

Organizador deste volume

Urgel de Almeida Lima

COLEÇÃO

BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

Volume 3

PROCESSOS FERMENTATIVOS E ENZIMÁTICOS

COORDENADORES DA COLEÇÃO

Flávio Alterthum

Willibaldo Schmidell

Urgel de Almeida Lima

Iracema Moraes

Blucher

2^a
edição

Coordenadores da coleção

Flávio Alterthum

Willibaldo Schmidell

Urgel de Almeida Lima

Iracema Moraes

COLEÇÃO BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

VOLUME 3

PROCESSOS FERMENTATIVOS E ENZIMÁTICOS

2ª edição

Organizador deste volume

Urgel de Almeida Lima

Coleção Biotecnologia Industrial, Volume 3 – Processos fermentativos e enzimáticos, 2ª edição

© 2019 Urgel de Almeida Lima (organizador do volume)

Flávio Alterthum, Willibaldo Schmidell, Urgel de Almeida Lima e Iracema Moraes (coordenadores da coleção)

Editora Edgard Blücher Ltda.

Imagem da capa: iStockphoto

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar
04531-934 – São Paulo – SP – Brasil
Tel.: 55 11 3078-5366
contato@blucher.com.br
www.blucher.com.br

Segundo o Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed.
do *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*,
Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer
meios sem autorização escrita da editora.

Todos os direitos reservados pela Editora
Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

Processos fermentativos e enzimáticos /
organização de Urgel de Almeida Lima. – 2. ed. –
São Paulo : Blucher, 2019.

760 p. : il. (Coleção biotecnologia industrial,
coordenada por Flávio Alterthum, Willibaldo
Schmidell, Urgel de Almeida Lima, Iracema
Moraes; vol. 3)

Bibliografia

ISBN 978-85-212-1457-1 (impresso)

ISBN 978-85-212-1458-8 (e-book)

1. Biotecnologia 2. Biotecnologia – Indústrias
3. Microbiologia industrial 4. Micro-organismos
biotecnológicos I. Lima, Urgel de Almeida.
II. Moraes, Iracema. III. Alterthum, Flávio.
IV. Schmidell, Willibaldo. V. Série.

19-0408

CDD 660.6

Índice para catálogo sistemático:

1. Biotecnologia

CONTEÚDO

1. PRODUÇÃO DE ETANOL COM MATÉRIAS-PRIMAS SACARINAS	19
1.1 Introdução	19
1.2 Diferentes tipos de álcool produzidos no Brasil	21
1.3 Vias de obtenção do etanol	22
1.4 Matérias-primas para a produção de álcool	23
1.5 Matérias-primas sacarinas	24
1.6 Bioprocesso de obtenção do etanol	26
1.7 Rendimento em álcool na fermentação alcoólica	27
1.8 Preparação dos meios de fermentação	29
1.9 Fermentação alcoólica	30
1.10 Correção dos mostos	40
1.11 Preparo do inóculo	40
1.12 Prática da fermentação alcoólica	43
1.13 Verificação prática da pureza do processo microbiano	44
1.14 Sistemas de fermentação	45
1.15 Fermentação alcoólica contínua	47
1.16 Salas de fermentação	49
1.17 Recipientes de fermentação	50

1.18	Destilação	50
1.19	Retificação	54
1.20	Prática da retificação industrial	54
1.21	Desidratação do etanol	56
1.22	Processo de desidratação por meio de peneiras moleculares	58
1.23	Regeneração das peneiras moleculares	63
1.24	Consumos na desidratação	64
1.25	Desidratação de etanol com membranas	64
1.26	Subprodutos das destilarias de álcool	65
	Referências	69
2.	ÁLCOOL DE MATÉRIAS-PRIMAS AMILÁCEAS	71
2.1	Introdução	71
2.2	Produção do etanol com matérias amiláceas	74
2.3	Fermentação do mosto sacarificado	86
2.4	Rendimento em álcool na fermentação alcoólica	88
2.5	Fabricação de álcool com milho	89
2.6	Milho	91
2.7	Abastecimento da indústria	97
2.8	Fabricação de álcool com mandioca	97
2.9	Mandioca	98
2.10	Raspas de mandioca	103
2.11	Propriedades físico-químicas da fécula	104
2.12	Outras matérias-primas amiláceas	104
2.13	Destilação	105
	Referências	105
3.	PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO	107
3.1	Introdução	107
3.2	Biomassas lignocelulósicas e sua disponibilidade no Brasil	108
3.3	Pré-tratamento	112

3.4	Hidrólise enzimática	119
3.5	Fermentação alcoólica de materiais lignocelulósicos	125
3.6	Modos de operação para fermentação de materiais lignocelulósicos	132
3.7	Estudos de caso	136
3.8	Conclusões e perspectivas	142
	Referências	143
4.	PRODUÇÃO DE SOLVENTES	151
4.1	Introdução	151
4.2	Fermentação acetono-butanólica no Brasil	154
4.3	Bioprocesso acetono-butanólico	155
4.4	Fermentação butanol-isopropanol	172
4.5	Fermentação acetona-etanol	174
	Referências	175
5.	PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	177
5.1	Introdução geral e histórico	177
5.2	Ácido cítrico	179
5.3	Ácido láctico	185
5.4	Ácido acético	189
5.5	Ácido itacônico	193
5.6	Ácido glucônico	196
5.7	Outros ácidos	202
5.8	Sumário e perspectivas futuras	213
	Referências	214
6.	PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS	219
6.1	Introdução	219
6.2	Agentes de viscosidade	222
6.3	Polissacarídeos gelificantes	230

6.4	Polissacarídeos com aplicações específicas	235
6.5	Pesquisa e desenvolvimento em polissacarídeos microbianos	247
	Referências	249
7.	PRODUÇÃO DE OLIGOSSACARÍDEOS	253
7.1	Introdução	253
7.2	Fruto-oligossacarídeos (FOS)	254
7.3	Galacto-oligossacarídeos (GOS)	261
7.4	Xilo-oligossacarídeos (XOS)	266
7.5	Malto-oligossacarídeos e isomalto-oligossacarídeos	268
7.6	Purificação de oligossacarídeos	271
7.7	Efeitos benéficos dos oligossacarídeos	273
	Referências	276
8.	BIOSURFACTANTES	281
8.1	Introdução	281
8.2	Definições	283
8.3	Tipos	287
8.4	Aplicações	291
8.5	Produção	296
8.6	Novas perspectivas	301
	Referências	302
9.	INOCULANTES AGRÍCOLAS	305
9.1	Histórico	305
9.2	Rizosfera	309
9.3	Mecanismos biológicos e bioquímicos das rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP)	310
9.4	Bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico simbióticas com plantas	312

9.5	Otimização da fertilização fosfatada pelo uso de bactérias mobilizadoras de fosfato	316
9.6	Produção de auxinas por RPCP – Efeitos no crescimento de plantas	320
9.7	O papel dos microrganismos na resistência ao estresse abiótico	321
9.8	Controle biológico de doenças de plantas	322
9.9	Fungos micorrízicos	324
9.10	Produção de inoculantes e suas categorias	326
	Referências	327
10.	PURIFICAÇÃO DE ENZIMAS E PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS: SUAS APLICAÇÕES	333
10.1	Introdução	333
10.2	Planejamento inicial do processo de purificação	334
10.3	Enzimas e peptídeos antimicrobianos: aplicações	349
10.4	Peptídeos bioativos: bacteriocinas	358
10.5	Aplicação de bacteriocinas	360
	Referências	362
11.	PRODUÇÃO DE ENZIMAS MICROBIANAS	371
11.1	Introdução	371
11.2	Produção industrial de enzimas microbianas	377
11.3	Usos e aplicações das enzimas microbianas	391
11.4	Tendências e avanços na produção de enzimas	392
	Referências	393
12.	PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL	395
12.1	Introdução	395
12.2	Produção e purificação de enzimas	397
12.3	Enzimas de interesse industrial	399

12.4	Efeito indesejável de enzimas de origem vegetal e animal	415
12.5	Processos de modificação em enzimas visando à melhoria do desempenho	418
12.6	Conclusões	422
	Referências	422
13.	DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE VACINAS PARA USO HUMANO	427
13.1	Introdução	427
13.2	Classificação de vacinas	429
13.3	Características da produção de vacinas	430
13.4	Principais vacinas comerciais	435
13.5	Vacinas combinadas	460
13.6	Tendências futuras na produção de vacinas	461
13.7	Considerações finais	463
	Referências	463
14.	BIOPROCESSOS PARA OBTENÇÃO DE VITAMINAS	467
14.1	Introdução	467
14.2	Lista de vitaminas: nome comum e forma ativa	468
14.3	Obtenção das vitaminas	469
14.4	Perspectivas	484
	Referências	484
15.	APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DE MICROALGAS	487
15.1	Introdução	487
15.2	Microalgas para aplicação industrial	489
15.3	Condições de cultivo	491
15.4	Bioatividade dos compostos extraídos de microalgas	494
15.5	Aplicações industriais de microalgas	496

15.6	Fotobiorrefinaria microalgal	504
15.7	Considerações finais	506
	Referências	507
16.	MODIFICAÇÃO DE AMIDO POR FERMENTAÇÃO: POLVILHO AZEDO	509
16.1	Introdução	509
16.2	Polvilho azedo – Qualidade e legislação	510
16.3	Matéria-prima – Amido	512
16.4	Tecnologia para a produção de amido fermentado – Polvilho azedo	516
16.5	Fermentação	518
16.6	Secagem e tratamento com radiação ultravioleta	524
16.7	Produção comercial de polvilho azedo na América Latina	531
16.8	Produtos no Brasil	532
16.9	Avaliando a qualidade do polvilho azedo por sua propriedade de expansão ao forno sem necessidade de agentes levedantes	534
16.10	Análises utilizadas para padronização da qualidade e na pesquisa	535
16.11	Considerações finais	538
	Referências	540
17.	BIOMINERAÇÃO	547
17.1	Introdução	547
17.2	Biolixiviação	548
17.3	Bio-oxidação	555
17.4	Microrganismos envolvidos na biomineração	559
17.5	Mecanismos de biolixiviação	561
17.6	Fatores que afetam a biomineração	562

17.7	Desenvolvimento experimental da lixiviação bacteriana	563
17.8	A bio-hidrometalurgia no Brasil	568
	Referências	570
18.	APLICAÇÕES DA BIOTECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DE CELULOSE E PAPEL	573
18.1	Introdução	573
18.2	Madeira: composição química e ultraestrutura	574
18.3	Biodegradação da madeira e seus componentes	577
18.4	Processamento da madeira na indústria de celulose e papel	581
18.5	Aplicações da biotecnologia na indústria de celulose e papel	583
	Referências	597
19.	PRODUÇÃO DE BIOINSETICIDAS	601
19.1	Introdução	601
19.2	Produção comercial	604
19.3	Processo fermentativo	606
19.4	Separação das toxinas	616
19.5	Bioensaio e formulação	619
19.6	Comercialização e aplicação	621
19.7	Principais avanços e limitações	625
	Referências	627
20.	PRODUÇÃO DE MICRORGANISMOS	631
20.1	Introdução e breve histórico	631
20.2	Princípios do crescimento microbiano	634
20.3	Produção de microrganismos e substratos usados	635
20.4	Casos de produção de microrganismos	640
20.5	Microrganismos visando a outros produtos	648
	Referências	649

21. PRODUÇÃO DE POLIÉSTERES BACTERIANOS	653
21.1 Introdução	653
21.2 Poli-hidroxialcanoatos (PHA)	656
21.3 Metabolismo de PHA	664
21.4 Produção de PHA	672
21.5 Extração/purificação de PHA	677
21.6 Aplicações de PHA	678
21.7 Perspectivas futuras para PHA	679
Referências	680
22. PROCESSOS COM CÉLULAS ANIMAIS	683
22.1 Introdução	683
22.2 Células animais	686
22.3 Meios de cultura	691
22.4 Catabolismo celular	695
22.5 Sistemas de cultivo	699
22.6 Modos de operação	723
22.7 Principais bioprodutos	729
Referências	739
SOBRE OS AUTORES	745

CAPÍTULO 1

Produção de etanol com matérias-primas sacarinas

Urgel de Almeida Lima

1.1 INTRODUÇÃO

O etanol, ou álcool etílico, tem milenar importância para o homem, inicialmente como bebida, depois como solvente e desinfetante e, na época contemporânea, como combustível líquido alternativo de obtenção renovável.

Em meados do século XIX, a indústria do etanol de batata se desenvolveu na Europa e, no último quarto do século, foi iniciada sua produção no Brasil. Na Europa havia fábricas de fermento para uso em panificadoras, e no estado de São Paulo foi montada uma fábrica similar.

Alemanha, Itália, República Tcheca e, especialmente, França contribuíram para o desenvolvimento das tecnologias de fabricação de etanol por via fermentativa e de construção de aparelhos de destilação. A Primeira Guerra Mundial (1914-1918) contribuiu para o desenvolvimento da produção em grande escala. Naquele período o álcool foi usado como combustível líquido de motores de explosão, incluindo experiências feitas no Brasil.

A importância como combustível líquido alternativo se revelou no Brasil na década de 1970, em decorrência da crise internacional de abastecimento de petróleo. Em poucos anos o país mostrou capacidade de satisfazer suas necessidades e ficou internacionalmente conhecido por isso.

O álcool etílico é produto industrial desde as primeiras décadas do século XX, de importância econômica intimamente ligada à indústria açucareira, da qual o etanol foi subproduto por muitos anos.

A indústria alcooleira produz três tipos de álcool: *aguardente*, *álcool retificado* e *álcool anidro*, cada qual com seu mercado consumidor específico.

A *aguardente* é bebida alcoólica de amplo consumo, um produto independente e nunca subproduto.

O *álcool retificado* é mistura hidroalcoólica com percentagem de etanol ao redor de 96%, e como tal sempre teve amplo uso, de forma que, por muito tempo, a indústria não precisou preparar o etanol anidro, com concentração superior a 99,5%. Quando passou a ser usado puro em motores, o álcool retificado foi identificado como álcool combustível ou álcool hidratado.

O *álcool anidro*, ou absoluto, é produzido em grande escala desde que sua mistura à gasolina foi oficialmente determinada, a partir da década de 1930.

Em 1929, a crise internacional afetou profundamente as economias de todos os países e, no Brasil, a indústria açucareira sofreu grande dificuldade. Sobravam açúcar e cana, e faltavam divisas para aquisição de combustível veicular. Não havia extração de petróleo, nem refinarias, e o combustível era importado.

Em 1931, o governo federal estabeleceu a obrigatoriedade da mistura de 5% de álcool etílico à gasolina (Decreto n. 19.717), para economizar na importação de combustível e amparar a indústria canavieira.

A primeira destilaria de álcool anidro foi instalada, mas por muitos anos não houve álcool suficiente para misturar a todo combustível consumido. A economia se equilibrou, mas, quando irrompeu a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), o país viu-se a braços com nova crise de combustível, e a gasolina foi substituída por gasogênio e álcool retificado.

O uso do gasogênio durou pouco, e restou o uso do etanol como combustível alternativo. Terminada a guerra, voltou a importação de gasolina e a produção de álcool continuou, para atender à mistura de combustíveis e ao uso como matéria-prima para algumas indústrias, como solvente e para a indústria farmacêutica.

Por volta de 1974, a crise internacional de abastecimento de petróleo despertou o interesse para uma nova fase na produção de álcool. Em âmbito internacional buscava-se um combustível alternativo; a experiência brasileira no uso de etanol e o desenvolvimento da tecnologia para produção de cana-de-açúcar contribuíram para a ampliação da fronteira agrícola da cana, para o estímulo à pesquisa na agricultura e para o aperfeiçoamento dos motores a fim de que funcionassem com álcool puro.

Como consequência, destilarias anexas às usinas de açúcar foram modernizadas, foram construídas destilarias autônomas, foi ampliado o parque canavieiro e criado grande número de empregos diretos e indiretos. Houve, também, rápida evolução na construção de motores especialmente projetados para o novo combustível.

O plano de desenvolvimento nessa área, denominado Proálcool, ou Programa Nacional do Álcool, não foi solução improvisada, mas, sim, um projeto modernizador e desenvolvimentista do uso de álcool como combustível. Sem medo de errar, pode-se afirmar que teve origem em 1929-1931.

Infelizmente, o programa arrefeceu com a queda do preço do petróleo no mercado internacional e com a perda do interesse político pelo programa de uso do combustível alternativo, na década de 1980.

Outras contingências fizeram renascer o interesse pela produção de etanol, por outras energias alternativas e pela produção do que se convencionou denominar de álcool de segunda geração. Este foi assim denominado pela perspectiva de hidrolisar o material celulósico do bagaço residual de moagem da cana, obter mais açúcar e utilizá-lo para produzir álcool.

Trata-se de uma industrialização nascente, mas foram perdidos muitos anos para complementar um programa de pesquisas para obtenção de energia alternativa e de proteção ao ambiente. A interrupção de um programa dessa natureza dificulta a recuperação do tempo perdido e o desenvolvimento geral.

1.2 DIFERENTES TIPOS DE ÁLCOOL PRODUZIDOS NO BRASIL

Quando se usa a expressão “álcool”, na quase totalidade das vezes ela significa álcool etílico. Produzido pela fermentação de substâncias açucaradas, é encontrado em bebidas e em farmácias, além de ser empregado na fabricação de medicamentos, cosméticos e síntese de outras substâncias.

Nas indústrias em que ele é produzido, há terminologia usada para identificar o produto, coprodutos e resíduos. Assim:

- Etanol: obtido por bioprocessamento de substâncias açucaradas.
- Etanol hidratado – EH: é o produto da destilação das substâncias açucaradas fermentadas, também identificado como *álcool retificado*, com teor de 92,8% de álcool puro em massa, ou 96,5% em volume. É comumente usado na indústria farmacêutica, em alcoolquímica, para fabricar bebidas, vinagre e ácido acético, na síntese de cloral e iodofórmio.
- Etanol hidratado combustível – EHC: é o etanol hidratado usado diretamente como combustível de veículos (BRASIL, 2011).
- Etanol anidro – EA: é o etanol com, no mínimo, 99,3% de álcool em massa, usado na indústria de bebidas, farmacêutica e alcoolquímica.
- Etanol anidro carburante – EAC: etanol anidro carburante (de acordo com as resoluções citadas da Agência Nacional do Petróleo – ANP) com, no mínimo, 99,3% em massa, para misturar à gasolina veicular.
- Álcoois homólogos superiores: todos os álcoois que tenham massa molecular e temperatura de ebulição superiores às do etanol.

- Etanol fino: etanol hidratado (EH) de alta pureza em etanol e baixo teor de contaminantes, usado em cosméticos e perfumes.
- Etanol neutro, extraneutro ou extrafino: álcool hidratado (EH) de excelente qualidade físico-química, baixo teor de contaminantes, usado em medicamentos, cosméticos, perfumes e bebidas, sob especificações dos compradores.
- Flegma: mistura hidroalcoólica que flui da coluna de destilação, com graduação de 40% a 50% de álcool em volume.
- Cachaça: destilado obtido de caldo de cana-de-açúcar fermentado por leveduras alcoólicas, com teor de 38% a 48% de etanol em volume, medido a 20 °C, e características organolépticas específicas. É uma flegma.
- Aguardente: destilado obtido pela destilação do mosto fermentado de caldo de cana-de-açúcar por leveduras alcoólicas, com teor de 38% a 54% de álcool em volume, medido a 20 °C e características organolépticas específicas, ou por rebaixamento do teor alcoólico do destilado alcoólico simples. É uma flegma.
- Destilado alcoólico simples de origem agrícola: é o produto com graduação alcoólica superior a 54% e inferior a 95% em volume, medido a 20 °C, destinado à elaboração de bebida alcoólica.
- Vinhaça: líquido residual da destilação das substâncias açucaradas fermentadas (vinhos), que deixa os aparelhos de destilação (alambiques e colunas) tanto nas destilarias de bebidas como nas produtoras de etanol industrial.
- Flegmaça: flegma desalcoholizado, efluente da base da coluna de retificação, composto de água, sólidos solúveis, álcoois superiores e etanol residual.
- Óleo fúsel: mistura de álcoois superiores com predominância dos álcoois amílico e isoamílico, extraída na coluna de retificação.
- Efluente ou purga: produto da regeneração das peneiras moleculares. Também é uma flegma.

1.3 VIAS DE OBTENÇÃO DO ETANOL

Há três vias básicas: destilatória, sintética e por bioprocessos.

Por *via destilatória* o álcool etílico é obtido pela destilação de materiais que o contenham, tais como bebidas alcoólicas inadequadas para o consumo. É forma de pouca significação econômica, a não ser para determinadas regiões vinícolas para controle do preço de vinhos de mesa oriundos de certas castas de uva.

Também, por excesso de produção de materiais alcoólicos, ou necessidade emergencial, como já ocorreu no Brasil em tempos passados, quando houve uma campanha de produção de álcool por redestilação de aguardente.

Por *via sintética* é obtido com hidrocarbonetos alifáticos não saturados, como etino (acetileno) e eteno (etileno). A obtenção do álcool etílico por síntese é conhecida desde

as primeiras décadas do século XIX, mas demorou a prosperar por dificuldades diversas, entre as quais a exigência de se trabalhar com grandes volumes de ácido sulfúrico.

A via sintética é viável nas regiões que dispõem de produção de hidrocarbonetos a baixo custo por decorrência de grandes jazidas de petróleo, xistos ou de gás natural. Em países com essas condições, o álcool passou a ser produzido em grandes volumes por essa via, diminuindo o interesse pela via fermentativa.

O processo de síntese mais difundido é o que usa etileno como matéria-prima.

A *via fermentativa*, ou por bioprocessos, é a mais difundida e, para o Brasil, a que merece atenção pelo volume de álcool produzido.

Se, em determinado momento, a produção de etanol por via sintética viesse a ser viável porque o país se tornara autossuficiente em petróleo e gás natural, ainda assim a via fermentativa continuaria a ser importante no Brasil. A indústria de bebida alcoólica fermento-destilada não seria eliminada e continuaria significativa para a economia. Produzido em enorme volume, o destilado continuaria a ser obtido como de tradição e não seria substituído por produto gerado por diluição de álcool sintético. Sem as características organolépticas peculiares, seria recusado.

A cana-de-açúcar, que viceja em todos os estados, em alguns com maior propriedade, é a matéria-prima adequada para a indústria de bebida destilada. Ela é fabricada em indústrias de portes diversos, desde as muito pequenas, praticamente domésticas, às de vastas proporções, com capacidade para milhares de litros horários, provedoras de grandes engarrafadoras comerciais.

1.4 MATÉRIAS-PRIMAS PARA A PRODUÇÃO DE ÁLCOOL

As matérias-primas para a produção de álcool por bioprocessos são vegetais ricos em carboidratos. Eles podem se classificar em materiais açucarados (sacarinos), amiláceos e celulósicos.

São materiais açucarados o açúcar de cana-de-açúcar ou de beterraba, o caldo da cana, o extrato da beterraba, os subprodutos da extração da sacarose, como os méis das usinas, as águas doces da indústria, o suco de sorgo ou do milho sacarino, os sucos de frutas, algaroba, soro de leite e outros.

São materiais amiláceos os que contêm amido: grãos, as raízes tuberosas que contêm amido e inulina, rizomas e caules subterrâneos.

São materiais celulósicos madeiras, galhos, ramos de árvores, palhas, bagaço de cana-de-açúcar, licor sulfítico residual da produção de celulose e papel, em que o carboidrato é representado pela celulose e pela hemicelulose.

Neste capítulo, trataremos somente das matérias-primas sacarinas. A produção de álcool a partir de matérias-primas amiláceas será abordada no Capítulo 2 deste volume, “Álcool de matérias-primas amiláceas”, e a produção de álcool de materiais celulósicos no Capítulo 3 deste volume, “Produção de etanol de segunda geração”.

Para que o material vegetal seja considerado matéria-prima para produção de álcool, é necessário que seja obtido em escala suficiente para suprir de forma econômica as exigências de volume da indústria produtora.

Do ponto de vista global e de produção em grande escala, merecem atenção a cana-de-açúcar, a beterraba açucareira e o milho; porém, no Brasil, as matérias-primas viáveis para a indústria do álcool etílico são a cana-de-açúcar e seus subprodutos açucarados.

1.5 MATÉRIAS-PRIMAS SACARINAS

São denominadas plantas sacarinas as que encerram alto teor de sacarose em sua composição, como palmáceas e várias gramíneas, entre as quais o sorgo e o milho sacarinos, de curto ciclo vegetativo.

Durante a vigência do Programa Nacional do Álcool, instalado no Brasil em 1975, o sorgo e o milho sacarinos, que reservam sacarose em seus colmos, ganharam evidência como potenciais matérias-primas energéticas. Embora já existam muitas informações sobre esse tipo de sorgo, ele ainda não conheceu grande expansão em termos de exploração agrícola econômica e energética. Sobre o milho sacarino há muito a estudar.

As plantas sacarinas são empregadas na extração do açúcar, ou na produção de energia, considerando-se como energéticos, além do próprio açúcar, o álcool e o material celulósico que sobra na industrialização, ou seja, o bagaço.

A cana-de-açúcar é a planta sacarina por excelência, anual, de ciclo mais longo que as precedentes. A sacarose, as águas doces e os méis de usinas de açúcar incluem-se nessa categoria de matéria-prima.

1.5.1 BETERRABA AÇUCAREIRA COMO MATÉRIA-PRIMA

Por muitos séculos a cana-de-açúcar foi a matéria-prima dominante na produção industrial de açúcar, mas encontrou competidora no século XVIII. Em 1747, na Alemanha (então Prússia), Andréas Margraaf descobriu um açúcar cristalizável nas raízes de beterraba e o identificou como sacarose. Em 1796, Franz Karl Achard, alemão, filho de um refugiado francês, desenvolveu um processo industrial para extraí-lo. Há autores que afirmam que Achard foi discípulo de Margraaf, mas sua tecnologia foi desenvolvida praticamente cinquenta anos depois da identificação da sacarose na beterraba.

A indústria do açúcar de beterraba nasceu na Alemanha e daí passou para a França e Bélgica. Passaram-se aproximadamente 150 anos dessa descoberta até a cultura da beterraba ser implantada em países da Europa e nos Estados Unidos.

Ela é adequada para a produção de etanol em outros países. No Brasil houve ensaios para seu cultivo no Rio Grande do Sul, mas essa prática não prosperou. Embora não seja planta econômica no país, culturalmente é proveitoso conhecer algo sobre ela.

As primeiras raízes estudadas procediam de planta nativa ou autóctone, com baixo teor de sacarose, melhorada ao longo dos anos. À medida que as seleções levaram à produção de mais toneladas por hectare, maior resistência a doenças e menor quantidade de cinza, o teor de sacarose foi aumentando. Pela bibliografia, foram atingidos de 13% a 15% de açúcar, e posteriormente obtiveram-se variedades com até 26% a 27% de açúcar. As seleções iniciais partiram da escolha de sementes.

A beterraba não oferece resíduo celulósico combustível, e a industrialização de seu açúcar depende do uso de combustíveis diversos para energia motora e calorífica.

Há referência à produção de até 60 t/ha de beterrabas apropriadas para destilarias. Algumas variedades são menos ricas em sacarose, normalmente com 9% a 12%, e outras contêm de 12% a 14% de açúcar. Tanto uma como outra classe de raízes produzem de 90% a 94% de suco com 82% a 85% de água, 1,5% a 1,8% de materiais nitrogenados e de 0,8% a 1,4% de minerais, com predominância de sais de potássio (30%) e de fósforo (50%). As beterrabas cultivadas para produção de açúcar têm menor rendimento agrícola, mas são mais ricas em sacarose.

Sua produção varia de 30 t/ha a 35 t/ha, com 15% a 18% de sacarose, 78% a 80% de umidade, 1% a 1,5% de matérias nitrogenadas, 0,7% a 0,9% de cinza, pentoses e ácidos orgânicos. As raízes em adequado estágio de maturação e em bom estado fitossanitário contêm mínimas quantidade de glicose e rafinose. Elas pesam, comumente, de 1 kg a 1,5 kg.

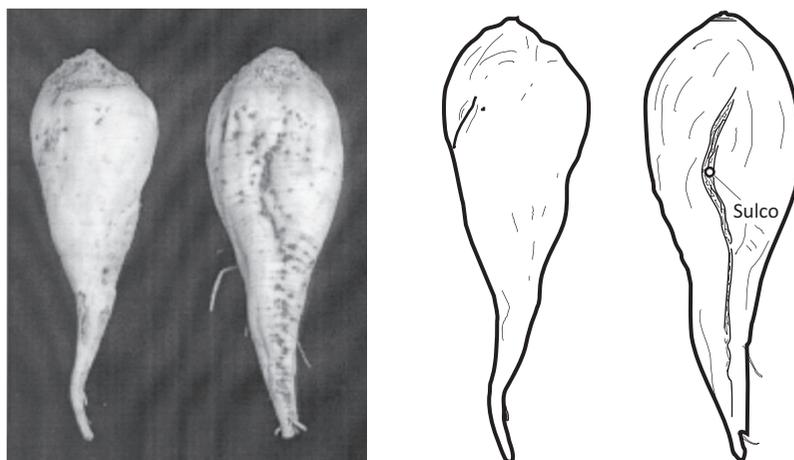


Figura 1.1 Beterraba açucareira.

Após definir-se internacionalmente a necessidade de produzir energia com matérias-primas renováveis e o etanol como combustível líquido alternativo, foi instalada na Inglaterra, próximo de Norfolk, uma destilaria para produzir 70 milhões de litros de etanol com 110 mil toneladas de beterraba. No Reino Unido, uma safra pode se estender por até 150 dias.

Tabela 1.1 Composição centesimal de raiz de beterraba açucareira

Componente	Mínimo	Máximo	Média
Umidade	78	82	80,5
Matéria seca	17	21	19,5
Cinza	0,9	1,25	1,13
Fibra e celulose	1,52	2,2	1,90
Matéria graxa	0,28	0,47	0,30
Açúcares	12,5	16,7	14,5
Material nitrogenado	1,11	2,6	1,32
Nitrogênio	0,178	0,41	0,26

Fonte: Lima (2010).

1.5.2 CANA-DE-AÇÚCAR COMO MATÉRIA-PRIMA

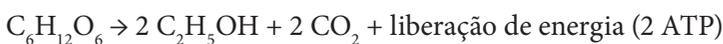
Como o nome indica, a cana-de-açúcar encerra açúcares em sua composição, sendo a sacarose predominante nas canas maduras. Trata-se de um dissacarídeo, carboidrato de forma geral $C_{12}H_{22}O_{11}$, composto de uma molécula de glicose e de uma de frutose. Por ação da luz, em presença de água, de minerais e da clorofila, o dióxido de carbono da atmosfera é transformado em carboidrato.

Suas características e qualidade como matéria-prima são descritas no capítulo “Produção de aguardente de cana-de-açúcar”, no volume 4 desta coleção.

1.6 BIOPROCESSO DE OBTENÇÃO DO ETANOL

O etanol tem origem no desdobramento de açúcares simples por ação de enzimas encontradas em microrganismos, entre os quais os mais importantes são as leveduras. O etanol se origina da ação dos microrganismos sobre os açúcares.

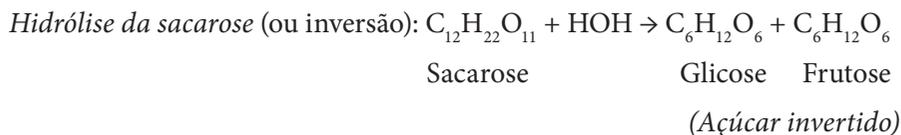
Entre os açúcares simples, a glicose e frutose (monossacarídeos) e a sacarose (dissacarídeo) ocupam lugar de destaque, componentes oriundos da seiva e dos sucos dos frutos. Sua decomposição é correntemente representada pela denominada equação de Gay-Lussac:



Glicose Álcool Dióxido de carbono

Os açúcares simples são diretamente fermentescíveis. Os dissacarídeos e os polisacarídeos devem ser hidrolisados primeiramente.

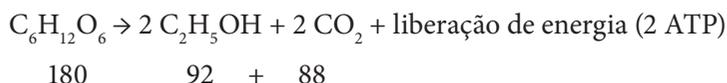
No caso da sacarose, a invertase da levedura hidrolisa o dissacarídeo a dois açúcares simples, ambos redutores. A invertase causa a formação do açúcar invertido, que é a mistura em partes iguais de glicose e de frutose, e depois os dois monossacarídeos são desdobrados em álcool e CO_2 , com liberação de energia térmica. A produção do álcool ocorre em duas fases:



1.7 RENDIMENTO EM ÁLCOOL NA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

Por meio das equações anteriores é possível determinar qual é o rendimento teórico da fermentação alcoólica de cada matéria-prima, expresso em álcool absoluto, ou a 100% de pureza.

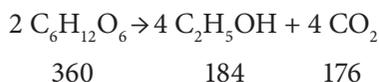
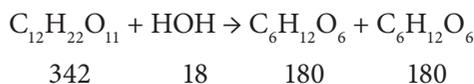
Monossacarídeos – glicose, frutose, açúcar invertido



$$180:92::100:x$$

$$x = (100 \times 92)/180 = 51,11 \text{ g de álcool absoluto}$$

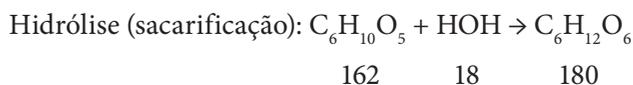
Dissacarídeos – sacarose, maltose



$$342:184::100:y$$

$$y = (100 \times 184)/342 = 53,80 \text{ g de álcool absoluto}$$

Polissacarídeo – amido ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)_n





$$180 \qquad 92 \qquad 88$$

$$162:92::100:z$$

$$z = (100 \times 92)/162 = 56,79 \text{ g de álcool absoluto}$$

Resumindo:

Tabela 1.2 Rendimento teórico de álcool absoluto em massa, usando monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos

Matéria-prima	Quilogramas de álcool absoluto	Rendimento (%)
Glicose, frutose, açúcar invertido	51,11	51,11
Sacarose, maltose	53,80	53,80
Amido	56,79	56,79

Utilizando a informação de que o peso específico do álcool a 100%, à temperatura de 15 °C, é de 0,7947, calcula-se o rendimento teórico em volume.

Massa = Volume × densidade, ou Volume = Massa/densidade

Tabela 1.3 Rendimento teórico de álcool absoluto em volume, usando monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos

Matéria-prima	Litros de álcool absoluto	Rendimento (%)
Glicose, frutose, açúcar invertido	64,31	64,31
Sacarose, maltose	67,70	67,70
Amido	71,44	71,44

Os rendimentos teóricos (ou estequiométricos) não são alcançados na prática por diversos motivos, tais como eficiência das leveduras, massa de leveduras empregada, instalação da destilaria, produtos secundários à fermentação, infecções dos mostos e outros mais decorrentes da complexidade do processo de fermentação.

1.8 PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE FERMENTAÇÃO

A matéria-prima não é suscetível à fermentação em seu estado natural. Preparar um meio de fermentação é condicioná-la às exigências técnicas e econômicas para submetê-la à ação dos microrganismos. Ela possui amido, glicose ou mistura de sacarose, glicose e frutose. O milho, raízes tuberosas, tubérculos e grãos contêm amido; sucos de frutas, caldo de cana-de-açúcar contêm mistura de sacarose, glicose e frutose, assim como os melaços. Uvas contêm glicose. No Brasil a quase totalidade do álcool industrial é produzida com cana-de-açúcar e melaço.

Nas destilarias, os mostos, ou seja, os substratos açucarados que se obtêm dessas matérias-primas, são preparados em dependências que contam com tanques de medição, balanças, diluidores mecânicos, depósitos de sais minerais e de antissépticos, aquecedores ou resfriadores, medidores de ácido e demais acessórios.

1.8.1 PREPARO DOS MOSTOS DE MELAÇO

O melaço é inicialmente diluído convenientemente com água. Alguns autores recomendam usar vinhaça na diluição, mas esse uso é restrito à obtenção de certos tipos de rum.

Há duas formas de diluição: de maneira contínua e em descontínuo.

A *diluição contínua* facilita o trabalho – é feita em misturadores onde água e melaço, ao serem escoados, contínua e concomitantemente provocam a diluição pela mistura dos dois fluxos, mas ela é imperfeita. Os inconvenientes são a diferença de viscosidade de cada fluido e a composição do melaço.

Além da diferença de viscosidade do melaço em relação à água de diluição, ele encerra ar ocluso, tem composição variável a cada turbinagem ou a cada cozimento, a temperatura também varia, e todos esses fatores contribuem para alterações frequentes da densidade, diferente em cada carga para o depósito. Ao retirar o melaço dos tanques de armazenamento, essas variáveis deixam sua marca e fica impossível calcular o peso do melaço pelo seu volume, pois esta relação muda constantemente em função das variáveis apontadas.

Por essas razões, a diluição em regime contínuo exige supervisão constante e rigorosa para enviar mosto de concentração adequada às dornas de fermentação. Esse fator é importante para determinar os rendimentos da fermentação em álcool e o controle da destilaria.

A *diluição descontínua* é feita em tanques providos de agitadores mecânicos individuais. Uma carga de água é colocada no tanque, o agitador é acionado e em seguida é feita uma carga de melaço. Por meio de areômetros é feito o controle da densidade do mosto. Com esse sistema é possível conseguir ajuste uniforme de todas as cargas de mosto destinadas à dorna de fermentação. O inconveniente da diluição descontínua é a exigência de mais de um tanque para garantir a alimentação completa da dorna.

Normalmente são usados três tanques de diluição: um em trabalho de diluição, outro de mosto já diluído e o terceiro em descarga. A diluição descontínua associada com uma balança de caldo ou de melaço permite saber a quantidade de açúcares que está em fermentação; é uma vantagem para os cálculos de rendimento da destilaria.

As concentrações dos mostos, nas destilarias brasileiras, são comumente expressas em graus Brix, e os melaços, diluídos de 15 °Brix a 25 °Brix, com médias de 16 °Brix a 18 °Brix.

Mostos muito diluídos fermentam mais rapidamente e sujam menos os aparelhos de destilação, mas requerem maior volume útil de dornas, mais espaço para elas, mais água para diluição e maior período de safra, além de favorecerem o surgimento de infecções.

Por outro lado, os muito concentrados ocasionam maiores perdas em açúcares não fermentados, temperaturas mais elevadas no processo e sujam mais os aparelhos de destilação. Entretanto, há diminuição do número de dornas e do período de safra.

É comum o uso de mostos mistos, mistura de melaço com caldo de cana. É normal o aparecimento de incrustações nas bandejas e calotas dos aparelhos de destilação quando se trabalha com mostos de melaço puro (SOUZA; LIMA, 1973).

1.8.2 PREPARO DOS MOSTOS DE CALDO DE CANA

O caldo de cana obtido por difusão deve ser resfriado antes de ser encaminhado às dornas.

Quando obtido pelo esmagamento das canas nas moendas, misturado com a água de embebição, é rico em sacarose e em açúcares redutores e está convenientemente diluído para ser fermentado pelas leveduras alcoólicas.

Embora seja possível fazer a fermentação com o caldo bruto, é prática comum clarificá-lo por meio de aquecimento, decantação e filtração para separar coloides, gomas e materiais nitrogenados. O caldo se torna um mosto mais limpo, fermenta melhor, espuma menos e suja menos os aparelhos de destilação. Após a clarificação, o caldo deve ser resfriado antes de ser encaminhado ao tratamento.

Para melhor desempenho do bioprocessamento, é recomendável trabalhar com concentração correspondente a 15 °Brix a 16 °Brix. O caldo muito rico deve ser ligeiramente diluído. Entretanto, é preciso evitar trabalhar com canas não perfeitamente maduras. Um caldo bruto com menos de 18 °Brix em geral não fermenta bem, e é conveniente aguardar que a matéria-prima atinja no mínimo os 18 °Brix, que já atestam maturação conveniente.

1.9 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O homem vem utilizando a fermentação alcoólica desde a mais remota Antiguidade; há mais de 4 mil anos os egípcios já fabricavam pão e produziam bebidas alcoólicas a partir de frutas e cereais. Entretanto, apenas em época relativamente recente,

quando comparada com as datas históricas longínquas, a fermentação foi relacionada com a levedura, fungo amplamente distribuído na natureza e capaz de sobreviver em condições aeróbias e anaeróbias. Ela foi notada pela primeira vez por Antonie van Leewenhoek (1623-1723) ao observar amostra de cerveja em fermentação em seu microscópio rudimentar.

Após 1815, quando Gay-Lussac formulou a equação estequiométrica da fermentação, Pasteur comprovou a natureza microbiológica da fermentação alcoólica como um processo anaeróbio, isto é, a manifestação da vida em ausência de ar (oxigênio). A partir daí, sobretudo nas primeiras décadas do século XX, foram sendo elucidadas as reações enzimáticas da transformação química do açúcar em etanol e dióxido de carbono no interior da célula.

A produção de pão, de cerveja, de vinho e de outras bebidas alcoólicas e, em data mais recente, a obtenção de combustível alternativo e renovável são processos biotecnológicos que dependem das leveduras do gênero *Saccharomyces*. Como consequência, ela passou a ser o microrganismo eucariótico (célula com núcleo organizado e processos metabólicos compartimentados) mais estudado e de metabolismo mais conhecido. Novas descobertas sobre o mecanismo de regulação metabólica em leveduras continuam a merecer a atenção dos pesquisadores.

1.9.1 METABOLISMO NO INTERIOR DA CÉLULA

Doze reações em sequência ordenada presidem a transformação de açúcar em etanol e dióxido de carbono, cada uma catalisada por uma enzima específica. Esse complexo enzimático está incluso no citoplasma celular, local onde se processa a fermentação alcoólica (Figura 1.2).

As enzimas ditas glicolíticas são afetadas por diferentes fatores (inibidores, nutrientes, vitaminas, produtos do próprio metabolismo, pH, temperatura e outros), alguns estimulando e outros reprimindo a ação enzimática, com reflexos sobre o desempenho do processo desenvolvido pelas leveduras.

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são aeróbias facultativas, o que significa que podem se adaptar, metabolicamente falando, a condições de aerobiose e de anaerobiose (ausência de oxigênio molecular). Os produtos finais da metabolização dos açúcares dependem das condições em que as leveduras se encontram no meio.

Uma porção de açúcar é transformada em biomassa, dióxido de carbono e água em meio oxigenado. Quando em anaerobiose, é convertida em etanol e dióxido de carbono. Os carboidratos considerados substrato para fermentação podem ser endógenos (constituintes do microrganismo, como glicogênio e trealose) ou exógenos, fornecidos durante o processo (sacarose, glicose, frutose e outros).

Durante o metabolismo dos açúcares a levedura gera energia (ATP – adenosina trifosfato) necessária para realizar as atividades fisiológicas (absorção, excreção) e biossínteses necessárias para crescimento, manutenção de vida e reprodução, perpetuação da espécie, em resumo.

O etanol e o CO_2 resultantes são produtos de excreção sem utilidade metabólica para a levedura em anaerobiose. Entretanto, quando em aerobiose, o etanol e outros produtos excretados, como glicerol e ácidos orgânicos, podem ser oxidados por via metabólica e geram mais ATP e biomassa.

1.9.2 PRODUTOS SECUNDÁRIOS DA FERMENTAÇÃO

Na sequência de reações enzimáticas de produção de energia (ATP) e de etanol, há rotas metabólicas alternativas que levam à formação de materiais necessários para a constituição de massa celular (polissacarídeos, lipídeos, ácidos nucleicos, proteínas e outros) e formação de outros produtos importantes para adaptação e sobrevivência do microrganismo.

Concomitantemente com etanol e dióxido de carbono, são formados e excretados glicerol, ácidos orgânicos (succínico, acético, pirúvico), alcoóis superiores, aldeído acético, acetoína, butilenoglicol e outros de menor significado. Ao mesmo tempo é formada biomassa, pelo crescimento das leveduras.

Admite-se que 5% do açúcar metabolizado pela levedura são consumidos para a geração dos produtos secundários da fermentação, resultando que a equação estequiométrica de rendimento (descrita anteriormente) fique reduzida a 95%, no máximo. Esse resultado foi enunciado por Pasteur, quando trabalhou com mostos sintéticos, e denominado por alguns autores como rendimento Pasteur, o máximo possível em condições práticas. Entretanto, esse rendimento não é normalmente alcançado, sendo admitido que, na indústria, 10% dos açúcares são consumidos para a geração de produtos que não o etanol. Segundo esse raciocínio, deve-se considerar três tipos de rendimento na fermentação: rendimento teórico ou estequiométrico, rendimento Pasteur e rendimento prático. Um rendimento de 90% é considerado como ótima eficiência fermentativa. A Tabela 1.4 ilustra diferentes eficiências fermentativas.

O glicerol, o mais abundante produto secundário da fermentação, é formado e depende do equilíbrio do poder redox celular que se altera quando da formação de ácidos orgânicos, massa celular e presença de sulfito no mosto. O estresse osmótico causado por concentrações elevadas de açúcares ou de sais minerais nos mostos influencia a formação de glicerol.

Quanto à formação do ácido succínico por razões fisiológicas, não há conclusão definitiva, mas é aceito que sua produção é afetada por meio fermentativo inadequado. Não há evidência da necessidade metabólica desse ácido para a levedura, mas é aceito que sua presença favorece a competitividade das leveduras com as bactérias contaminantes. A hipótese é de que atue em sinergia com o etanol com atividade antimicrobiana durante a fermentação alcoólica.

Oferecer um meio de fermentação adequado, ou seja, corrigido e adicionado de elementos que favorecem a conversão de açúcar em etanol com o mínimo de formação de produtos secundários, significa oferecer à levedura condições para sua atividade metabólica com o máximo de rendimento no produto principal, o etanol, sem prejudicar as atividades metabólicas do microrganismo.

Tabela 1.4 Proporção dos diversos produtos de fermentação alcoólica em g/100 g de glicose metabolizada, de acordo com fontes e eficiência fermentativa diferentes

Produto obtido	Pasteur 95%	Jackman (1987) 90% a 95%	Basso et al. (1996) 85% a 92%
Etanol	48,5	45,0-49,0	43,0-47,0
Dióxido de carbono	46,4	43,0-47,0	41,0-45,0
Glicerol	3,3	2,0-5,0	3,0-6,0
Ácido succínico	0,6	0,0-1,5	0,3-1,2
Ácido acético	–	0,0-1,4	0,1-0,7
Óleo fúsel	–	0,2-0,6	–
Butilenoglicol	–	0,2-0,6	–
Massa celular (seca)	1,2	0,7-1,7	1,0-2,0

Fonte: Lima, Basso e Amorim (2001).

1.9.3 FATORES QUE EXERCEM INFLUÊNCIA NA FERMENTAÇÃO

O bom desempenho de um processo fermentativo depende de fatores físicos, químicos e microbianos. Físicos, a temperatura e a pressão osmótica; químicos, a reação do meio, oxigenação, os nutrientes minerais e orgânicos e a ocorrência de inibidores. São fatores microbianos a espécie, a linhagem, a concentração do microrganismo eleito para o processo e a presença de contaminantes.

A redução da eficiência fermentativa conduz a alteração na estequiometria do processo e causa aumento na formação de produtos secundários, com predominância de glicerol e ácidos graxos, e aumento na massa celular.

1.9.3.1 Agente de fermentação

As leveduras foram os primeiros microrganismos visualizados em um meio em fermentação, por Leewenhoek em seu rudimentar microscópio. Mais tarde foram devidamente identificadas, e depois pesquisadores observaram que havia bactérias capazes também de produzir álcool, entre as quais a *Zynomonas mobilis*. Industrialmente, porém, as leveduras continuam sendo os agentes mais conhecidos e estudados de fermentação alcoólica.

A levedura de fermentação alcoólica por excelência é a *Saccharomyces cerevisiae*, responsável por muitas linhagens selecionadas, tais como *S. ellipsoideus*, *S. carlsbergensis*, *S. uvarum*. Tidas como espécies diferentes, isoladas de meios distintos, por estudos relativamente recentes, foram consideradas como *S. cerevisiae*, com designação

particularizada para linhagens diversas, de características próprias, de acordo com as condições em que o bioprocessamento se desenrola.

O desempenho do processo fermentativo depende do tipo de levedura que o executa. Seria melhor dizer tipo de “fermento que o executa”, fermento designando o inóculo, a maneira como a levedura foi adquirida ou preparada, ou ainda a massa de microrganismos que realiza a decomposição dos açúcares em um meio de fermentação. Nesse sentido, há três tipos básicos de fermento.

O *primeiro* a considerar é um inóculo preparado com células de levedura pura obtida de uma coleção de cultura, em tubos de cultura ou em tubos contendo células liofilizadas, isoladas e purificadas em uma instituição especializada. De maneira geral, elas foram examinadas e têm suas características de desempenho registradas. As células, também identificadas como unidades formadoras de colônia (UFC), são isoladas e puras, mas para serem usadas industrialmente devem ser primeiramente desenvolvidas em meios próprios e em condições assépticas até apresentarem um número de células apropriado para fermentar os volumes de meio normalmente usados nas destilarias.

O *segundo* é o denominado fermento de panificação, uma biomassa desenvolvida industrialmente por companhias especializadas, distribuída em blocos úmidos ou sob a forma seca, geralmente em pérolas minúsculas. Sob a forma úmida é conhecido como fermento prensado, comercialmente designado pela razão social da empresa fabricante, e em pérolas, como fermento seco. Esse tipo de inóculo apresenta a vantagem de poder ser adquirido em massa ou volume suficiente para qualquer quantidade de meio industrial. Pode ser usado imediata e independentemente de desenvolvimento prévio de células, para iniciar e manter um processo fermentativo. Em geral, esse fermento em geral encerra contaminantes, ou seja, outras espécies de microrganismos que não leveduras alcoólicas, comumente bactérias. Sua preparação é executada em boas condições de assepsia, e o fermento contém número suficiente de células para trabalhar de imediato com grandes massas ou volumes de meio. É conhecido como fermento de panificação graças a seu uso em grande escala nas panificadoras, diuturnamente, uma vez que fabricado o principal produto, o pão, as leveduras são destruídas no forneamento. Sua pureza é adequada para o fim a que se destina. Para uso em destilarias há a necessidade de cuidados em seu uso e manutenção, pois pode ser recuperado e reusado em novas fermentações. A facilidade de uso e de aquisição difundiu rapidamente seu emprego nas destilarias.

O *terceiro* tipo básico de inóculo, comumente designado “fermento caipira”, ou “fermento natural”, é um inóculo obtido a partir de leveduras existentes nos meios naturais a fermentar, leveduras ocorrentes na natureza sobre folhas, caules, flores e frutos. Por essa razão, também são conhecidas como leveduras naturais, ou selvagens, à falta de melhor denominação. As células que ocorrem naturalmente são capazes de fermentar os açúcares da matéria-prima natural, porém, para que o bioprocessamento industrial seja eficiente e econômico, é necessário multiplicá-lo até um valor adequado. É um trabalho relativamente fácil, mas exige conhecimentos, ainda que rudimentares, das exigências metabólicas do microrganismo.

1.9.3.2 Exigências nutricionais

As leveduras são organismos saprófitos e, como tal, exigem uma fonte de carbono (glicose ou outro açúcar) que forneça energia química e a estrutura carbônica da constituição celular, formada predominantemente de carbono, oxigênio e hidrogênio.

Algumas vitaminas, como ácido pantotênico e tiamina, são essenciais. Além disso, o meio deve fornecer nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em mínimas quantidades.

A *Saccharomyces cerevisiae* utiliza nitrogênio sob a forma amoniacal (NH_4^+), amídica (ureia) ou amínica (aminoácidos), mas não metaboliza N sob a forma de nitratos e não metaboliza proteínas do meio.

O fósforo é absorvido como íon H_2PO_4^- predominante em pH 4,5, e o enxofre pode ser assimilado como sulfato, sulfito e tiosulfato. A exigência em enxofre não é grande, e quando a matéria-prima for melaço residual de açúcar sulfitado haverá elemento residual suficiente para a levedura, tanto quanto pode ser fornecido pelo ácido sulfúrico usado no tratamento do fermento.

A Tabela 1.5 indica as necessidades dos nutrientes para a levedura, mas que eventualmente não precisam ser adicionados aos mostos porque existem na matéria-prima em teor satisfatório. Entretanto, podem ocorrer deficiências que necessitem de correção como, por exemplo, quando o mosto é de caldo de cana imperfeitamente madura, deteriorada por alguma razão, colhida em tempo superior ao recomendado, ou resultante de incêndio acidental de canavial e outros.

Com os mostos de melaço também é possível haver exigência de correções para bom desempenho fermentativo das leveduras.

Tabela 1.5 Concentração de nutrientes minerais nos mostos para se obter adequada fermentação alcoólica

Nutriente	Concentração em mg/L	Nutriente	Concentração em mg/L
NH_4^+	40-5900	Co^{++}	3,5
P	62-560	Co^{++}	10
K^+	700-800	Zn^{++}	0,5-10
Ca^{++}	120	Cu^{++}	7
Mg^{++}	70-200	Mn^{++}	10-13
SO_2^-	2-280	Mn^{++}	10 (10-80)
Na^+	200	Fe^{++}	0,2

Fonte: Lima, Basso e Amorim (2001); Amorim (1977); Lima (1953, 1962).

1.9.3.3 Temperatura

As leveduras são microrganismos mesófilos, e a temperatura considerada ótima para a produção de etanol se encontra no intervalo de 26 °C a 35 °C, com média de 30 °C. Entretanto, não raramente, a temperatura na destilaria alcança 38 °C. À medida que a temperatura aumenta, aumenta a velocidade da fermentação, o que, porém, favorece a contaminação bacteriana, ao mesmo tempo que o microrganismo fica mais sensível à toxicidade do etanol. As temperaturas elevadas favorecem a perda de álcool por arrastamento em dornas abertas. Há locais em que, em certa época do ano, a água de refrigeração das dornas, proveniente diretamente de cursos d'água, é mais alta do que 38 °C. Tais condições justificam o controle de temperatura no processo industrial.

1.9.3.4 Reação do meio

As fermentações nas destilarias de etanol se desenvolvem em amplo intervalo de pH, sendo o adequado entre 4 e 5. Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram no intervalo de 4,5 a 5,5, com boa capacidade tamponante, especialmente se preparados com melaços. É comum o uso de mostos mistos, dependendo das condições de trabalho nas destilarias.

No processo de fermentação com reciclagem de leveduras, o tratamento das células separadas é feito durante uma hora em pH de 2,0 a 3,2, com o fim de reduzir a contaminação bacteriana. A fermentação alcoólica inicia com valores baixos de pH e finaliza com valores mais altos, de 3,5 a 4,0. O bioprocessamento conduzido em meios mais ácidos resulta em maiores rendimentos em etanol, com conseqüente redução de glicerol, concomitantemente com menor contaminação bacteriana. Entretanto, fermentações alcoólicas se desenvolvem bem em valores mais elevados de pH (5,8 a 5,9) em substratos de alto poder tampão, como os de melaços. Os caldos de cana, em geral, fermentam sem correção de acidez, em pH natural, que varia de 4,0 a 5,4. A tolerância à acidez é característica importante das leveduras.

1.9.3.5 Inibidores

O bioprocessamento pode ser inibido pelos seus próprios produtos, como o etanol, e por substâncias eventualmente presentes nos mostos, ou a eles deliberadamente adicionados. Minerais, como cálcio e potássio, que podem ser encontrados em quantidades excessivas quando se usa melaços, acarretam efeitos negativos. O alumínio é elemento estressante das leveduras em condições de fermentação industrial e pode causar queda da viabilidade do microrganismo, assim como dos teores de trealose da levedura.

A sulfitação do caldo de cana para sua clarificação pode resultar em elevados valores residuais de sulfito nos melaços e, em conseqüência, efeitos tóxicos à levedura, comprometimento da fermentação e elevação da acidez do álcool produzido. Todavia, em mostos com elevada contaminação bacteriana, sua presença pode ser benéfica, pois contribui para a redução dos contaminantes.

1.9.3.6 Concentração de açúcares

Devido ao aumento da concentração de açúcares, há aumento do rendimento em álcool e, até certo ponto, da velocidade do processo, menor multiplicação das leveduras e de formação de glicerol. Forte aumento de concentração de açúcares pode causar estresse osmótico, motivo pelo qual há um intervalo no teor de açúcares considerado ótimo, medido e controlado pelo teor de sólidos em solução no mosto. Esse teor varia de acordo com a matéria-prima empregada no preparo do meio de fermentação, pura ou mista. Com relação aos mostos de melaço, o teor varia de acordo com a riqueza do material original, por sua vez dependente dos métodos de cozimento do açúcar.

1.9.3.7 Concentração do inóculo

A concentração de leveduras na dorna influi no rendimento ou na produtividade do álcool, conforme se meça apenas o teor de álcool produzido ou o teor e o tempo de fermentação. Um maior número de células, teoricamente, acelera a produção, diminui o efeito dos contaminantes e também a reprodução celular. Também, maior número de células conduz a maior consumo de açúcares (e de energia) para manter a vitalidade das leveduras; haverá maior consumo de açúcares, de nutrientes (orgânicos e minerais) e de fatores de crescimento. Para que o processo industrial decorra com efetividade e economia, é preciso manter um teor adequado de células no meio, ou seja, um número ótimo, para o qual não há como exercer um controle exato. Por essa razão, o número de células é muito elevado, mas varia entre limites amplos, praticamente impossíveis de manter com exatidão.

O excesso de células no meio em fermentação pode ocorrer por desequilíbrio do teor de nitrogênio amoniacal e pela velocidade de reciclagem da levedura. Há uma técnica que visa reduzir a multiplicação celular por tratamento com ácido benzoico, pretendendo diminuir a formação de glicerol e aumentar o rendimento do bioprocessamento em consequência. Há redução da formação de ácido succínico pela levedura e redução do antagonismo às bactérias, mas, com a recirculação frequente, perde-se a ação desejada do ácido benzoico.

1.9.3.8 Contaminação bacteriana

Não se impede a contaminação bacteriana nos processos fermentativos para produção de etanol, porque não há prática de esterilização dos mostos. Poderia haver, pois existem técnicas de esterilização viáveis, mas a tecnologia industrial de produção de etanol não as usa porque o custo de produção seria aumentado sem benefícios justificáveis. A fabricação do álcool é um processo de alto investimento para que se possa obter um produto de baixo custo e altíssima pureza, e a introdução de esterilização dos mostos aumentaria o custo de produção.

A contaminação bacteriana é contornada com artifícios, tais como o uso de grandes concentrações de leveduras para diminuir efeitos das bactérias. É relativamente

fácil trabalhar com grandes concentrações de leveduras, graças à sua maior facilidade de crescimento em relação às bactérias, o que faz com que a rapidez da fermentação alcoólica suplante a ação bacteriana. Quando isso não ocorre, o recomeço do processo, com lavagem dos equipamentos, novo inóculo preparado em estado de maior pureza, controlado com relação a nutrientes e a uma nova multiplicação celular, retoma de pronto a uniformidade do trabalho da destilaria.

As contaminações bacterianas mais comuns são as causadas por espécies de *Lactobacillus*, às quais se atribuem, por fenômenos ainda não bem explicados, a floculação das leveduras, que complica o bioprocessamento e afeta a prática da destilação. Atribui-se o fenômeno de floculação à presença de ácido láctico. Esta, na prática de algumas destilarias, é eliminada pela adição de doses maciças de ácido sulfúrico no momento do tratamento das células recicladas, até que o efeito da floculação desapareça. Esse costume apresenta o defeito de gastar ácido excessivamente, com aumento de custo e com efeitos nocivos aos aparelhos, tubulações e bombas.

Cada sala de fermentação emprega técnicas próprias para evitar o efeito nocivo das contaminações bacterianas, incluindo o uso de antissépticos, cujos resultados nem sempre são absolutamente positivos.

1.9.3.9 Antissépticos

Como foi dito, não é usual fazer a esterilização dos meios de fermentação nas destilarias de álcool e de aguardente. Quando se trata da fermentação do caldo de cana puro, a prática de clarificá-lo por aquecimento e decantação causa redução da carga microbiana natural (leveduras e bactérias), mas não realiza esterilização em sua completa acepção. Para controlar o problema das contaminações são usados antissépticos a fim de estabelecer condições favoráveis ao desenvolvimento das leveduras e desfavoráveis a outros microrganismos.

Em outros termos, os antissépticos são substâncias inibidoras de crescimento de microrganismos não produtores de álcool; em certos casos eles podem ser estimulantes das leveduras ao mesmo tempo que inibem bactérias e outros fungos. Os antissépticos podem atuar como bactericidas ou bacteriostáticos, mas o efeito desejado é um só: conseguir um meio que favoreça o desempenho das leveduras alcoólicas.

A bibliografia lista vários antissépticos: colofônia, ácido sulfúrico e hexaclorofeno. Em meados do século XX foi ensaiado com resultados positivos o uso de mínimas quantidades de pentaclorofenato de sódio, porém seu uso foi proibido por causa de seu caráter venenoso. O hexaclorofeno foi usado com sucesso em dose de 4 mg por litro de mosto.

Atualmente, não há antissépticos de uso generalizado. O ácido sulfúrico, que é um corretor da reação do meio, demonstra ação antisséptica e bacteriostática quando aplicado no tratamento de células recicladas.

1.9.3.10 Antibióticos

Em vez de antissépticos, foi verificado que determinados antibióticos (penicilina, cloranfenicol, tetraciclina e clorotetraciclina) podem ser usados nos mostos de destilarias, com a mesma finalidade dos antissépticos. Sua ação é bacteriostática. A penicilina tem ação eficaz contra contaminações; em dose de 500 UI a 1.000 UI por litro de mosto contribui para desenvolvimento de fermentações puras e regulares e apreciável aumento de rendimento em álcool. A aplicação é econômica e não exige modificação nas técnicas da destilaria e nos aparelhamentos.

1.10 CORREÇÃO DOS MOSTOS

A correção dos mostos é o seu condicionamento para obter fermentações uniformes, regulares, homogêneas e o mais puras possível. O conhecimento dos fatores que influem na fermentação orienta sua execução, que depende da natureza da matéria-prima a ser trabalhada.

Os mostos de melaço normalmente são preparados pela diluição com água potável. Em determinados casos é feita a adição de superfostato e sulfato de amônio. Tem sido costume adicionar ureia, sob a afirmação de que é tratamento mais barato. Entretanto, evidências de que a ureia contribui para a formação de carbamato de etila nos destilados desaconselham sua adição, como ocorreu no passado com o uso de pentaclorofenato de sódio, excelente antisséptico.

Quando se trabalha com caldo de cana puro, é necessária correção mais cuidadosa para oferecer condições de nutrição à levedura, que normalmente não se encontram no caldo. Nas destilarias de aguardente é usual fazer a adição de superfostato, sulfato de amônio e farelo de arroz na proporção de 1 g/L de mosto. O farelo de arroz é boa fonte de vitaminas e de proteínas. Melhores resultados são alcançados quando o caldo de cana também é tratado com 0,1 g/L de sais de magnésio e 0,01 g/L de sais de cobalto e de manganês. Além da diluição e da adição dos nutrientes, é aconselhável tratar com antissépticos e antibióticos e corrigir a temperatura.

É aconselhável que o caldo apresente acidez titulável de 1 g a 2 g, expressa em acidez sulfúrica, e pH 4 a 5. Em mostos de poder tampão elevado, como os de melaços, nem sempre é possível conciliar na prática industrial o teor de acidez titulável com o valor de pH. Após a correção dos meios os substratos são inoculados e tem lugar o processo de produção do etanol nas dornas.

1.11 PREPARO DO INÓCULO

Nas pequenas cantinas e destilarias de aguardente é comum fermentar com os microrganismos naturais, que acompanham a matéria-prima e, obviamente, seus caldos.

1.11.1 INÓCULO COM CULTURA PURA

Nas grandes instalações, o inóculo é preparado com leveduras selecionadas e puras, tolerantes a altas concentrações de etanol e com boa velocidade de fermentação. Essas leveduras são adquiridas em instituições especializadas que as liberam em tubos de cultura, sobre meio sólido de manutenção, ou em tubos em que são conservadas por liofilização. O inóculo é preparado por multiplicação em condições laboratoriais, para manter a pureza das culturas.

É trabalho simples, porém que exige técnica apurada de manipulação, como em laboratório microbiológico, a fim de multiplicar o número de células de leveduras até um valor suficientemente grande para enfrentar as condições industriais, distantes das encontradas nos laboratórios.

Para obter esse tipo de inóculo, os microrganismos liofilizados, ou a colônia do meio sólido, são transferidos para um pequeno volume de meio líquido bem diluído, esterilizado e preparado com todos os nutrientes, corrigido com relação à acidez. A seguir, o meio é colocado em estufa de temperatura controlada para incubar. Esse pequeno volume fermenta e ao final é transferido para um volume cinco vezes maior de meio preparado como o primeiro, mantido em temperatura controlada. Finalizada a fermentação, é feita nova transferência para meio esterilizado em recipiente maior e segue-se a série de transferências até um volume de 50 L a 100 L em um fermentador provido de dispositivo de esterilização, resfriamento e aeração.

Esse fermentador serve de propagador para volumes maiores, até que se tenha obtido um volume de inóculo pelo menos igual a 10% do volume da dorna de fermentação, geralmente fechada e provida de sistema de resfriamento. A Figura 1.3 ilustra esse preparo de inóculo com cultura pura, mostrando duas etapas, uma de laboratório e outra industrial.

Esse tipo de inóculo e fermentação, conhecido por processo clássico de fermentação, é trabalhoso, embora permita obter fermentações de alto rendimento. Modernamente, leveduras selecionadas podem ser adquiridas sob forma liofilizada, o que simplifica muito seu uso, mas, em face do grande tamanho das dornas, uma fase de desenvolvimento do microrganismo tem de ser executada para atender ao grande volume de cada recipiente. Há uma ressalva a observar, como na preparação do fermento com leveduras de panificação: o custo.

Essa multiplicação pode continuar a ser esquematicamente representada pelo desenho clássico da Figura 1.3.

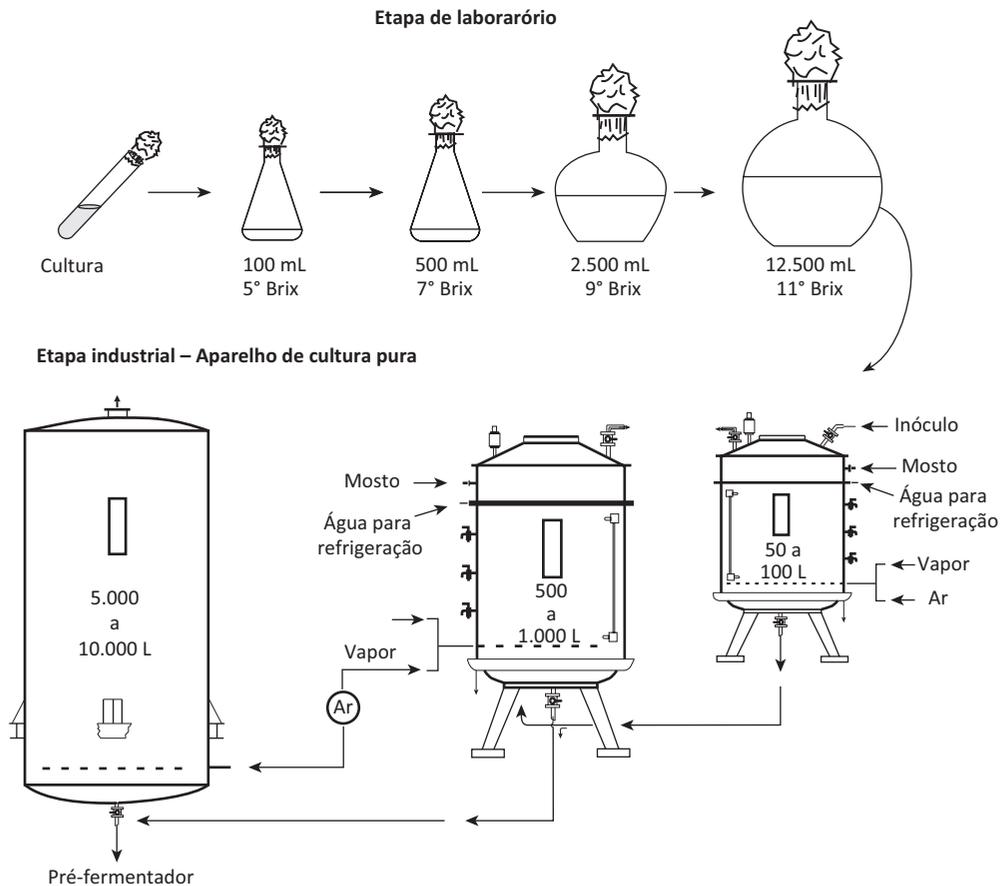


Figura 1.3 Esquema de preparo de inóculo a partir de cultura pura e selecionada de levedura.

1.11.2 BIOPROCESSO COM FERMENTO DE PANIFICAÇÃO

Para acelerar o trabalho industrial, as destilarias preferem usar um inóculo preparado com fermento de panificação prensado, úmido, ou o fermento seco granulado. O inóculo pode ser preparado com grande massa de células desde o primeiro momento, empregando de 10 g a 20 g desse material por litro de mosto.

Em uma dorna de 200 mil litros é possível colocar 2 t de fermento e adicionar mosto preparado de uma vez até encher o recipiente, dando início ao trabalho industrial. No entanto, esse procedimento não é comum e geral, porque o custo de aquisição inicial do fermento é alto. Por esse motivo, as destilarias preferem comprar certa quantidade, colocar na dorna e adicionar meio de fermentação em volume suficiente para dar partida à multiplicação gradativa de células e de maneira mais econômica. É comum começar uma safra com a aquisição de fermento para 1.000 a 10 mil L iniciais; o custo é relativamente baixo, viável e em poucos dias a destilaria passa a operar em sua máxima capacidade após ter desenvolvido um inóculo adequado. Essa observação também é válida para dornas de maior volume.

1.12 PRÁTICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O bioprocesso inicia no momento em que o inóculo é colocado em contato com o mosto; as leveduras começam a desdobrar os açúcares nele contidos. É costume considerar que a fermentação ocorre em três fases distintas, embora não haja limites rígidos de separação entre elas: *fase preliminar*, *fase tumultuosa* e *fase complementar* ou *final*. O tempo de duração de cada uma pode variar, assim como o aspecto do mosto em processo. A experiência industrial permite identificá-las.

A *fase preliminar*, também denominada *fase lag*, ou *lag-fase*, inicia quando mosto e inóculo são colocados em contato. Ela se caracteriza por multiplicação de células, pequena elevação de temperatura e pequeno desprendimento de dióxido de carbono com formação de pouca espuma. Há gradativo aumento de células de elevado poder fermentativo e criação de espuma que se espessa aos poucos. A duração dessa fase é variável segundo o sistema de fermentação adotado na destilaria; ela pode ser reduzida ao valor mínimo se for usado um inóculo volumoso, preparado por pré-fermentação, ou usando grande volume de células recicladas. Com isso, a segunda fase é iniciada quase imediatamente, com ação imediata de desdobramento dos açúcares. Não significa que não haja multiplicação celular, mas ela é sensivelmente reduzida.

A *fase tumultuosa* se caracteriza por intenso desprendimento de gás carbônico, formação de grande volume de espuma e aumento de temperatura, que exige observação sobre a necessidade de seu controle durante essa fase, que é a de maior duração. A temperatura se eleva com rapidez, a densidade do mosto diminui enquanto se elevam o teor de álcool e a acidez. O meio se agita como em ebulição. O inconveniente da elevação excessiva de temperatura é controlado pelo resfriamento, feito por meio de diferentes sistemas. Nas destilarias de grande capacidade são comuns os trocadores de calor de placas.

O desprendimento de dióxido de carbono é evidente pela formação de espuma, cujo aspecto varia para cada raça de levedura e características específicas de cada mosto. No caldo de cana não clarificado é espessa, viscosa e volumosa, a ponto de transbordar em dornas abertas. Ao contrário das fermentações de mostos preparados com caldo clarificado, ou mostos de melaço, não reagem bem à adição de antiespumantes comumente usados nas destilarias de álcool. Nos mostos de melaço as espumas se desfazem facilmente com antiespumantes preparados com óleo vegetal misturados com ácido mineral. Antiespumantes químicos são encontrados à venda.

A *fase complementar* se caracteriza pela diminuição da intensidade do desprendimento de dióxido de carbono, por menor agitação do líquido e redução da temperatura. Nessa fase a presença de açúcares chega ao fim.

A partir do início do processo fermentativo há aumento gradual da proporção de álcoois superiores, porém admite-se que na fase complementar o aumento é mais significativo.

A duração total do processo fermentativo em descontínuo varia conforme o volume de inóculo e a maneira de alimentá-lo. Um grande volume de inóculo reduz o período de multiplicação das leveduras, característico da fase inicial.

A alimentação do inóculo de uma só vez, em carga única, dificulta a atividade inicial das leveduras. A concentração inicial de açúcares é alta e o processo é mais demorado. Ao contrário, a alimentação contínua e bem dosada propicia a redução do tempo.

O inóculo é um creme rico em células e pobre em açúcares; em contato com o mosto, causa sua diluição e favorece a manutenção de baixa concentração de açúcares no fermentador até seu enchimento.

Praticamente não há fase preliminar, e sim fermentação principal desde o início da adição de mosto. O processo se desenvolve de maneira mais uniforme, menos intensamente, produz menos espuma e menor perda de álcool arrastado por ela. A alimentação contínua por lento escoamento de mosto, alimentação em filete como se pode definir, permite manter o mosto em baixa concentração de açúcares, com menor arrastamento de álcool e menor elevação de temperatura.

Não sendo possível executar esse tipo de alimentação, é aconselhada a alimentação intermitente em pequenas cargas, que também mantém o mosto fermentando em baixa concentração de açúcares, com os benefícios assinalados. Como os práticos sabem, o efeito é parecido.

1.13 VERIFICAÇÃO PRÁTICA DA PUREZA DO PROCESSO MICROBIANO

O processo industrial é rústico e, não raras vezes, se desenvolve em condições tecnicamente adversas: canas cortadas há muitos dias, secas, infectadas com diversos tipos de microrganismos em mostos sujos de terra são fatos muito mais comuns em uma destilaria do que se possa pensar. A rusticidade do processo é compensada pela capacidade biológica das leveduras, bastando que se lhes ofereça concentração adequada de açúcares, nutrientes e alguns desinfetantes para que o processo se desenvolva satisfatoriamente. Entretanto, frequentemente ocorrem contaminações que prejudicam o rendimento econômico, inconveniente que se contorna com supervisão constante para evitar ou suprimi-las. O controle do processo microbiano é feito por tópicos, conforme descrito a seguir:¹

- *Tempo de fermentação.* Nos processos descontínuos a medida de sua duração média varia de acordo com a forma como se conta o tempo, se a partir do momento em que mosto e inóculo são colocados em contato, ou se após o enchimento das dornas. O tempo é mais curto em mostos de melaço e de caldo de cana e mais longo em mostos amiláceos. Registrados os tempos médios despendidos numa destilaria de acordo com os procedimentos técnicos adotados, alteração para mais ou para menos é motivo relevante na observação do processo e eventual sinal de atenção para seu controle.

¹ Ver também “Operações de instalações”, no Capítulo 16 do volume 2 desta coleção.

- *Odor na fermentação.* O aroma emanado dos processos puros e sadios é penetrante, ativo e tende para odor de frutas maduras. Odor a ranço, ácido, ácido sulfídrico e outros indica irregularidade.
- *Aspecto da espuma.* A natureza do mosto, a temperatura e a raça (estirpe, linhagem) da levedura fazem variar a espuma, mas nas mesmas condições da fermentação apresenta aspecto típico e característico. Alterações nessas características indicam irregularidade, que deve ser sanada.
- *Drosófilas.* Quando se instala infecção acética invariavelmente aparecem “moscas do vinagre” em número proporcional à contaminação.
- *Temperatura.* A temperatura varia durante o processo fermentativo; aumenta de forma uniforme até a fase tumultuosa e diminui no sentido da fase complementar e fim do processo. Sua representação por uma curva revela um desenho uniforme de acréscimo até um máximo, seguido de decréscimo, correspondentes às fases da atividade de transformação dos açúcares em etanol. Alteração nesse comportamento indica defeitos no processo.
- *Densidade do mosto.* Durante a fermentação a transformação dos açúcares em etanol reduz gradativamente seu teor e a densidade, como consequência. Irregularidades nessa redução indicam defeitos no processo. A redução na concentração de açúcares é comumente medida pela diminuição da densidade, ou da percentagem de sólidos em solução, por meio de areômetros ou por refratômetros.
- *Açúcares no mosto.* São consumidos pelo trabalho das leveduras e sua indicação segue a curva de redução da densidade. A desuniformidade na medida indica defeitos no processo.
- *Acidez no substrato em fermentação.* Do começo ao fim do processo fermentativo ocorre acréscimo na acidez titulável. Num processo normalmente sadio, não deve haver grande diferença entre a acidez titulável inicial e final. Quando a acidez final for maior do que o dobro da inicial é sinal de que há defeitos no processo.

1.14 SISTEMAS DE FERMENTAÇÃO

Há processos descontínuos e contínuos. Os descontínuos são milenares, e os contínuos tiveram seu uso industrial iniciado na década de 1940 e prosseguiram na década de 1950. Entretanto, o estímulo para aumentar sua implantação foi gerado quando do fomento da produção de etanol para uso como combustível líquido alternativo. Aconteceu durante e após a crise econômica causada pela alta do preço do petróleo, na década de 1970.

Nos processos industriais descontínuos, distinguem-se quatro sistemas, que podem ser definidos como sistema de reaproveitamento de inóculo (ou de “pés de cuba”), sistema de cortes, sistema com culturas puras e sistema de recuperação de leveduras.

- *Sistema de reaproveitamento de inóculo.* Talvez o mais antigo de todos, comumente empregado nas destilarias de álcool de pequena capacidade e destilarias de aguardente. Por esse método, ao fim do processo fermentativo o mosto é deixado a esfriar por algum tempo para sedimentar as leveduras, e o substrato fermentado e sobrenadante (vinho) é retirado para a destilação. O material sedimentado no fundo da dorna constitui o inóculo para nova fermentação. Denominado “pé de cuba”, é tratado convenientemente e alimentado com novo mosto para dar início a outro ciclo fermentativo.
- *Sistema de cortes.* Depois de completado o processo fermentativo, o mosto é dividido em duas partes, não necessariamente iguais, passando uma para outro recipiente vazio. Os dois recebem nova carga de mosto e são deixados a fermentar. Ao final, o conteúdo de um recipiente segue para destilação e o do segundo recipiente é dividido em dois, para receber nova carga e seguir o processo. Em resumo, um recipiente é enviado para a destilaria e o outro serve para produzir inóculo para mais dois e assim por diante, durante a safra.
- *Sistema de cultura pura.* Também denominado sistema clássico de fermentação (ver item 1.11, “Preparo do inóculo”, e Figura 1.3) é processo em que cada ciclo de operação é iniciado com as leveduras de um tubo de cultura pura (mantidas em meio sólido de ágar, ou liofilizadas), seguindo todas as fases de preparo nas etapas de laboratório e na indústria e depois encaminhado às dornas, onde recebe as cargas de mosto para o procedimento industrial. É técnica trabalhosa usada modernamente apenas em trabalhos experimentais. Nos meados do século XX, ainda havia destilarias que seguiam esse método, posteriormente substituído pelo de recuperação de leveduras. Por esse sistema não ocorre a substituição de linhagens de leveduras, porque derivam sempre de culturas puras mantidas em laboratório com os cuidados microbiológicos exigidos.
- *Sistema de recuperação de leveduras,* ou sistema de Melle-Boinot. Também identificado como sistema de reciclagem ou de ciclo de leveduras, foi posto em prática na França (Usines de Melle) na década de 1930 e é amplamente usado no Brasil. Ao final da fermentação todo mosto é enviado a centrífugas (turbinas) onde é separado um líquido espesso com aspecto de creme, que recebe a denominação de creme ou de leite de leveduras. Esse leite, que corresponde a 10% a 20% de todo o volume de mosto fermentado da dorna (vinho), é conduzido a um recipiente (dorna de tratamento do leite de leveduras) onde é diluído com igual volume de água e tratado por ácido sulfúrico concentrado até atingir pH 2,2 a 3,2 e agitado por 3 a 4 horas. Na rotina diuturna nem sempre esse tratamento é rigidamente obedecido. Após esse cuidado, o leite é conduzido a outra dorna de fermentação, alimentado adequadamente com novo mosto, e começa novo ciclo de operação.

Com os sistemas de recuperação de leveduras e o de reaproveitamento de pés de cuba, a fase preliminar da fermentação é reduzida ou praticamente eliminada, pois o

mosto é colocado em contato com elevada concentração de células de levedura em plena atividade (3×10^9 cel/L), o que permite entrar rapidamente na fase tumultuosa com evidentes vantagens econômicas.

Em cada um desses sistemas a maneira de fazer a alimentação do inóculo varia, assim como as adições de cargas de mosto, sempre de acordo com a orientação técnica da destilaria, disponibilidade de dornas, o fato de se o processo é descontínuo ou contínuo, e outros fatores inerentes a cada instalação.

1.15 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA CONTÍNUA

A ideia de aplicar continuidade aos sistemas de fermentação remonta aos princípios do século XX. Mariller cita Levy como tendo descrito um processo de fermentação contínua em 1903, e também considera que Guillaume, Egrot e Grangé foram precursores, ao apresentar um projeto ao Sindicato de Destilarias Agrícolas na França em 1904. Depois disso, foi requerida uma patente em 1933 por Kuefner e outra em 1938 por Schoeller.

Na bibliografia estrangeira se destacam os trabalhos iniciais de Alzola e de Mariller. Com a evolução da tecnologia, as instalações de fermentação passaram a ser projetadas para o sistema contínuo, no início para fermentar mostos de melaços de beterraba e de cana-de-açúcar. O trabalho com caldo de cana exige sua clarificação.

No Brasil, dois pesquisadores, Matos e Borzani, se preocuparam em estudar a fermentação contínua, principalmente o último, que deu origem a uma geração de pesquisadores na área. Matos foi o pioneiro no Brasil e construiu equipamentos que funcionaram em usinas no estado de São Paulo e em Pernambuco.

Um procedimento ótimo, em sua forma mais simples, seria a alimentação de uma dorna com fluxo contínuo de meio em uma determinada concentração, retirando-se dela, de forma continuada, o vinho, que seria encaminhado para a destilação ou para as dornas de espera, onde terminaria o processo, indo então para a destilaria. A Figura 1.4 esquematiza alguns sistemas de fermentação contínua, nos quais as salas de fermentação tradicionais podem se transformar.

As modificações nas salas de fermentação das destilarias de álcool foram iniciadas com a adaptação das instalações de fermentação existentes. Ligações entre as dornas que trabalhavam de forma intermitente, por carga e descarga, foram feitas de forma que o mosto em fermentação passasse do primeiro ao último da série de recipientes.

- *Desenho 1.* Todas as dornas ligadas entre si, como se fossem uma única, do fundo de uma à metade da seguinte. As primeiras recebem a alimentação, e as demais trabalham como se fossem de fermentação final.
- *Desenho 2.* Dornas divididas em dois grupos. No primeiro grupo dornas ligadas pelo fundo para a fermentação principal, e as demais, pelo fundo de uma e lateralmente à metade da subsequente, para a fermentação final. Funcionavam como dornas de espera. Nelas o mosto provindo das dornas anteriores

fica em descanso até completar o bioprocesso e depois, como vinho, seguia para a destilação.

- *Desenho 3.* Dornas divididas em grupos como no desenho 2, no primeiro grupo dornas ligadas pelo fundo e pela lateral e as demais funcionando como dornas de espera.
- *Desenho 4.* Processo Amatos. Dois fermentadores principais alimentados pelo fundo e um terceiro de menor capacidade para fermentação final, denominado decantador. O processo não era perfeitamente contínuo. Em realidade, cada fermentador funcionava de maneira independente e descarregava o vinho alternadamente, assim que a fermentação em seu corpo terminava. A fermentação era muito rápida, porque o volume de inóculo ocupava praticamente a metade do volume útil de cada fermentador (o inóculo diluía o mosto) e o trabalho era desenvolvido com baixa concentração de açúcares, embora preparados com concentração de 15 °Brix a 18 °Brix. A descarga era feita intermitentemente para o decantador e deste para a destilaria.

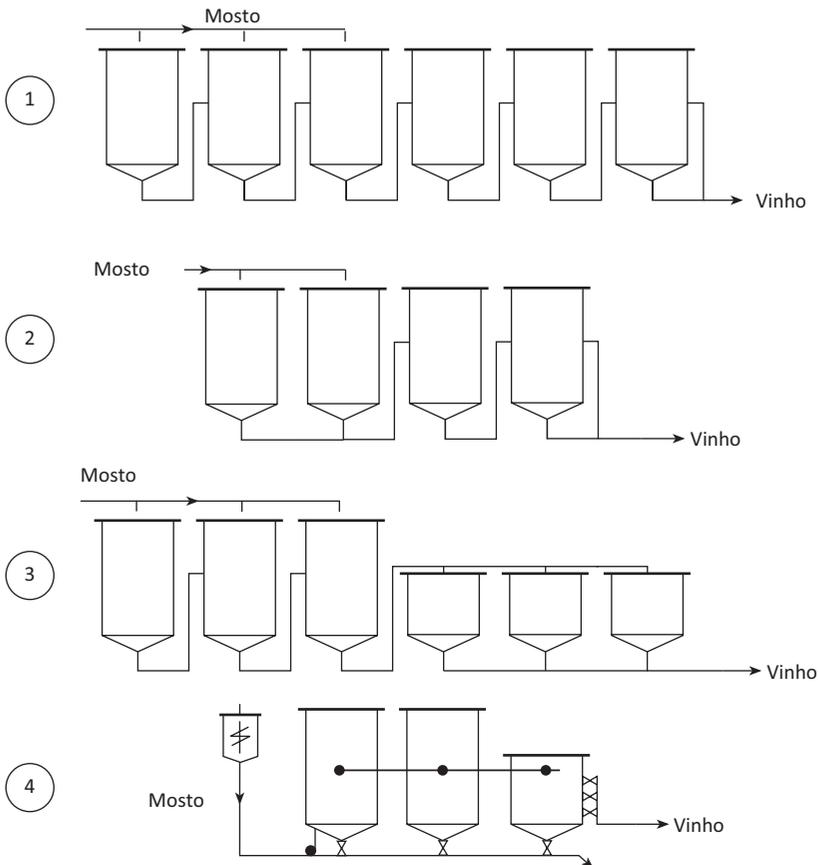


Figura 1.4 Representação esquemática de processos de fermentação contínua.

Depois que foi instalado o Programa Nacional do Álcool na década de 1970, os fabricantes de álcool demonstraram interesse pelos processos contínuos, e foram instalados aparelhos fornecidos por apenas um fermentador, ao mesmo tempo que foram feitas adaptações em destilarias existentes, providas de sistema convencional de fermentação descontínua, similares ao visto na Figura 1.4 (desenhos 1, 2 e 3).

Processo Biostil

Dentro das inovações tecnológicas surgiu o processo Biostil, patente sueco-brasileira, no qual, além de o processo de fermentação ser contínuo, se buscava reduzir o volume de vinhaça, usando o resíduo da destilação para diluir o melaço. Além de ser processo contínuo, pretendia ser um processo de fermentação de mostos com alta pressão osmótica. Foi um projeto patenteado pelas indústrias Alfa-Laval, mas posteriormente controlado pela Nobel Chematur, introduzido no Brasil, na década de 1970, pela Construtora de Destilarias Dedini S/A – Codistil.

O projeto aliava a fermentação em meio de alta pressão osmótica e a continuidade do processo. O retorno da vinhaça da destilaria para diluir o melaço oferecia a vantagem adicional de reduzir sensivelmente o volume do resíduo da destilação. Os fabricantes garantiam a redução do volume de vinhaça de 10 litros em média por litro de álcool produzido nas destilarias convencionais, para aproximadamente 2 litros por litro de álcool.

Esse processo de alto desempenho não teve ampla difusão no Brasil, porque é mais adequado ao trabalho com meios de melaço e de xarope, e as destilarias trabalham com mostos mistos de melaço e caldo de cana. Algumas outras falhas no manuseio do processo o impediram de prosperar.

1.16 SALAS DE FERMENTAÇÃO

São as construções que abrigam os recipientes de fermentação (dornas) fechados ou abertos, as centrífugas, os pré-fermentadores, os tanques de tratamento do fermento e outros equipamentos ligados ao processo de fermentação. As edificações são construídas de acordo com preceitos técnicos e de engenharia variáveis segundo a região, obedecendo às condições climáticas e às exigências de higiene, controle de temperatura, iluminação, ventilação, movimentação de pessoas e insumos e escoamento de resíduos.

Os edifícios devem ser suficientemente amplos para acomodar todos os equipamentos instalados com espaços livres à volta, que permitam fácil acesso para assepsia, reparos, substituições, modificações e manutenção. É conveniente reservar espaços para possíveis ampliações.

Com o aumento da capacidade de produção das destilarias e de ampliações para atender à demanda crescente de etanol houve alteração no conceito de salas de

fermentação. Originalmente eram edifícios fechados, atualmente restritos a destilarias de pequena ou média capacidade, sobretudo destilarias de aguardente.

Destilarias que produzem mais de 1.000 m³ de álcool por dia são projetadas para trabalhar com dornas fechadas instaladas a céu aberto. As construções fechadas abrigam equipamentos mais sensíveis e todo o sistema de automação.

1.17 RECIPIENTES DE FERMENTAÇÃO

Os recipientes de fermentação denominam-se dornas, construídas fechadas ou abertas, em aço carbono, cilíndricas, com altura igual a duas vezes o diâmetro, em média.

O controle da temperatura do processo é feito por meio de trocadores de calor de placas. Normalmente são usados para resfriar o mosto em fermentação e manter a temperatura dentro dos limites ótimos para o processo, porém eventualmente podem servir de aquecedores do mosto em fermentação, em momentos de frio muito intenso ou em uma falha da preparação.

Com base na riqueza alcoólica dos vinhos (7% a 9%), é fácil calcular o volume total de recipientes de fermentação de cada um. Este varia de acordo com o sistema de trabalho que é adotado. Para simplificar, é admitido um volume total na proporção de 1:12, isto é, 1 volume de álcool para 12 volumes úteis de dornas. Nos sistemas clássico e de cortes a relação é de 1:24. No sistema contínuo o cálculo é feito levando em consideração o fluxo horário de vinho a destilar e a eficiência do processo.

Não é demais lembrar que é conveniente que a distribuição e o assentamento das dornas sejam feitos de forma a permitir livre acesso aos registros e a todo o entorno, para reparos, substituições, modificações e higienização.

1.18 DESTILAÇÃO

É a operação pela qual um líquido passa à fase vapor por aquecimento e, em seguida, volta ao estado líquido por meio de resfriamento. Quando se trata de uma única substância, o líquido destilado tem a mesma composição que o líquido gerador.

Quando há ocorrência conjunta de líquidos imiscíveis, o destilado contém o líquido de menor temperatura de ebulição. No caso de líquidos perfeitamente miscíveis, os vapores destilados são compostos de mistura de vapores dos dois, com predominância do que apresentar maior volatilidade.

Com uma série de destilações é possível separar os dois líquidos em estado de pureza, desde que não se forme mistura azeotrópica. Azeotropismo é o fenômeno que ocorre em mistura de líquidos, em determinada composição, na qual os vapores emitidos pelos componentes apresentam temperatura de ebulição inferior à de cada componente independentemente. Nessa concentração é impossível separar os componentes por destilação.

Durante a destilação dos vinhos para obter o etanol há formação de mistura azeotrópica, que impede a obtenção do etanol puro simplesmente por destilação.

1.18.1 VINHO²

Por definição tecnológica, os meios açucarados fermentados são denominados vinhos e apresentam constituição variável, porém composta de substâncias gasosas, sólidas e líquidas.

O etanol é separado dessa mistura heterogênea e impura por meio de destilação e em grau de pureza e concentração variáveis.

Em relação à maneira de conduzi-la, a destilação é classificada em descontínua e contínua.

1.18.1.1 Destilação descontínua

A destilação descontínua numa indústria é uma destilação simples realizada por cargas sucessivas até finalizar todo o vinho disponível para a obtenção do volume de destilado projetado.

A operação completa é intermitente, daí a denominação de descontínua. O processo descontínuo é realizado em alambiques e restrito a pequenas destilarias de aguardentes. As destilarias de aguardente de grande capacidade, de mais de 2 mil litros por hora de trabalho, usam aparelhos de destilação contínua em colunas de baixo grau.

O alambique recebe uma carga de vinho, é aquecido até o esgotamento do álcool ou até que o destilado apresente concentração em álcool de acordo com a legislação vigente.³

1.18.1.2 Destilação descontínua

É executada em colunas de destilação, fazendo a alimentação contínua do vinho no meio do aparelho ou no topo e a retirada contínua do resíduo (vinhaça) pela base. Os componentes secundários (componentes não álcool dos destilados) são separados pelo topo, lateralmente ou pela base da coluna, de acordo com a natureza das impurezas.

As colunas de destilação são constituídas de gomos cilíndricos superpostos que contêm os pratos ou bandejas, separações horizontais perfuradas ou providas de calotas e sifões.

Os gomos e bandejas formam como que uma série de aparelhos de destilação simples superpostos, um destilando seus vapores para o outro, para cima, através das

² Ver item 5.10 do Capítulo 5 do volume 4, “Produção de aguardente de cana-de-açúcar”.

³ Ver Capítulo 5 do volume 4, “Produção de aguardente de cana-de-açúcar”.

calotas, e recebendo o líquido residual do gomo imediatamente superior, descendo por meio de tubos denominados sifões (Figura 1.5).

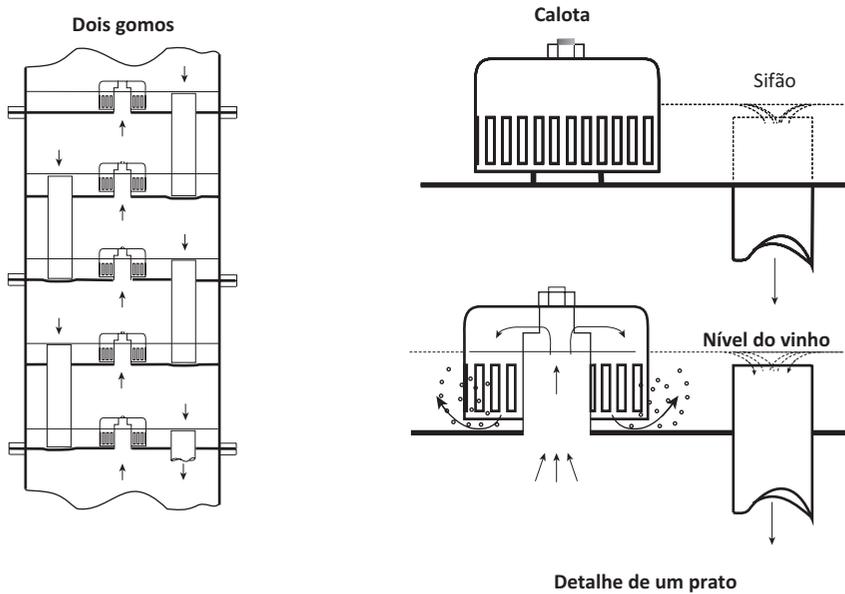


Figura 1.5 Gomo de coluna e calotas.

O aquecimento das colunas é feito pela base, de forma direta, por injeção de vapor por meio de tubos perfurados (borbotores), ou indiretamente, por meio de serpentinas ou trocadores de calor.

O aquecimento das bandejas é executado pela passagem dos vapores do vinho que ascendem na coluna, vapores mais ricos em álcool do que o vinho. Ao se condensar no prato imediatamente superior enriquecem o vinho ali contido e o aquecem até a ebulição, gerando vapores mais ricos, e assim por diante. Em consequência, a temperatura da coluna decresce da base para o topo, ao mesmo tempo que a riqueza alcoólica aumenta no mesmo sentido.

Os vapores que saem da parte superior da coluna são enviados para um condensador, onde circula continuamente vinho frio em seu caminho para a alimentação da coluna. Ao condensar, os vapores transferem calor para o vinho; o condensador é comumente denominado “esquentavinho”, ou preaquecedor de vinho.

O condensado é dividido em duas partes, uma que volta à coluna e outra encaminhada ao resfriador, de construção semelhante à do condensador, em que circula água, e daí, para fora do circuito. O retorno de parte do condensado é identificado por refluxo, retrogradação ou deflegmação, e sua função é manter vapores ricos em álcool na cabeça da coluna.

Quando a alimentação da coluna é feita pelo topo, os vapores ali formados não são muito concentrados e a coluna é denominada baixo grau.

Quando a alimentação é feita pela lateral, há maior número de gomos e a coluna é denominada alto grau (Figura 1.6). A coluna é praticamente dividida em dois troncos, um de esgotamento, ou de desalcoolização, abaixo da entrada de alimentação do vinho, e outro, acima, denominado concentração. O destilado é obtido de vapores mais ricos em etanol e menos ricos em impurezas voláteis.

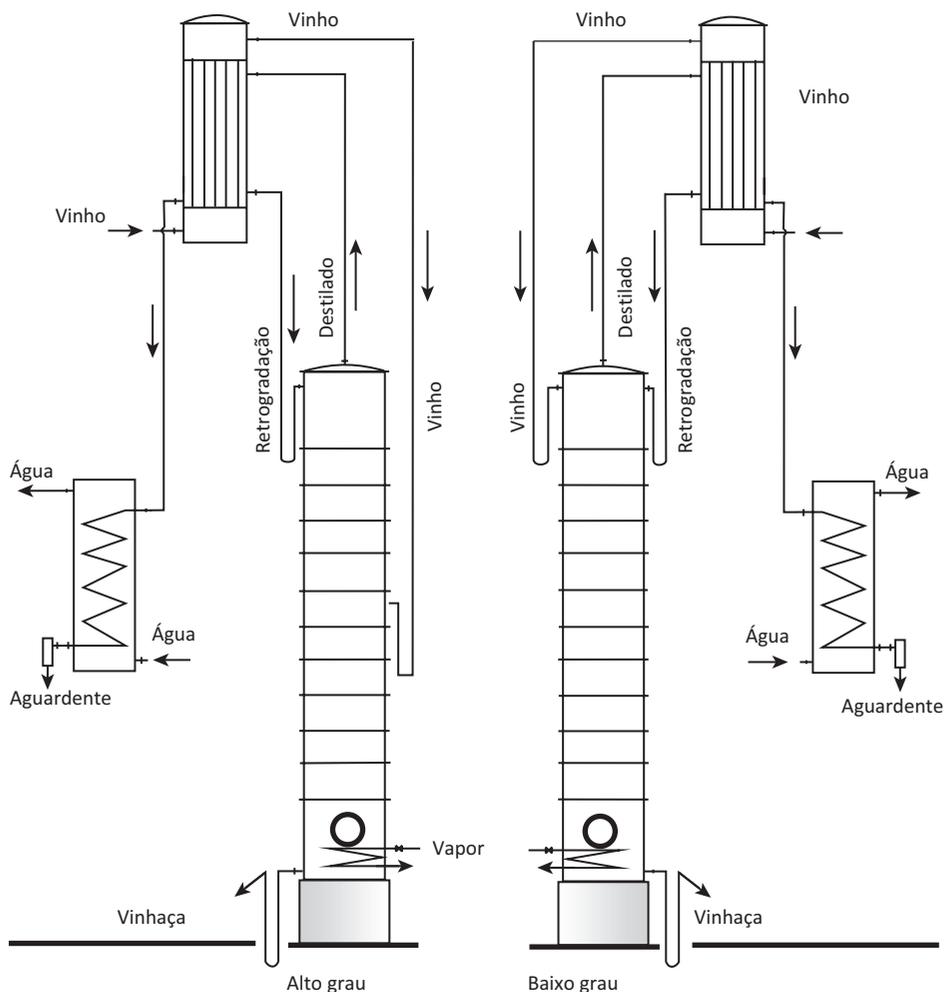


Figura 1.6 Colunas de alto e baixo grau.

Numa coluna de destilação, a graduação alcoólica é maior ou menor segundo o número de pratos superpostos. Maior número conduz a maior número de destilações sequenciais e concentração mais elevada.

Numa coluna de baixo grau são gerados vapores de concentração relativamente baixa que são condensados sob a forma de mistura hidroalcoólica, com certa percentagem de impurezas de cabeça. As impurezas de cauda são eliminadas em parte na base da coluna, na vinhaça.

Nas colunas de alto grau, os produtos de cabeça normalmente são retirados no condensador deflegmador, e o destilado, ou flegma, parcialmente purificado é retirado lateralmente pela base, por meio de sifão, que também regula a permanência de líquido que recebe aquecimento e gera vapores para aquecer o vinho na primeira bandeja.

1.19 RETIFICAÇÃO

Na destilação dos vinhos é produzido um líquido alcoólico (flegma) mais rico que o líquido que o originou, mas em estado impuro. A retificação é a operação pela qual o álcool é separado de impurezas que o acompanham na flegma (álcoois superiores, aldeídos, ésteres, ácidos e furfural). Ela é conduzida em colunas providas de maior número de gomos e bandejas, sobre a flegma obtida na coluna de esgotamento (ou desalcooolização). É comum confundir retificação com concentração, porque o processo é conduzido com flegma de concentração média, que é elevada durante a retificação. Ao mesmo tempo, são eliminadas impurezas e aumenta-se a concentração alcoólica.

As impurezas voláteis são as anteriormente citadas, que, mesmo em percentuais mínimos, influem na qualidade do álcool e podem comunicar características que o invalidem para uso em perfumaria e outros fins industriais.

As substâncias consideradas impurezas têm temperatura de ebulição inferior ou superior à do álcool, e de acordo com ela são separadas como produto de cabeça ou de cauda. A temperatura de ebulição, por si só, não garante a separação por destilação fracionada, pois durante a destilação do etanol são formadas misturas azeotrópicas com a água, com o etanol e entre as próprias impurezas, de tal forma que produtos de temperatura de ebulição mais alta do que a do etanol podem vir a se constituir em produtos de cabeça.

Modernamente, a retificação é explicada em função da formação de misturas azeotrópicas durante o processo.

1.20 PRÁTICA DA RETIFICAÇÃO INDUSTRIAL

A retificação pode ser descontínua e contínua, porém industrialmente só é realizada em processo contínuo, com aparelhos que possuem colunas denominadas depuradora, destiladora, retificadora e de repasse final. Os projetos variam de acordo com o fabricante e com a finalidade do etanol retificado.

A coluna depuradora A (Figura 1.7) é basicamente uma coluna de baixo grau com poucos pratos e conduz à obtenção de destilado com o máximo de eliminação de produtos de cabeça. Nessa coluna são eliminados ésteres, aldeídos, bases voláteis e ácidos.

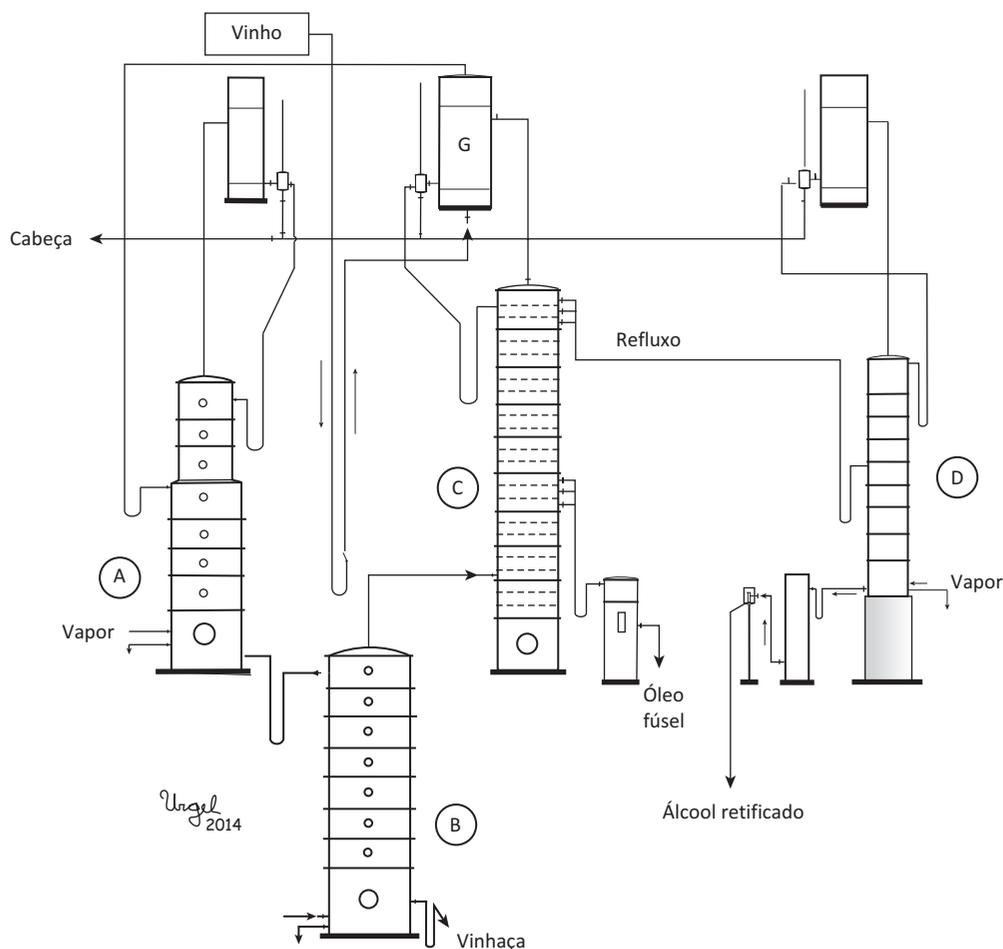


Figura 1.7 Esquema de retificação direta do vinho.

Na coluna B, destiladora, com o condensado parcialmente purificado na coluna A, é produzida flegma rica em etanol. Ela pode ser constituída de um tronco de esgotamento e mais um de concentração, de onde o destilado é retirado lateralmente. No topo são separadas impurezas de cabeça e, com retrogradação constante, outras impurezas se concentram na base.

Na coluna retificadora (coluna C da Figura 1.7) a flegma com concentração alcoólica entre 40% e 50% é introduzida em dois gomos próximos à base. Com destilações sucessivas em mais de 40 bandejas a graduação alcoólica aumenta até o topo. Com as deflegmações constantes, grande quantidade de impurezas de menor volatilidade acumula-se na base e é retirada lateralmente nas faixas de concentração de 40% a 50% e de 55% a 65% de álcool em volume. São separadas em um decantador sob a forma de mistura de diversas substâncias com a denominação de óleo fúsel, na qual predominam os álcoois amílico e butílico. Não fazendo a separação, sua concentração se eleva muito, e o produto que era de cauda ascende na coluna, podendo passar a produto de cabeça.

Na zona de concentração de 90% a 92% de álcool em volume é possível fazer a retirada de uma fração de impurezas constituídas por ésteres pesados, como isovalerianatos e isobutiratos.

Na coluna de repasse final (D na Figura 1.7) ocorre a máxima concentração de etanol que se pode conseguir pela destilação, e aí também são acumuladas impurezas. O álcool etílico puro é retirado na base como produto de cauda, e no topo são retiradas impurezas como cabeça.

Na prática a coluna de repasse final pode ser substituída pela retirada do destilado no topo da coluna retificadora em local correspondente a quatro ou cinco bandejas abaixo do topo da coluna.

Não é possível fazer a purificação completa do etanol pela retificação por causa de diversos fatores, como, por exemplo, marcha imperfeita da operação, dificuldade de separar as cabeças por excesso de deflegmação para separar as caudas, variação da temperatura, pureza das fermentações, oscilação na composição dos vinhos, reações de esterificação, combinação e decomposição. Para produzir álcool retificado mais puro é costume neutralizar o álcool com solução alcoólica alcalina, mas é preciso evitar excesso de álcali, que pode conduzir a prejuízos com a decomposição de aminas e sais amoniacais. Na retificação há sempre perdas de álcool, por ação de diversos fatores, incluindo alguns anteriormente citados.

1.21 DESIDRATAÇÃO DO ETANOL

Em 1879 foi percebida a impossibilidade de conseguir álcool “sem água” por destilações sucessivas. Um pesquisador, Le Bel, observou, que a mistura de 95,57 partes de etanol em massa (97,2% em volume) com 4,43 partes de água em massa fervia em pressão normal à temperatura de 78,15 °C, inferior à temperatura de ebulição do álcool puro (78,35 °C) e da água (100 °C). Outros autores continuaram a estudar o fenômeno, e em 1910 Dorozewsky e Polansky o detalharam como mostrado na Tabela 1.6.

A elevada concentração de etanol no álcool retificado permitia seu uso industrial sem necessidade de maior pureza. O álcool anidro era considerado quase como produto de laboratório, exigido apenas em casos especiais. Sua produção tomou relevância quando se tornou necessária sua mistura à gasolina, a fim de melhorar seu desempenho como combustível de motores de combustão interna. Mariller e Patart foram precursores do uso do álcool anidro, mas muitos outros desenvolveram técnicas industriais para sua obtenção.

Uma vez identificado o fenômeno que impede a obtenção de álcool absoluto por destilação, foram procurados diferentes métodos para separar a água e obter o etanol com concentração de 100%, ou álcool puro. Muitas técnicas foram criadas e diversas patentes foram registradas, porém nem todas se revelaram práticas e econômicas.

Do ponto de vista didático, as tecnologias são classificadas com base no emprego de substâncias desidratantes, na destilação de misturas azeotrópicas, no deslocamento do ponto eutético e no princípio da atmólise.

Tabela 1.6 Concentração alcoólica de misturas hidroalcoólicas e seus pontos de ebulição

Porcentagem de álcool em volume na mistura hidroalcoólica	Temperatura de ebulição em graus Celsius
95,0	78,35
95,5	78,30
96,0	78,27
96,5	78,25
97,0	78,24
Ponto eutético	78,15
97,5	78,24
98,0	78,25
98,5	78,27
99,0	78,29
99,5	78,32
100,0	78,35

Fonte: Almeida (1940).

As primeiras ideias foram de misturar ou de passar o álcool retificado através de substâncias desidratantes, ávidas de água e insolúveis no etanol.

Em seguida, foi tentado um processo de atmólise no qual o destilado sob forma de vapor, no ponto eutético, permite separar o álcool da água através de placas porosas.

Depois surgiram as técnicas de destilação de misturas azeotrópicas, que, até certo ponto, envolvem o deslocamento do ponto eutético. Por elas, durante a operação de destilação, são introduzidas substâncias parcialmente solúveis em álcool e insolúveis em água, capazes de formar misturas azeotrópicas ternárias (álcool, água e a substância) com ponto de ebulição inferior à mistura azeotrópica binária de etanol e água.

As primeiras citações do emprego de arrastadores remontam a 1902, com uso de benzol por Young, em processo descontinuo, aperfeiçoado por outros pesquisadores e transformado em contínuo. A desidratação denominada azeotrópica recebeu considerável impulso nos anos 1930, desenvolvida e aperfeiçoada nos processos conhecidos por técnicas das Usinas de Melle. Elas participaram da industrialização do álcool anidro até quase a década final do século XX.

As substâncias que deslocam o ponto azeotrópico, normalmente hidrocarbonetos, se mostraram inconvenientes por deixarem traços residuais no álcool produzido.

Considerados cancerígenas, ou prejudiciais à qualidade do etanol e de seu uso para algumas preparações, impediram a continuidade desse processo de desidratação.

Com qualquer das tecnologias referidas, há grande gasto de vapor e de água, fatores que orientam a aquisição de equipamentos industriais mais eficientes, para tornar mais econômica a produção do álcool.

No final do século, a tecnologia azeotrópica foi substituída pela denominada destilação extrativa, comumente conhecida como MEG, na qual a introdução de uma terceira substância, o mono etileno glicol (MEG), permite a separação do etanol e da água sem os inconvenientes da destilação azeotrópica. Há forte afinidade da água pelo MEG, razão pela qual há redução da volatilidade da água e facilidade da separação do álcool anidro sob a forma de vapor. O glicol não é volátil nem inflamável e não há reclamações em relação à permanência de resíduos inconvenientes.

Na prática operacional, em comparação com a destilação azeotrópica, são consideradas como vantagens a não volatilidade e a não inflamabilidade do desidratante, além das economias de vapor, de desidratante e de água.

1.22 PROCESSO DE DESIDRATAÇÃO POR MEIO DE PENEIRAS MOLECULARES

Na última década do século XX, foi patenteada e introduzida no Brasil uma nova técnica de desidratação do álcool retificado. Trata-se da sua passagem através de um adsorvente, constituído de pequenas peças de cerâmica, designadas como resinas, para remover as porções da água do álcool retificado. A nova tecnologia, denominada desidratação por peneiras moleculares, é mais rápida e mais eficiente do que os processos anteriormente usados.

Ela se baseia na propriedade, inicialmente identificada nas zeólitas, de acordo com a qual minerais providos de nanoporos são capazes de reter seletivamente líquidos ou gases e de separar moléculas de misturas de gases, ou de líquidos, em função de suas dimensões.

As zeólitas são rochas naturais (geralmente aluminossilicatos), capazes de separar componentes de misturas de líquidos por adsorção seletiva. Seus nanoporos deixam passar moléculas de um componente e retêm as do outro.

Elas foram descritas em 1756 pelo pesquisador sueco Freiherr Axel Frederick Cronstedt, que lhes deu essa denominação ao perceber que, imersas em água, borbulhavam como em ebulição. Ele juntou os termos gregos *zeo* (ferver) e *lithos* (pedra), com o significado de pedra que ferve.

O mineral natural possui estrutura cristalina tridimensional, que forma cavidades que podem ser ocupadas por íons e moléculas de água. A água pode ser eliminada sem afetar a estabilidade estrutural e a zeólita age como “esponja” ou, em outras palavras, como peneira molecular. Essa característica permite desidratação e intercâmbio catiônico.

A gama de propriedades físico-químicas do mineral propiciou seu uso para muitas aplicações industriais, mas, ao natural, as zeólitas se apresentam impuras, com a presença de outros minerais. Por isso, a indústria química sintetizou elementos cerâmicos puros, com as mesmas propriedades e sem os inconvenientes delas. A síntese permite modificar as peculiaridades do material e adequá-lo às particulares necessidades industriais. Atualmente, a grande maioria das destilarias produz álcool anidro por essa tecnologia, introduzida há menos de duas décadas, mas já aperfeiçoada em várias gerações.

1.22.1 PRINCÍPIO DA DESIDRATAÇÃO PELAS PENEIRAS MOLECULARES

A desidratação ocorre por adsorção, fenômeno físico que se caracteriza pela retenção das moléculas de um fluido à superfície de um sólido, sem passar a fazer parte do sólido. É diferente da absorção, na qual o fluido fica retido pelo sólido e passa a fazer parte do absorvente. A adsorção ocorre por ação de forças de coesão, por condensação capilar e por atração eletrostática.

1.22.2 PENEIRA MOLECULAR

Uma peneira molecular, equipamento (Figura 1.9), é constituída de um recipiente metálico cilíndrico cheio de peças cerâmicas, sintetizadas de acordo com especificações adequadas para a adsorção da água e sua separação das moléculas de etanol. Seu diâmetro é variável, mas pode ser considerado ao redor de 5 mm.

O material sintético adsorvente usado para a desidratação do álcool é composto de peças cerâmicas de aluminossilicato potássico, tetraédricas, compostas de quatro átomos de oxigênio, dois átomos de sílica ou de alumínio e cátions de potássio, sódio ou cálcio (Figura 1.8). Seus nanoporos, que medem ao redor de 3 Å, retêm o etanol e adsorvem a água. A molécula de etanol mede 4,4 Å e a da água, 2,8 Å (1 angstrom, 1 Å, mede $0,1^{-10}$ m).

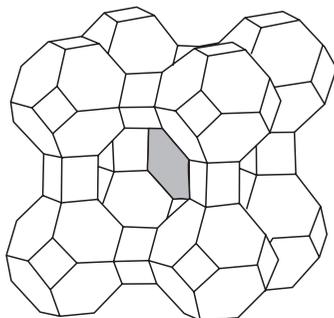


Figura 1.8 Desenho esquemático de um tipo de zeólito sintético.

Há três tipos de leito adsorvente:

- leito fixo, de zeólitos imóveis;
- leito móvel que se movimenta por efeito da injeção dos vapores do álcool a desidratar;
- leito fixo (Figura 1.9), constituído de uma camada superior de esferas de cerâmica inertes, separada da camada de zeólitos (adsorventes) por tela fixa, mais duas camadas de esferas de cerâmica inertes e uma tela fixa.

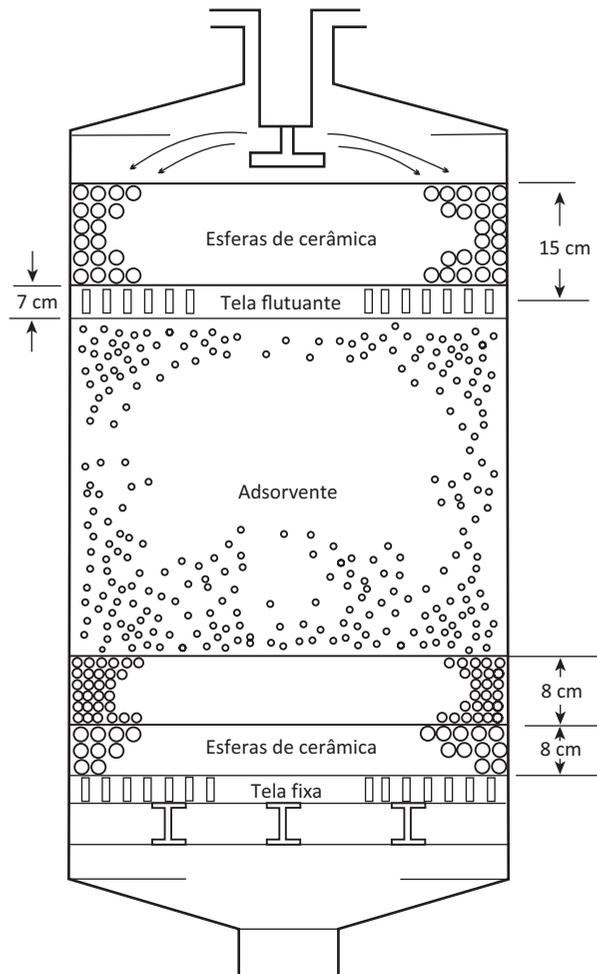


Figura 1.9 Esquema de uma coluna de peneira molecular para desidratação de etanol.

Um conjunto industrial de peneiras moleculares comumente comporta três unidades de adsorção trabalhando independentemente e de forma descontínua, mas formando um fluxo contínuo de álcool anidro, pela manipulação da operação de desidratação (Figura 1.10).

A pressão do vapor do etanol a desidratar varia de 1 bar até 3,5 bar em temperatura variável de 120 °C a 150 °C, mas pode ser superaquecido a 175 °C, com vapor de alta pressão e temperatura de 180 °C.

Durante a operação, quando ocorre a adsorção da água, a temperatura do leito adsorvente se eleva em mais de 15 °C. Esse aumento é motivado pelo calor de adsorção, uma combinação de calor de condensação no poro, mais calor de secagem proveniente da retirada da molécula de água, do fluxo de vapor da mistura hidroalcoólica.

À medida que os vapores passam através do adsorvente, a água vai sendo adsorvida e dentro da unidade de adsorção vão se formando zonas de saturação com a água retida. Durante a desidratação, as unidades de adsorção apresentam zonas distintas, denominadas zona ativa (za), zona de equilíbrio (ze) e zona de transferência de massa (ztm). A Figura 1.11 pretende ilustrar o comportamento do processo durante a retenção da água e liberação do etanol, com o esquema de sete vasos.

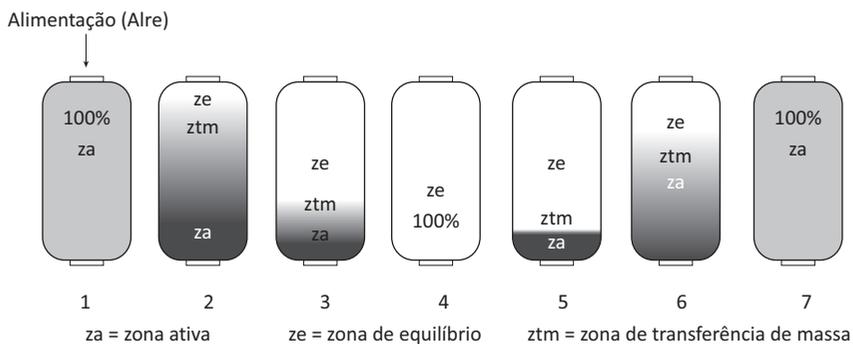


Figura 1.11 Gráfico do funcionamento de uma unidade de desidratação: de seca a saturada e sua regeneração.

O vaso número 1 representa uma zona ativa (za) com 100% da capacidade de adsorção; os zeólitos estão secos.

No vaso de número 2 aparece uma zona de equilíbrio (ze), uma de transferência de massa (ztm) e uma zona ativa (za), que progridem pelo vaso 3 até o vaso 4, em que resta apenas a zona de equilíbrio (ze) com 100% de ocupação. Significa que a unidade de adsorção está saturada, sem nenhuma atividade de adsorção e que deve ser feita a regeneração do leito adsorvente.

Daí em diante segue a dessorção, ou regeneração do adsorvente, por um processo PSA (*pressure swing adsorption*), por meio de vácuo. A dessorção inicia no vaso 5, com o reaparecimento de zona ativa e zona de equilíbrio, que progridem até o vaso de número 7, com 100% de zona ativa.

O adsorvente está seco e pode dar início a nova operação de desidratação.

1.23 REGENERAÇÃO DAS PENEIRAS MOLECULARES

Quando a unidade de desidratação tem seu leito adsorvente saturado de água, perde sua capacidade desidratadora e deve ser regenerada. A regeneração é feita por desorção, conduzida por três maneiras diferentes:

- Deslocando a água pela injeção de uma substância estável, com capacidade de eliminar o adsorvido e deixar o adsorvente livre e apto a nova atividade adsortiva.
- Promovendo variação da temperatura do leito adsorvente, que elimina a água que reduz a capacidade adsortiva. É o processo identificado por TSA (em inglês, *temperature swing adsorption*).
- Fazendo variar a pressão, ou PSA (*pressure swing adsorption*), pela aplicação de vácuo no equipamento.

Na prática industrial, a desorção começa pela redução da pressão interna e segue pela admissão de álcool anidro que, em sentido inverso da desidratação, faz a água se deslocar para fora da unidade de desidratação.

O processo é influenciado pela temperatura, pressão e dimensão do zeólito.

A Figura 1.12 ilustra um esquema de regeneração das unidades de desidratação com zeólitos.

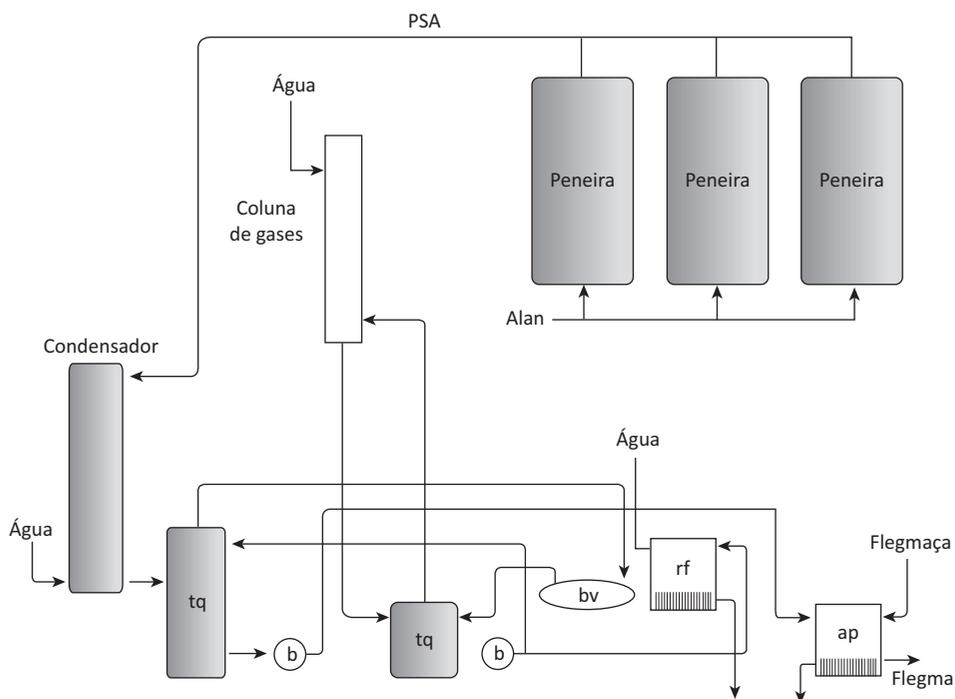


Figura 1.12 Esquema de regeneração de uma peneira molecular.

1.24 CONSUMOS NA DESIDRATAÇÃO

De acordo com a Construtora Conger, de Saltinho (SP), para produzir um litro de álcool anidro são registrados os seguintes consumos:

- Vapor de baixa pressão – 0,9 a 1,9 kgf/cm², 0,55 kg/ L de álcool.
- Vapor de alta pressão – 5 a 10 kgf/cm², 0,05 kg/L de álcool.
- Água de refrigeração – 40 L/kg de álcool.
- Energia elétrica – 6 kWh/m³ de álcool.

1.25 DESIDRATAÇÃO DE ETANOL COM MEMBRANAS

A desidratação do etanol por meio de membranas é objeto de muita pesquisa, mas ainda não está em uso industrial. O aspecto econômico influi no desenvolvimento de tecnologia adequada.

O uso de membranas para desidratação de mistura de etanol e água constitui um processo em que um componente da mistura hidroalcoólica líquida atravessa uma membrana e passa para a fase gasosa. O material volátil da mistura (fase líquida e quente), ao passar pelo corpo sólido da membrana, evapora, condensa em equipamento adequado e é recolhido. O fenômeno é identificado por pervaporação. Ele é considerado competitivo com processos clássicos de separação de misturas líquidas em condições especiais, como a quebra de azeótropos.

A diferença de pressão entre os dois lados causa a difusão de componentes e sua passagem através da membrana. A diferença, que é obtida por um sistema de produção de vácuo ou por fluxo de um gás inerte, também propicia a mudança de fase.

Nesse processo, a difusão e a evaporação se integram. A difusão ocorre como consequência da diferença de mobilidade entre as moléculas; a velocidade de separação dos componentes depende de suas dimensões e da afinidade química com a estrutura da membrana.

A membrana (elemento permeante) é um obstáculo interposto no fluxo de substâncias químicas, mas não o interrompe, e gera duas fases de composição diferente, porque impede seletivamente a passagem de componentes de uma solução ou de mistura de líquidos miscíveis.

O transporte, que se dá por diferença de potencial químico (do maior para o menor), é facilitado pelo aumento de temperatura, que influi favoravelmente na permeabilidade das substâncias através das paredes sólidas.

As observações sobre permeabilidade de membrana são antigas; no século XVIII, há registro sobre uso de membranas animais (diafragma, bexiga) para filtração de água, e, em meados do século XIX, estudos sobre permeação de gases e medição da pressão osmótica de soluções. No entanto, a aplicação comercial desenvolveu-se após a Segunda Guerra Mundial, em ensaios sobre potabilidade da água, feitos com membranas de

acetato de celulose. Há membranas feitas com materiais cerâmicos e metálicos, além das poliméricas de ampla utilização.

1.26 SUBPRODUTOS DAS DESTILARIAS DE ÁLCOOL

Inicialmente, as usinas de açúcar produziam o açúcar como alimento, e depois passaram a fabricar álcool em destilarias anexas. Os principais produtos de uma usina de açúcar são o açúcar e o álcool. O bagaço e o melaço eram um resíduo e um subproduto. O bagaço era usado como combustível para gerar energia para as atividades de indústria, e o melaço era a matéria-prima para a produção do álcool.

Vinhaça, torta de filtros, gás carbônico, águas doces de lavagem e leveduras, que eram tidos como resíduos, atualmente se constituem subprodutos, ou coprodutos. Nas destilarias autônomas os subprodutos são vinhaça, gás carbônico e leveduras.

1.26.1 BAGAÇO

O bagaço é resultante da moagem da cana ou da difusão e representa perto de 30% da massa de cana submetida à extração do caldo. Encerra toda a fibra da cana e ao redor de 50% de umidade e é usado como combustível nas caldeiras para produzir energia para todas as operações da indústria, incluídas as que precisam de eletricidade. Quando usado apenas para o trabalho da fábrica, sobra em grande quantidade.

Por muito tempo, foi só um resíduo, incomodante, por causa do enorme volume produzido e pela falta de utilização prática e econômica de toda a massa residual.

Muitas sugestões de aproveitamento foram feitas, tais como compostagem, preparo de aglomerados, embalagens, fabricação de furfural, celulose, papel e outras.

Atualmente, ele passou de resíduo a um importante componente energético das indústrias canavieiras. Sua queima em caldeiras de alto desempenho produz vapor que gera eletricidade, tornando as indústrias autossuficientes, pois produzem energia para todas as suas necessidades na obtenção do açúcar e do álcool, e um excesso do qual não precisam para sua rotina de transformação da biomassa.

O bagaço, mais a palha que sobra da colheita, somam energia para a indústria e para ceder à sociedade civil. Ambos se constituem em elemento econômico e fundamental para a obtenção de energia limpa e renovável, que pode também render créditos de carbono no âmbito global.

É necessário reconhecer que, ao lado das vantagens, há desvantagens na queima da biomassa. O processo de combustão gera fuligem e cinza, causadoras de prejuízos ambientais. Além do dióxido de carbono, são formados outros gases, que podem prejudicar a saúde, embora não devam ser mais prejudiciais do que os que são gerados nas termelétricas a gás natural. Não foram encontradas referências comparativas entre a queima da biomassa e a do gás natural. Por fim, restam as escórias e as cinzas,

que sobram das fornalhas e devem ser submetidas a tratamentos para o aproveitamento do material mineral residual. Seus componentes têm potencialidade como nutrientes vegetais e para outros usos.

Com o passar dos anos, as usinas e as destilarias se transformaram em indústrias energéticas; o açúcar como alimento, o álcool como combustível para motores de combustão interna e o bagaço na cogeração de eletricidade.

O bagaço está sendo estudado para o que se denomina obtenção de etanol de segunda geração, isto é, obtenção de etanol após sacarificação da celulose e da hemicelulose, fermentação dos açúcares e obtenção do álcool por destilação.

Uma fábrica em São Miguel dos Campos (AL) anunciou o início da produção do álcool de segunda geração em 2014 e outra, em Piracicaba (SP), nos primeiros meses de 2015. Quando esse processo for efetivado economicamente, o uso do bagaço como componente de fertilizantes ou de rações animais e para obtenção de outras substâncias por processos químicos (furfural) e bioprocessos (xilitol) será marginal.

Os resíduos da fabricação do álcool por aproveitamento do bagaço deverão continuar como combustível. A produção de álcool de segunda geração representa ampliação da fabricação de etanol sem aumento da área de cana e possibilidade de fabricação na entressafra.

Detalhes serão encontrados no Capítulo 3 deste volume, “Produção de etanol de segunda geração”.

1.26.2 VINHAÇA

Em todas as produções industriais há rejeitos, ou seja, um ou mais resíduos que causam preocupação quanto ao rendimento econômico ou que causam dano ambiental.

Na indústria de destilados, bebidas e álcool industrial sobra a vinhaça, líquido residual da destilação dos vinhos. Com outras denominações, tais como vinhoto e restilo, constituiu por décadas um problema de poluição de cursos d’água com enorme gama de prejuízos. É um resíduo líquido, escuro, opaco, muito diluído, com aproximadamente 6% de material sólido, quase todo ele orgânico, putrescível e forte consumidor de oxigênio para se estabilizar.

Morte da fauna e flora aquáticas, problema de tratamento das águas de utilidade pública, maus odores na atmosfera e alteração microbiana das águas contaminadas são alguns inconvenientes causados pela vinhaça lançada nos cursos d’água.

Com relação próxima de 1:10 comparada com a produção dos destilados, à medida que a industrialização da cana-de-açúcar foi sendo incrementada, aumentava a poluição dos cursos d’água, até um ponto insuportável pelas populações próximas de indústrias canavieiras.

A disposição da vinhaça era feita por lançamento ao natural nos rios, ribeirões e outros cursos, para levá-la para longe e resolver a falta de tratamento de purificação.

Era a maneira de desviar de um problema e deixá-lo para a sociedade, mas um dia ela se rebelou e exigiu reparos.

Um acidente na década de 1940 contribuiu para a solução. Um reservatório de vinhaça de uma usina de açúcar e álcool que não tinha rio em sua proximidade rompeu e inundou um canavial com um líquido ácido, sobre um solo também ácido. Temeu-se a sua esterilidade, prejuízo para o canavial e para a produção de açúcar e álcool, mas isso não ocorreu. Pesquisas agrônomicas intensas mostraram que o solo melhorou, enriqueceu com o material orgânico e mineral do resíduo e aumentou o rendimento agrícola.

Um óbice sempre levantado contra o uso da vinhaça foi o seu grande volume e a dificuldade de seu escoamento. Desde o início dos estudos para evitar o lançamento da vinhaça nos cursos d'água foram sugeridos processos para sua concentração, mas o gasto de vapor para remover a água inviabilizava os processos.

Com o desenvolvimento das tecnologias para o trabalho na indústria, aperfeiçoamento das caldeiras e do balanço térmico industrial, atualmente há indústrias canavieiras fazendo a concentração do resíduo economicamente.

Atualmente a maior parte da vinhaça é tratada, e seu uso mais comum é como fertilizante, devido ao seu alto teor de compostos orgânicos. A vinhaça também é matéria-prima para a produção de biogás.

1.26.3 GÁS CARBÔNICO

Os principais produtos do bioprocessamento alcoólico são o etanol e o dióxido de carbono, quase na mesma proporção. Para cada 100 partes de etanol produzido, correspondem aproximadamente 96 de dióxido de carbono.

O volume é muito grande e, somado ao gerado pela combustão do bagaço, contribui para o efeito estufa e o aquecimento global. Entretanto, ele pode ser recolhido quando o bioprocessamento é realizado em dornas fechadas, lavado, seco e destinado a diversos usos.

Na tampa de dorna é instalado um vaso provido de água, onde borbulha o gás, ou uma coluna de bandejas valvuladas, por onde o gás atravessa, sendo feita sua lavagem por água em contracorrente. Esses dispositivos são instalados com o objetivo de recuperar o etanol que é arrastado com o gás. É errôneo afirmar que o álcool se perde nas dornas por evaporação, porque a temperatura do bioprocessamento, mesmo durante a fermentação tumultuosa, atinge de 30 °C a 35 °C. É mais correto falar em recuperar o álcool arrastado com o gás.

É conveniente o uso de dispositivo valvulado para compensar a irregularidade da produção de gás, concomitantemente com a geração diferente de etanol nas três fases da fermentação.

Nas colunas valvuladas, a água de lavagem arrasta o álcool, e por recirculação pode-se recuperar de 1,5% a 2% de etanol. É um pequeno volume para cada lavador de gás, mas ao longo de uma safra é uma recuperação significativa.

Do recuperador de álcool o gás pode ser liberado na atmosfera (ainda o mais comum), ou aspirado para um secador e, depois armazenamento em gasômetro ou liquefeito em torpedos de aço, para diversos usos.

Ele tem larga aplicação na indústria de alimentos (refrigerantes, solvente supercrítico), na indústria química (ureia e bicarbonato), refrigeração (gelo seco) e como carga de extintores, mas sua captação e comercialização não consomem todo o gás que é produzido.

1.26.4 MELAÇO

O melaço é resíduo nas usinas de açúcar. É um líquido viscoso e escuro que se obtém pela centrifugação da massa cozida para separar os cristais de açúcar. É matéria-prima para a produção de etanol e está descrita no item 1.5, sobre matérias-primas sacarinas.

1.26.5 TORTA DE FILTRO

A torta de filtros sobranete nas usinas de açúcar representa de 2% a 3% da cana moída e é formada pelas borras dos decantadores de caldo, mesclada com bagacilho, que funciona como leito filtrante.

Com 50% a 70% de umidade, encerra fósforo e cálcio provenientes da fabricação do açúcar e nutrientes do caldo. Ela é aplicada como fertilizante ao natural, em quantidade de 15 t/ha a 30 t/ha, de acordo com o solo, distribuída uniformemente no canavial ou em sulcos e incorporada por meio de máquinas cultivadoras.

Sua aplicação contribui para a redução do custo da fertilização.

1.26.6 PROTEÍNA UNICELULAR

Durante a fermentação alcoólica industrial as leveduras se multiplicam constantemente, razão porque de 10% a 20% da massa celular contida no vinho podem ser retirados a cada ciclo, sem prejuízo da continuação do bioprocessos.

As leveduras alcoólicas encerram elevada proporção de material proteico. Células lavadas e puras acusam teor de matéria seca de 25%, no qual cerca de 50% são material proteico. Esse elevado conteúdo de material nitrogenado estimulou o emprego das leveduras das destilarias como concentrado proteico para rações.

Esse produto, de interesse para países com carência de suprimento nutricional proteico, é descrito no Capítulo 15 do volume 4 desta coleção, "Produção de proteínas por microrganismos".

Este volume é composto de 22 capítulos que explicam a produção tradicional e de segunda geração de etanol, passando por produção microbiana de solventes, produção de ácidos orgânicos, polissacarídeos, oligossacarídeos, biossurfactantes, inoculantes agrícolas, enzimas diversas, bioinseticidas, microrganismos, poliésteres bacterianos e processos com células animais, desenvolvimento e produção de vacinas para uso humano, bioprocessos para obtenção de vitaminas, aplicações industriais de microalgas, biomineração, entre outros.

Os assuntos foram tratados de modo didático, o que permite aos iniciantes e interessados em geral adquirirem conhecimento sobre as técnicas de fermentação e outros bioprocessos que não se enquadram na definição de fermentação com uma leitura agradável e acessível.

Aos profissionais, estudantes e pesquisadores, os temas deste volume oferecem conhecimentos importantes que contribuem para a abertura de novas perspectivas de uso do potencial de microrganismos já conhecidos e novos para a obtenção econômica de produtos que não agriam o ambiente.

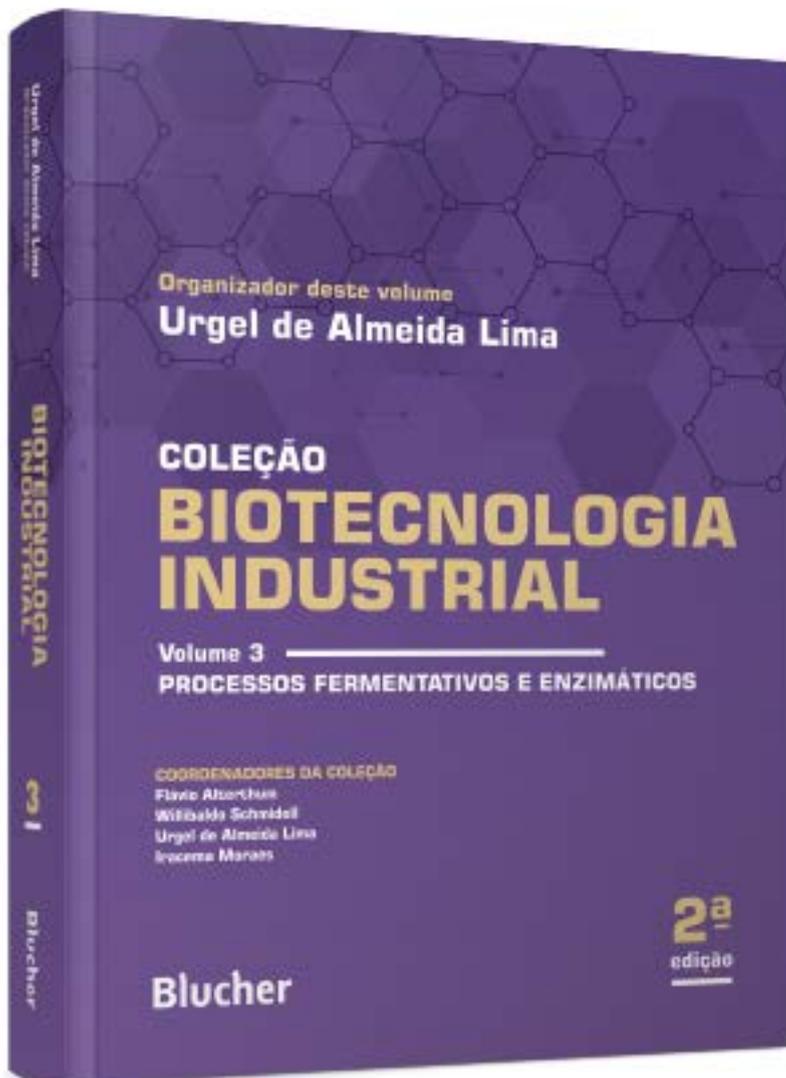
www.blucher.com.br

ISBN 978-85-212-1457-1



9 788521 214571

Blucher



Clique aqui e:

[VEJA NA LOJA](#)

Biotecnologia Industrial - Vol. 3 *Processos fermentados e enzimáticos*

Urgel de Almeida Lima

ISBN: 9788521214571

Páginas: 760

Formato: 17 x 24 cm

Ano de Publicação: 2019

Peso: 1.220 kg
