
SHARLINE FLORENTINO DE MELO SANTOS

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA CONTÍNUA EXTRATIVA. VERIFICAÇÃO
DA INFLUÊNCIA DOS SUBPRODUTOS INIBIDORES.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**CAMPINA GRANDE - PB
FEVEREIRO 2001**

SHARLINE FLORENTINO DE MELO SANTOS

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA CONTÍNUA EXTRATIVA. VERIFICAÇÃO
DA INFLUÊNCIA DOS SUBPRODUTOS INIBIDORES.**

Dissertação apresentada ao
Curso de Mestrado em
Engenharia Química da
Universidade Federal da
Paraíba, em cumprimento
às exigências para obtenção
do Grau de Mestre.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: OPERAÇÕES E PROCESSOS

**ORIENTADOR: PROF. Dr. FLÁVIO LUIZ HONORATO
SILVA**

**CAMPINA GRANDE - PB
FEVEREIRO 2001**



S273m

Santos, Sharline Florentino de Melo

Modelagem e simulação da fermentação alcoólica contínua extrativa. Verificação da influência dos subprodutos inibidores/Sharline Florentino de Melo Santos.- Campina Grande : UFPB, 2001.

93p. : il.

Dissertação (Mestrado). UFPB / CCT / DEQ

1. Fermentação Alcoólica 2. Modelagem – Fermentação 3. Fermentação – Simulação 4. Fermentação contínua e extrativa 5. Alcool - Fermentação

CDU : 661.722:663.15

SHARLINE FLORENTINO DE MELO SANTOS

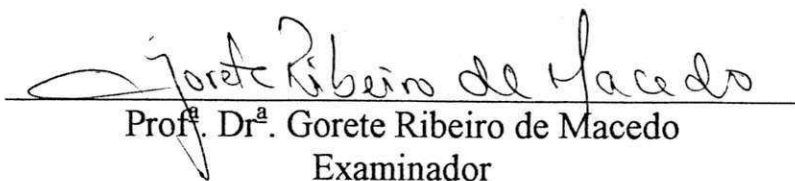
MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA
CONTÍNUA EXTRATIVA. VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS
SUBPRODUTOS INIBIDORES.

Aprovado em 21.02.2001

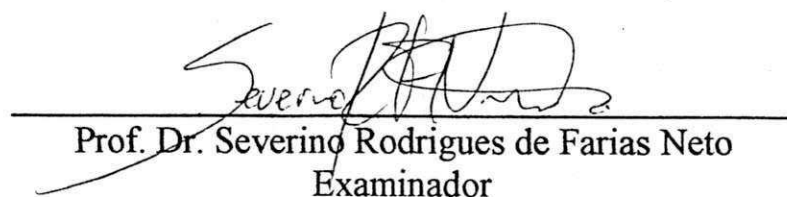
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato Silva
Orientador



Prof.ª Dr.ª Gorete Ribeiro de Macedo
Examinador



Prof. Dr. Severino Rodrigues de Farias Neto
Examinador

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Objetivos	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Fermentação Alcoólica	16
2.2. Inibição da Fermentação	24
2.3. Estratégia de Remoção Contínua do Produto inibidor	28
2.4. Modelos Cinéticos	30
2.5. Parâmetros Cinéticos	32
2.6. Efeito de Temperatura nos Parâmetros Cinéticos	33
2.7. Levantamento dos Parâmetros Cinéticos	34
2.8. Termodinâmica do Equilíbrio de Fase	35
2.9. Planejamento Experimental na Otimização de Processos	38
3. METODOLOGIA	43
3.1. Esquema do Processo	43
3.2. Modelagem Matemática do Processo	46
3.3. Modelo Cinético	52
3.4. Diagrama de Fluxo do Programa	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	55
5. CONCLUSÕES	89
6. PERSPECTIVAS	91
7. BIBLIOGRAFIA	92

LISTA DE SÍMBOLOS

$\mu_{\text{máx}}$	Velocidade específica máxima de crescimento da levedura	h^{-1}
$Y_{P/S}$	Rendimento teórico em etanol	
$Y_{X/S}$	Rendimento teórico em biomassa	
μ	Velocidade específica de crescimento da levedura	h^{-1}
ART	Açúcares redutores totais	
F	Vazão do meio de alimentação	l/h
S	Concentração de ART	g/l
X	Concentração de células de leveduras	g/l
P	Concentração de etanol	g/l
T	Temperatura	$^{\circ}\text{C}$
K_S	Constante de Monod	
$P_{\text{máx}}$	Concentração de etanol onde o crescimento cessa	g/l
$X_{\text{máx}}$	Concentração de células onde ocorre inibição	g/l
m	Potência do termo de inibição pelas leveduras	
n	Potência do termo de inibição pelo produto	
ϕ	Coefficiente de fugacidade	
f_i^v	Fugacidade do componente i na fase vapor	
f_i^l	Fugacidade do componente i na fase líquida	
f_o	Fugacidade no estado padrão	
γ_i	Coefficiente de atividade do componente i	
f_i	Fugacidade do componente i puro	
K_i	Constante de equilíbrio	
A,B,C	Constantes de Antoine	
S_o	Concentração de ART no meio de alimentação	g/l

T_o	Temperatura do meio de alimentação	$^{\circ}\text{C}$
F_A	Vazão de alimentação do reator	l/h
S_A	Concentração de ART na alimentação do reator	g/l
T_A	Temperatura de entrada no reator	$^{\circ}\text{C}$
I_A	Concentração de álcoois superiores na entrada do reator	g/l
P_A	Concentração de etanol na entrada do reator	g/l
F_{LR}	Vazão da fase líquida no tanque flash que retorna ao reator	l/h
S_{LR}	Concentração de ART do tanque flash que retorna ao reator	g/l
X_{LR}	Concentração de células do tanque flash que retorna ao reator	g/l
P_{LR}	Concentração de etanol do tanque flash que retorna ao reator	g/l
T_{LR}	Temperatura do líquido do tanque flash que retorna ao reator	$^{\circ}\text{C}$
I_{LR}	Concentração de álcoois superiores do tanque flash que retorna ao reator	g/l
F_R	Vazão do reciclo de células	l/h
S_R	Concentração de ART no reciclo de células	g/l
X_R	Concentração de células no reciclo de células	g/l
P_R	Concentração de etanol no reciclo de células	g/l
T_R	Temperatura do fluido no reciclo de células	$^{\circ}\text{C}$
I_R	Concentração de álcoois superiores no reciclo de células	g/l
S_S	Concentração de ART na saída do reator	g/l
X_S	Concentração de células na saída do reator	g/l
P_S	Concentração de etanol na saída do reator	g/l
T_S	Temperatura do fluido na saída do reator	g/l
I_S	Concentração de álcoois superiores na saída do reator	g/l
F_a	Vazão de água na cuba de tratamento	l/h
T_a	Temperatura da água na cuba de tratamento	$^{\circ}\text{C}$
F_{C1}	Vazão do creme de leveduras após sangria	l/h
F_P	Vazão de purga do creme de leveduras	l/h

F_C	Vazão do creme de leveduras	l / h
X_C	Concentração de células no creme de leveduras	g / l
F_V	Vazão da fase vapor no tanque flash	l / h
P_V	Concentração de etanol na fase vapor	g / l
F_E	Vazão de mosto de levedurado	l / h
X_E	Concentração de células no mosto de levedurado	g / l
F_L	Vazão da fase líquida do tanque flash	l / h
F_{LS}	Vazão da fase líquida no tanque flash	l / h
V	Volume do reator	l
ρ	Densidade do fluido	Kg / l
C_p	Calor específico do fluido	Kcal / Kg°C
ΔH	Calor de reação	Kcal / Kg
$T_{res.}$	Tempo de residência	H
R	Taxa de reciclo de células	
r	Taxa de reciclo de líquido do tanque flash	

LISTA DE TABELAS

2.1 - Comparação entre os parâmetros encontrados para levedura comercial e industrial	20
2.2 - Concentrações máximas de tolerância de etanol	25
2.3 - Concentrações de inibição pelos subprodutos	26
2.4 - Valores da concentração de n-butanol e isoamílico na inibição da <i>S.cerevisiea</i> - DL20 e DL50	27
2.5 - Valores dos parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica	33
2.6 - Equilíbrio líquido-vapor da mistura etanol-água para temperatura de 30°C	38
2.7 - Análise de variância	42
3.1 - Níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial 2^4 + configuração estrela	45
3.2 - Níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial 2^6 + configuração estrela	46
3.3 - Valores das constantes físicas	51
3.4 - Condições iniciais para o processo convencional	53
4.1 - Matriz do planejamento fatorial 2^4 + configuração estrela	55
4.2 - Análise de variância para o rendimento	56
4.3 - Análise de variância para a produtividade	57
4.4 - Matriz do planejamento fatorial 2^6 + configuração estrela	68
4.5 - Análise de variância para o rendimento (efeito da temperatura)	70
4.6 - Análise de variância para a produtividade (efeito da temperatura)	71

LISTA DE FIGURAS

3.1 - Esquema geral do processo	43
3.2 - Diagrama de fluxo do programa	54
4.1 - Efeito de S_0 e R fixando r e t_r no ponto central para: Rendimento e Produtividade	59
4.2 - Efeito de S_0 e t_r fixando r e R no ponto central para: Rendimento e Produtividade	60
4.3 - Efeito de S_0 e r fixando t_r e R no ponto central para: Rendimento e Produtividade	61
4.4 - Efeito de t_r e R fixando r e S_0 no ponto central para: Rendimento e Produtividade	62
4.5 - Efeito de r e R fixando S_0 e t_r no ponto central para: Rendimento e Produtividade	63
4.6 - Efeito de r e t_r fixando S_0 e R no ponto central para: Rendimento e Produtividade	64
4.7 - Perfis de X_s , S_s , P_s , I_s e T_s no reator	66
4.8 - Perfil da concentração de álcoois superiores no reator	67
4.9 - Perfil de temperatura no reator	67
4.10 - Efeito de S_0 e R para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	74
4.11 - Efeito de S_0 e t_r para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	75
4.12 - Efeito de S_0 e r para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	76
4.13 - Efeito de S_0 e T_0 para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	77
4.14 - Efeito de S_0 e T_w para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	78
4.15 - Efeito de R e t_r para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	79
4.16 - Efeito de R e r para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	80
4.17 - Efeito de R e T_0 para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	81

4.18 - Efeito de R e T_w para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	82
4.19 - Efeito de r e t_r para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	83
4.20 - Efeito de t_r e T_0 para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	84
4.21 - Efeito de t_r e T_w para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	85
4.22 - Efeito de r e T_0 para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	86
4.23 - Efeito de r e T_w para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	87
4.24 - Efeito de T_0 e T_w para: Rendimento e Produtividade com as outras variáveis fixas no ponto central	88

RESUMO

A fermentação alcoólica tem sido bastante investigada por pesquisadores de todo o mundo, em vista do etanol constituir-se uma das mais promissoras alternativas de combustível obtido a partir de fontes renováveis. A demanda crescente de etanol nas décadas de 70 e 80, levou os pesquisadores e as empresas ligadas ao setor a buscar processos de alta produtividade. Com a consolidação do processo de fermentação no final da década de 80, novos processos surgiram desenvolvidos de forma a remover o etanol do caldo fermentado para eliminar os efeitos da inibição pelo etanol, buscando o aumento do rendimento e produtividade do processo. O sistema de separação flash a vácuo acoplado ao fermentador, apresenta como vantagens menor custo de produção, facilidade prática na operação de todo o processo, sendo o sistema que melhor se ajusta, na atualidade, às indústrias brasileiras, elimina a necessidade de trocador de calor, reduzindo custos fixos e de manutenção do processo, capacidade de usar altas concentrações de açúcares no meio de alimentação do reator, o que tem como consequência maior produção de etanol, reduzindo os custos com destilação. Estes processos podem aumentar a concentração de produtos secundários a ponto deles ficarem tóxicos às leveduras, inibindo-as. O processo de fermentação a vácuo concentra produtos não voláteis no caldo fermentado. Foi objetivo deste trabalho estudar a influência dos álcoois superiores (n-propanol, iso-butanol, n-butanol e isoamílico) na inibição do processo fermentativo, buscando formas de minimizar esta inibição, controlando a concentração de etanol e subprodutos no reator abaixo de seus poderes inibitórios, de modo a aumentar o rendimento e produtividade do sistema de fermentação alcoólica extrativa usando um tanque flash a vácuo como unidade de separação do etanol produzido. Utilizou-se a modelagem da planta a partir das equações dos balanços de massa e energia e do modelo cinético, empregando o método de Runge-Kutta de quarta ordem para resoluções, e simulação em computador. Através do método baseado em planejamento experimental e análise de superfície de resposta, buscou-se encontrar condições ótimas de operação de processo. As variáveis estudadas na otimização do processo foram: concentração de ART no meio de alimentação (S_0), concentração inicial de células (X_0), tempo de residência (t_r), temperatura do reator (T), temperatura da água de tratamento (T_w), taxa de reciclo de células (R) e taxa de reciclo de líquido do tanque flash (r). Por intermédio do planejamento experimental foi verificado que os modelos quadráticos obtidos para o rendimento e a produtividade foram estatisticamente significativos com 99% de confiança. Os valores que otimizam o rendimento e a produtividade foram: $S_0 = 180$ g/l, $R = 0,3$, $t_r = 1,4$ h, e $r = 0,4$, obtendo-se rendimento de 82,55% e produtividade de 21,49 g/l.h. Estes valores das variáveis respostas, comparados com o trabalho de SILVA (1998), foram menores em 1% para o rendimento e 0,1 g/l.h para produtividade. Operando nas condições de temperatura da realidade da região Nordeste, comparando com a região Sudeste, verificou-se uma queda de 5% no rendimento e 2 g/l.h na produtividade, onde essa comparação foi feita usando todas as faixas das variáveis deste trabalho.

ABSTRACT

In view of the ethanol being one of the most promising fuel alternatives obtained by renewable sources, the alcoholic fermentation has been intensively investigated by researchers all over the world. The increasing search for ethanol in the 70s and 80s, led the researchers and the companies linked to such sector to find high productivity processes. With the consolidation of fermentation process at the end of 80's decade, new processes were developed which can remove ethanol from fermented stock to eliminate ethanol inhibition effect and hence increasing the yield and productivity of the process. The vacuum flash separation connected to a fermenter, show many advantages such as: less productivity costs, practical facility concerning the whole process operation being that of the system which best connects to the Brazilian industries. It also eliminates the heat exchanging need that reduces the fixed costs and the possibility of using high sugar concentration in the reactor thus reducing the distillation costs. Such processes can increase the by-products concentration so that they can become toxic to the yeast. The vacuum fermentation process concentrates non-volatile components in the fermented stock. The aim of the present work was to study the influence of higher alcohols (1-propanol n-butanol, iso-butanol and iso-amyl alcohol) on the inhibition of process, finding the ways to minimize this inhibition, controlling the concentration of ethanol and by-products in reactor below their inhibiting levels, so that to increase the yield and productivity of the extractive alcoholic fermentation system, using vacuum flash tank as a separation unit of produced ethanol. The plant was modeled on the basic of mass and energy balance equations and kinetic model applying the fourth order resolution method of Runge-Kutta and computer simulation. The optimization was carried out using factorial design and response surface analysis method. The variables of optimization process studied were: initial sugar concentration (S_0), initial cell concentration (X_0), residence time (t_r), reactor temperature (T_0), water temperature (T_w), cell recycle rate (R) and flash tank liquid recycle rate (r). With the help of experimental planning, it was verified that the obtained quadratic model for yield and productivity had a statistical significance of 99% confidence. The values that optimize the yield and the productivity were: $S_0 = 180$ g/l, $R = 0.3$, $t_r = 1.4$ h and $r = 0.4$, having yield of 82.55% and productivity of 21.49 g/l.h. These response variable values when compared with the SILVA (1998), were less by 1% for yield and 0.1 g/l.h for productivity. Operating in temperatures conditions of northeast regions and comparing with those of southeast regions, it was verified that lass 5% in yield and 2 g/l.h in productivity, where all the comparison made were within the range of variables studied in the present work.

1.INTRODUÇÃO

A fermentação alcoólica tem sido bastante investigada por cientistas e pesquisadores de todo o mundo, em vista do etanol constituir-se uma das mais promissoras alternativas de combustível obtido a partir de fontes renováveis (ALVES, 1996). O álcool combustível, bem como a adição de álcool à gasolina favorece a preservação do meio ambiente evitando o efeito estufa.

Segundo a diretoria da Associação dos Plantadores de Cana do Estado da Paraíba - ASPLAN, a colheita da safra 2000 tem expectativa de aumento de 20% da produção com relação ao ano passado, o equivalente a cerca de 3,5 milhões de toneladas. Esse crescimento está associado ao excelente inverno e não à recuperação da safra que desde 1993 vem sofrendo déficit na produção, que já chegou a atingir 7,5 milhões de toneladas. A direção da Asplan cita a ausência de incentivos para o crédito e a alta cobrança de juros, como principal fator para a falência do setor sucro-alcooleiro.

Recentemente a Tribuna Imprensa (Jan., 2000) divulgou que autoridades americanas são unânimes em afirmar que a mistura gasolina-álcool, e, melhor ainda, somente o álcool, deverá ser o combustível do futuro por seu melhor desempenho e/ou menor índice de poluição atmosférica. Este fato provém de pesquisas anteriores que provam que a gasolina comum, sem aditivos, pode provocar a fadiga e o envelhecimento precoce de peças vitais de um motor. Foram apresentadas algumas soluções como a adição de CTE (chumbo tetra etila), que adicionado à gasolina, fazia com que a mistura tivesse um efeito carburante tão bom quanto o isoctano puro. Isto durou dos anos 20 aos 70, quando o CTE foi considerado um seríssimo poluente, o chumbo expelido pelos motores a combustão acumula-se no organismo, afetando os olhos (cegueira iminente) e os músculos (o cérebro não mais comanda as contrações musculares). Daí surgiu o MTBE (metil

tercetil éter), que mais tarde se descobriu poder formar ozônio ao nível do chão, causando danos à atmosfera. Em meados dos anos 70, com a crise do petróleo, surgiu a idéia de misturar álcool na gasolina, com as vantagens: menos poluição, melhora a queima da gasolina, e ainda, tem alto poder calórico, sendo a energia produzida pelo álcool combustível igual ou superior à energia produzida por uma boa gasolina, e é renovável. As sucessivas demonstrações de apoio ao uso do etanol e as possibilidades de crescimento do mercado do produto nos Estados Unidos têm estimulado a indústria local a buscar novas metas de produção, o que inclui investimentos significativos no desenvolvimento tecnológico.

As primeiras indústrias brasileiras de produção de etanol surgiram vinculadas às usinas de açúcar onde o melaço era usado como matéria-prima.

Até o início dos anos 60, poucos eram os investimentos feitos nesta indústria. Apesar do processo Melle-Boinot, batelada alimentada com reciclo de células, ter sido desenvolvido na França na década de 30, os processos de cortes e o de utilização de pés individuais na fermentação (processo clássico ou batelada) eram ainda os mais utilizados (ANDRIETTA, 1994).

Na década de 70 foi implantado o PROÁLCOOL lançado pelo governo brasileiro com o objetivo de substituir a gasolina derivada do petróleo diminuindo assim gastos com importação. Este projeto foi implantado devido à súbita elevação do preço do barril de petróleo.

As décadas de 70 e 80 foram de grande avanço na tecnologia de fermentação alcoólica. Segundo ANDRIETTA (1994) a demanda crescente de etanol nestas décadas, levou os pesquisadores e as empresas ligadas ao setor, a buscar processos de aumento de produção, ou seja, na safra 79/80 a produção foi de aproximadamente 1 bilhão e após 6 anos, safra 85/86, a produção brasileira foi de 12 bilhões. Com o arrefecimento do Programa Proálcool, os caminhos seguidos por estes pesquisadores foram: primeiro otimizar o processo batelada alimentada já existente e o segundo partir para o processo contínuo de fermentação, tentando aumentar a produtividade do processo.

Com a implantação de novas tecnologias, após o programa, foi verificado o crescimento na produtividade da produção de álcool em torno de 3% ao ano (SILVA, 1998), transformando o Brasil no maior produtor de álcool etílico do mundo, com uma produção de até 14 bilhões de litros por safra.

Com a consolidação do processo contínuo de fermentação no final da década de 80, novos processos foram desenvolvidos de forma a remover o etanol do caldo fermentado para eliminar os efeitos da inibição pelo etanol.

O sistema de separação flash a vácuo acoplado ao fermentador, segundo SILVA et alii (1999), apresenta como vantagens, menor custo de produção, facilidade prática na operação de todo o processo, sendo o sistema que melhor se ajusta, na atualidade, às indústrias brasileiras. Elimina a necessidade de trocador de calor, reduzindo custos fixos e de manutenção do processo, capacidade de usar altas concentrações de açúcares no meio de alimentação do reator, o que tem como consequência maior produção de etanol, reduzindo os custos com destilação.

Este processo, recircula parte do líquido que sai da base do tanque flash, este retorno garante a operação da fermentação com extração de etanol, controla a concentração de etanol e resfria o mosto fermentado mas, concentra os produtos não voláteis no caldo fermentado, o que pode levar ao aumento da concentração de produtos secundários a ponto deles ficarem tóxicos às leveduras. A formação de inibidores não voláteis limita a produtividade da fermentação (MAIORELLA, 1983). No trabalho de SILVA (1998), o efeito desta inibição não foi considerado.

1.1 - Objetivos

Diante do exposto acima, será estudado a influência dos subprodutos alcoóis superiores da fermentação alcoólica na inibição do processo fermentativo, buscando formas de minimizar esta inibição, de modo a aumentar o rendimento e produtividade do sistema de fermentação alcoólica extrativa usando um tanque flash a vácuo como unidade de separação do etanol produzido. Os resultados obtidos serão comparados com os obtidos por SILVA (1998), com o intuito de quantificar esta inibição.

Para isto, será usada como ferramenta a modelagem da planta a partir das equações dos balanços de massa e energia e do modelo cinético, empregando o método numérico de Runge-Kutta de quarta ordem para resolução numérica; e simulação em

computador. Através do método baseado em planejamento experimental e análise de superfície de resposta, pretende-se encontrar condições ótimas de operação do processo.

Ampliar a faixa dos níveis estudados e incluir no planejamento faixas de temperatura dentro da realidade da região Nordeste, temperatura da água da cuba de tratamento e a temperatura de alimentação do substrato. Comparar com os dados de SILVA (1998), que estão operando na realidade da região sudeste.

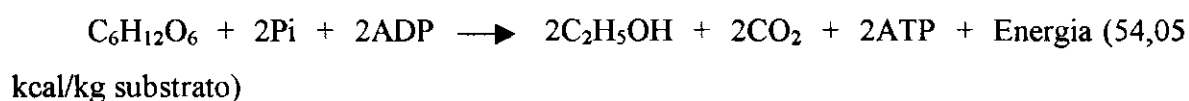
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é conhecida desde os mais remotos tempos e era usada pelos povos antigos para a produção de bebidas a partir de caldos açucarados obtidos por esmagamento de frutas. As primeiras idéias a respeito das causas do fenômeno apareceram por volta do século XIV e XV. Em função da publicação dos trabalhos de Pasteur a partir de 1857 foi aceito definitivamente que o etanol obtido durante a fermentação era produto do metabolismo de leveduras (OLIVEIRA,1960).

Mesmo sendo conhecida a tanto tempo, a fermentação alcoólica aplicada à produção industrial de etanol propriamente dita iniciou-se a partir do século XIX. Anterior a este século o que se produzia, na verdade, era aguardente (ALMEIDA,1960).

A fermentação alcoólica é um processo que resulta da transformação de açúcares solúveis em etanol e gás carbônico realizado, principalmente, pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, e é descrita de modo geral pela equação abaixo:



O rendimento teórico da reação é 0,51g de etanol/g de glicose, mas os rendimentos reais normalmente obtidos atingem 90-95% do rendimento teórico, uma vez

que uma parte do açúcar é utilizado para síntese de material celular e para reações de manutenção (ALVES, 1996).

Na fermentação alcoólica ocorre a transformação de carboidratos por microorganismos em etanol e gás carbônico. Produtos que contenham carboidratos transformáveis tais como sacarose, amido, celulose, glicose, frutose podem ser considerados como matéria-prima, desde que apresentem facilidade de transformação, disponibilidade, custo relativamente baixo e rendimento em álcool. No Brasil, como matérias açucaradas utilizadas para fermentação alcoólica, destacam-se o melaço e principalmente o caldo de cana-de-açúcar, pela grande produção por hectare e pelo cultivo relativamente fácil.

As principais características destas duas matérias-primas são citadas abaixo:

Melaço de cana-de-açúcar

Apresenta-se como um líquido denso, viscoso e de coloração escura, cuja composição é extremamente variável, sendo função da qualidade da matéria-prima, métodos de fabricação, condições e tempo de armazenamento.

O melaço que sai da usina como resíduo da centrifugação das massas cozidas para obtenção do açúcar, qualquer que seja sua composição, constitui-se no principal subproduto da indústria do açúcar, e da sua fermentação resulta uma grande percentagem do álcool brasileiro (STUPIELO, 1978).

Em média, sua composição encerra em números gerais, 20% de água, 62% de açúcares, 8% de cinzas, 3% de materiais nitrogenados e 7% de outros componentes, como goma e ácidos (ANGELIS et alii, 1986).

A riqueza em açúcares totais, na sua maior parte fermentecíveis, sacarose, glicose e frutose, evidenciam o valor do melaço como matéria-prima para a produção de álcool, que corrigido em suas deficiências nutricionais para a levedura, torna-se excelente meio para fermentação alcoólica. Apresenta grande poder tampão necessitando para uma pequena variação de pH, de grande quantidade de ácido, durante sua correção (STUPIELO, 1978).

Caldo de cana

Da produção brasileira de álcool, apenas uma pequena proporção era obtida através desta matéria-prima, em virtude da sua utilização ser muito mais lucrativa na produção de açúcar. Com as inconstantes instabilidades do mercado de açúcar, esta matéria-prima, atualmente, é a mais utilizada para produção de etanol.

A composição do caldo varia segundo inúmeros fatores, dos quais pode-se citar, como mais importantes os seguintes: variedade de cana-de-açúcar, estágio de maturação, estado de sanidade da variedade, adubação, irrigação, tempo de armazenamento e processo de extração (STUPIELO, 1978).

O caldo obtido pela moagem da cana-de-açúcar encerra água entre 78-86%, sacarose entre 10-20%, açúcares redutores entre 0,1 e 0,2 %, cinzas entre 0,3 e 0,5% e outros compostos nitrogenados entre 0,5 e 1,0%. O pH do caldo varia entre 5,2 e 6,8 (LIMA, 1992).

Preparação do mosto

As diferentes matérias primas, utilizadas na obtenção do álcool por via fermentativa requerem uma preparação adequada de acordo com suas características, a fim de fermentarem .

Mosto é o termo empregado em tecnologia para definir todo o líquido açucarado susceptível de sofrer fermentação (STUPIELO, 1978).

Para que a fermentação tenha êxito, isto é, seja pura, regular e de alto rendimento, é necessário que o mosto tenha certas características importantes, de forma a suprir as exigências das leveduras alcoólicas para produção do etanol.

As principais variáveis que devem ser controladas na fermentação alcoólica são: °Brix e açúcares totais, Acidez total e pH, Nutrientes, Vitaminas, Agitação, Anti-sépticos, Temperatura, Luz e Oxigênio.

A levedura alcoólica

As leveduras são fungos geralmente unicelulares. Seu tamanho varia de 1-5 µm de diâmetro a 5-30 µm de comprimento. Sua forma também é muito variável, desde elementos esféricos até células elípticas bastante alongadas. Suas células apresentam as características dos seres eucarióticos. Têm membrana citoplásmica lipoprotéica, cuja principal função é regular as trocas com o meio ambiente. O núcleo, tipicamente eucariótico, é envolvido por uma membrana nuclear. São heterotróficas, dependem para seu desenvolvimento de carbono orgânico, e assumem elevada preferência pelos carboidratos. São sensíveis a temperaturas acima de 50 °C.

As leveduras podem se reproduzir assexuada ou sexuadamente. O processo mais comum é o brotamento, do qual resultam células-filhas inicialmente menores que a célula-mãe. Algumas reproduzem-se por divisão binária.

A reprodução sexuada se faz pela formação de ascósporos, isto é, esporos contidos no interior de um asco. Algumas leveduras não apresentam um processo de reprodução sexuada; são chamadas de "falsas leveduras" e classificadas entre os *Fungi imperfecti* (LIMA, 1992).

As leveduras, sem dúvida, ocupam entre os microorganismos um lugar de destaque pelas facilidades de exploração econômica que oferecem. As leveduras são responsáveis pela indústria de bebidas alcoólicas como cerveja, vinho, champagne, cidra, bebidas destiladas (rum, wodka, whisky, conhaques, vermouths, aguardente, saké, etc) e outras de comercialização mais restritas.

Além das fermentações alcoólicas as leveduras são as responsáveis pela fabricação do pão, de muitas espécies de doces, de queijos e contribuindo com o enriquecimento nutricional em proteínas e vitaminas (ANGELIS et alii, 1986).

Em processos de fermentação alcoólica, é muito comum a utilização de leveduras de panificação como inóculo. Nos últimos anos vem aumentando o número de unidades que estão utilizando leveduras selecionadas na partida do processo. Trabalhos recentes mostram que a utilização de leveduras de panificação ou mesmo leveduras isoladas de outros processos fermentativos como inóculo, causam uma rápida substituição destes por leveduras habitantes naturais do caldo, passando a predominar sobre a população de células inicialmente selecionadas. MIGLIARI et alii (2000), estudando o comportamento populacional de um processo fermentativo industrial que utilizava como inóculo uma linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* (Y904) produzida pela Mauri do Brasil, concluiu que o processo apresentou uma instabilidade populacional no decorrer da safra e que no início e no final da safra, onde as condições são mais exigentes, havia predominância de um único grupo de levedura.

As razões pelas quais as leveduras de panificação ou as selecionadas no início do processo não sobrevivam nas dornas de fermentação podem ser atribuídas às várias condições estressantes da fermentação industrial com reciclo de células. Com isto BASSO et alii (2000) concluiu que uma levedura para a fermentação industrial deverá ser, simultaneamente, tolerante aos vários fatores estressantes impostos pelo processo (etanol, temperatura, ácidos, além de outros) e especificamente, nas condições de reciclo.

BASSO et alii (2000) estudando as leveduras de panificação e linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* empregadas pelas indústrias alcooleiras, selecionadas pelas características de dominância e persistência no processo industrial, concluiu que as

leveduras tradicionalmente empregadas, se apresentam vulneráveis aos estresses da fermentação com reciclo, com redução da viabilidade celular, sendo substituídas por linhagens mais tolerantes às adversidades do processo industrial, e que linhagens resgatadas das próprias destilarias, selecionadas para manutenção de viabilidade celular e altos rendimentos em etanol, são capazes de permanecer nas dornas durante toda a safra.

SOUTO (2000), levantou os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica em batelada simples para levedura comercial (panificação) e levedura industrial, concluindo que a levedura industrial apresenta melhores resultados, mostrando que esta levedura tem um maior poder de fermentação alcoólica. Os resultados foram os seguinte:

Tabela 2.1- Comparação entre os parâmetros encontrados para levedura comercial e industrial.

Parâmetros	Levedura comercial	Levedura industrial
$\mu_{\text{máx}}$ (h^{-1})	0,175	0,292
$Y_{P/S}$ (g/g)	0,313	0,358
$Y_{X/S}$ (g/g)	0,070	0,041
E (%)	64,00	67,68
Prod.(g/l.h)	0,935	1,091

A fermentação alcoólica, segundo a intensidade de produção de CO_2 , de álcool e desprendimento de calor, pode ser dividida em três fases:

Fase preliminar - inicia-se no momento do contato do levedo com o mosto e termina quando o desenvolvimento de gás se torna evidente. Caracteriza-se por multiplicação celular intensa, pequena elevação de temperatura e pequeno desprendimento de dióxido de carbono. Nessa fase, garante-se a produção de grande quantidade de células de poder fermentativo máximo, o que se consegue em temperatura baixa e mosto convenientemente preparado.

Fase tumultuosa - O término da pré-fermentação assinala o início da fermentação principal ou tumultuosa. Caracteriza-se pelo desprendimento volumoso e intenso de dióxido de carbono, consequência da existência de um número suficiente de células para desdobrar os açúcares fermentecíveis do mosto. A temperatura eleva-se rapidamente, daí a

necessidade de uma refrigeração bem dimensionada, a densidade do mosto reduz-se e elevam-se a percentagem de álcool e a acidez. O substrato agita-se como em ebulição.

Durante esta fase, o volume de massa líquida aumenta consideravelmente, dependendo da produção de CO₂ e da viscosidade do mosto em fermentação. Mosto de melação tem seu volume aumentado de até 20%, enquanto que aqueles de Caldo-de-cana podem, em certos casos ultrapassar até 70-80% ocasionando não raro transbordamento (STUPIELO, 1978).

Fase complementar - Caracteriza-se pela diminuição da intensidade do desprendimento do dióxido de carbono, maior tranquilidade no líquido e diminuição da temperatura. Nessa fase, a concentração de açúcar chega ao fim (LIMA, 1992). Também é nessa fase que se forma a maior parte dos álcoois homólogos superiores. A maior brevidade desta fase dará um álcool de melhor qualidade, mais fino.

Preparo do levedo alcoólico

O processo fermentativo, como visto, é realizado pela atividade das leveduras presentes no mosto comumente chamado de fermento ou levedo. O fermento, pé-de-cuba, pé-de-fermentação pode ser definido como sendo uma suspensão de células de leveduras suficientemente concentradas, de maneira a garantir a fermentação de um determinado volume de mosto em condições econômicas.

Industrialmente são utilizados vários tipos de fermentos, dentre estes, apenas os prensados e os selecionados são aconselháveis.

O fermento selecionado de maneira geral, é uma levedura selvagem, escolhida por suas características excepcionais de trabalho como: resistência a altas concentrações alcoólicas e a altas temperaturas, conduzindo a fermentações puras, regulares, rápidas e de maior rendimento.

O preparo do fermento é realizado em duas fases distintas: laboratório e industrial.

No laboratório deve ser cercado de todos os cuidados assépticos exigidos. Os recipientes usados deverão ser esterilizados, assim como o mosto usado na alimentação inicial do levedo. Parte-se de um tubo de cultura, inoculam-se 100ml de um substrato com 5 °Brix, corrigido e esterilizado. Após perfeito desenvolvimento, passa-se para 500ml a 7°Brix, preparado como anteriormente, e assim sucessivamente, até se alcançar um volume de suspensão de células condizente com o volume do pré-fermentador ou com o da dorna principal (bioreator), onde os novos volumes de mosto de alimentação deverão

corresponder ao dobro do anterior, até atingir os seus volumes úteis de trabalho. Recomenda-se desenvolver no laboratório duas fermentações paralelas, caso ocorra um acidente na multiplicação, o trabalho não será interrompido.

A fase industrial é desenvolvida em condições normais, isto é, dentro da rotina da destilaria. O processo está baseado no fato de que uma vez atingido a concentração celular máxima a levedura não mais se reproduz, desempenhando tão somente as funções fermentativas, consumindo açúcar apenas para a produção de álcool, e não mais para se multiplicar (STUPIELO, 1978).

Processos de fermentação

A fermentação alcoólica pode ser conduzida através de três processos distintos: batelada, batelada-alimentada e contínuo.

Processo batelada:

A fermentação alcoólica convencional é feita usualmente a partir de mostos contendo de 100 a 200 g/l de açúcar. Um grande volume de mosto é adicionado ao tanque de fermentação. Inocula-se, então, o fermento e o etanol é produzido até que o substrato seja consumido. Encerra-se assim a fermentação e recupera-se o etanol por destilação. Faz-se a limpeza e a assepsia do tanque de fermentação e um novo ciclo pode ser iniciado. Utilizando baixo teor inicial de substrato e condições operacionais adequadas é possível atingir rendimentos de até 92-94% do máximo teórico. Esse processo tem como principal desvantagem a baixa produtividade, que dificilmente é superior a 1-2 g etanol/l.h. (ALVES, 1996)

Processo batelada alimentada :

Consiste em promover a alimentação do mosto ao tanque de fermentação de modo parcelado de forma que o teor de substrato no fermentador nunca ultrapasse um valor pré fixado. Esse valor corresponde normalmente à concentração a partir da qual começa a ocorrer inibição significativa pelo substrato. O mosto é alimentado no tanque de fermentação simultaneamente ao fermento. Após o término da fermentação verificada pela diminuição da concentração do substrato, depois das dornas cheias, o vinho (mosto fermentado) é bombeado para as centrífugas, onde há a separação do fermento (creme de leveduras) e do vinho delevedurado. O vinho é encaminhado para dorna volante, e daí para o aparelho de destilação. O creme de leveduras com um volume correspondente à cerca de 10% da capacidade da dorna de fermentação é encaminhado para cuba-de-tratamento, onde é diluído com água e passa por um tratamento ácido para eliminar contaminantes e para

ativar as leveduras. O fermento repousa na cuba de tratamento durante cerca de 2 horas, quando então é enviado para a dorna de fermentação, concomitantemente com o mosto, reiniciando-se um novo ciclo do processo.

Segundo ALMEIDA (1960) este processo possui as seguintes vantagens: economia de açúcar devido a menor reprodução celular; eliminação de contaminantes pela centrifugação; fermentação mais pura devido ao tratamento do leite de leveduras; eliminação da necessidade do pé-de-cuba diminuindo a complexidade das operações. Esse processo pode apresentar uma produtividade três vezes maior (ou até mais) do que o processo em batelada simples.

Processo contínuo:

Os processos contínuos de fermentação requerem alimentação de mosto e retirada de vinho contínuas do tanque de fermentação, com vazões iguais. O vinho é submetido a um sistema de separação da biomassa, que é reintroduzida ao fermentador, após tratamento ácido. O vinho, isento de biomassa, é obtido continuamente como fração que é encaminhada para o sistema de separação (destilação) para obtenção do produto final (etanol).

ANDRIETA (1994) cita como vantagens dos processos fermentativos contínuos: maior produtividade, devido ausência de paradas para cargas e descargas e limpeza dos tanques; maior uniformidade do produto; maior adaptabilidade ao controle automático.

ALVES (1996) cita como desvantagens problemas de contaminação, manutenção e menor flexibilidade.

Apesar das vantagens apresentadas, houve grandes restrições a implementação nas indústrias devido aos problemas das primeiras plantas de fermentação contínua, implantadas de forma empírica, sem utilização de conceitos de engenharia no projeto das unidades industriais.

O interesse foi retomado no Brasil a partir da última década, principalmente pela razão dos processos mais recentes serem mais confiáveis e levarem a uma redução de custo de produção.

ANDRIETA (1994), chegou ao design ótimo de uma unidade industrial operando nas condições das destilarias brasileiras. Este é constituído por 4 reatores de mistura perfeita ligados em série com 1,5; 1,9; 2,2 e 1,45 horas de tempo de residência para os reatores 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

2.2 - Inibição da Fermentação

Na fermentação alcoólica, uma redução no custo de produção/ pode ser realizada pelo aumento na concentração de açúcares no substrato que alimenta o fermentador. A produção de altas concentrações de etanol na fermentação, por causa do aumento na concentração de açúcares, significará um decréscimo no custo de separação do produto e menor quantidade de resíduo (vinhaça) na operação de separação. A quantidade de água será menor (menos diluição do substrato), o tamanho do equipamento de fermentação será reduzido e desta forma, resultará num menor custo de produção. A produtividade volumétrica do sistema de fermentação aumentará, mas a produção de altas concentrações de etanol resultará numa inibição, que é um problema em tal processo (SILVA, 1999).

Chapman & Bartley citados por MARQUES (1997) concluíram que a partir de 2g/l de glucose ocorre repressão catabólica das enzimas respiratórias, tornando a fermentação a via principal de degradação do açúcar, mesmo em condições aeróbicas. Essa repressão pode chegar até à perda total da mitocôndrias.

O etanol inibi as células de *S. cerevisiae* afetando a taxa específica de crescimento e produção de etanol. VEJA et alii (1987) estudaram o efeito de níveis de inóculo de levedura sobre a inibição da fermentação pelo etanol e concluíram que o substrato pode atuar sinergicamente com o etanol provocando forte inibição.

ALMEIDA (1980) comparou os processos de batelada e batelada alimentada, em fermentações para a produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. Concluiu que o processo de batelada alimentada permite evitar o efeito inibidor do açúcar na fase exponencial, visto que neste caso a adição de açúcar é distribuída durante o tempo de enchimento.

LEÃO & VAN UDEN (1982) afirmam que a inibição do etanol é do tipo não competitiva, afetando a capacidade do sistema (a taxa específica máxima de fermentação e a taxa específica de crescimento).

Zines & Rogers verificaram que não ocorre inibição das leveduras nas concentrações de etanol inferiores a 30 g/l. Ghose & Tyagi comprovaram que altas concentrações de etanol (87 g/l) produzem a interrupção do crescimento e acima de 114 g/l

não ocorre mais a formação de etanol. Segundo Miner & Goma quando a concentração do mosto em fermentação alcança 12 °GL, o que equivale à aproximadamente 95 g/l, o crescimento celular cessa. MAIORELLA et alii (1983) estudando o processo de produção de etanol, verificaram que a inibição de etanol começava em torno de 25 g/L e era total em 95 g/l. ALVES (1996), estudando a cinética do crescimento anaeróbico de *Saccharomyces cerevisiae*, num reator CSTR, verificou que o modelo exponencial foi o que melhor ajustou o valor da concentração máxima de etanol em função da temperatura, estando o valor para a temperatura de 32 °C em torno de 100 g/l. Carvalho estudando a influência da concentração de etanol nas faixas de 65 a 110 g de etanol /l na taxa de morte celular, realizando ensaios em batelada, verificou que com o aumento da concentração alcoólica no meio de fermentação ocorria uma redução da viabilidade celular em função também do aumento do tempo e temperatura (SILVA, 1998).

A tabela 2.2 mostra as concentrações máximas de tolerância de etanol, onde ocorre a completa eliminação do crescimento celular, para algumas espécies de levedura (SILVA, 1998).

Tabela 2.2- Concentrações máximas de tolerância de etanol.

Espécies	Etanol (g/l)	Referências
<i>S. cerevisiae</i>	69	HOLZBERG et alii (1967)
<i>S. cerevisiae</i> ATCC 4126	94	BAZUA & WILKE (1977)
<i>S. cerevisiae</i> NRRL 132	87	GHOSE & TYAGI (1979)
<i>S. cerevisiae</i> NCYC 479	120	BROWN et alii (1981)
<i>K. marxianus</i>	95	BAJPAI & MARGARITIS (1982)
<i>K. fragilis</i> NRRL 665	45	VIENNE & von STROCKAR (1985)

Nogodawithana & Steinkraus e Novak et alii relataram que etanol adicionado no meio, extracelular, era menos tóxico que o etanol intracelular, produzido. Este efeito foi atribuído ao alto nível de etanol intracelular. Porém a hipótese do acúmulo de etanol intracelular é difícil de conciliar com o rápido transporte de etanol pela membrana celular. Desde então álcoois de cadeia longa, ácidos graxos e etil ésteres, até mesmo em baixas concentrações, tem sido verificado ser inibidores do crescimento das leveduras durante a fermentação alcoólica. É possível que a inibição atribuída ao etanol

intracelular seja devido à toxicidade destes produtos secundários da fermentação (MARQUES, 1997).

Segundo Gutierrez citado por MARQUES (1997), durante o processo de fermentação ocorre produção de ácido succínico, ácido acético, álcoois superiores, etc que contribuem para menor eficiência da fermentação.

Para eliminar o efeito de inibição pelo etanol surgiram novos processos onde o etanol produzido é removido do caldo fermentado. Com a atenuação desta inibição é possível usar altas concentrações de açúcares aumentando o rendimento e a produtividade do processo.

Segundo MAIORELLA et alii (1983) estes processos podem aumentar a concentração de produtos secundários a ponto deles ficarem tóxicos às leveduras. O processo de fermentação a vácuo concentra produtos não voláteis no caldo fermentado. O sistema de fermentação com separação por membrana pode concentrar moléculas grandes que são bloqueadas do transporte pela membrana. Fermentação extrativa que emprega solventes não polares pode concentrar ácidos orgânicos.

MAIORELLA et alii (1983) estudou a taxa de produção dos subprodutos e o nível de inibição em fermentação contínua de *S. cerevisiae* para acetaldeídos, glicerol, ácidos fórmico, láctico e acético, 1-propanol, 2-metil-1-butanol e 2-3-butanodiol. Estabeleceram o início da inibição quando ocorria redução da viabilidade celular em 20% das células e inibição total quando mais de 80% das células não eram viáveis. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Concentrações de inibição pelos subprodutos

Subprodutos	Concentração de alta Inibição (g/l)*
Ácido fórmico	2,7
Ácido acético	7,5
Ácido láctico	38
1-propanol	12
2-metil-1-butanol	3,5
2-3-butanodiol	90
Acetaldeído	5,0

* redução de 80% na massa celular

Neste trabalho, MAIORELLA et alii (1983) encontraram uma expressão da concentração de qualquer um dos subprodutos no fermentador:

$$C_{\text{sub-produtos}} = \frac{vXY_{\text{sub-produto}}}{\gamma D} \quad (2.1)$$

Onde: $C_{\text{subproduto}}$ - concentração de subprodutos (g/l)

v - produtividade específica de etanol (h^{-1})

$Y_{\text{subproduto}}$ - relação de produção de subprodutos [(g subproduto/h)/(g etanol/h)]

D - taxa de diluição (h^{-1})

γ - é a razão sangria/alimentação

É considerado que o fluxo de etanol recuperado não contém nenhum subproduto contaminante e os subprodutos não são reconsumidos pelas leveduras. Esta fórmula não é aplicável no caso de acetaldeído para o qual devem ser somadas condições adicionais para permitir o consumo do acetaldeído.

OKOLO et alii (1987) determinou para *S. cerevisiae* a DL20 e DL50 para dois álcoois superiores (n-butanol e isoamílico), obtendo os valores apresentados na tabela 2.4:

Tabela 2.4 – Valores da concentração de n-butanol e isoamílico na inibição da *S. cerevisiae* DL20 e DL50

Componentes	DL20	DL50
n-butanol (g/l)	6,4	11,8
Isoamílico (g/l)	1,9	4,3

Fonte: MARQUES (1987)

Observou ainda que existe uma maior toxicidade quando álcoois superiores e o etanol encontram-se no meio, do que quando estão no meio isolados, pois as somas das toxicidades dos álcoois superiores dos ensaios onde foram aplicados isolados com as toxicidades do etanol quando foram aplicados isolados, resultam em valores menores do que quando eram aplicados em conjunto.

2.3 - Estratégia de Remoção Contínua do Produto Inibidor

Na busca de aumentar a produtividade da fermentação alcoólica, novos processos têm sido desenvolvidos onde o etanol é removido do caldo fermentado, para eliminar os efeitos da inibição pelo etanol. Com a diminuição desta inibição, pode-se trabalhar com alta concentração de açúcares permitindo a obtenção de um alto teor alcoólico no vinho.

Segundo SILVA (1998), num processo usando altas concentrações de açúcares, a eliminação do produto inibidor é essencial para se conseguir alta produtividade e alto rendimento. Vários caminhos combinando o reator (fermentador) com sistema de separação foram propostos, entre eles:

- a) **Fermentação sob vácuo:** O etanol tem uma volatilidade bem acima da água, facilitando a sua separação em pressão e temperatura reduzidas. Os pesquisadores verificaram que a pressão absoluta ótima de trabalho no fermentador deveria ser de 50 mmHg, pois nesta pressão o ponto de bolha do mosto contendo 1% de etanol alcançava 35°C, uma boa temperatura para o emprego de *Saccharomyces cerevisiae* como agente transformador do açúcar em álcool. MAIORELLA et alii (1983), alertaram que na fermentação a vácuo, a concentração de alguns produtos não voláteis, se não forem eliminados do processo por sangria, também inibe o processo, limitando o rendimento e a produtividade final da fermentação. O grande inconveniente do processo sob vácuo é a energia requerida para manter a condição de baixa pressão.
- b) **Pervaporação:** tem como princípio a difusão das substâncias voláteis através de uma membrana hidrofóbica. A técnica consiste em usar uma membrana para remover seletivamente o produto inibidor formado na fermentação. No caso da fermentação alcoólica, o mosto líquido difunde na superfície da membrana, e o álcool é então evaporado e removido por um fluxo fluido gasoso ou líquido e, posteriormente, o removido é condensado.
- c) **Perextração:** técnica que combina um solvente extrator e uma membrana. O termo perextração é a junção das palavras permeável (membrana) e extração (solvente)
- d) **Fermentação acoplada a um sistema de extração líquido-líquido :** o produto inibidor é seletivamente removido por solventes. O grande inconveniente da extração

líquido-líquido está relacionado aos solventes. As propriedades para um solvente ideal, são: alto coeficiente de distribuição em relação ao produto inibidor; ser não tóxico; relativamente barato. Conseguir agrupar todas estas propriedades em um só solvente é o grande problema encontrado pelos pesquisadores da área. Mesmo com este problema a ser resolvido, a fermentação alcoólica acoplada a extração líquido-líquido é uma das tecnologias mais estudadas para minimização da inibição, com futuro promissor.

- e) **Fermentação acoplada ao sistema de absorção (stripping) em coluna de recheio:** o mosto em fermentação é continuamente enviado para a coluna empacotada, onde o etanol é removido. A técnica de absorção estudada utilizou o CO₂ produzido na fermentação como gás absorvedor.
- f) **Fermentação acoplada ao sistema de adsorção e dessorção:** esta técnica está sendo estudada para a retirada do produto inibidor da fermentação, pois o sistema de adsorção utiliza-se de adsorventes seletivos, usando dois estágios. O etanol é primeiramente separado por adsorção em material sólido (resinas, zeólitas com propriedades hidrofóbicas), e depois é removido dos poros do adsorvente por calor ou absorção gasosa.
- g) **Fermentação acoplada ao sistema de destilação flash a vácuo:** este processo é um melhoramento do processo sob vácuo, pois três dos grandes problemas do processo sob vácuo são a dificuldade de adicionar o oxigênio no fermentador, manter condições estéreis e comprimir uma grande quantidade de CO₂. Com estas restrições os pesquisadores propuseram o processo de fermentação na pressão atmosférica conectado com o flash a vácuo. MAIORELLA et alii (1983) estudando as alternativas econômicas para o processo de fermentação acoplada ao sistema de separação, verificaram que os processos que apresentaram menor custo para a produção de etanol foram o processo a vácuo e o de extração líquido-líquido. SILVA (1998) modelando e simulando este processo e utilizando a ferramenta de análise de superfície de resposta otimizou o processo para uma conversão de 99,2% dos açúcares do meio de alimentação e uma produtividade de 21,0 g/l.h. Este valor de produtividade é 166% superior ao alcançado pelo processo contínuo convencional.

Processos extrativos que utilizam membrana no sistema de separação, como o sistema de pervaporação, perextração, já se mostraram operacionalmente eficientes, mas economicamente inviáveis. A grande restrição do processo que acopla fermentação ao

sistema de extração líquido-líquido está relacionada com o solvente utilizado no processo, pois não se conseguiu agrupar as qualidades necessárias num único solvente.

2.4 - Modelos Cinéticos

O estudo da cinética da fermentação alcoólica tem como objetivo a medida das velocidades instantâneas e médias da transformação de glicose em etanol e em material celular (crescimento celular) e o estudo da influência de diversos parâmetros nestas velocidades, como: a concentração de glicose, álcool, células e a temperatura.

Um modelo cinético é um conjunto de relações, usualmente na forma de equações, entre as variáveis de interesse cinético no sistema a ser estudado. No caso da fermentação alcoólica, as variáveis de interesse cinético são as concentrações de substrato, de etanol, de células e de oxigênio, além de fatores como temperatura e pH.

Os modelos cinéticos normalmente usados em fermentação segundo BAYLEY & OLLIS (1986), podem ser divididos em :

- Não-estruturados e não-segregados, nos quais as células de microorganismos são consideradas como soluto;
- Estruturados e não-segregados, onde as células são tratadas como indivíduos de múltiplos componentes porém com composição média semelhante;
- Não-estruturados e segregados, onde as células são tratadas como seres individuais distintos porém descritos por um único componente; e
- Estruturados e segregados, onde as células de microorganismos são considerados como indivíduos distintos e formados por múltiplos componentes.

A cinética de fermentação alcoólica é muito complexa. A taxa de fermentação muda continuamente com o desaparecimento de substrato e formação do álcool (SILVA, 1998). Devido a isto, segundo ANDRIETTA (1994), o tipo de modelo mais encontrado na literatura para descrever a fermentação alcoólica são os do tipo não-estruturado e não-segregado. Este tipo de modelo é um dos mais simples, geralmente aplicado em bioengenharia, onde considera-se a célula de levedura como um soluto, sendo

que esta simplificação diminui o número de parâmetros cinéticos a serem levantados experimentalmente. Estes, em sua maioria baseiam-se na determinação da velocidade específica de crescimento do microorganismo (μ) ou da produção de etanol (v) pelo decréscimo da velocidade específica máxima através de alguns termos de inibição e limitações.

Os fatores considerados como interferentes na velocidade específica de crescimento do microorganismo ou de produção de etanol diferem segundo cada autor (ANDRIETTA, 1994). Os principais fatores que interferem na velocidade específica de crescimento da levedura (μ) são as concentrações de ART, células de levedura, etanol e a temperatura, ou seja:

$$\mu = F(S, X, P, T) \quad (2.2)$$

DALE et alii (1990), consideram a temperatura como um fator de interferência, mas de forma indireta, alterando os valores dos parâmetros do modelo.

A expressão mais conhecida que relaciona μ e S e descreve o efeito do substrato limitante é dada por Monod:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (2.3)$$

Esta equação é válida para sistemas que não possuem interferências significativas de inibidores. A equação de Monod só pode ser usada para baixas concentrações de etanol no meio.

Luong citado por ANDRIETTA (1994) propõe as seguintes expressões para o termo de inibição pelo produto:

Linear

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right) \quad (2.4)$$

Exponencial

$$\mu = \mu_{\max} e^{-K_2 P} \quad (2.5)$$

Não linear generalizado

$$\frac{\mu}{\mu_{m\acute{a}x}} = 1 - \left(\frac{P}{P_{m\acute{a}x}} \right)^n \quad (2.6)$$

Para o termo de inibição pela concentração celular Lee et alii, Jarzebskiet e Monbouquette citados por ANDRIETTA (1994) utilizaram a seguinte expressão:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \left(1 - \frac{X}{X_{m\acute{a}x}} \right)^m \quad (2.7)$$

LEVENSPIEL (1980), sugeriu para a inibição pelo produto:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}x}} \right)^n \quad (2.8)$$

O modelo cinético adotado por ANDRIETTA (1994) sugerido por Lee et alii (1983), escolhido após ensaios em unidades industriais de fermentação alcoólica, os quais mostraram que este  capaz de representar com boa precisão o comportamento do processo, foi:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{S + K_s} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}x}} \right)^n \left(1 - \frac{X}{X_{m\acute{a}x}} \right)^m \quad (2.9)$$

2.5- Parâmetros Cinéticos

Por dependerem do microorganismo e substrato utilizados e das condições em que foram realizados (operação), encontra-se na literatura uma grande variedade de valores dos parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica. Abaixo são listados alguns parâmetros comuns a vários modelos, e seus valores citados por vários autores. Da mesma forma que os parâmetros, os valores de rendimento em biomassa ($Y_{X/s}$) e em etanol ($Y_{P/s}$) também variam de um autor para outro (ANDRIETTA, 1994):

Tabela 2.5 - Valores dos parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica

Autores	K_s (g/l)	μ_{máx} (h⁻¹)	P_{máx} (g/l)	X_{máx} (g/l)	n	m	Y_{X/S} (g/g)	Y_{P/S} (g/g)
Ghose e Thyogi (1979)	0,48	0,40	87	-	1,0	-	0,09	0,47
Sevely e colaboradores (1980)	5,0	0,30	85	-	1,0	-		
Jin, Chiang e Wang (1981)	0,22	0,453	-	-	-	-		
Hopper e Hansford (1982)	3,3	0,64	-	-	-	-	-	0,44
Lee et alii (1983)	1,6	0,24	90	100	1,0	1,0	0,06	0,375
Chattaway et alii (1987)	-	0,27	-	8,9	-	1,0		
Dourado et alii (1987)	0,2	1,20	105	-	4,0	-	-	-
Jarzibski et alii (1989)	0,5	0,24	90	320	0,85	1,1	0,12	0,30
Andrietta & Stupiello (1990)	1,6	0,41	103	100	3,0	0,9	0,033	0,445
Monbouquette (1992)	0,5	0,24	90	150	0,85	1,1	-	-
Aiba & Shoda (1969)	-	0,43	-	-	-	-	-	0,35
Bazua & Wilke (1977)	-	0,45	80-100	-	-	-	-	-
Maiorella et alii (1984)	0,35	0,46	87,5	-	-	-	0,11	-
Bajpal & Margaritis (1987)	-	0,35	44,5	-	-	-	0,043	0,48
Lee & Chabg (1987)	-	-	90				0,12	0,454
Agrawal et alii (1989)	1,2	0,48-0,66		50	-	-	0,3-0,4	
Vasconcelos et alii (1992)	-	-	69	-	-	-	0,32	0,49
Dominguez et alii (1983)	22,6	0,19	-	-	-	-	0,28	0,36
Carvalho (1996)	-	-	-	-	-	-	0,0218	0,369
Alves (1996)	4,1	-	114	-	-	-	0,098	
Siqueira Filho (1997)	-	-	106,73	-	-	-	0,0687	0,313
Ferreira (1993)	5,6	0,315	-	-	-	-	0,11	0,415
Migliari	-	0,5	-	-	-	-	0,04	0,46

Fonte: ANDRIETA (1994)

2.6 - Efeito da Temperatura nos Parâmetros Cinéticos

A temperatura na fermentação é um fator de grande importância, pois desempenha influências na multiplicação das células de leveduras, na produção de álcool, no consumo de substrato e na inibição pelo produto. Na busca de estabelecer condições otimizadas da fermentação alcoólica, procurando o aumento do rendimento e da produtividade, é necessário expressar o modelo matemático em função da temperatura, através deste efeito nos parâmetros cinéticos (SILVA,1998).

VAN UDEN (1985), descreve o comportamento da tolerância ao etanol da *S. cerevisiae* em função da temperatura. Os resultados mostraram que para temperaturas intermediárias, às chamadas críticas inferior (12 °C) e superior (28°C), a tolerância ao etanol se mantém constante. Acima da temperatura crítica superior, a tolerância cai drasticamente com o aumento da temperatura e para temperaturas abaixo da crítica inferior, tem-se também a queda da tolerância, acompanhando a queda da temperatura. A tolerância ao etanol pode ser associada aos valores do parâmetro P_{\max} (ANDRIETA, 1994).

ALVES (1996), analisando os resultados dos ensaios com fermentação contínua, obteve alguns modelos matemáticos expressando os parâmetros cinéticos em função da temperaturas:

$$P_{\max} = 638,1e^{(-0,05741 \times T)}, \text{ para } 30 < T < 38^{\circ}\text{C} \quad (2.10)$$

$$\mu_{\max} = 4,181 \times 10^4 e^{\left(\frac{-3535}{T}\right)} - 5,397 \times 10^{69} e^{\left(\frac{-50475}{T}\right)}, \text{ para } 28 < T < 38^{\circ}\text{C} \quad (2.11)$$

$$Y_{X/S} = 0,098 \text{ gcél.sec a / gART}, \text{ para } 28 < T < 34^{\circ}\text{C} \quad (2.12)$$

$$Y_{X/S} = 0,292 e^{(-0,032 * T)}, \text{ para } 34 < T < 38^{\circ}\text{C} \quad (2.13)$$

$$K_s \cong 4,1 \text{ gART/l}, \text{ entre } 28 \text{ e } 38^{\circ}\text{C} \quad (2.14)$$

COSTA (2000), realizando fermentações contínuas com reciclo total de células obteve os parâmetros para a fermentação alcoólica em função da temperatura, sendo válidos entre 28 e 40°C. Os parâmetros em função da temperatura, ajustados a partir dos dados experimentais são:

$$\mu_{\max.} (h^{-1}) = 1,6e^{\left(\frac{-41,5}{T}\right)} - 1,3 \times 10^4 e^{\left(\frac{-431,4}{T}\right)} \quad (2.15)$$

$$X_{\max} (g/l) = -0,3279T^2 + 18,484T - 191,06 \quad (2.16)$$

$$P_{\max.} (g/l) = -0,4421T^2 + 26,41T - 279,75 \quad (2.17)$$

2.7 - Levantamento dos Parâmetros Cinéticos

A velocidade específica de crescimento celular (μ) é igual à massa de células produzidas na unidade de tempo, por unidade de massa de microorganismo, sendo dada por:

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (2.18)$$

O valor de μ_{\max} é específico para cada microorganismo, podendo ser determinado por três métodos básicos:

- 1) Por intermédio da curva $X=X(t)$ - Este é um método que utiliza-se da cinética de crescimento de microorganismo, por intermédio da determinação de massa celular. A determinação é feita na fase exponencial.
- 2) Determina-se o valor de μ_{\max} através da obtenção dos valores da concentração celular (X) e da concentração de substrato (S) no estado estacionário, para vários valores de vazão específica (D).
- 3) Por ajuste de modelos matemáticos - Elabora-se um modelo matemático que ajuste bem o comportamento cinético estudado. Através do cálculo dos parâmetros deste modelo em função de algumas condições experimentais estudadas, determina-se o valor de μ_{\max} . O modelo de Monod apresenta um bom ajuste para várias cinéticas de fermentação, sendo o valor de μ_{\max} calculado a partir da regressão linear dos dados experimentais levantados (curva cinética).

2.8 - Termodinâmica do Equilíbrio de Fases

O critério que deve ser satisfeito para o equilíbrio entre uma fase líquida e uma fase vapor, na mesma temperatura e pressão, é que a fugacidade de cada componente seja igual em todas as fases (SMITH & VAN NESS, 1980), ou seja:

$$f_i^v = f_i^l \quad (i = 1, 2, \dots, n \text{ componentes}) \quad (2.19)$$

A expressão da fugacidade para cada fase é:

Fase vapor:

$$f_i^v = y_i \phi_i P \quad (2.20)$$

Fase líquida:

$$f_i^L = x_i \gamma_i f_i^0 \quad (2.21)$$

Substituindo as equações 2.20 e 2.21 na equação 2.19, tem-se:

$$y_i \phi_i P = x_i \gamma_i f_i^0 \quad (2.22)$$

Para pressões baixas ou moderadas, a hipótese da independência das coordenadas da fase líquida γ_i e f_i^0 em função da pressão, pode ser feita sem alterar significativamente a exatidão dos resultados.

Quando a fugacidade padrão é obtida pela regra de Lewis-Randall então, f_i^0 é igual a f_i , a fugacidade do líquido puro i , a temperatura e pressão do sistema, podemos escrever a identidade :

$$f_i^0 = f_i = P_i^{sat} \left(\frac{f_i^{sat}}{P_i^{sat}} \right) \left(\frac{f_i}{f_i^{sat}} \right) \quad (2.23)$$

estimados na mesma temperatura.

Sendo $\phi_i^{sat} = f_i^{sat} / P_i^{sat}$ e propondo a hipótese de que $f_i / f_i^{sat} = 1$, ou seja $f_i = f_i^{sat}$ em função da fugacidade do líquido puro não ser sensível à pressão, a equação 2.23 torna-se:

$$f_i^0 = P_i^{sat} \phi_i^{sat} \quad (2.24)$$

Substituindo a equação 2.24 na equação 2.22, tem-se:

$$y_i \phi_i P = x_i \gamma_i P_i^{sat} \phi_i^{sat} \quad (2.25)$$

Considerando a fase vapor como uma fase ideal, por ser um sistema operado em baixa pressão, podemos assumir que:

$\phi_i \cong \phi_i^{sat}$ e então a equação 2.25 torna-se:

$$y_i P = x_i \gamma_i P_i^{sat} \quad (i=1,2,\dots) \quad (2.26)$$

A constante de equilíbrio do componente i numa mistura é definida por:

$$k_i = \frac{y_i}{x_i} \quad (2.27)$$

Assim a equação 2.26, torna-se

$$k_i = \gamma_i \frac{P_i^{sat}}{P} \quad (2.28)$$

O valor de P_i^{sat} pode ser conhecido através da equação de Antoine, que relaciona a pressão de vapor com a temperatura e as constantes de cada espécie química (A, B e C), ajustadas com base nos dados experimentais:

$$\log P_i^{sat} = A - \frac{B}{T + C} \quad (2.29)$$

onde P_i^{sat} é dado em mmHg, a temperatura em $^{\circ}\text{C}$ e as constantes A, B e C são dadas na região de temperatura em $^{\circ}\text{C}$.

O maior problema para o cálculo do equilíbrio da equação 2.28 é encontrar o valor do coeficiente de atividade γ_i , que descreve o desvio da fugacidade do componente i na mistura líquida (f_i^L) em função do componente em uma mistura líquida ideal ($x_i f_i^0$). A literatura apresenta estudos que mostram modelos e métodos que calculam os coeficientes de atividade (SILVA, 1998).

Segundo Walas citado por SILVA (1998) para misturas aquosas, NRTL é o melhor modelo para o cálculo dos coeficientes de atividade. SILVA (1998), utilizou este modelo, considerando que o fluxo de alimentação do tanque flash é composto apenas por duas substâncias (mistura binária de etanol e água), e determinou as composições de equilíbrio da mistura etanol-água, para a temperatura de operação do tanque flash (30°C). Os valores para as composições de equilíbrio são mostradas na Tabela 2.6, onde y_1 é a composição de etanol na fase vapor e x_1 a composição de etanol no líquido.

Tabela 2.6 - Equilíbrio líquido vapor da mistura etanol-água para temperatura de 30°C

x_1	y_1	Pressão (mmHg)
0,0000	0,0000	31,74
0,0043	0,0459	33,13
0,0152	0,1409	36,41
0,0273	0,2205	39,67
0,0463	0,3107	44,12
0,0678	0,3817	48,32
0,1099	0,4694	54,57
0,1711	0,5398	60,54
0,2469	0,5889	65,02
0,3238	0,6215	67,95
0,3866	0,6435	69,75
0,4176	0,6538	70,54
0,5046	0,6838	72,54
0,5809	0,7131	74,11
0,6343	0,7365	75,13
0,7246	0,7829	76,64

2.9 - Planejamento Experimental na Otimização de Processos

O processo que acopla fermentação alcoólica a um sistema de separação contínua do produto inibidor, possui várias variáveis (fatores) que interferem no processo, definindo tipicamente um sistema multivariáveis. Nos processos multivariáveis é fundamental determinar a influência de cada variável independente sobre as respostas de interesse (variáveis dependentes). A otimização do processo tem se tornado um método de análise na determinação de faixas de operação que obtenham ótimos desempenhos das respostas desejadas (SILVA, 1998).

Os métodos de planejamento experimental têm como procedimento fazer variar todos os fatores ao mesmo tempo. A razão para isto é que as variáveis podem se influenciar mutualmente, ou seja, pode haver interação entre as variáveis, e o valor ideal para uma delas pode depender do valor da outra.

Usando planejamento experimental baseado em princípios estatísticos os pesquisadores podem extrair do sistema em estudo o máximo de informação útil, fazendo um número mínimo de experimentos.

Os métodos de planejamento experimental mais conhecidos para otimização do processo são o simplex sequencial, o planejamento experimental e análise de superfície de resposta. Os métodos simplex necessitam do conhecimento da resposta da etapa imediatamente anterior para a continuação dos ensaios seguintes, limitando este método a realização de um experimento de cada vez. Como consequência desta limitação, o método simplex só otimiza uma resposta de cada vez. O simplex é definido como figura geométrica, sendo triangular com duas variáveis, tetraedro com três variáveis e hiperpoliedro com quatro ou mais variáveis. O simplex tem a característica de termo sequencial, tornando-o mais adequado para experimentos de resposta rápida (BARROS NETO et alii, 1995).

O método de planejamento experimental por análise de superfície de resposta tem como princípio a técnica de planejamento fatorial, onde os experimentos são programados através de um planejamento fatorial, sendo possível a realização de vários experimentos ao mesmo tempo (SILVA, 1998).

A primeira etapa a fazer no planejamento de um experimento, é determinar quais os fatores e as respostas de interesse para o sistema que se deseja estudar. Os fatores, isto é, as variáveis controladas pelo experimentador, tanto podem ser qualitativas como quantitativas, podendo haver mais de uma resposta do sistema.

Um planejamento fatorial requer a execução de experimentos para todas as possíveis combinações dos níveis dos fatores. Para estudar o efeito de qualquer fator sobre a resposta é preciso fazê-lo variar e observar o resultado dessa variação. Isso implica na realização de ensaios em pelo menos dois níveis desse fator. Um planejamento fatorial em que todas as variáveis são estudadas em apenas dois níveis é portanto o mais simples de todos eles (BARROS NETO et alii, 1995).

Nos planejamentos de dois níveis costuma-se identificar os níveis superior e inferior com os sinais (+) e (-), respectivamente. Se n fatores estão contidos no estudo, o planejamento fatorial necessitará da realização de 2^n ensaios diferentes, cobrindo todas as combinações possíveis. Para a obtenção do erro experimental é necessário a realização de pelo menos dois ensaios no ponto central (nível 0), correspondendo a média aritmética dos níveis -1 e +1.

Para obter um modelo de 2ª ordem e percorrer outros níveis ou condições experimentais não pressupostas pelo planejamento fatorial inicial, que apenas oferece modelo de 1ª ordem, pode-se ampliar o planejamento realizando experimentos nos postos axiais, ou seja, complementar o planejamento fatorial inicial com mais 2n experimentos. Esse planejamento fatorial + configuração estrela pode também ser realizado apenas com os fatores que apresentam efeitos significativos no planejamento fatorial inicial mais os experimentos deslocados axialmente (níveis $-\delta$, -1, +1, $+\delta$). O cálculo do valor de δ é feito através da equação de BOX & WILSON (1951):

$$\delta = (2^K)^{\frac{1}{4}} \quad (2.31)$$

onde K= número de variáveis (fatores) independentes.

Sendo o planejamento experimental um método baseado e executado com técnicas estatísticas é de fundamental importância a avaliação dos modelos empíricos obtidos através da regressão dos dados experimentais. É preciso esclarecer que os modelos empíricos procuram apenas descrever, com base na evidência experimental, o comportamento do processo estudado, na região experimental investigada, ou seja, os modelos empíricos são também modelos locais.

O exame dos resíduos é fundamental na avaliação da qualidade do ajuste de qualquer modelo. Um modelo que deixe resíduos consideráveis é obviamente um modelo ruim.

O procedimento usual de avaliação do desempenho de um modelo começa pela análise dos desvios das observações em relação à média global. O desvio relativo a todos os experimentos é bem representado pela soma dos quadrados dos desvios, ou soma quadrática, e é dada por:

$$SQ_T = SQ_R + SQ_r \quad (2.32)$$

Esta equação diz que uma parte da variação total das observações em torno da média é descrita pela equação de regressão, e o restante fica por conta dos resíduos. Quanto maior for a fração descrita pela regressão, melhor será o ajuste do modelo. Isto pode ser quantificado por meio da razão.

$$R^2 = SQ_R / SQ_T \quad (2.33)$$

O maior valor possível para R^2 obviamente é um, e ele só ocorrerá se não houver resíduo algum e portanto toda a variação em torno da média for explicada pela regressão. Quanto mais perto de um estiver o valor de R^2 melhor terá sido o ajuste do modelo aos dados observados.

Cada soma quadrática tem associada a si um certo número de graus de liberdade, que indica quantos valores independentes envolvendo as n observações são necessários para determiná-la. O número de graus de liberdade da soma quadrática residual é a diferença entre o número de observações e o número de parâmetros estimados, isto é, $V_r = (n - p)$. O número de graus de liberdade da soma quadrática devida à regressão é o número de parâmetros menos um, $V_R = (P - 1)$.

Dividindo as somas residuais quadráticas pelos seus respectivos graus de liberdade obtêm-se as chamadas médias quadráticas MQ_R e MQ_r .

O teste F é outro parâmetro importante na verificação da validade estatística do modelo ajustado. O teste F de significância é utilizado para investigar se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos valores experimentais. O valor de F é calculado por :

$$F_{1,n-2} \approx MQ_R/MQ_r \quad (2.34)$$

onde 1 e $n-2$ são os números de graus de liberdade da média quadrática devida à regressão e da média quadrática residual, respectivamente. Comparando-se o valor de F calculado pela regressão dos dados experimentais com o valor tabelado para o nível de confiança

desejado, e encontrando o valor de F acima de quatro vezes o valor de F tabelado, a regressão é útil para fins preditivos, ou seja, a equação ajustada é estatisticamente significativa e os valores encontrados experimentalmente são bem apresentados pelo modelo proposto pelo ajuste.

Quando os experimentos são realizados em duplicata fatalmente haverá resíduos, que poderão ser atribuídos, pelo menos em parte, aos erros aleatórios. Verifica-se que nesse caso o resíduo total deixado pelo modelo poderá ser decomposto em duas partes: uma inexplicável, devido aos erros, e uma outra devido à falta de ajuste do modelo.

$$SQ_r = SQ_{ep} + SQ_{faj} \quad (2.35)$$

A soma quadrática devida ao erro puro (SQ_{ep}) dará uma medida do erro aleatório que afeta as respostas. A soma quadrática devida à falta de ajuste, SQ_{faj} fornece uma medida da falta de ajuste do modelo às respostas observadas.

Quando divide-se pelos seus respectivos números de graus de liberdade ($V_{faj} = m - p$, e $V_{ep} = n - m$) as somas quadráticas convertem-se em médias quadráticas, podendo-se avaliar a falta de ajuste do modelo.

A tabela 2.7, conhecida como tabela de Análise de Variância ou ANOVA (Analysis of Variance), resume toda a análise estatística que avalia a qualidade do ajuste do modelo (BARROS NETO et alii, 1995).

Tabela 2.7- Análise de Variância

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Média da soma dos quadrados	Grau de liberdade	Teste F
Devido a regressão	SQ_R	MQ_R	$P - 1$	MQ_R/MQ_r
Resíduo	SQ_r	MQ_r	$N - P$	
Falta de ajuste	SQ_{faj}	MQ_{faj}	$M - P$	-
Erro puro	SQ_{ep}	MQ_{ep}	$N - M$	-
Total	SQ_T	-	$N - 1$	-
Qualidade do ajuste	Ra^2	-		-
Coef. de correlação	Ra	-	-	-
F tabelado	-	-	-	$F_{confiança}$

3. METODOLOGIA

3.1-Esquema do Processo

O esquema geral do processo proposto por Silva (1998) é mostrado na Figura 3.1. O processo consiste em 4 unidades interligadas, são elas:

1. fermentador (reator bioquímico): unidade de produção de etanol;
2. centrífuga : unidade de separação de células de levedura;
3. tanque flash a vácuo: unidade de separação da mistura etanol-água.
4. cuba: unidade de tratamento do fermento;

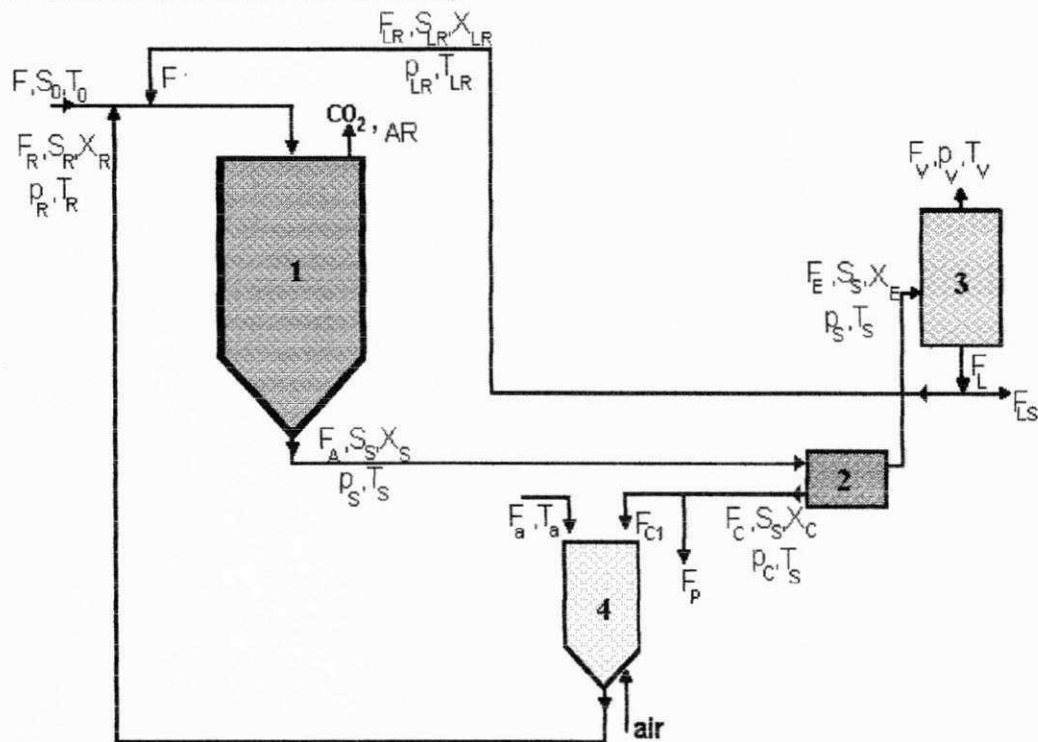


Figura 3.1 – Esquema geral do processo SILVA (1998)

Este processo apresenta como vantagens menor custo de produção; facilidade prática na operação de todo o processo sendo, o sistema que melhor se ajusta às indústrias brasileiras; elimina a necessidade de trocador de calor, reduzindo custos fixos e de manutenção do processo; capacidade de usar altas concentrações de açúcares no meio de alimentação do reator, o que tem como consequência maior produção de etanol, reduzindo os custos com destilação.

Este processo, recircula parte do líquido que sai da base do tanque flash, este retorno garante a operação da fermentação com extração de etanol, controla a concentração de etanol e resfria o mosto fermentado. No entanto, concentra os produtos não voláteis no caldo fermentado, o que pode levar ao aumento da concentração de produtos secundários a ponto deles ficarem tóxicos as leveduras.

No trabalho de SILVA (1998) foi feito um estudo com o objetivo de otimizar as condições operacionais do processo extrativo de forma a maximizar o rendimento e a produtividade, nele não foi considerado o efeito inibidor dos álcoois superiores acumulados durante o processo. O presente trabalho inclui no modelo o efeito dos álcoois superiores: n-propanol, n-butanol, isoamílico e isobutanol; é feita simulação nas mesmas condições operacionais usadas por SILVA (1998) de forma a poder comparar e verificar a influência desta inibição.

O processo inicia-se com alimentação do substrato (mosto) ao fermentador, que já contém uma concentração inicial de células, suficiente para permitir o consumo de açúcar principalmente para produção de álcool. A partir deste instante o substrato é consumido e etanol é formado. Na saída do fermentador o mosto fermentado é enviado para centrifuga onde ocorre a separação em duas fases: a fase pesada, que contém as leveduras (creme de leveduras) e outra leve, que contém o vinho delevedurado. O creme de leveduras é levado para cuba-de-tratamento a sangria para se remover uma pequena parte do fermento. Na cuba o creme é diluído, sob agitação, na proporção de um volume de água para um volume de creme e adiciona-se ácido sulfúrico até pH entre 2,5 e 2,0 para diminuir a contaminação por bactéria. O tratamento requer um repouso do fermento na cuba de duas horas. O fermento tratado é então enviado para o bioreator.

No início o processo é semelhante ao processo convencional, onde o mosto delevedurado é enviado para destilaria. Quando atinge o estado estacionário o sistema de separação a vácuo acoplado ao fermentador é então acionado. O mosto delevedurado é conduzido para o tanque flash a vácuo onde ocorre parte da separação da mistura etanol-

água. O tanque flash deverá trabalhar na temperatura entre 28°C e 30°C e pressão associada de 30 mmHg a 40 mmHg. Esta temperatura tem o objetivo de eliminar o trocador de calor, reduzindo custo fixo e de manutenção.

A parte vaporizada é enviada para uma coluna de retificação conjuntamente com uma parte do líquido e a outra parte do líquido retorna ao fermentador. Este retorno da parte líquida deve deixar a concentração de etanol no fermentador em níveis de atuar como anti-séptico, esta concentração é em torno de 40 g/l. Neste retorno há concentração de subprodutos não voláteis, o que pode levar a diminuição da viabilidade de células e na redução do rendimento e produtividade em etanol. É intenção deste trabalho controlar a concentração de etanol e subprodutos abaixo de seus poderes inibitórios.

Segundo SILVA (1998), as variáveis que têm maior influência no rendimento e produtividade são: a concentração inicial de substrato na alimentação (S_0), o tempo de residência ($t_r = V / F$), a taxa de reciclo de células ($R = F_R / F$) e a taxa de reciclo do tanque flash ($r = F_{LR} / F_L$). Com o objetivo de otimizar o processo e buscando produzir modelos matemáticos empíricos de 2ª ordem (quadrático), foi realizado um planejamento experimental 2^4 + configuração estrela para o rendimento e a produtividade em função destas variáveis.

No presente trabalho, que acrescenta ao modelo de SILVA (1998) o efeito inibidor dos álcoois superiores, as simulações foram realizadas usando o mesmo planejamento fatorial usado por Silva, com o objetivo de comparar e assim poder quantificar o efeito destes inibidores. Na Tabela 3.1 são apresentados os valores reais e os níveis estudados para as quatro variáveis.

Tabela 3.1 - Níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial 2^4 + configuração estrela.

Níveis	S_0	R	t_r	r
-2	100	0,2	1,2	0,2
-1	140	0,25	1,4	0,3
0	180	0,3	1,6	0,4
1	220	0,35	1,8	0,5
2	260	0,4	2,0	0,6

Com o intuito de ampliar a faixa dos níveis estudados e operar o sistema nas condições de temperatura dentro da realidade da região Nordeste, foi feito um novo planejamento fatorial, incluindo a temperatura da água da cuba de tratamento T_w e a temperatura de alimentação do substrato T_0 . Na tabela 3.2 são apresentadas os valores reais para os níveis estudados.

Tabela 3.2 - Níveis dos fatores para o planejamento fatorial 2^6 + configuração estrela.

Níveis	S_0	t_r	R	r	T_w	T_0
-2,828	39	1,0	0,14	0,26	26,5	28,5
-1	130	1,4	0,275	0,3	30	32
0	180	1,6	0,35	0,4	32	34
+1	230	1,8	0,425	0,5	34	36
+2,828	321	2,2	0,56	0,54	37,5	39,5

3.2-Modelagem Matemática do Processo

Para a simulação de um processo, é necessário um modelo matemático que possa reproduzir, o mais próximo possível, o comportamento do processo sob diversas condições. A modelagem matemática pode basicamente ser obtida através de modelos determinísticos e modelos probabilísticos. No modelo determinístico, utilizado para representar o processo proposto neste trabalho, a cinética do processo, os fenômenos de transporte de massa, de quantidade de movimento e de calor constituem a base para a obtenção das equações do modelo, por intermédio de balanços de movimento, massa e energia. No caso de modelo probabilístico ou modelo estocástico é necessário a realização de vários experimentos e de posse dos dados, analisá-los estatisticamente. A grande vantagem do modelo determinístico é a não obrigatoriedade de experimentos extensivos e específicos, podendo, por meio de correlação de literatura ou de dados obtidos em planta piloto ou laboratório, prever antecipadamente, o comportamento do processo. A principal

utilização desta natureza de modelo está relacionada com a otimização de processos e a definição de políticas operacionais através de simulações extensivas, uma vez que os modelos determinísticos possuem uma boa capacidade preditiva. A figura 3.1 mostra as simbologias de fluxos e concentrações de entrada e saída para as 4 unidades que são parte integrantes do processo. A modelagem do processo se baseia na suposição em que o fermentador se comporta como reator de mistura perfeita, o que é plenamente justificado pela forma de operação do sistema. Os balanços de massa para as células, substrato limitante, produto e álcoois superiores no reator, formulam matematicamente o fenômeno de transferência de quantidade de massa. O balanço de energia para o fluido reagente no reator modela o fenômeno de transferência de calor do processo.

Balanço de massa para células

$$V\left(\frac{dX_{ac}}{dt}\right) = F_A X_A - F_A X_S + V\left(\frac{dX_{gerado}}{dt}\right) \quad (3.1)$$

Sabe-se que: $\left(\frac{dX_{gerado}}{dt}\right) = \mu X$ (3.2)

Substituindo a equação 3.2 na equação 3.1, tem-se:

$$V\left(\frac{dX_{ac}}{dt}\right) = F_A X_A - F_A X_S + \mu X V \quad (3.3)$$

Balanço de massa para substrato limitante

$$V\left(\frac{dS_{ac}}{dt}\right) = F_A S_A - F_A S_S + V\left(\frac{dS_{consumido}}{dt}\right) \quad (3.4)$$

Sabe-se que: $Y_{XS} = -\frac{\left(\frac{dX}{dt}\right)}{\left(\frac{dS}{dt}\right)}$

Então, $\left(\frac{dS_{consumido}}{dt}\right) = -\frac{\left(\frac{dX}{dt}\right)}{Y_{XS}} = -\mu \frac{X}{Y_{XS}}$ (3.5)

Substituindo (3.5) em (3.4):

$$V\left(\frac{dS_{ac}}{dt}\right) = F_A S_A - F_A S_S - \frac{\mu X V}{Y_{XS}} \quad (3.6)$$

Balço de massa para o produto

$$V \left(\frac{dP_{ac}}{dt} \right) = F_A P_A - F_A P_S + V \left(\frac{dP_{gerado}}{dt} \right) \quad (3.7)$$

Sabe-se que: $Y_{PS} = - \frac{\left(\frac{dP}{dt} \right)}{\left(\frac{dS}{dt} \right)}$ (3.8)

Então, a equação 3.7 fica

$$V \left(\frac{dP_{ac}}{dt} \right) = F_A P_A - F_A P_S + \mu X V \left(\frac{Y_{PS}}{Y_{XS}} \right) \quad (3.9)$$

Balço de massa para os álcoois superiores (subprodutos inibidores)

$$V \left(\frac{dI}{dt} \right)_{ac} = F_A I_A - F_A I_S + V \left(\frac{dI}{dt} \right)_{gerado} \quad (3.10)$$

A formação dos álcoois superiores é obtida pela equação empírica encontrada por SILVA (1999), descodificada para os principais efeitos:

$$I_{gerado} = 34,6355 - 0,296S_A + 0,0016S_A^2 \quad (3.11)$$

Dando álcoois superiores em gramas/ 100 litros. Então a taxa de formação de álcoois superiores é:

$$V \left(\frac{dI}{dt} \right)_{gerado} = F_A (34,6355 - 0,296S_A + 0,0016S_A^2) / 100 \quad (3.12)$$

Substituindo (3.12) em (3.10), tem-se:

$$V \left(\frac{dI}{dt} \right)_{ac} = F_A I_A - F_A I_S + F_A (34,6355 - 0,296S_A + 0,0016S_A^2) / 100 \quad (3.13)$$

Fazendo um balanço de massa global no processo, para determinação das concentrações e vazões de entrada do fermentador, é necessário algumas suposições. Observando-se a figura 3.1, nota-se que as concentrações de substrato e produto ao passarem pela centrífuga, permanecem constantes e iguais ao da saída do fermentador. Esta

suposição é razoavelmente aceita. Outra suposição é fixar a concentração de células de leveduras do reciclo (X_R). Para se conseguir este valor fixo, varia-se a vazão de água (F_a) que dilui o creme de leveduras. Para manter a vazão celular constante, utiliza-se de uma purga pela linha de sangria (F_p). O grande benefício desta purga é desprezar o efeito de morte celular e retirar produtos secundários acumulados no fermentador. A purga permite uma constante renovação celular (ANDRIETA, 1994).

Com estas considerações, têm-se as seguintes equações:

$$T_{res.} = \frac{V}{F} \quad (3.14)$$

$$F_A = \frac{(F + F_{LR})}{(1 - R)} \quad (3.15)$$

$$F_E = F_A \frac{(X_C - X_S)}{(X_C - X_E)} \quad (3.16)$$

$$F_R = R \frac{(F + F_{LR})}{(1 - R)} \quad (3.17)$$

$$F_C = F_A - F_E \quad (3.18)$$

$$F_{C1} = F_R \frac{X_R}{X_C} \quad (3.19)$$

$$F_A = F_R - F_{C1} \quad (3.20)$$

$$F_P = F_C - F_{C1} \quad (3.21)$$

$$S_R = F_{C1} \frac{S_S}{F_R} \quad (3.22)$$

$$P_R = F_{C1} \frac{P_S}{F_R} \quad (3.23)$$

$$I_R = F_{C1} \frac{I_S}{F_R} \quad (3.24)$$

$$S_A = \frac{(S_{LR}F_{LR} + S_0F + S_R F_R)}{F_A} \quad (3.25)$$

$$X_A = \frac{(X_{LR}F_{LR} + X_R F_R)}{F_A} \quad (3.26)$$

$$P_A = \frac{(P_{LR}F_{LR} + P_R F_R)}{F_A} \quad (3.27)$$

$$I_A = \frac{(I_{LR}F_{LR} + I_R F_R)}{F_A} \quad (3.28)$$

O tanque flash que está acoplado com o processo de fermentação tem como finalidade retirar continuamente etanol formado no fermentador, eliminando deste modo a inibição das células de leveduras causada pela concentração elevada de etanol. O tanque flash é um equipamento onde a proposta básica é tornar possível o íntimo contato entre a fase líquida e a fase vapor, tendo como objetivo a separação de um componente de uma fase para outra por intermédio da diferença de volatilidade de um componente em relação ao outro. O líquido se enriquecerá com o componente menos volátil e ocorrerá aumento da concentração do componente mais volátil no vapor. O tanque flash é uma coluna de destilação com apenas um estágio de contato líquido-vapor. No tanque flash as composições do equilíbrio de fases etanol-água foram obtidas por SILVA (1998) nas condições de trabalho (pressão = 34,5 mmHg e temperatura = 30°C), sendo :

$$P_v = 210,3 \text{ g/l}$$

$$P_{LR} = 22,6 \text{ g/l}$$

Assim,

$$F_L = F_E \frac{(P_S - P_V)}{(P_L - P_V)} \quad (3.29)$$

$$F_V = F_E - F_L \quad (3.30)$$

$$F_{LR} = R_L F_L \quad (3.31)$$

$$F_{LS} = F_L - F_{LR} \quad (3.32)$$

$$S_{LR} = F_E \frac{S_S}{F_L} \quad (3.33)$$

$$X_{LR} = F_E \frac{X_S}{F_L} \quad (3.34)$$

$$I_{LR} = F_E \frac{I_S}{F_L} \quad (3.35)$$

O rendimento do processo (REND) é a quantidade de etanol produzida em relação à quantidade de açúcar que pode ser convertido em álcool pela multiplicação do valor estequiométrico (0,511 g/g), então:

$$REND = \frac{(F_V P_V + F_{LS} P_L + F_P P_S)}{(F S_0 0,511)} \times 100 \quad (3.36)$$

A produtividade (PROD) é a quantidade de álcool etílico formado em relação a uma unidade de volume do fermentador por unidade de tempo, assim:

$$PROD = \frac{(F_V P_V + F_{LS} P_L)}{V} \quad (3.37)$$

A contribuição das vazões da cuba de tratamento e do tanque flash, que apresentam temperaturas em torno de 30°C, é que faz resfriar o mosto em fermentação no reator. Sabe-se por intermédio da estequiometria da transformação de açúcares em álcool etílico que a reação é exotérmica. No processo proposto, o único modo de controlar a temperatura do meio reagente (mosto) é através da mistura das vazões provenientes do reciclo da cuba de tratamento (F_R) e do reciclo do tanque flash (F_{LR}), pois não se utiliza trocador de calor como é fundamental no processo convencional. Considerando iguais as densidades e os calores específicos do fluido entrante e do fluido de saída no fermentador (SILVA, 1998), tem-se:

$$\rho C_p V \left(\frac{dT}{dt} \right) = F_A T_A \rho C_p - F_A T_S \rho C_p + V \Delta H \frac{dS_{consumido}}{dt} \quad (3.38)$$

Substituindo a equação 3.5 na equação 3.38:

$$V \left(\frac{dT}{dt} \right) = F_A T_A - F_A T_S + \frac{(V \Delta H \mu X)}{(\rho C_p Y_{XS})} \quad (3.39)$$

Através do balanço global:

$$T_{C1} = T_S \quad (3.40)$$

$$T_R = \frac{(F_{C1} T_{C1} + F_A T_A)}{F_R} \quad (3.41)$$

$$T_A = \frac{(F T_0 + F_R T_R + F_{LR} T_L)}{F_A} \quad (3.42)$$

Os valores das constantes físicas para a solução da equação 3.39 estão apresentados na tabela 3.3 (SILVA, 1998):

Tabela 3.3 - Valores das constante físicas

Constantes	Valores
ΔH	51,76Kcal/Kg ART
ρ	1000 Kg/m ³
C_p	1 Kcal/Kg ⁰ C

3.3-Modelo Cinético

O modelo cinético usado neste trabalho tem por base o modelo de LEVENSPIEL (1980) que tem os termos de inibição pelo substrato limitante e produto. O termo de inibição pelos álcoois superiores foi acrescentado tendo como base o termo de inibição pelo produto.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \left(1 - \frac{P}{P_{MAX}}\right)^n \left(1 - \frac{I}{I_{MAX}}\right)^{1,8} \quad (3.43)$$

O termo de inibição proposto neste trabalho, leva em consideração que a viabilidade das leveduras decaem exponencialmente com o aumento da concentração dos álcoois superiores como citado por OKOLO (1987), e está elevado a 1,8 pois MAIORELIA (1983) estabeleceu que há inibição total das leveduras, quando 80% das células tornam-se inviáveis. MAIORELLA (1983) e OKOLO (1987) obtiveram as seguintes concentrações dos álcoois superiores para inibição total:

1-propanol = 12,0 g/l

iso butanol = 3,5 g/l

n-butanol = 6,4 g/l

isoamílico = 1,9 g/l

Assim, a concentração máxima de álcoois superiores para inibição total foi considerada, neste trabalho, como a soma dessas concentrações ($I_{\max} = 23,8$ g/l). Os valores dos parâmetros constantes são $n=3,0$; $Y_{PS} = 0,445$ e $Y_{XS} = 0,033$. Os valores de μ_{\max} e P_{\max} são calculados pelas seguintes expressões:

$$P_{\max} = 638,1e^{(-0,05741T)} \quad (3.44)$$

$$\mu_{\max} = 4,5 \times 10^{10} e^{\left(\frac{-1,54 \times 10^4}{1,987 \times (T+273)}\right)} \quad (3.45)$$

O modelo proposto foi usado para simular valores numéricos do processo de fermentação extrativa usando um programa em linguagem Fortran, empregando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem para resolver as equações diferenciais que regem o fenômeno. As condições iniciais usadas para o processo convencional são apresentadas na tabela 3.3.

Tabela 3.4 – Condições iniciais para o processo convencional

Variáveis	Concentração
S	0 g/l
X	30 g/l
P	0 g/l
T	30°C
T ₀	30°C
T _a	28°C
F	100 m ³ /h
X _c	180 g/l
X _e	3 g/l

Para o processo extrativo, os dados de entrada são as concentrações de S, X, P, T e I do processo convencional no estado estacionário.

3.4-Diagrama de Fluxo do Programa

Diagramas de fluxo fornecem uma representação gráfica de um procedimento passo-a-passo necessário para resolver um particular problema. Tal representação torna uma sequência complexa de eventos fácil para se ver e compreender (HEHL, 1987).

Para uma melhor compreensão dos passos seguidos na elaboração do programa, em linguagem Fortran, é apresentado a seguir o diagrama de fluxo.

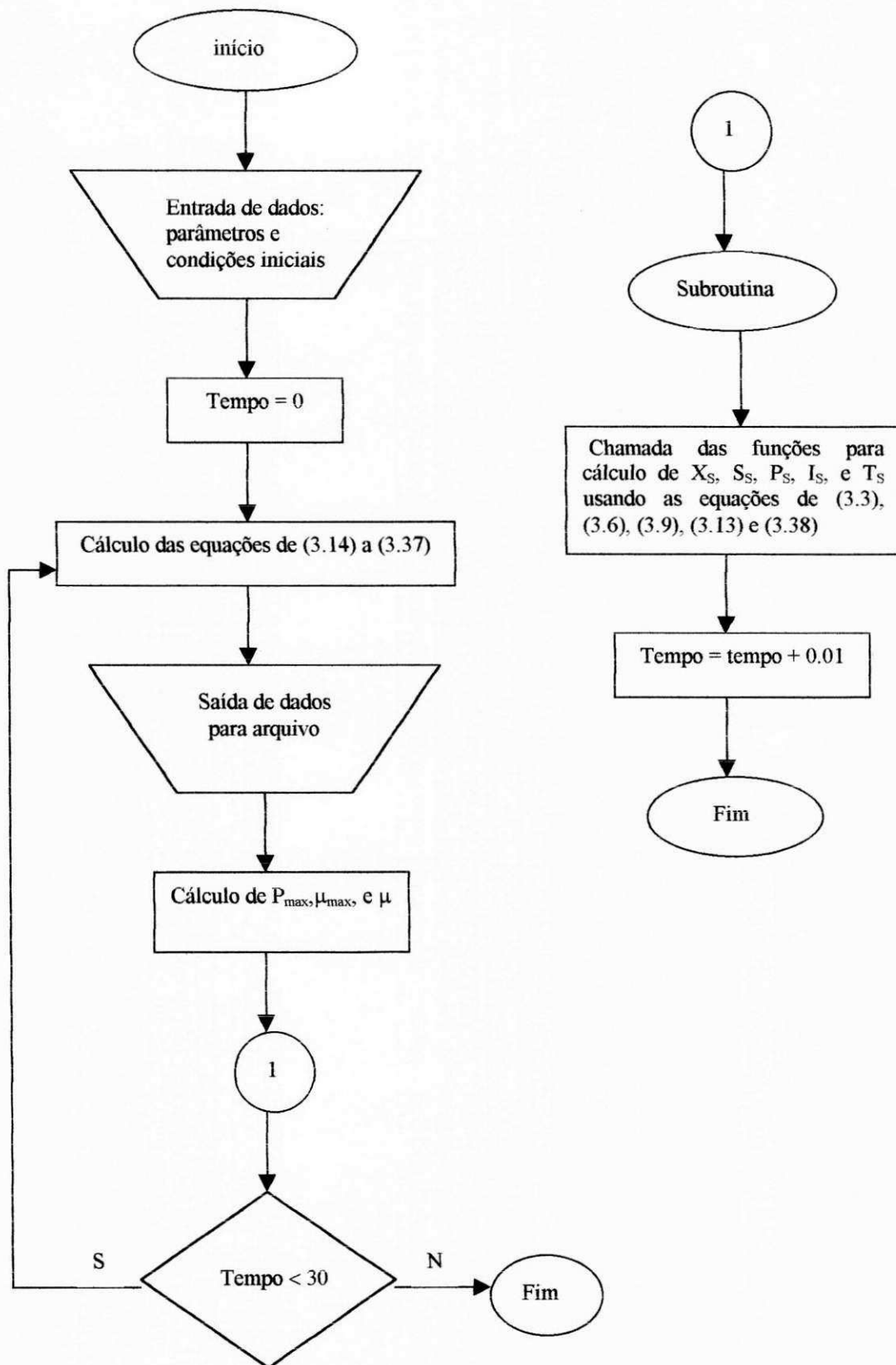


Figura 3.2 – Diagrama de fluxo do programa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 4.1 mostra a matriz do planejamento fatorial 2^4 + configuração estrela usado para verificar o efeito dos álcoois superiores no processo de fermentação. Os valores de rendimento e produtividade foram obtidos através de simulações com o programa elaborado nas várias combinações dos fatores dados pela matriz.

Tabela 4.1 - Matriz do planejamento fatorial 2^4 + configuração estrela

S₀	R	t_r	r	REND	PROD
-1	-1	-1	-1	82,476	21,613
1	-1	-1	-1	55,634	22,994
-1	1	-1	-1	85,972	18,581
1	1	-1	-1	68,076	23,767
-1	-1	1	-1	84,435	17,258
1	-1	1	-1	58,927	19,146
-1	1	1	-1	86,282	14,490
1	1	1	-1	71,301	19,503
-1	-1	-1	1	86,085	14,984
1	-1	-1	1	72,719	21,289
-1	1	-1	1	86,806	11,230
1	1	-1	1	85,035	19,454
-1	-1	1	1	86,342	11,699
1	-1	1	1	76,515	17,699
-1	1	1	1	86,918	8,746
1	1	1	1	85,716	15,295
0	0	0	0	83,616	19,276
-2	0	0	0	86,955	10,238
2	0	0	0	61,261	20,553
0	-2	0	0	70,355	19,375
0	2	0	0	86,230	15,282
0	0	-2	0	80,609	24,551
0	0	2	0	84,836	15,701
0	0	0	-2	69,148	21,856
0	0	0	2	86,504	10,960

O planejamento foi analisado usando o software Statistica, versão 5.0 para realizar as regressões. Os modelos quadráticos codificados obtidos para o rendimento e a produtividade em função das variáveis estudadas são mostrados abaixo. Os parâmetros considerados estatisticamente significativos para o modelo estão em negrito.

$$\text{REND} = 83,616 - 6,783S_0 - 2,299S_0^2 + 3,53R - 1,253R^2 + 0,920t_r - 0,146t_r^2 + 4,489r - 1,37r^2 + 2,481S_0R + 0,522S_0t_r + 3,691S_0r - 0,311Rt_r - 0,459Rr + 0,246t_r r \quad (4.1)$$

$$\text{PROD} = 19,276 + 2,549S_0 - 0,963S_0^2 - 0,992R - 0,479R^2 - 1,991t_r + 0,22t_r^2 - 2,448r - 0,71r^2 + 0,587S_0R - 0,103S_0t_r + 0,851S_0r + 0,005Rt_r - 0,392Rr - 0,19t_r r \quad (4.2)$$

A análise de variância (ANOVA) para o rendimento e a produtividade são mostradas nas tabelas 4.2 e 4.3. Para o rendimento o coeficiente de correlação que explica a qualidade do ajuste entre as respostas observadas e os valores determinados pelo modelo ajustado é de 0,9985. Para produtividade este valor é de 0,9964. Com relação ao teste F, pode-se considerar que os modelos obtidos são estatisticamente significativos com 99% de confiança, já que os valores encontrados, tanto para o rendimento como produtividade, foram mais de 5 vezes superiores aos tabelados, pois conforme BARROS NETO et alii (1995) se os valores calculados forem acima de quatro vezes o valor de F tabelado, os valores encontrados experimentalmente são bem representados pelo modelo proposto pelo ajuste.

Tabela 4.2 - Análise de variância para o rendimento

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média da soma dos quadrados	Teste F
Regressão	2333,269	14	166,66	234,57
Resíduo	7,105	10	0,7105	
Total	2340,374	24		
Qual. do ajuste	99,7%			
Coef. Correlação	0,9985			
F tabelado 99%				4,56
F cal. / F tab.				55,61

Tabela 4.3 - Análise de variância para a produtividade

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média da soma dos Quadrados	Teste F
Regressão	467,161	14	33,37	97,58
Resíduo	3,4196	10	0,34196	
Total	470,5806	24		
Qual. do ajuste	99,27			
Coef. Correlação	0,9964			
F tabelado 99%				4,56
F cal. / F tab.				21,40

Nas figuras de 4.1 a 4.6 são mostradas as superfícies de resposta construídas a partir dos modelos obtidos. Estas superfícies foram construídas para todos os fatores (S_0 , R , t_r , e r) observando os seus efeitos sobre o rendimento e produtividade. Como pode-se verificar todas as variáveis apresentam efeitos antagônicos para o rendimento e a produtividade, ou seja, enquanto o rendimento cresce com a diminuição de S_0 e aumento de R , t_r e r , a produtividade cresce com o aumento de S_0 e a diminuição de R , t_r e r .

As figuras 4.1 (a) e (b) mostram os efeitos de S_0 e R sobre o rendimento e a produtividade, mantendo os valores das outras variáveis no ponto central ($t_r = 1,6$ e $r = 0,4$). Observa-se que são atingidos rendimentos acima de 84% para valores de S_0 menores que 180 g/l e valores de R maiores que 0,25. A faixa ótima de produtividade observada na figura 4.1 (b) está em valores de S_0 maiores que 180 g/l e R menores que 0,30.

Na figura 4.2 (a) e (b) são apresentadas as superfícies para o rendimento e a produtividade em função de S_0 e t_r , mantendo as outras variáveis no ponto central. Como pode-se observar o tempo de residência (t_r) exerce maior influência sobre a produtividade do processo, influenciando menos no rendimento. Para estas variáveis os valores que apresentam melhor rendimento estão na faixa de S_0 menor que 180g/l e t_r maior que 1,4h, podendo-se alcançar valor acima de 85,7%, enquanto a melhor produtividade é atingida para tempo de residência menor que 1,4 h e S_0 maior que 180 g/l, alcançando valores acima de 24,5 g/l.h.

A taxa de reciclo do separador flash (r), é uma variável que apresenta grande influência tanto para o rendimento quanto para a produtividade do processo. Este efeito pode ser visto na figura 4.3 (a) e (b), que apresentam as superfícies de resposta em

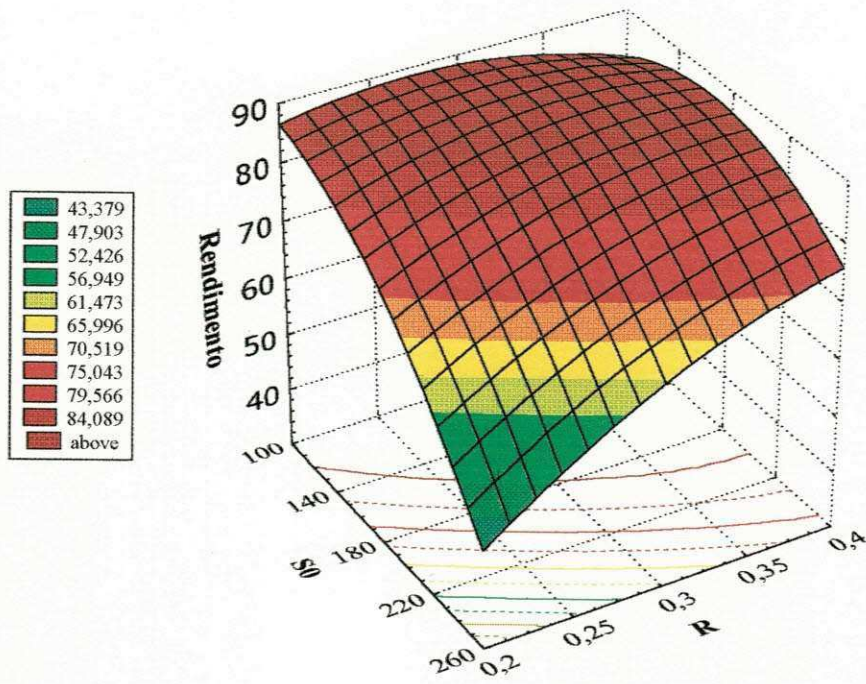
função de S_0 e r . O valor da concentração de açúcares redutores totais (ART) na alimentação apresenta o mesmo efeito que nas superfícies anteriores. Os melhores valores de rendimentos são obtidos para r superiores a 0,4 e a melhor faixa para produtividade é para r menores que 0,4.

Os efeitos para t_r e R nas respostas são vistos na figura 4.4 (a) e (b). Nesta figura, nota-se que a taxa de reciclo de células tem maior influência para o rendimento, enquanto o tempo de residência influencia mais a produtividade. Nas condições de S_0 e r no ponto central os valores ótimos de rendimento, acima de 84% são obtidos para t_r acima de 1,4 h e R acima de 0,3. Produtividade acima de 23,5 g/l.h são obtidos para valores de t_r menores que 1,4 h e R abaixo de 0,3.

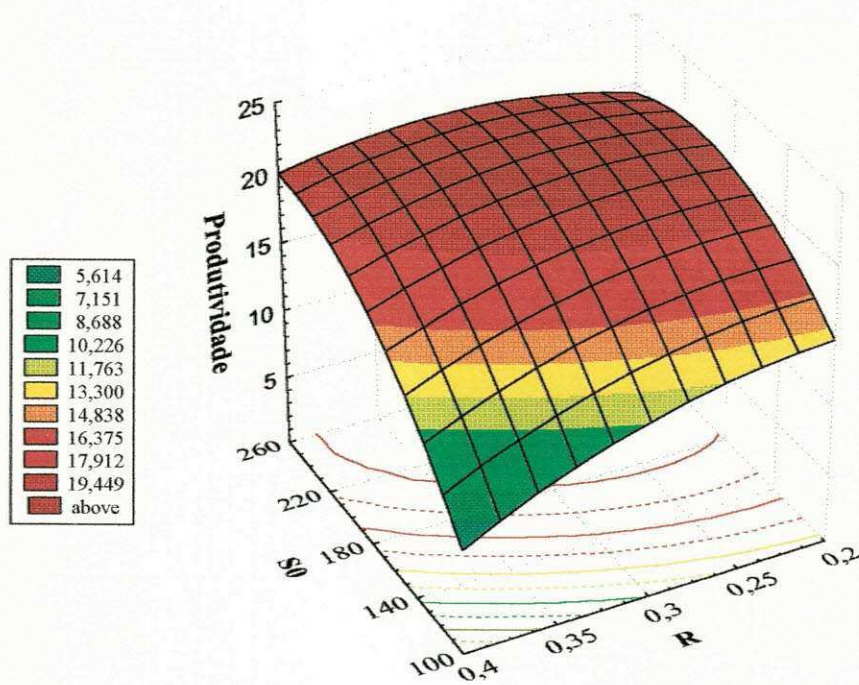
Para as variáveis taxa de reciclo de líquido do flash (r) e taxa de reciclo de células (R), as superfícies são mostradas na figura 4.5 (a) e (b). Nota-se que os valores que apresentam os melhores rendimentos são para r maior que 0,4 e R maiores que 0,3. Para produtividade superior a 20 g/l.h, r deve ser menor que 0,4 e R na faixa maior que 0,3. A taxa de reciclo de células apresenta pouca influência em comparação com o reciclo de líquido para as variáveis observadas na região otimizada.

A figura 4.6 (a) e (b) apresentam as superfícies de resposta para r e t_r . As duas variáveis apresentam efeitos significativos para a produtividade, enquanto que o rendimento só é significativamente afetado por r . Rendimentos acima de 85% são obtidos com t_r maiores que 1,4h e r maior que 0,5. Produtividade acima de 25 g/l.h são atingidas operando com t_r menores que 1,4h e r menor que 0,3.

Analisando o conjunto de todas as variáveis nas respostas estudadas, observa-se que a concentração de substrato é uma variável de extrema importância para o processo, pois valores altos de S_0 elevam a produtividade devido ao grande volume de etanol produzido por hora, mas em compensação reduz o valor do rendimento, pois nem todo o açúcar é consumido pelas leveduras e a alta produção de etanol diminui a capacidade de produção das leveduras devido ao efeito inibidor tanto do etanol como do próprio substrato. O tempo de residência apresenta maior efeito na produtividade do processo, o que já era previsto pois a produtividade é inversamente proporcional ao tempo de residência. Para o rendimento tempos de residência baixos diminuem a taxa de conversão de açúcar e tempos muito elevados aumenta a concentração de etanol no reator, diminuindo a viabilidade das células.



(a)



(b)

Figura 4.1 - Efeito de S_0 e R fixando r e t , no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

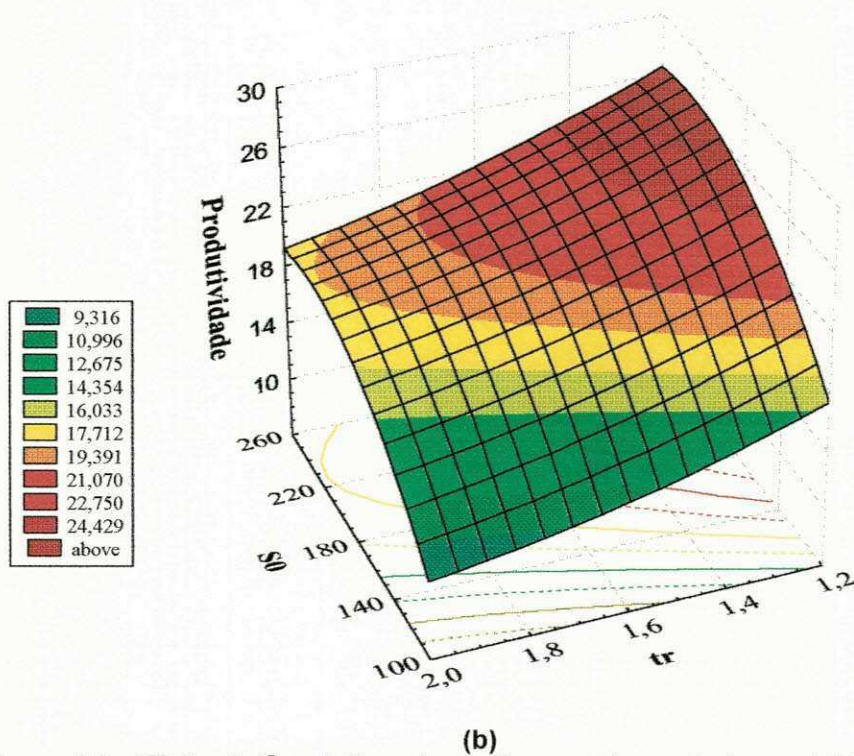
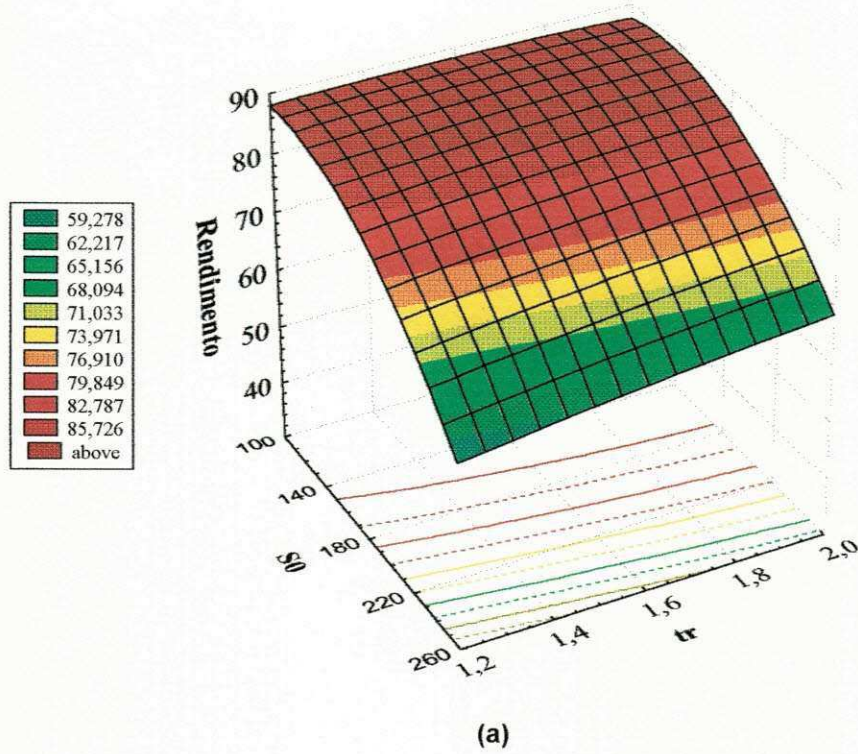


Figura 4.2 - Efeito de S_0 e t_r fixando r e R no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

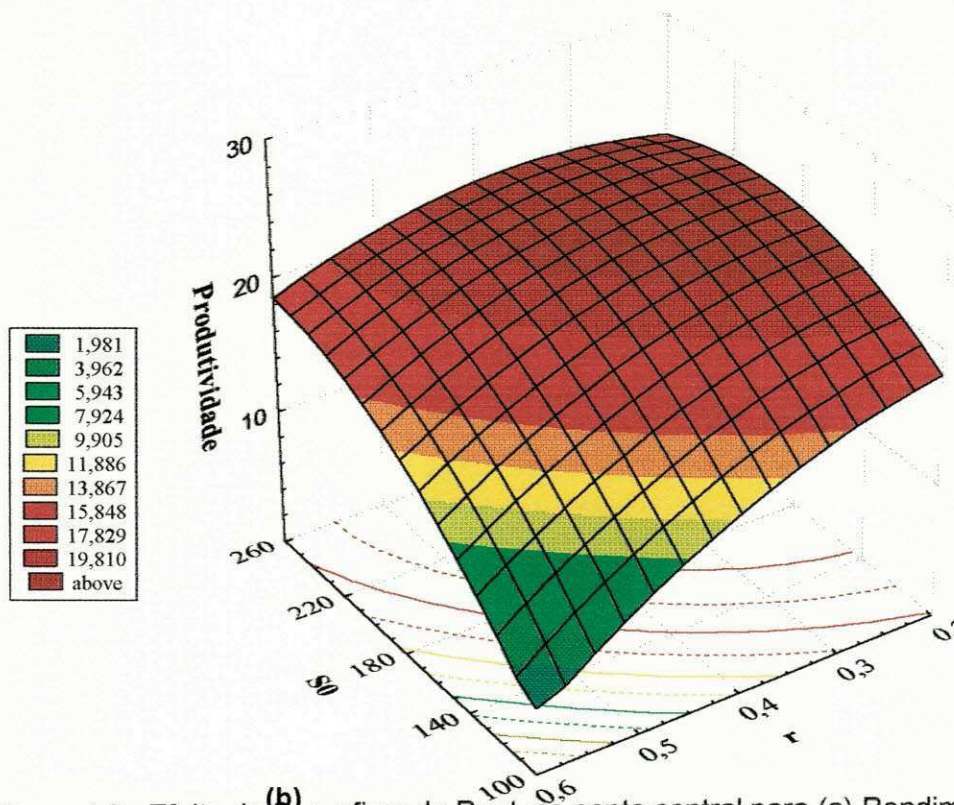
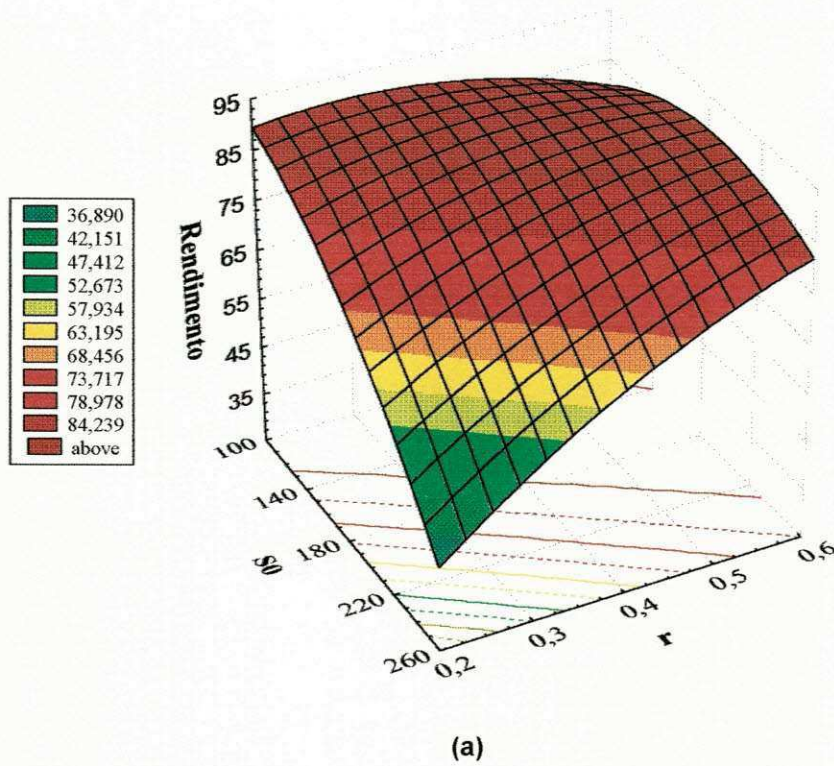


Figura 4.3 - Efeito de S_0 e r fixando R e t_r no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

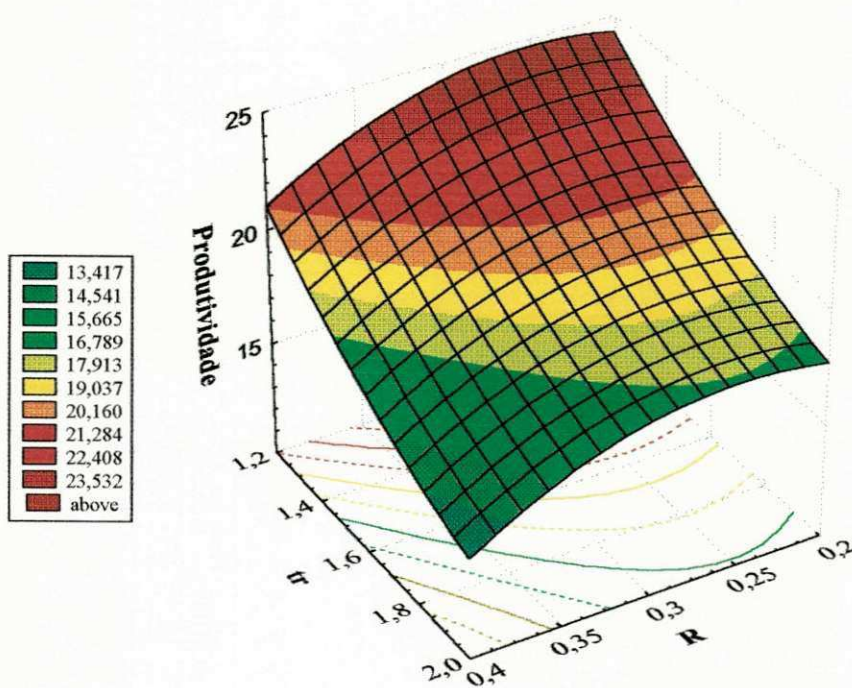
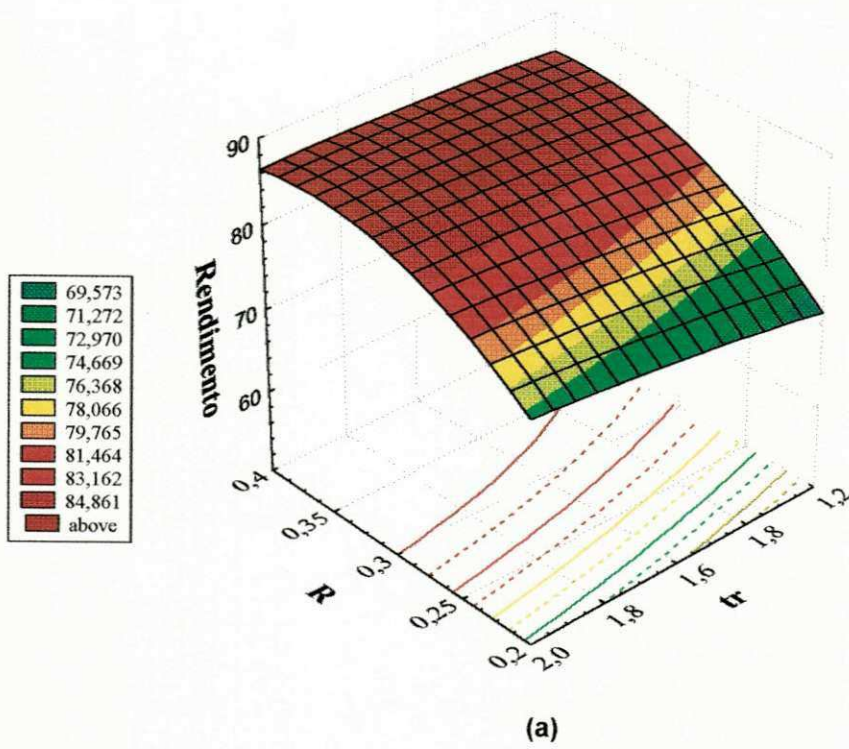


Figura 4.4 - Efeito de t e R fixando r e e no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

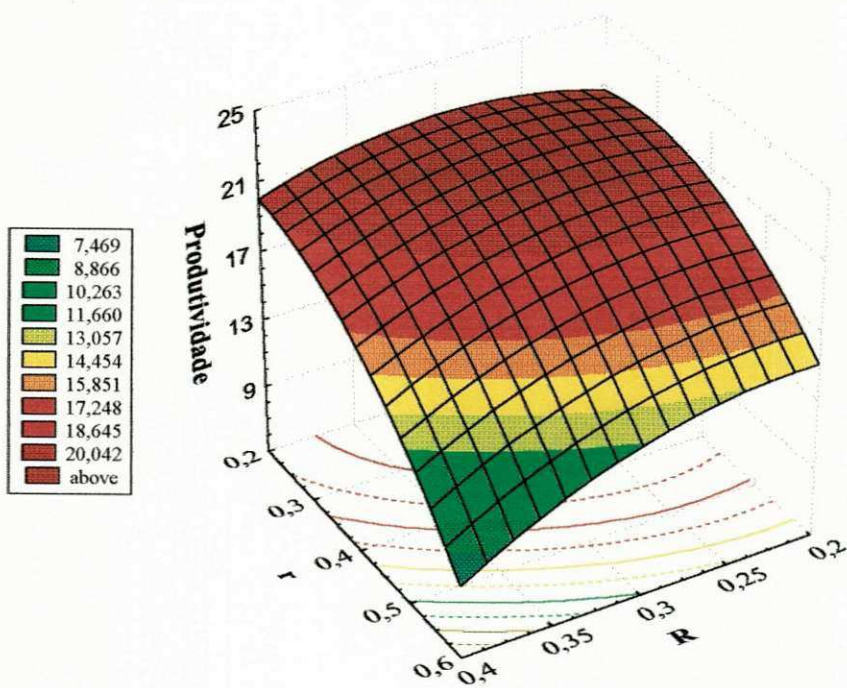
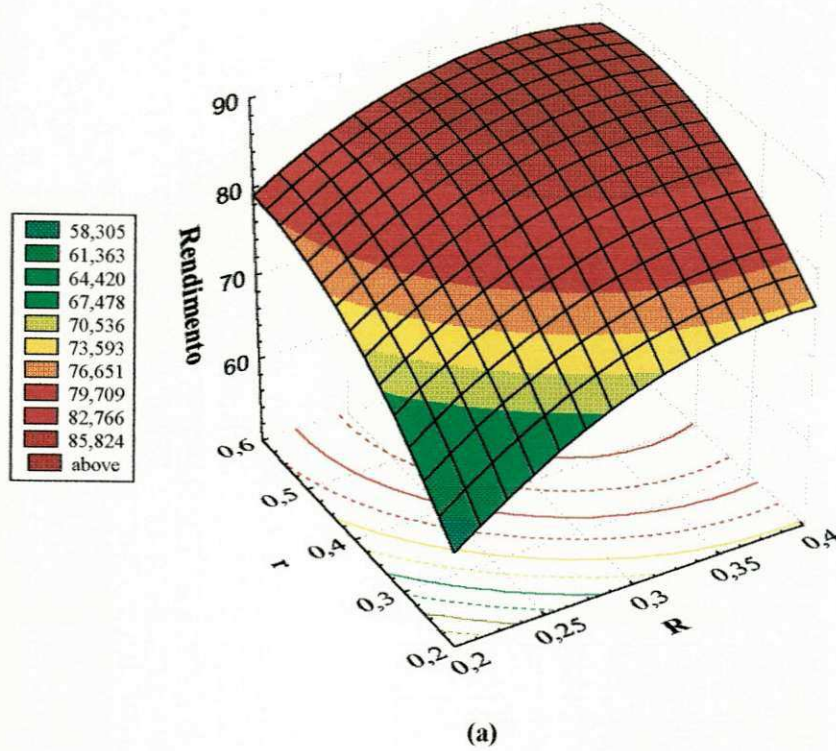


Figura 4.5 - Efeito de r e R fixando S_0 e t_r no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

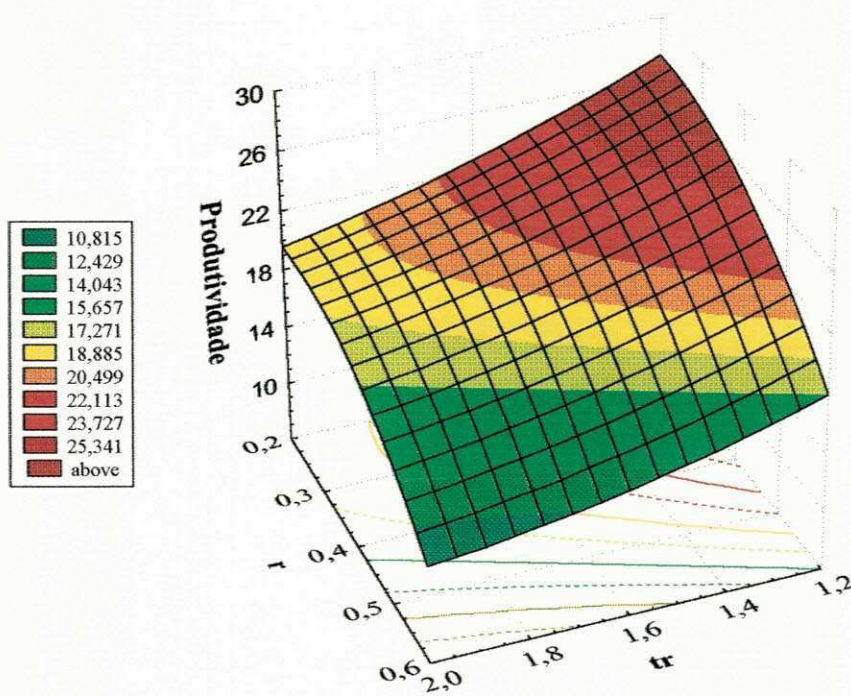
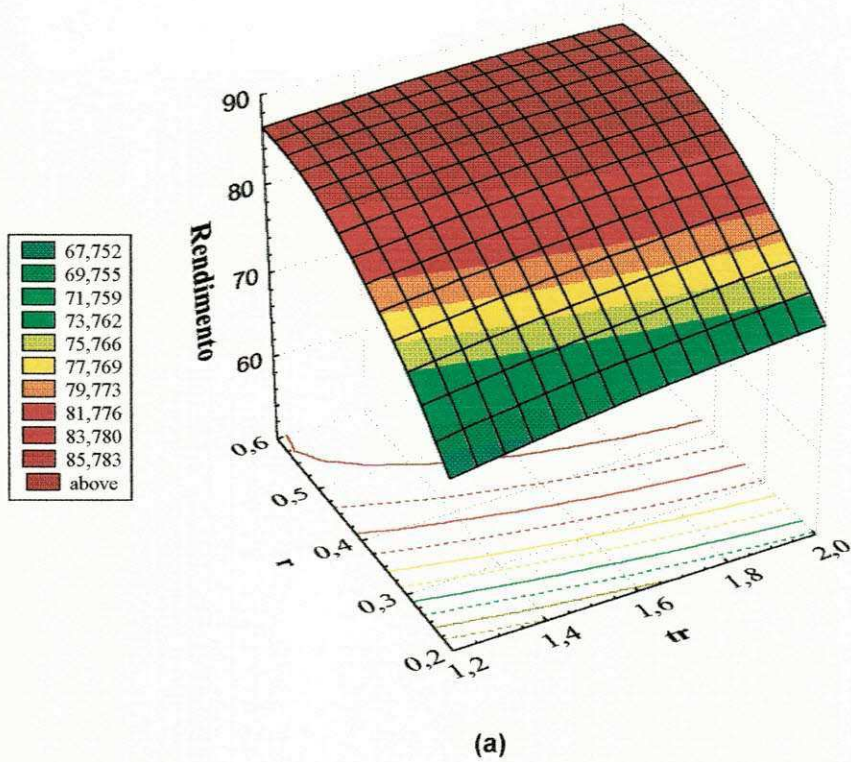


Figura 4.6 - Efeito de r e t_r fixando S_0 e R no ponto central para (a) Rendimento e (b) Produtividade.

A taxa de reciclo do tanque flash (r) tem o importante papel de contribuir para o controle de temperatura no reator, mas valores elevados de r diminuem a produtividade do processo e aumenta a concentração de álcoois superiores no reator, sendo os valores intermediários de r os mais indicados. A taxa de reciclo de células apresenta maior efeito para o rendimento, isto devido a renovação das células no reator, aumentando a conversão em etanol. Segundo ANDRIETTA e MAUGERI (1994) a taxa de reciclo de células (R) não pode ter um valor muito acima de 0,3, pois para isso seria necessário um aumento da capacidade das centrífugas utilizadas industrialmente. Isto aumentaria bastante os custos, já que centrífugas são equipamentos bastante caros, assim como sua manutenção. Diante destas observações os valores das variáveis que combinadas apresentam as melhores respostas de rendimento e produtividade são $S_0 = 180$ g/l, $R = 0,3$, $t_r = 1,4$ e $r = 0,4$. Com estes valores foi possível atingir rendimentos de 82,55% e produtividade de 21,49 g/l.h.

Usando estas mesmas condições nas equações encontradas por SILVA (1998) os valores de rendimento e produtividade são respectivamente 83,53 % e 21,578 g/l.h, que são bem próximos aos valores encontrados neste trabalho, apresentando diferença de 1% para o rendimento e de 0,1g/l.h para a produtividade. Estes valores mostram que a inibição pelos álcoois superiores interfere pouco no processo. Este fato está associado a baixa produção destes álcoois que chega a concentração máxima de 0,4607g/l, operando sem o flash nas condições estudadas e com o flash a 0,5335 g/l. Estes valores estão bem abaixo da concentração máxima para inibição total pelos álcoois superiores que é de 23,8 g/l. Para confirmação deste resultado é necessário o estudo mais detalhado da cinética de produção e inibição dos álcoois superiores durante a fermentação alcoólica. Este estudo não foi possível devido à falta de condições técnicas do laboratório.

A dinâmica do processo operando nas condições otimizadas é ilustrada na figura 4.7. Nela pode-se observar o comportamento das concentrações de células (X_s), substrato (S_s), produto (P_s) e álcoois superiores (I_s) e também o comportamento da temperatura na saída do reator. Nota-se que a concentração de células é aproximadamente constante tendo uma pequena queda no início da operação convencional, que pode ser atribuída ao aumento da concentração de etanol no reator, mantendo-se constante no decorrer do processo.

A concentração de substrato aumenta no início do processo convencional; isto ocorre porque no início do processo convencional não há substrato no reator, chegando

ao estado estacionário em aproximadamente dez horas, com uma concentração de 60g/l.h. Ao iniciar o processo extrativo, a concentração de substrato cai a aproximadamente 5g/l após dez horas. Mesmo o valor sendo relativamente alto, os valores de rendimento e produtividade foram os melhores.

A concentração de produto cresce no início do processo chegando ao estado estacionário em aproximadamente cinco horas com concentração em torno de 37g/l. No processo extrativo há aumento desta concentração nas primeiras duas horas, ocorrendo uma pequena queda em seguida, chegando a aproximadamente 40 g/l. Esta concentração é desejável para controlar a contaminação no reator.

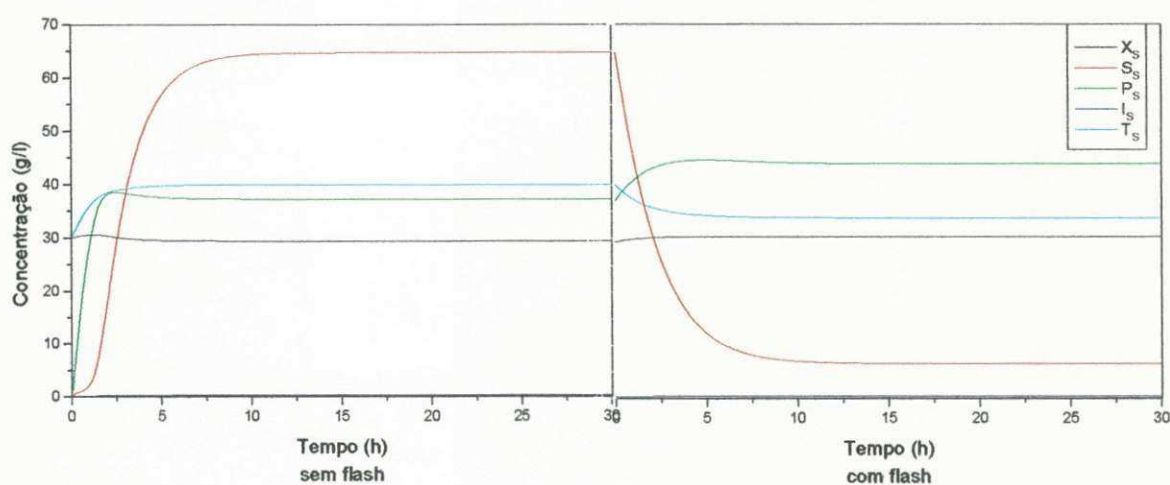


Figura 4.7 - Perfis de X_s , S_s , P_s , I_s e T_s no reator.

O perfil da concentração de álcoois superiores no reator é melhor visualizado na figura 4.8. Como pode-se observar, no processo extrativo há aumento da concentração de álcoois superiores no reator de aproximadamente 35%, este aumento é devido ao reciclo de líquido do tanque flash. Mesmo com o aumento a concentração de álcoois superiores se mantém bem abaixo da concentração de inibição.

Como previsto, a utilização do tanque flash elimina a necessidade de trocadores de calor para manter a temperatura do reator em torno de 35 °C. Isto pode ser melhor visualizado na figura 4.9, construída usando as condições ótimas de operação do processo. Pode-se verificar que no processo convencional, há um aumento da temperatura do reator chegando a aproximadamente 40 °C. Com utilização do flash, esta temperatura cai chegando a aproximadamente 34°C.

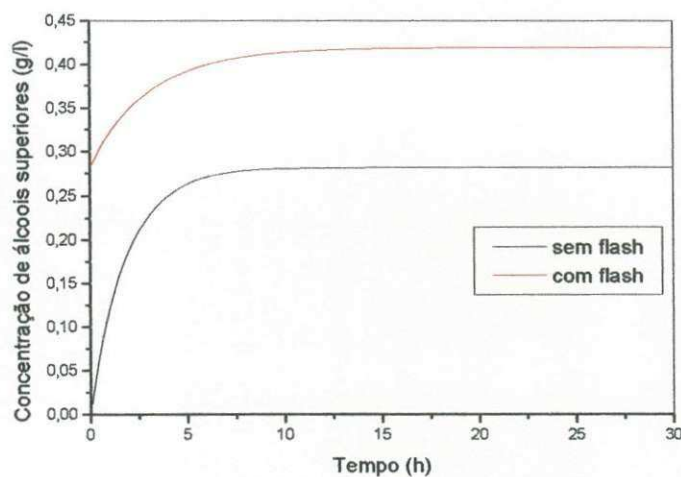


Figura 4.8 - Perfil de concentração de álcoois superiores no reator

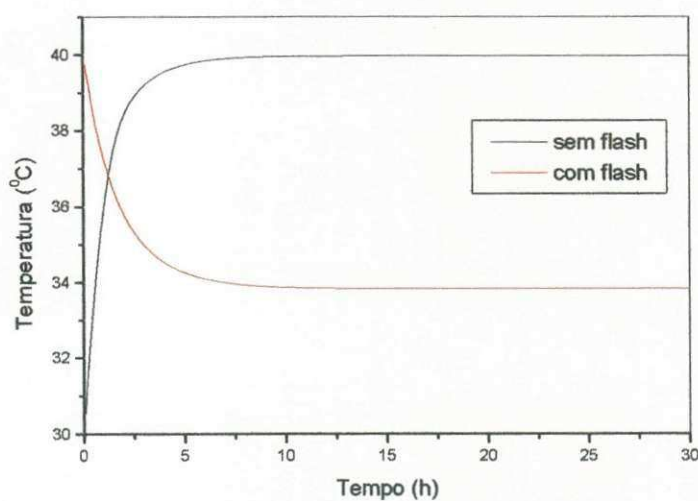


Figura 4.9 - Perfil de temperatura no reator.

Para que o processo fosse otimizado nas condições de operação nas temperaturas da região Nordeste foi realizado um novo planejamento como mostra a Tabela 4.4. Neste planejamento foram incluídas as variáveis T_w (temperatura da água na cuba de tratamento) e T_0 (temperatura do mosto na alimentação) e os níveis das variáveis estudadas anteriormente foram ampliados, como apresentado na tabela 3.2.

Tabela 4.4 - Matriz do planejamento fatorial 2^6 + configuração estrela

	S0	R	t _r	r	TO	TW	REND	PROD
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	84,94500	19,67500
2	1	-1	-1	-1	-1	-1	54,33500	22,58100
3	-1	1	-1	-1	-1	-1	86,77000	14,42800
4	1	1	-1	-1	-1	-1	75,48000	22,84100
5	-1	-1	1	-1	-1	-1	85,64200	15,45200
6	1	-1	1	-1	-1	-1	57,20500	18,60900
7	-1	1	1	-1	-1	-1	86,89100	11,23600
8	1	1	1	-1	-1	-1	76,26300	18,55300
9	-1	-1	-1	1	-1	-1	86,50000	12,92700
10	1	-1	-1	1	-1	-1	72,40200	21,02700
11	-1	1	-1	1	-1	-1	87,32700	7,65000
12	1	1	-1	1	-1	-1	86,24600	15,56100
13	-1	-1	1	1	-1	-1	86,66200	10,07300
14	1	-1	1	1	-1	-1	75,80500	17,36700
15	-1	1	1	1	-1	-1	87,41800	5,95900
16	1	1	1	1	-1	-1	86,36300	12,12700
17	-1	-1	-1	-1	1	-1	84,12500	19,46500
18	1	-1	-1	-1	1	-1	51,47700	21,25100
19	-1	1	-1	-1	1	-1	86,75100	14,42500
20	1	1	-1	-1	1	-1	70,18500	21,64500
21	-1	-1	1	-1	1	-1	85,24300	15,36300
22	1	-1	1	-1	1	-1	53,92400	17,40700
23	-1	1	1	-1	1	-1	86,87000	11,23400
24	1	1	1	-1	1	-1	72,69800	17,53700
25	-1	-1	-1	1	1	-1	86,48900	12,92600
26	1	-1	-1	1	1	-1	70,02900	20,12800
27	-1	1	-1	1	1	-1	87,32800	7,65000
28	1	1	-1	1	1	-1	86,18400	15,54800
29	-1	-1	1	1	1	-1	86,64100	10,07100
30	1	-1	1	1	1	-1	73,12900	16,56700
31	-1	1	1	1	1	-1	87,37500	5,95600
32	1	1	1	1	1	-1	86,33900	12,12200
33	-1	-1	-1	-1	-1	1	84,78200	19,63800
34	1	-1	-1	-1	-1	1	53,56400	22,22200
35	-1	1	-1	-1	-1	1	86,76100	14,42700
36	1	1	-1	-1	-1	1	71,60600	22,15300
37	-1	-1	1	-1	-1	1	85,60100	15,43500
38	1	-1	1	-1	-1	1	56,31600	18,27900

39	-1	1	1	-1	-1	1	86,87700	11,23500
40	1	1	1	-1	-1	1	74,24400	17,97700
41	-1	-1	-1	1	-1	1	86,49700	12,92700
42	1	-1	-1	1	-1	1	71,48000	20,67200
43	-1	1	-1	1	-1	1	87,32900	7,65000
44	1	1	-1	1	-1	1	86,18400	15,54800
45	-1	-1	1	1	-1	1	86,64700	10,07200
46	1	-1	1	1	-1	1	74,76700	17,05300
47	-1	1	1	1	-1	1	87,37500	5,95600
48	1	1	1	1	-1	1	86,33900	12,12200
49	-1	-1	-1	-1	1	1	83,72600	19,35900
50	1	-1	-1	-1	1	1	50,63700	20,86700
51	-1	1	-1	-1	1	1	86,73000	14,42200
52	1	1	-1	-1	1	1	68,19800	20,93300
53	-1	-1	1	-1	1	1	85,02000	15,31800
54	1	-1	1	-1	1	1	52,98200	17,07000
55	-1	1	1	-1	1	1	86,85500	11,23200
56	1	1	1	-1	1	1	70,56100	16,94200
57	-1	-1	-1	1	1	1	86,48000	12,92400
58	1	-1	-1	1	1	1	69,01500	19,76000
59	-1	1	-1	1	1	1	87,33200	7,65100
60	1	1	-1	1	1	1	86,13100	15,53800
61	-1	-1	1	1	1	1	86,63500	10,07000
62	1	-1	1	1	1	1	72,02300	16,23800
63	-1	1	1	1	1	1	87,37800	5,95600
64	1	1	1	1	1	1	86,30500	12,11700
65	-2,828	0	0	0	0	0	88,49900	3,36800
66	2,828	0	0	0	0	0	51,99200	19,29000
67	0	-2,828	0	0	0	0	57,80700	17,26300
68	0	2,828	0	0	0	0	87,30700	7,87500
69	0	0	-2,828	0	0	0	81,86700	26,54200
70	0	0	2,828	0	0	0	85,73100	12,75200
71	0	0	0	-2,828	0	0	74,77600	19,78700
72	0	0	0	2,828	0	0	86,52100	11,53700
73	0	0	0	0	-2,828	0	85,52300	17,48100
74	0	0	0	0	2,828	0	83,44600	16,97000
75	0	0	0	0	0	-2,828	85,32300	17,43200
76	0	0	0	0	0	2,828	84,44400	17,21400
77	0	0	0	0	0	0	85,00000	17,35100

A matriz foi analisada usando o software Statistic 5.0 para obtenção dos modelos quadráticos para o rendimento e a produtividade em função das variáveis estudadas. Os modelos quadráticos codificados são mostrados abaixo, as variáveis consideradas estatisticamente significativas estão em negrito:

$$\begin{aligned} \text{REND} = & \mathbf{80,952} - \mathbf{7,373S_0} - \mathbf{1,465S_0^2} + \mathbf{4,568R} - \mathbf{1,176R^2} + \mathbf{0,604t_r} + 0,229t_r^2 \\ & + \mathbf{3,876r} - 0,1645r^2 - \mathbf{0,596T_0} + 0,315T_0^2 - 0,264Tw + 0,365Tw^2 + \mathbf{3,727S_0R} + 0,420S_0t_r + \\ & \mathbf{3,769S_0r} - \mathbf{0,558S_0T_0} - 0,262S_0Tw - 0,284Rt_r - \mathbf{0,726Rr} + 0,146RT_0 - 0,030RTw - \\ & 0,139t_rR + 0,015t_rT_0 + 0,025t_rTw + 0,325rT_0 + 0,157rTw + 0,017T_0Tw \end{aligned} \quad (4.3)$$

$$\begin{aligned} \text{PROD} = & \mathbf{15,397} + \mathbf{2,908S_0} - \mathbf{0,570S_0^2} - \mathbf{1,738R} - \mathbf{0,414R^2} - \mathbf{1,834t_r} + \mathbf{0,470t_r^2} - \mathbf{2,208r} \\ & - 0,028r^2 - 0,190T_0 + 0,168T_0^2 - 0,078Tw + 0,180Tw^2 + \mathbf{0,575S_0R} - 0,198S_0t_r + \mathbf{0,602S_0r} - \\ & 0,192S_0T_0 - 0,081S_0Tw + 0,127Rt_r - \mathbf{0,608Rr} + 0,074RT_0 + 0,006RTw + 0,237t_rR + \\ & 0,018t_rT_0 + 0,007t_rTw + 0,106rT_0 + 0,044rTw - 0,003T_0Tw \end{aligned} \quad (4.4)$$

As Tabelas 4.5 e 4.6 mostram os resultados da ANOVA para o rendimento e a produtividade dos modelos estatísticos obtidos. Os modelos apresentam uma alta qualidade de ajuste sendo de 0,971 para a produtividade e de 0,984 para o rendimento, quanto mais próximo de um estiver a qualidade do ajuste melhor, pois implica que toda a variação em torno da média é explicada pela regressão. De acordo com o teste F, podem ser considerados estatisticamente significativos com 99% de confiança, já que os valores calculados foram 26,58 vezes superior ao tabelado para a produtividade e 48 vezes superior para o rendimento.

Tabela 4.5 - Análise de variância para o rendimento

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média da soma dos Quadrados	Teste F
Regressão	9589,808	27	355,18	109,96
Resíduo	158,252	49	3,23	
Total	9748,060	76		
Qual. do ajuste	0,984			
Coef. Correlação	99,2%			
F tabelado 99%				2,29
F cal. / F tab.				48,01

Tabela 4.6 - Análise de variância para a produtividade

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média da soma dos Quadrados	Teste F
Regressão	1758,579	27	65,13	60,87
Resíduo	52,465	49	1,07	
Total	1811,044	76		
Qual. do ajuste	0,971			
Coef. Correlação	98,54%			
F tabelado 99%				2,29
F cal. / F tab.				26,58

A partir dos modelos obtidos foram construídas as curvas para análise de superfície de resposta, para o rendimento e a produtividade em função das variáveis estudadas. As curvas são construídas aos pares de variáveis, mantendo as outras no ponto central, para cada resposta observada.

Comparando os gráficos obtidos com o novo planejamento que inclui as variáveis T_0 e T_w com os obtidos no planejamento anterior, para as mesmas variáveis, observa-se que apresentam as mesmas características, variando os valores das variáveis de resposta. As temperaturas estudadas não apresentam o efeito antagônico observado para as outras variáveis, tendo comportamento semelhante para o rendimento e a produtividade.

Na figura 4.10 (a) e (b) observa-se que para valores de rendimento superiores a 80%, S_0 deverá ser menor que 180g/l com R maior que 0,3, e para produtividade superior a 17g/l.h S_0 deverá ser maior que 180 g/l.h com R menor que 0,3, mantendo as outras variáveis (t_r , r , T_0 e T_w) fixas no ponto central. Observa-se valores de rendimento acima do valor máximo (87,1%) nas superfícies de resposta, que é devido ao erro residual introduzido pelo modelo ajustado da regressão.

A figura 4.11 (a) mostra que para valores de S_0 inferiores a 130g/l é possível obter rendimentos superiores a 84% para toda faixa de t_r estudada, mas para valores de produtividade superiores a 22 g/l os valores de t_r deverão ser menores que 1,4 h com S_0 maior que 180 g/l.

Para as variáveis S_0 e r observa-se na figura 4.12 que os melhores valores de rendimento (maior que 82%) atingidos são para S_0 maior que 180 g/l com R maior que 0,3.

Produtividade superiores a 20 g/l.h são observadas para S_0 maior que 180 g/l e r menor que 0,3.

A figura 4.13 mostra que as variáveis resposta são pouco influenciadas pela temperatura de alimentação do mosto (T_0) na faixa de operação estudada, e que para valores de S_0 menores que 130 g/l é possível obter rendimentos superiores a 86,1% e, produtividade superior a 17g/l.h são obtidas para S_0 maiores que 150 g/l, para todos os valores de T_0 estudados. A temperatura da água da cuba de tratamento (T_w) também exerce pouca influência no processo, como mostra a figura 4.14, com comportamento semelhante ao da figura 4.13.

Para R e t_r a figura 4.15 (b) mostra que para t_r inferior a 1,4h e R menor que 0,4 a produtividade é maior que 19 g/l.h, para o rendimento, como visto em 4.12 (a) para valores de R maior que 0,3 é obtido rendimentos superiores a 80% para toda faixa de t_r estudada.

Com R e r maiores que 0,3 e 0,4 respectivamente são observados rendimentos superiores a 87%, com as outras variáveis fixas no ponto central e, obtém-se produtividade superior a 19,4 g/l.h com r e R menores que 0,3, de acordo com a figura 4.16.

A figura 4.17 mostra os efeitos de R e T_0 , observa-se que com R maiores que 0,35 obtemos rendimentos superiores a 85% e com R menores que 0,275 tem-se produtividade superior a 18 g/l.h em toda faixa de T_0 . O mesmo é visto na figura 4.18 para R e T_w .

A figura 4.19 mostra que os melhores valores de rendimento, superiores a 86%, são obtidos para r maiores que 0,45 para todo t_r e, para t_r menores que 1,6h e r menores que 0,3 obtém-se produtividade superiores a 19 g/l.h.

Para as variáveis t_r e T_0 observa-se que com as outras variáveis no ponto central são obtidos rendimentos superiores a 81% para toda faixa de t_r e T_0 estudada e produtividade superior a 17g/l.h com t_r inferiores a 1,4h, como mostra a figura 4.20. O mesmo acontece com t_r e T_w como mostra a figura 4.21.

Nas figuras 4.22 e 4.23 para r e T_0 e r e T_w respectivamente, verifica-se que valores de rendimento superior a 81% são obtidos para r maior que 0,4 para todas T_0 e T_w . E produtividade acima de 18 g/l.h são observadas para r menor que 0,3. É possível observar também que essas temperaturas influenciam mais a região onde r é menor que 0,4, nesta região os melhores valores das respostas são para baixas temperatura, o que se

explica pelo aumento da temperatura do reator com a diminuição do reciclo do tanque flash.

A figura 4.24 mostra o efeito de T_0 e T_w no processo, apresentando superfícies quase horizontal. Nela é observado que as temperaturas não são variáveis significativas ao ponto de interferirem no rendimento e produtividade, dentro das faixas estudadas. Os melhores valores de rendimento e produtividade são obtidos para T_0 baixas, e que apesar de T_0 apresentar maior influência que T_w , os extremos apresentam os melhores resultados, onde tem-se uma temperatura de alimentação alta mais uma baixa temperatura da água da cuba de tratamento e vice-versa. As variações são de 81-88% para o rendimento e 15-18 g/l.h para a produtividade na faixa de temperatura estudada, os valores mais baixos são para as temperaturas intermediárias.

Diante do estudo comparativo e do alargamento das faixas e número de variáveis, conclui-se que em ordem crescente as variáveis que apresentam maior influência no processo são: S_0 , r , t_r , R , T_0 e T_w .

Considerando que a faixa de temperaturas de trabalho na região Nordeste é de 30-34°C para temperatura da água e de 32-36°C para temperatura de alimentação do mosto, têm-se pela figura 4.24, operando dentro dos níveis deste trabalho com as variáveis no ponto central, ou seja, $S_0 = 180$ g/l, $t_r = 1,6$ h, $R = 0,35$ e $r = 0,4$. Os rendimentos obtidos estão na faixa de 81% e a produtividade em torno de 15%. Comparando com os que seriam obtidos nas temperaturas de operação da região Sudeste, que segundo SILVA (1998) é de T_0 igual a 30°C e T_w de 28°C teria-se, aproximadamente rendimentos de 86% e produtividade de 17 g/l.h. Então, operando nas condições de temperatura na realidade da região Nordeste verifica-se uma queda de 5% no rendimento e 2 g/l.h na produtividade.

No início da operação (Agosto) as temperaturas de operação na região Nordeste são relativamente as mesmas da região sudeste, mas com o decorrer do tempo, principalmente a partir de outubro as temperaturas, tanto T_0 como T_w são aumentadas. Apesar dos efeitos não serem significativos estatisticamente, nota-se pelas equações 4.3 e 4.4 que os valores são negativos, implicando em diminuição do rendimento e da produtividade.

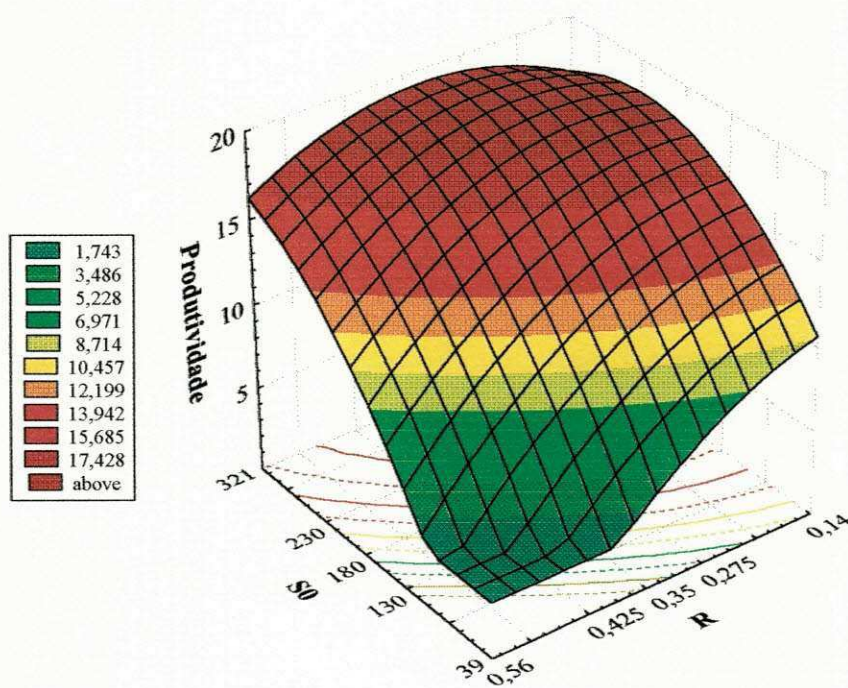
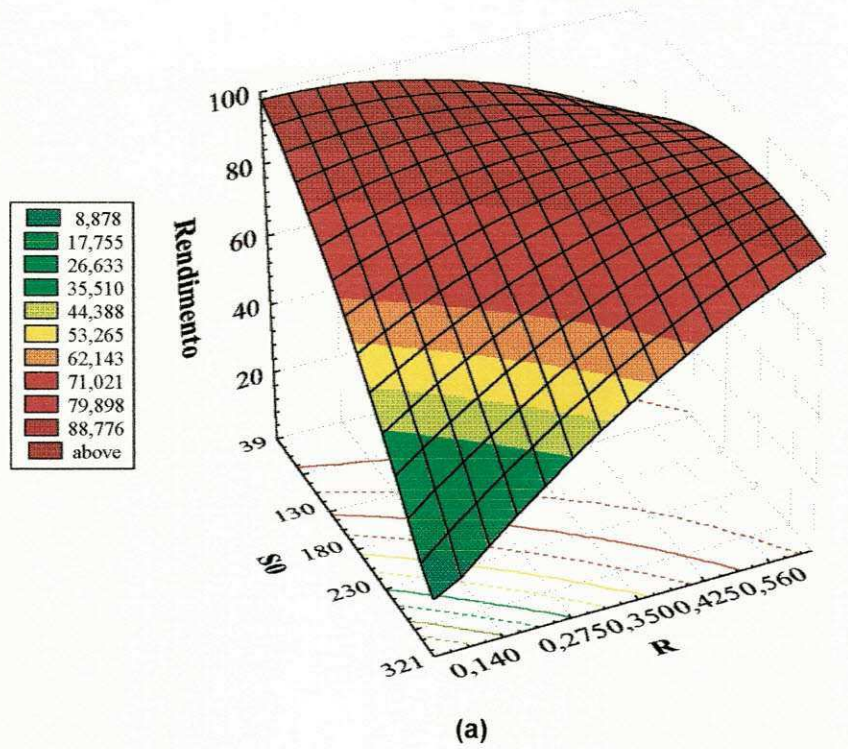


Figura 4.10 - Efeito de S_0 e R para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

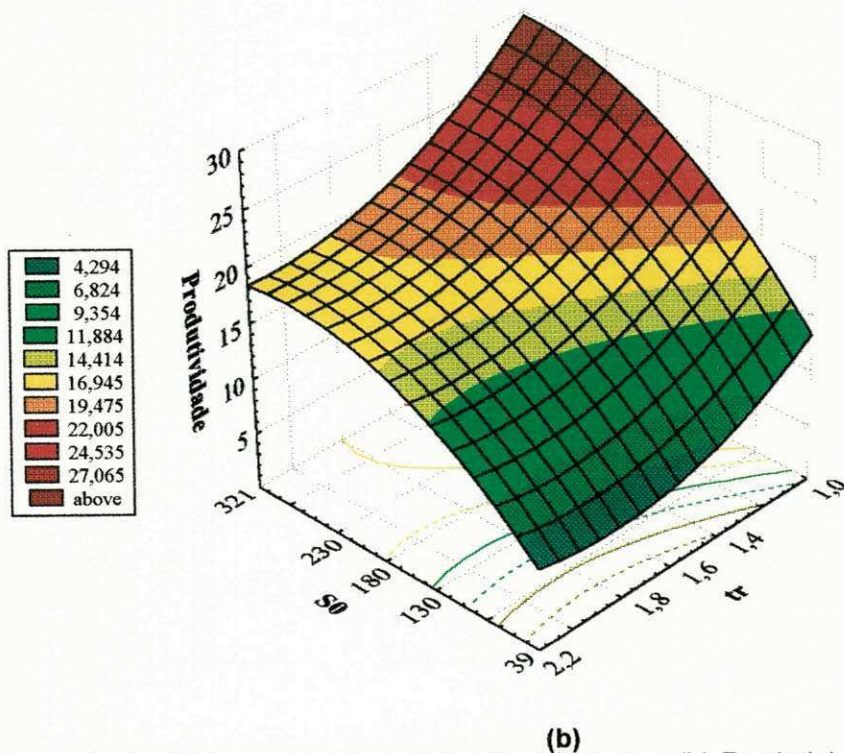
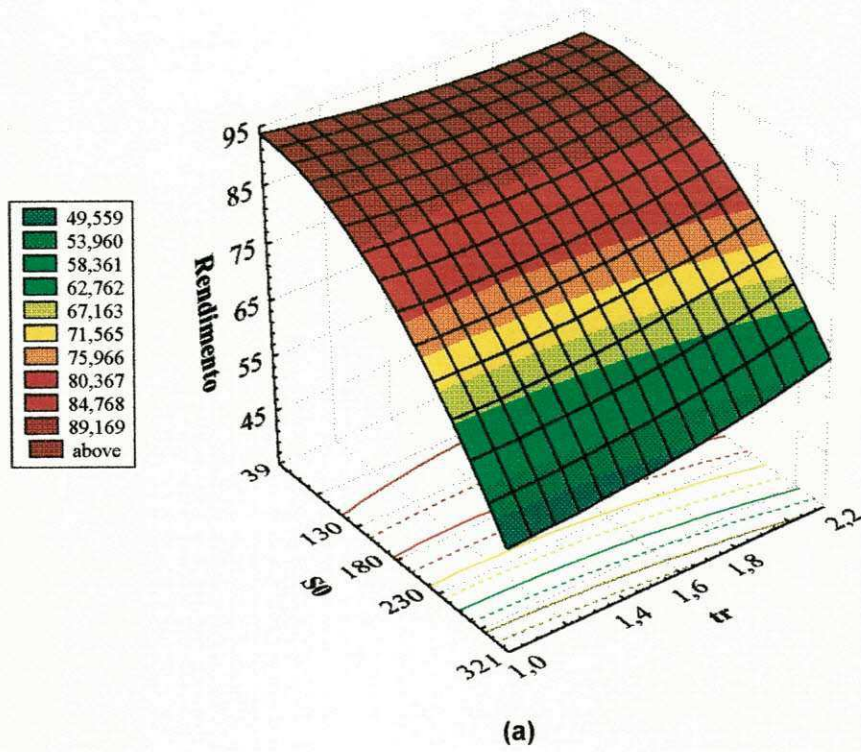
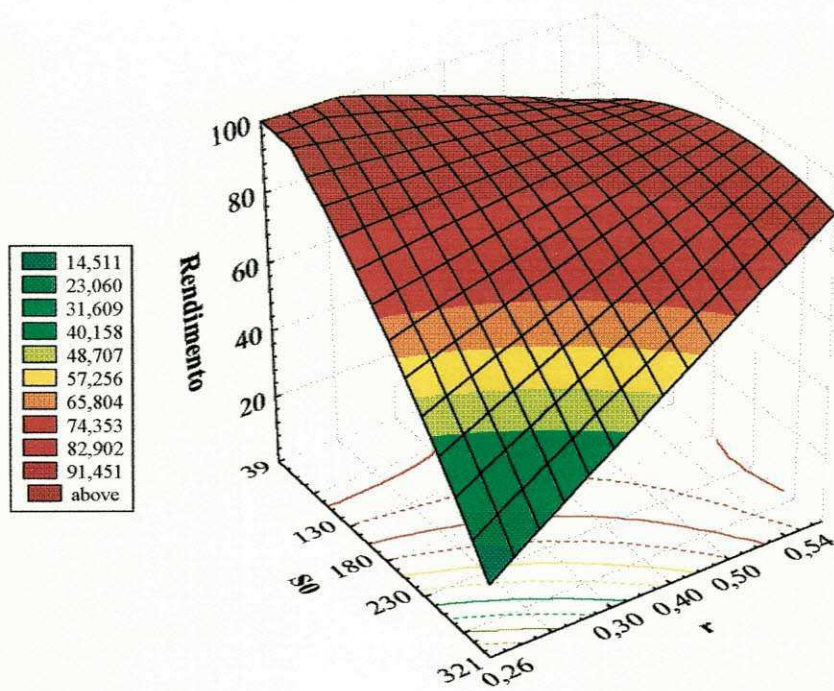
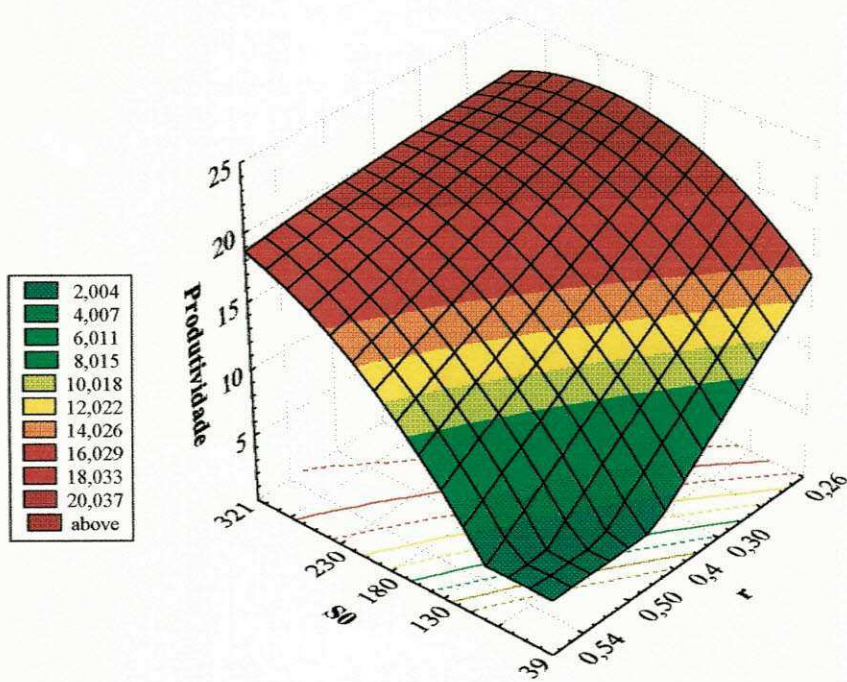


Figura 4.11 - Efeito de S_0 e t_r para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.



(a)



(b)

Figura 4.12 - Efeito de S_0 e r para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

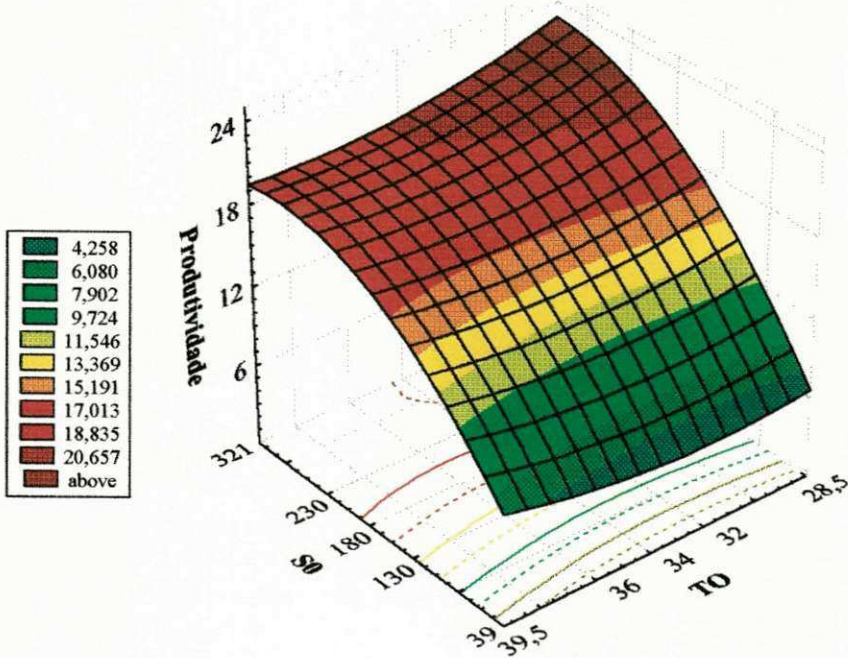
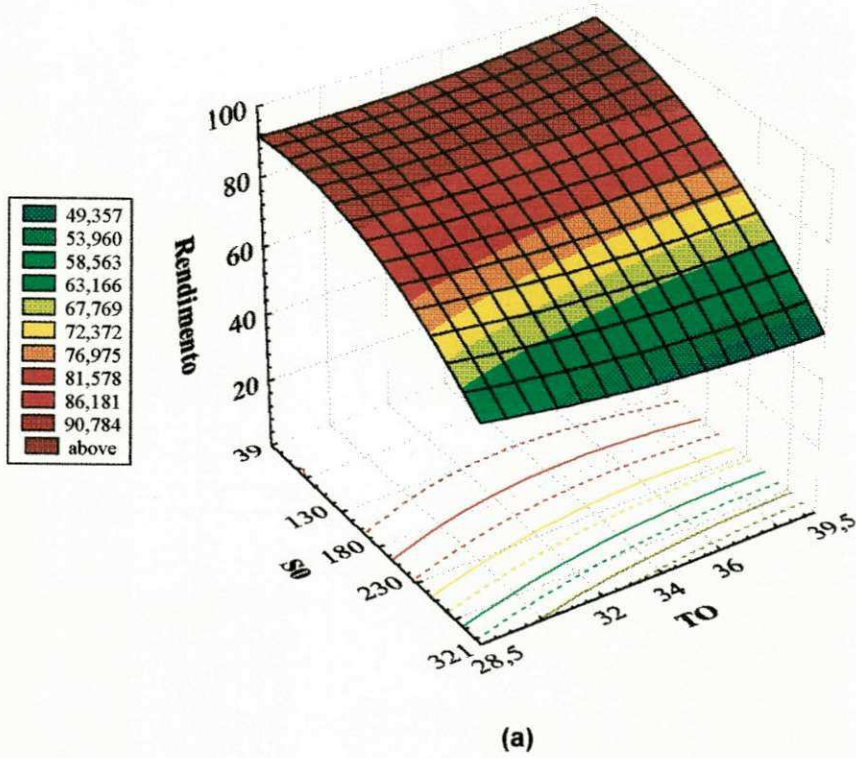
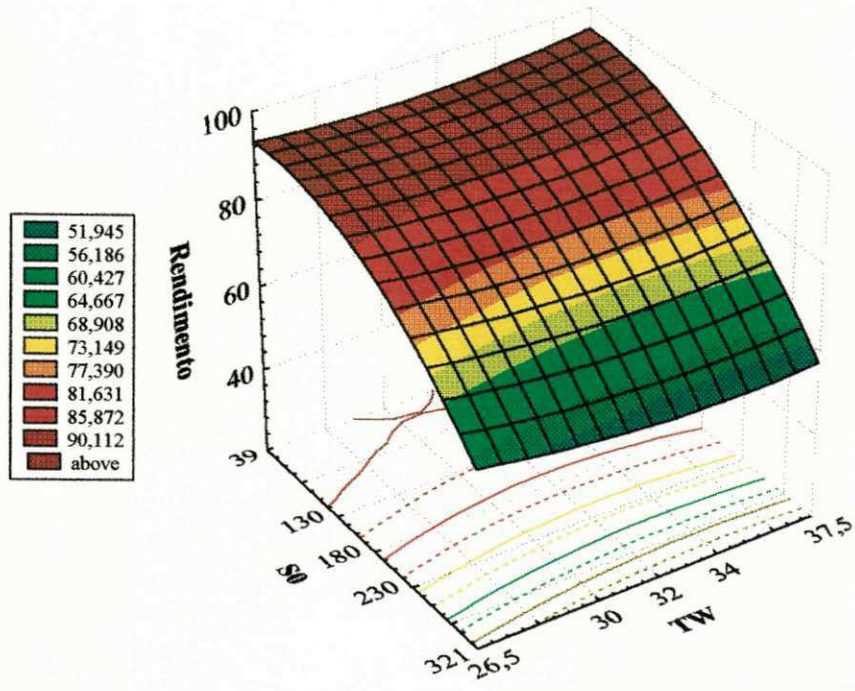
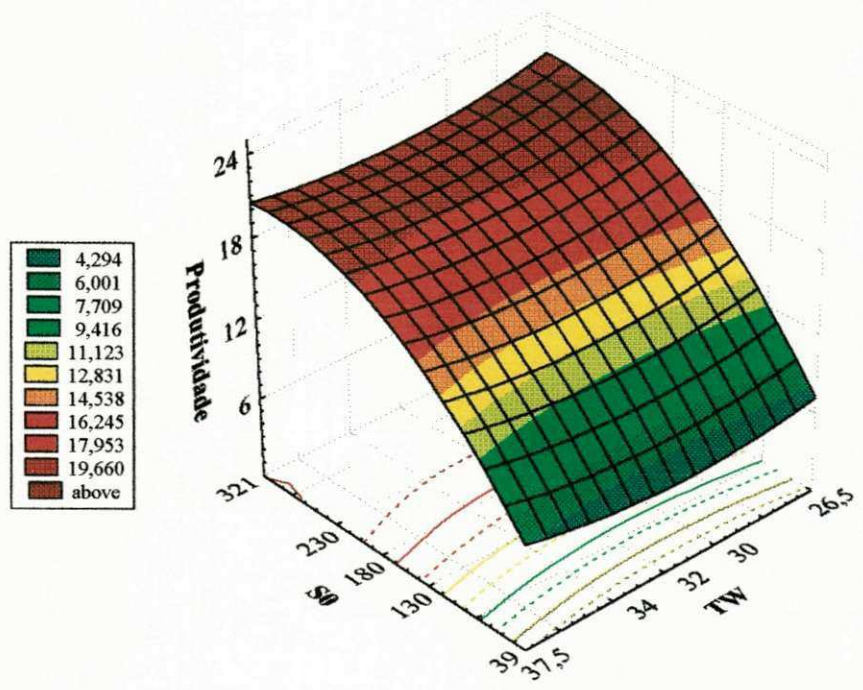


Figura 4.13 - Efeito de S_0 e T_0 para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.



(a)



(b)

Figura 4.14 - Efeito de S_0 e T_w para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

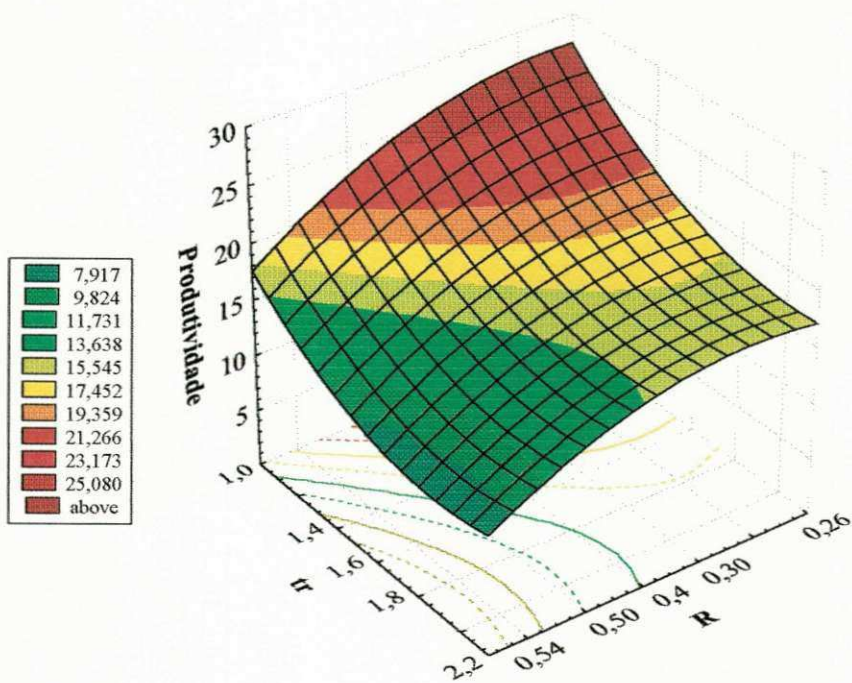
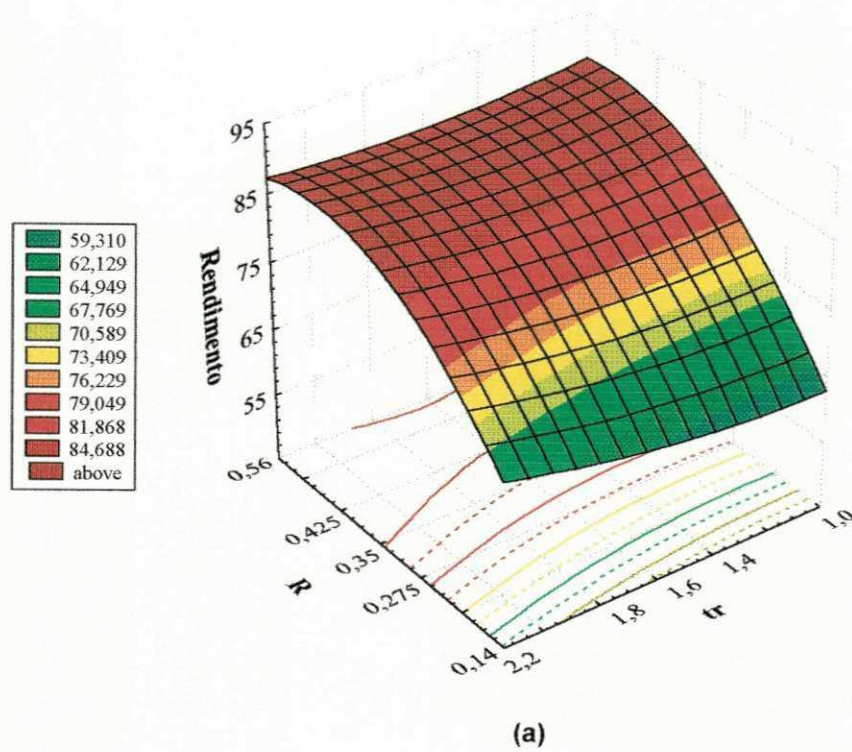


Figura 4.15 - Efeito de R e t_r para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

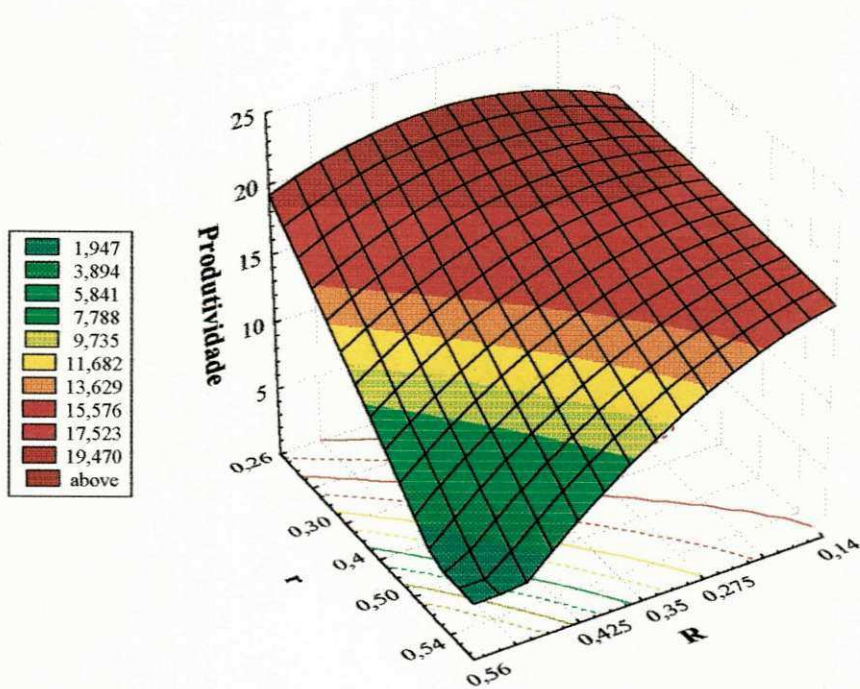
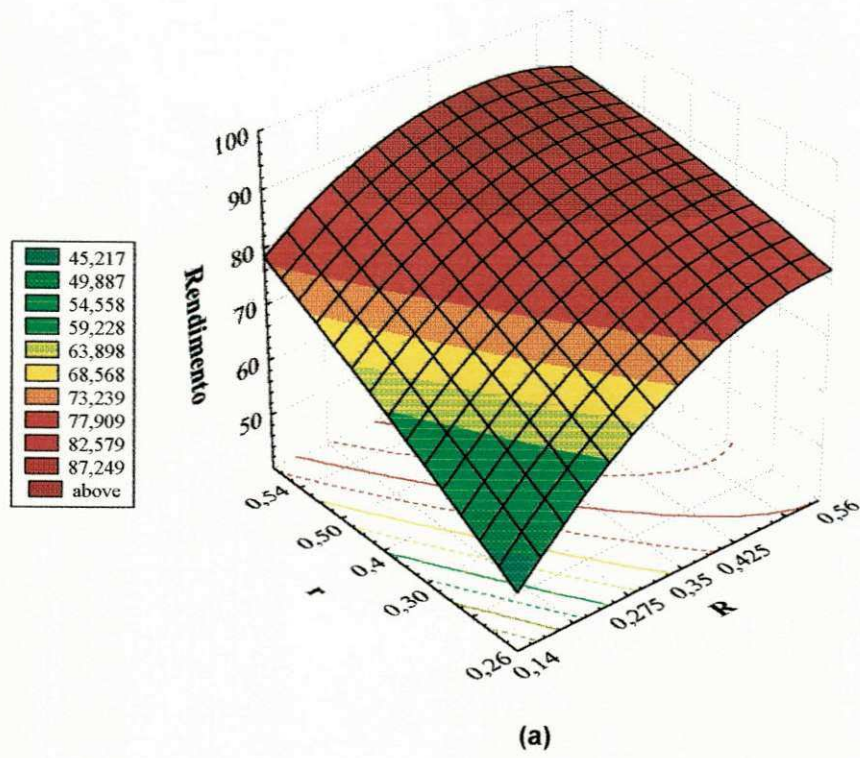


Figura 4.16 - Efeito de R e r para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

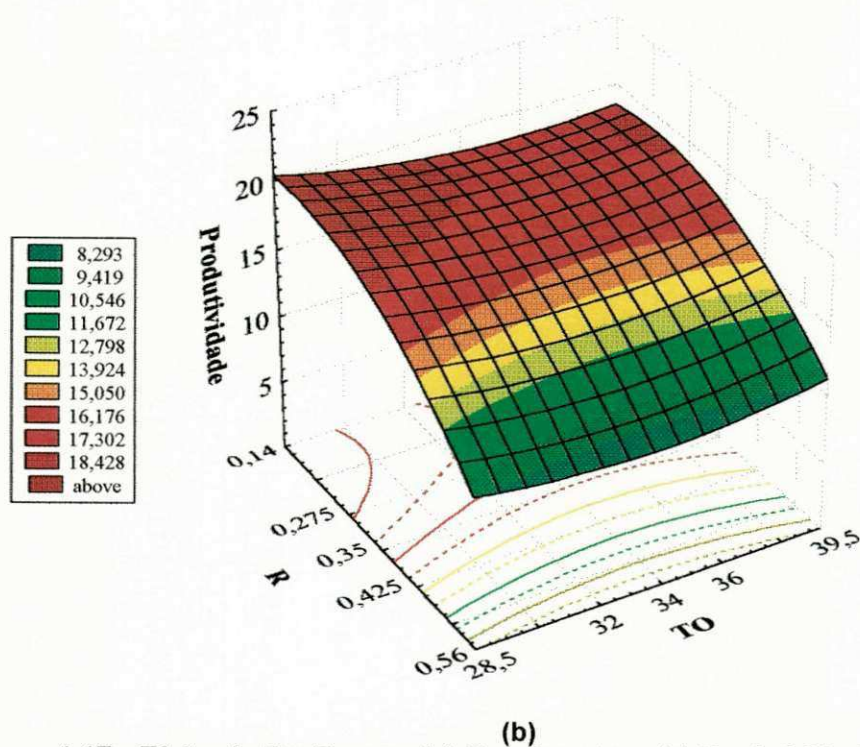
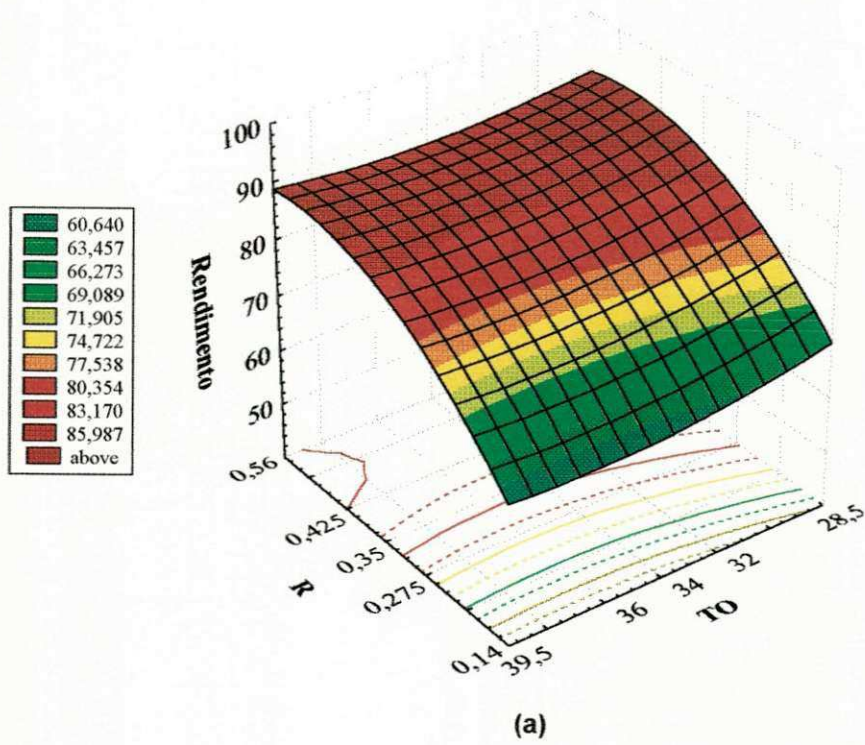
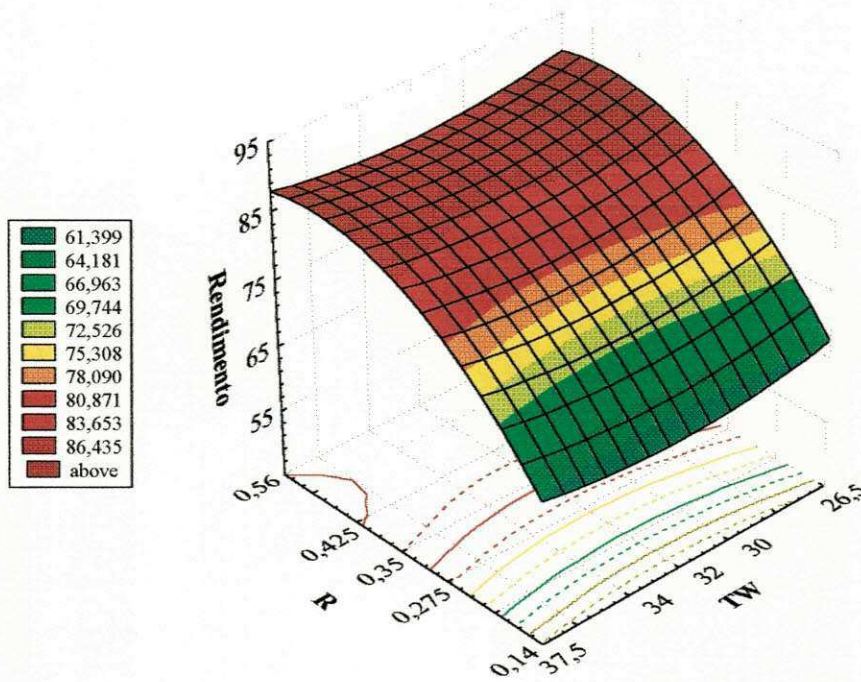
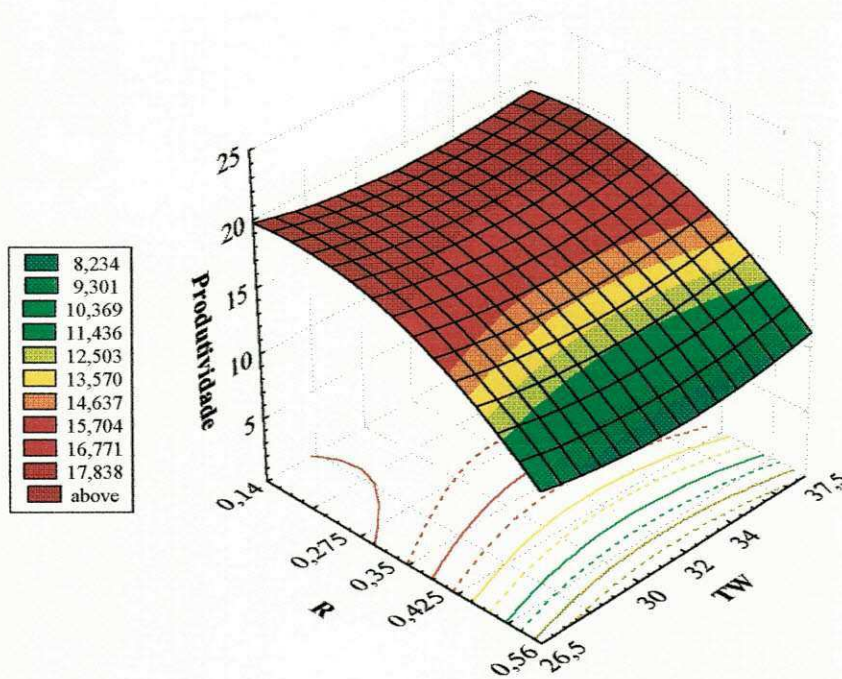


Figura 4.17 - Efeito de R e T_0 para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

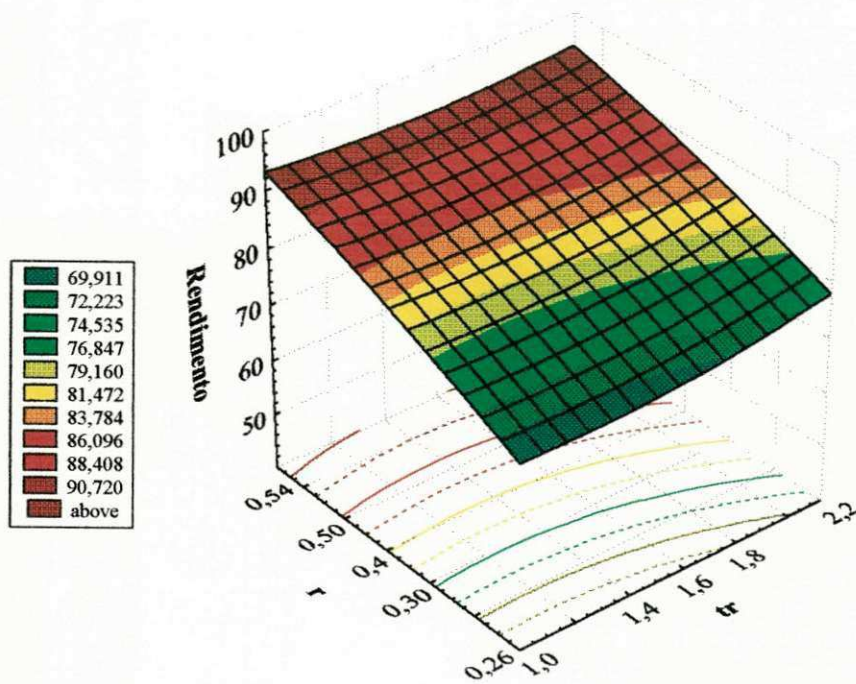


(a)

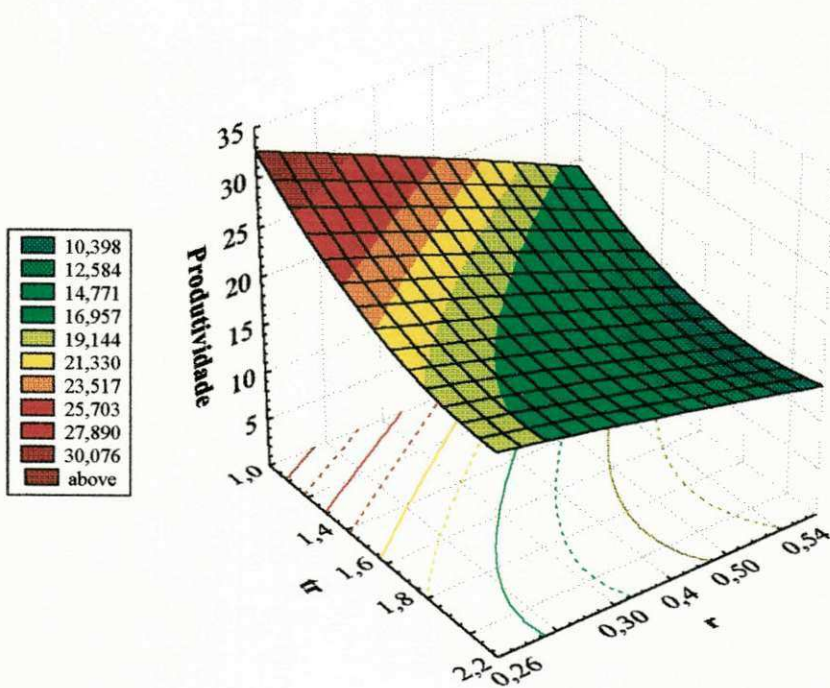


(b)

Figura 4.18 - Efeito de R e Tw para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

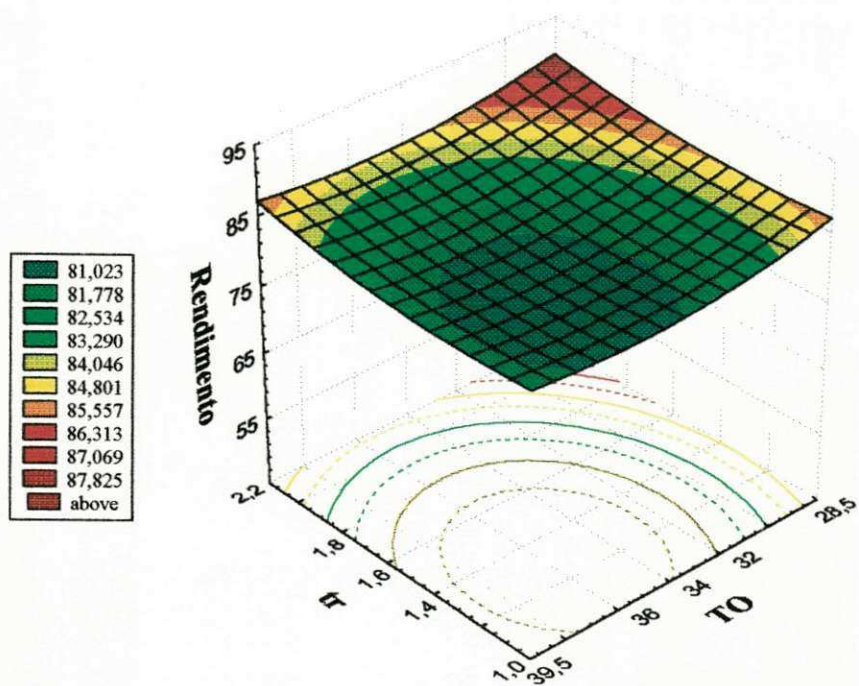


(a)

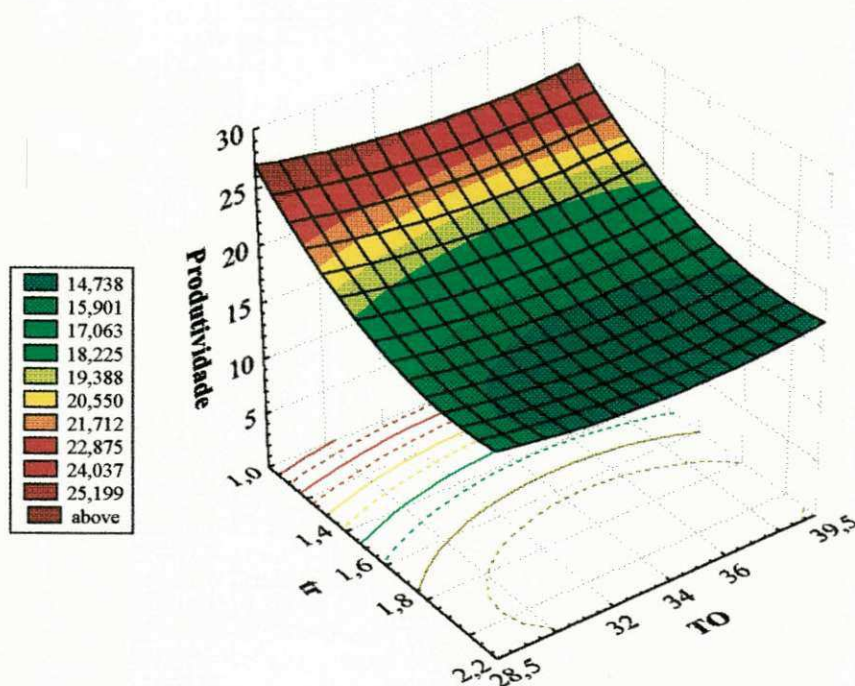


(b)

Figura 4.19 - Efeito de r e t_r para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

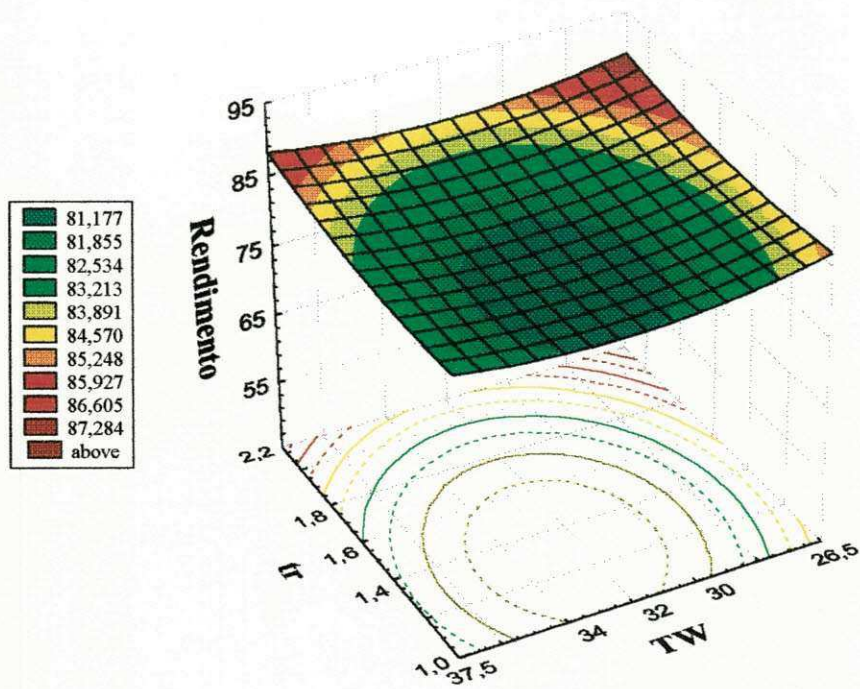


(a)

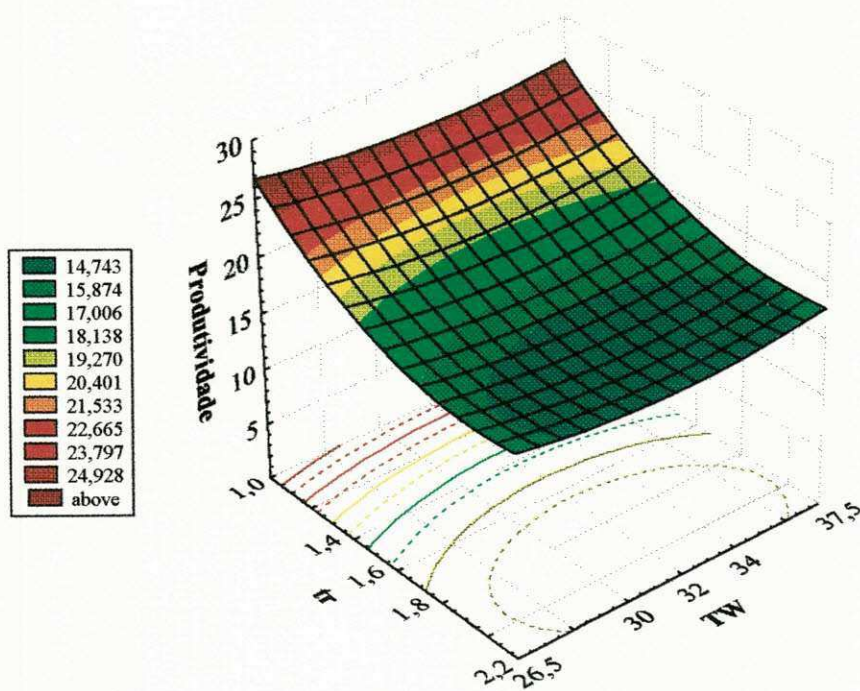


(b)

Figura 4.20 - Efeito de t_r e T_0 para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.



(a)



(b)

Figura 4.21 - Efeito de t_r e T_w para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

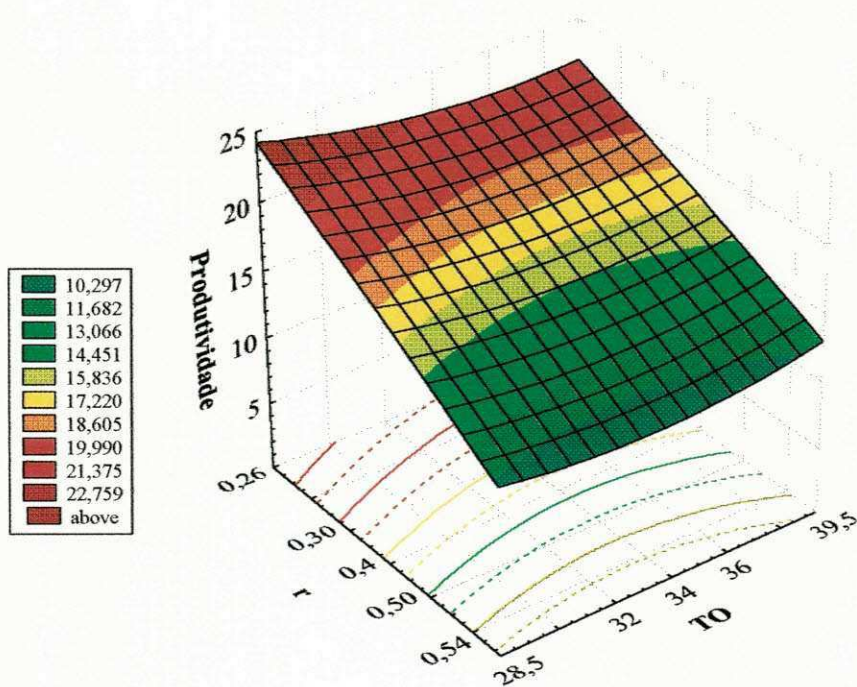
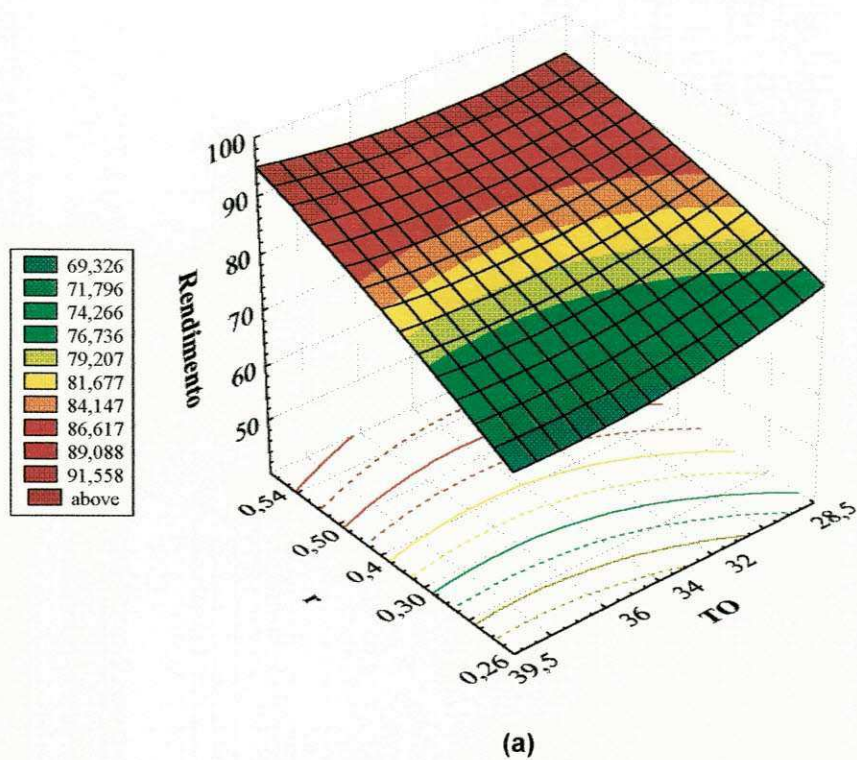


Figura 4.22 - Efeito de r e T_0 para (a) (b) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

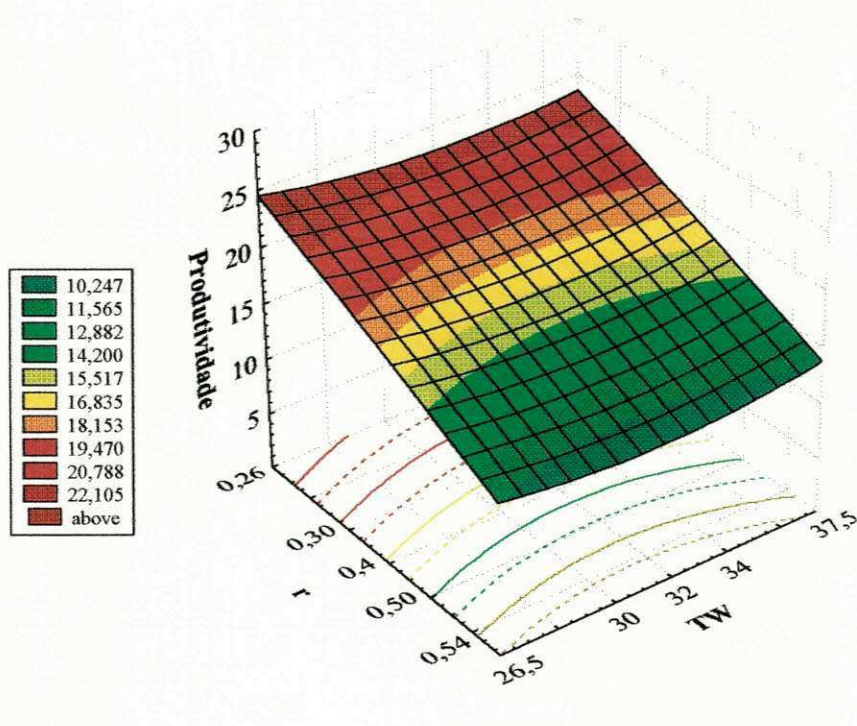
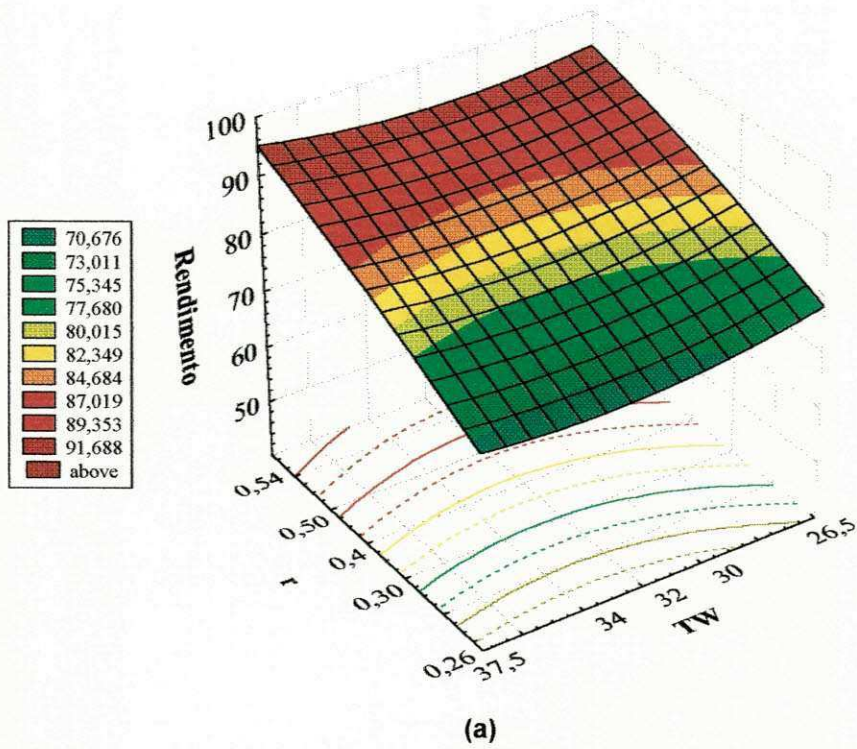


Figura 4.23 - Efeito de r e TW para (a) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

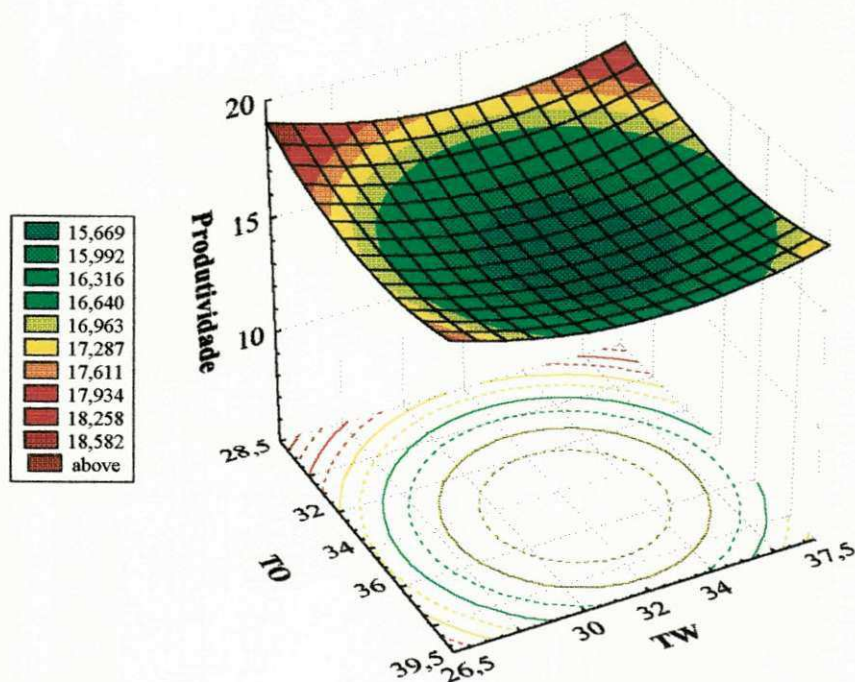
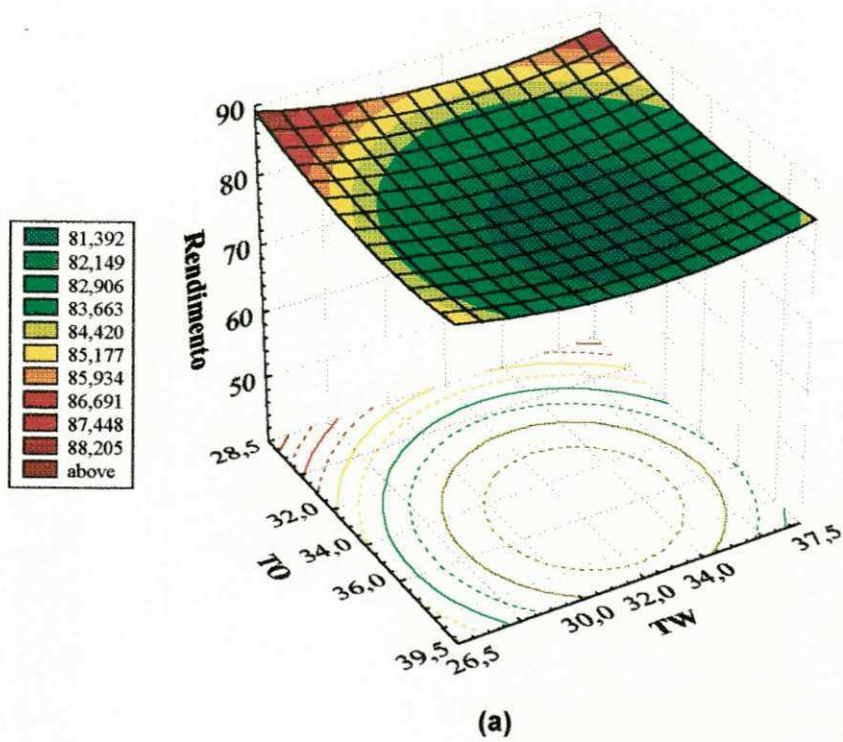


Figura 4.24 - Efeito de T_0 e T_w para (a) ^(b) Rendimento e (b) Produtividade com as outras variáveis no ponto central.

5. CONCLUSÕES

- × Os modelos quadráticos obtidos para o rendimento e produtividade são estatisticamente significativos com 99% de confiança para os dois planejamentos usados.
- × As variáveis S_0 , R , t_r e r apresentam efeitos antagônicos, enquanto o rendimento cresce com a diminuição de S_0 e aumento de R , t_r e r , a produtividade cresce com o aumento de S_0 e a diminuição de R , t_r e r .
- × A concentração de substrato é uma variável de extrema importância para o processo, tanto para o rendimento quanto para produtividade.
- × O tempo de residência t_r tem maior efeito na produtividade do processo.
- × A taxa de reciclo de células apresenta maior efeito para o rendimento.
- × Os valores das variáveis que otimizam o rendimento e a produtividade são $S_0 = 180$ g/l, $R = 0,3$, $t_r = 1,4$ h e $r = 0,4$. Com rendimento de 82,55% e produtividade de 21,49 g/l.h.
- × Os valores encontrados para o rendimento e a produtividade foram menores em 1% para o rendimento e 0,1 g/l.h para a produtividade em comparação aos encontrados por (SILVA, 1998), o que mostra que o efeito inibidor dos álcoois superiores é pouco significativo.
- × Em ordem crescente as variáveis que maior influência apresentam no processo são: S_0 , r , t_r , R , T_o e T_w .
- × O processo extrativo aumenta a concentração de álcoois superiores no reator, mas esta concentração se mantém bem abaixo da concentração de inibição.
- × A taxa de reciclo do tanque flash (r) mantém a temperatura do reator entre 30-35 °C eliminando a necessidade do trocador de calor.
- × As variáveis T_o e T_w têm comportamento semelhante para o rendimento e a produtividade

- × As temperaturas influenciam mais a região onde r é menor.
- × As temperaturas não são variáveis estatisticamente significativas ao ponto de interferirem no rendimento e produtividade, dentro das faixas estudadas.
- × A temperatura da alimentação influencia mais o processo que a temperatura da água da cuba de tratamento.
- × Operando nas condições de temperatura do Nordeste observou-se uma queda de 5% no rendimento e 2 g/l.h na produtividade em comparação com a região Sudeste, utilizando-se todos os níveis das variáveis deste trabalho.

6. . PERSPECTIVAS

- ↪ Melhorar a interface do programa para que possa ser usado no Laboratório de Engenharia Bioquímica.
- ↪ Validação do modelo cinético da inibição por álcoois superiores através de experimentos no laboratório.

6. BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, J. R. **Fermentação alcoólica: ensaios em batelada convencional e em batelada alimentada.** Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 108p, 1980.

ALMEIDA, J. R. **Processo de recuperação de levedura ou processo Melle-Boinott.** Semana da Fermentação Alcoólica, 1. Piracicaba. Anais. P. 254-262, 1960.

ALVES, J.G.L.F. **Estudo da influência da temperatura na cinética de crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas 1996.

ANDRIETTA, S. R. MAUGERI F^o, in **Adv. Bioprocess Engineering**, p 47-52, 1994.

ANDRIETTA, S. R. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica em escala industrial.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 178p, 1994.

ANGELIS, D. F., et alii. **Fermentação etanólica: microbiologia.** Buckman Laboratórios Ltda & Departamento de Bioquímica. Campinas- SP, p. 31-52, 1986.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, J. S., BRUNS, R. **Planejamento e otimização de experimentos.** Unicamp: Campinas, 299 p, 1995.

- BASSO, L. C., AMORIM, H. V. E ALVES, D. M. G. **Seleção de leveduras para a fermentação alcoólica.** Simpósio nacional de fermentação. Anais. Rio de Janeiro-RJ, 2000.
- BAYLEY, J. E., OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals.** 2 ed. New York: McGraw-Hill International Editions, 984p, 1986.
- BOX, G. E. P., WILSON, K. B. **On the experimental attainment of optimum condition.** J. Royal Stat, v. 13, p. 1 – 45, 1951.
- COSTA, A. C., ATALA, D. I. P., MACIEL F^o, R., MAUGERI F^o, **Estudo do desempenho de um processo de fermentação alcoólica acoplado a um tanque 'flash' a vácuo.** Simpósio nacional de fermentação. Anais. Rio de Janeiro- RJ, 2000.
- DALE, M. C.; CHEN, C.; OKOS, M.R. **Cell growth and death rates as factors in the long-term performance, modeling and desing of immobilized cell reactor.** Biotchnology and bioengineering, 36: 983-92, 1990.
- HEHL, M. E.; **Linguagem de programação estruturada : FORTRAN 77.** São Paulo. Editora McGraw Hill, 511, 1987.
- LEÃO, C., VAN UDEN, N. **Effects of ethanol and other alkanols on the kinetics and activation parameters of thermal death in *saccharomyces cerevisiae*.** Biotechnology and Bioengineering. New York, v. 24, p. 1581 – 1590, 1982.
- LEVENSPIEL, O. **The Monod equation a revisit and a generalization to product inhibition situations.** Biotechnology and Bioengineering. New York, v. 22, n. 8, p. 1671 – 1687, 1980.
- LIMA, U. A., **Tecnologia das Fermentações.** Editora Edgard Blücher, São Paulo – SP, v. 1. Cap. 3, p: 48-69, 1992.

- MAIORELLA, B. Blamch, H.W. Wilke, C.R. **By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae***. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.25, p 103-121, 1983.
- MARQUES, T. A. **O uso de fermento reciclado em teor reduzido em metabólitos e seu efeito na fermentação alcoólica**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 105 p, 1997.
- MIGLIARI, P. C., ANDRIETTA, S. R., ANDRIETTA, M. G. S.. **Utilização da capacidade fermentativa na classificação de leveduras isoladas de um processo fermentativo**. Simpósio nacional de fermentação. Anais. Rio de Janeiro- RJ, 2000.
- OKOLO, B., JOHNSTON, J. R., BERRY, D. R. **Toxicity of ethanol, n-butanol and isoamylalcohol in *Saccharomyces cerevisiae* when supplied separately and in mixtures**. *Biotechnology Letters*, Kew, v. 9, n. 6, p 431-434, 1987.
- OLIVEIRA, E. R. **Histórico da fermentação alcoólica**. *Semana da fermentação alcoólica*. Anais. Piracicaba, p. 196-205, 1960.
- SILVA, F. L. H. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua extrativa**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas 1998.
- SILVA, F. L. H., RODRIGUES, M. I., MAUGERI, F. **Dynamic modelling, simulation and optimization of an extractive continuous alcoholic fermentation process**. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74 : 176-182, 1999.
- SILVA, J. A. **Estudo da influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °Brix no rendimento, produtividade e metabólitos secundários contaminantes da fermentação alcoólica em batelada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 99 p, 1999.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C. **Introdução à termodinâmica da engenharia química.**
3^o ed. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Dois, 593 p, 1980.

SOUTO, F. C. **Determinação dos parâmetros cinéticos de crescimento e produção da fermentação alcoólica.** Relatório final de iniciação científica. Campina Grande - PB, 2000.

STUPIELLO, J. P. **Fermentação alcoólica.** Departamento de Engenharia Química. Piracicaba, 110 p, 1978..

VAN UDEN, N. **Ethanol toxicity and ethanol tolerance in yeasts. Use of extracellular acidification for the rapid testing of ethanol tolerance.** *Biotechnol. and Bioeng.*, v. 28: p.1596-1598, 1985..

VEJA, J. L., NAVARRO, A. R., CLAUSEN, E. C., GADDY, J. L. **Effects on inoculum size on ethanol inhibition modeling and other fermentation parameters.** *Biotechnology and Bioengineering.* New York, v. 29. p. 633-638, 1987.