória o comportamento da fermentação extrativa em batelada com remoção de etanol e água por *stripping* com CO<sub>2</sub>. A avaliação energética demonstrou que a vazão específica de CO<sub>2</sub> ( $\Phi_{CO_2}$ ) afetou positivamente a taxa de remoção de calor por vaporização ( $\dot{Q}_{vap}$ ). A remoção de calor do caldo de fermentação pelas vaporizações do etanol e da água permitiu a estimativa de economia de até 62,7 % de água de resfriamento da dorna ao longo do processo fermentativo. A operação de *stripping* com CO<sub>2</sub>, além reduzir os efeitos inibitórios do etanol, foi significativa em evitar o aumento da temperatura do processo.

## REFERÊNCIAS

- ALCARDE, A. R.; NOBRE, T. DE P.; HORII, J. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 20–25, 2007.
- AMORIM, H. V. DE. Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia. **Piracicaba: Fermentec**, p. 448, 2005.
- AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; CASTRO OLIVEIRA, J. V. DE; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 5, p. 1267–1275, 2011.
- ANDREWS, J. F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 10, n. 6, p. 707–723, nov. 1968.
- ANDRIETTA, G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, R. Bioetanol – Brasil, 30 anos na vanguarda. **Construindo a história dos Produtos Naturais**, p. 1–16, 2006.
- ANDRIETTA, S. R. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua em escala industrial**. (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1994.
- ATALA, D. I. P. **Montagem, instrumentação, controle e desenvolvimento experimental de um processo fermentativo extrativo de produção de etanol**. (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 1, p. 89–105, 2008.
- BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. Ethanol Production in Brazil: The Industrial Process and Its Impact on Yeast Fermentation. **Biofuel Production-Recent Developments and Prospects**, v. 1530, p. 85–100, 2011.
- BASTOS, R. G. **Tecnologia das fermentações: fundamentos de bioprocessos** São Carlos, 2010.
- BOYNE, J. A.; WILLIAMSON, A. G. Enthalpies Of Mixture Of Ethanol And Water At 25°C. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 12, n. 3, p. 318, 1967.
- CARVALHO, J. C. M. DE; SATO, S. Fermentação descontínua. *In: Biotecnologia Industrial - Vol. 2*. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 560.
- CASEY, G. P.; INGLEDEW, W. M. M. Ethanol Tolerance in Yeasts. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v. 13, n. 3, p. 219–280, 25 jan. 1986.
- CHAVEZ-RODRIGUEZ, M. F.; MOSQUEIRA-SALAZAR, K. J.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A. Water reuse and recycling according to stream qualities in sugar-ethanol plants. **Energy for Sustainable Development**, v. 17, n. 5, p. 546–554, 2013.
- COLOMBIÉ, S.; MALHERBE, S.; SABLAYROLLES, J. M. Modeling of heat transfer in tanks during wine-making fermentation. **Food Control**, v. 18, n. 8, p. 953–960, 2007.

- CONAB, C. N. DE A. **Acompanhamento da Safra Brasileira**, 2017.
- D'AMORE, T.; STEWART, G. G. Ethanol tolerance of yeast. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 9, n. 6, p. 322–330, 1987.
- DARÉ, R. M. **Avaliação de coeficientes de rendimento e modelagem do processo fermentativo de produção de etanol**. (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 2008.
- DIAS, M. O. D. S. **Simulação do Processo de Produção de Etanol a Partir do Açúcar e do Bagaço, Visando a Integração do Processo e a Maximização da Produção de Energia e Excedentes do Bagaço**. (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação Contínua. *In: Biotecnologia Industrial - Vol. 2*. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 223–246.
- FOLCH-MALLOL, J. L.; GARAY-ARROYO, A.; LLEDÍAS, F.; ROBLES, A. A C. La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Latinoamericana De Microbiología**, v. 46, p. 24–46, 2004.
- GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. II. Product and substrate inhibition and optimization of fermentor design. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 21, n. 8, p. 1401–1420, 1979.
- HAN, K.; LEVENSPIEL, O. Extended monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 32, n. 4, p. 430–447, 5 ago. 1988.
- HELLE, S.; CAMERON, D.; LAM, J.; WHITE, B.; DUFF, S. Effect of inhibitory compounds found in biomass hydrolysates on growth and xylose fermentation by a genetically engineered strain of *S. cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 33, n. 6, p. 786–792, 2003.
- HENDLER, B. **Construção de Um Software de Simulação e Ajuste de Curvas Cinéticas Para o Processo de Fermentação em Batelada Alimentada**. (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2011.
- JOSHI, G.; PANDEY, J. K.; RANA, S.; RAWAT, D. S. Challenges and opportunities for the application of biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. May 2016, p. 850–866, 2017.
- KANG, Q.; BRUGGEN, B. VAN DER; DEWIL, R.; BAEYENS, J.; TAN, T. Hybrid operation of the bio-ethanol fermentation. **Separation and Purification Technology**, v. 149, p. 322–330, 2015.
- LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. **Rapid determination of yeast viability** *Biotechnol. Bioeng. Symp.*; (United States). **Anais...Univ. of Michigan**, Ann Arbor, 1981
- LEVENSPIEL, O. The monod equation: A revisit and a generalization to product inhibition situations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 8, p. 1671–1687, 1980.
- LEWIS, W. K.; WHITMAN, W. G. Absorption symposium. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 16, n. 12, p. 1215–1220, 1924.
- LIMA, U. DE A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de Etanol. *In: Biotecnologia Industrial - Vol.3. Processos Fermentativos e Enzimáticos*. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 44.

- LOPES, C. H. L.; GABRIEL, A. V. M. D.; BORGES, M. T. M. R. **Produção de etanol a partir da cana-de-açúcar: tecnologia de produção de etanol**. UAB-UFSCar ed. São Carlos.
- LOPES, M. L.; CRISTINA, S.; *et al.* Ethanol production in Brazil : a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 64–76, 2016.
- LOPES, M. L.; PAULILLO, S. C. DE L.; GODOY, A.; CHERUBIN, R. A.; LORENZI, M. S.; GIOMETTI, F. H. C.; BERNARDINO, C. D.; AMORIM NETO, H. B. DE; AMORIM, H. V. DE. Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 64–76, 2016.
- LUONG, J. H. T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, n. 3, p. 280–285, 1985.
- LUONG, J. H. T.; YERUSHALMI, L.; VOLESKY, B. Estimating the maintenance energy and biomass concentration of *Saccharomyces cerevisiae* by continuous calorimetry. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 5, p. 291–296, 1983.
- MAIORELLA, B.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 25, n. 1, p. 103–121, 1983.
- MANOCHIO, C.; ANDRADE, B. R.; RODRIGUEZ, R. P.; MORAES, B. S. Ethanol from biomass: A comparative overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 80, p. 743–755, 2017.
- MME, M. DE M. E E. **Boletim mensal dos biocombustíveis**, 2016.
- MOHANA, S.; ACHARYA, B. K.; MADAMWAR, D. Distillery spent wash: Treatment technologies and potential applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 1, p. 12–25, 2009.
- MORANDIN, M.; TOFFOLO, A.; LAZZARETTO, A.; MARÉCHAL, F.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A. Synthesis and parameter optimization of a combined sugar and ethanol production process integrated with a CHP system. **Energy**, v. 36, n. 6, p. 3675–3690, 2011.
- MOULIN, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 11, p. 2375–2381, 1980.
- MULHOLLAND, D. L.; SHEPPARDA, J. D. **United States Patent Number: 4703007**, 1987.
- MÜLLER, M.; HUSEMANN, U.; GRELLER, G.; MEUSEL, W.; KRAUME, M. Heat transfer characteristics of a stirred single-use bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 140, n. September, p. 168–177, 2018.
- MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CARNEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 6, p. 817–830, 2010.
- PARK, C.; GENG, Q. Simultaneous Fermentation and Separation in the Ethanol and Abe Fermentation. **Separation and Purification Methods**, v. 21, n. 2, p. 127–174, 24 jan. 1992.
- PHAM, C. B.; MOTOKI, M.; MATSUMURA, M.; KATAOKA, H. Simultaneous ethanol fermentation and stripping process coupled with rectification. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 68, n. 1, p. 25–31, 1989.

- PHISALAPHONG, M.; SRIRATTANA, N.; TANTHAPANICHAKOON, W. Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, n. 1, p. 36–43, 2006.
- POLING, B. E.; PRAUSNITZ, J. M.; O'CONNELL, J. P. **The Properties of Gases and Liquids**. 5th. ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- PONCE, G. H. S. F. **Desenvolvimento de um processo fermentativo extrativo para a produção de etanol por arraste gasoso**. (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de (Campinas, 2015).
- PONCE, G. H. S. F.; MOREIRA NETO, J.; JESUS, S. S. DE; MIRANDA, J. C. DE C.; MACIEL FILHO, R.; ANDRADE, R. R. DE; WOLF MACIEL, M. R. 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, jun. 2016.
- RODRIGUES, K. C. S.; SONEGO, J. L. S.; CRUZ, A. J. G.; BERNARDO, A.; BADINO, A. C. Modeling and simulation of continuous extractive fermentation with CO<sub>2</sub> stripping for bioethanol production. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 132, p. 77–88, abr. 2018.
- SATO, K.; MIYAZAKI, S. I.; MATSUMOTO, N.; YOSHIZAWA, K.; NAKAMURA, K. I. Pilot-Scale Solid-State Ethanol Fermentation by Inert-Gas Circulation Using Moderately Thermophilic Yeast. **Journal of Fermentation Technology**, v. 66, n. 2, p. 173–180, 1988.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. DE A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial - Vol.2**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.
- SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering: Basic concepts**. 2 th ed. Prentice Hall, 2002.
- SILVA, C. R. DA. **Remoção de etanol por stripping empregando dióxido de carbono**. (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 2014.
- SILVA, C. R.; ESPERANÇA, M. N.; CRUZ, A. J. G.; MOURA, L. F.; BADINO, A. C. Stripping of ethanol with CO<sub>2</sub> in bubble columns: Effects of operating conditions and modeling. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 102, p. 150–160, 2015.
- SILVA, G. A. DA. **Avaliação Das Tecnologias De Disposição De Vinhaça De Cana De Açúcar Quanto Ao Aspecto De Desenvolvimento Ambiental E Econômico**. (Doutorado em Engenharia Mecânica). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade do Estado de São Paulo, 2012.
- SONEGO, J. L. S. **Estudo da produção de etanol de sacarose por fermentação extrativa utilizando arraste com dióxido de carbono**. (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 2016.
- SONEGO, J. L. S.; LEMOS, D. A.; PINTO, C. E. M.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Extractive Fed-Batch Ethanol Fermentation with CO<sub>2</sub> Stripping in a Bubble Column Bioreactor: Experiment and Modeling. **Energy and Fuels**, v. 30, n. 1, p. 748–757, 2016.
- SONEGO, J. L. S.; LEMOS, D. A.; RODRIGUEZ, G. Y.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Extractive batch fermentation with CO<sub>2</sub> stripping for ethanol production in a bubble column bioreactor: Experimental and modeling. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 12, 2014.

SOUZA, C. S. **Avaliação da Produção de Etanol em Temperaturas Elevadas Por Uma Linhagem de *S. Cerevisi ae.*** (Doutorado em Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, 2009.

TAYLOR, F.; KURANTZ, M. J.; GOLDBERG, N.; CRAIG, J. C. Control of packed column fouling in the continuous fermentation and stripping of ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 51, n. 1, p. 33–39, 1996.

TOSETTO, G. M. **Influência da Matéria-Prima no Comportamento Cinético de Levedura na Produção de Etanol.** (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

VANE, L. M. Separation technologies for the recovery and dehydration of alcohols from fermentation broths. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 2, n. 6, p. 553–588, nov. 2008.

VELOSO, I. I. K.; RODRIGUES, K. C. S.; SONEGO, J. L. S.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Fed-batch ethanol fermentation at low temperature as a way to obtain highly concentrated alcoholic wines: Modeling and optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 141, n. October 2018, p. 60–70, 2018.

VIEGAS, M. C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características floculantes.** (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

WHEALS, A. E.; BASSO, L. C.; ALVES, D. M.; AMORIM, H. V. Fuel ethanol after 25 years. **Trends Biotechnol**, v. 17, n. 12, p. 482–487, 1999.