

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**

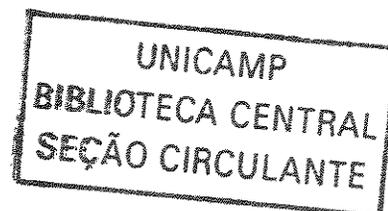
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS**

**Influência da Matéria-Prima no Comportamento Cinético de  
Levedura na Produção de Etanol**

Autora: Gisele Mantei Tosetto  
Orientador: Dr. Silvio Roberto Andrietta

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química

Campinas – São Paulo  
Novembro/2002



NIDADE	BC
# CHAMADA	T/UNICAMP
	T639i
EX	
OMBO BC/	52,591
ROC.	16-124/03
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
REÇO	R\$ 11,00
ATA	13/03/03
% CPD	

CM00180273-7

B ID 284966

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

T639i Tosetto, Gisele Mantei  
Influência da matéria-prima no comportamento cinético de levedura na produção de etanol /Gisele Mantei Tosetto.--Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Silvio Roberto Andrietta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

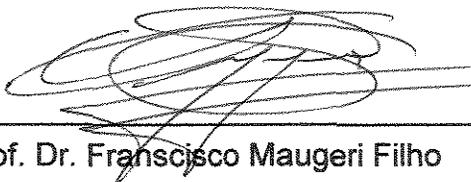
1. Fermentação. 2. Álcool. 3. Cana-de-açúcar. 4. Melaço. I. Andrietta, Silvio Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Dissertação de Mestrado defendida por Gisele Mantei Tosetto e aprovada em 08 (oito) de novembro de 2002 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



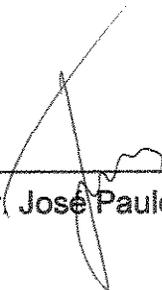
---

Prof. Dr. Silvio Roberto Andrietta - Orientador



---

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho



---

Prof. Dr. José Paulo Stupiello

200307188

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Andrietta", written over a horizontal line.

Dr. Silvio Roberto Andrietta  
Orientador

*Dedico este trabalho ao meu irmão  
Aníbal C.M. Tosetto (in Memoriam),  
que me incentivou a seguir por este caminho.*

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus, pela vida ofertada.
- Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Silvio Roberto Andrietta, pela sua orientação e amizade.
- Ao Prof. Dr. Francisco Maugeri pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.
- Aos meus pais Aníbal e Alice, que me deram todo o apoio que eu precisava.
- Ao meu irmão Jean e à minha sobrinha Sarah, pelos momentos de descontração.
- Ao estagiário Cláudio, pela força e paciência na hora de homogeneizar os méis.
- À FAPESP pelo apoio financeiro através de bolsa de estudo e reserva técnica.
- Ao Marcelo pela atenção dada na escrita e nos cálculos.
- Aos amigos do Laboratório de Processos e Biotecnologia/CPQBA: Cibele, Milene, Érika, Alex, Roberta, Lia, Érika (estagiária), Claudia, Graça, pelo bom ambiente de trabalho.

# SUMÁRIO

NOMENCLATURA.....	iii
RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Histórico .....	2
2.2. Processos Fermentativos.....	3
2.2.1. Processo Batelada.....	3
2.2.2. Processo Batelada Alimentada .....	3
2.2.3. Processo Contínuo .....	4
2.3. Bioquímica da Fermentação Alcoólica.....	5
2.4. Cinética dos processos Fermentativos.....	6
2.4.1. Modelos Cinéticos .....	7
2.5. Efeito da matéria prima sobre o desempenho dos processos fermentativos.....	11
2.6. Tratamentos de melaços .....	12
2.7. Efeito dos meios que contém mais de um substrato .....	14
2.8. Modelos Cinéticos para formação de produto.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Matéria prima utilizada.....	17
3.2. Descrição da caracterização da matéria prima .....	17
3.2.1. Determinação do Brix.....	18
3.2.2. Determinação da Acidez Sulfúrica.....	18
3.2.3. Determinação de Sacarose, Glicose e Frutose.....	18
3.3. Ensaio em reator.....	18
3.3.1. Cepa utilizada nos testes.....	18
3.3.2. Preparo do inóculo.....	18
3.3.3. Preparo do mosto .....	18
3.3.4. Preparo do meio sintético .....	19
3.3.5. Descrição do Reator.....	19
3.3.6. Execução dos ensaios .....	19
3.3.7. Preparo das amostras .....	20
3.3.7.1 Determinação de Sacarose, Glicose e Frutose Glicerol e Etanol .....	20
3.3.7.2. Determinação da massa seca .....	20
3.3.8. Determinação de Rendimento e Produtividade .....	20
3.3.9. Ajustes dos Parâmetros.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1. Caracterização dos Méis.....	24
4.2. Perfil Fermentativo .....	24
4.3. Produtividade e Rendimentos.....	28
4.4. Comportamento Cinético.....	30
4.4.1. Relação entre velocidade específica de produção de etanol ( $v$ ) e velocidade específica de crescimento celular ( $\mu$ ) .....	30
4.4.2. Ajuste dos Parâmetros Cinéticos considerando uma única fonte de substrato (ART) .....	33
4.4.3. Ajuste dos Parâmetros Cinéticos considerando duas fontes de substrato (Glicose e Frutose).....	38

4.5. Glicerol.....	43
4.5.1. Perfil Fermentativo.....	43
4.5.2. Ajuste.....	47
4.6. Tratamento de Melaço.....	53
5. CONCLUSÕES.....	57
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	58
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXO A.....	63
ANEXO B.....	76

## NOMENCLATURA

$K_d$	Constante global de morte celular
$K_I$	Constante de inibição pelo substrato
$K_{IF}$	Constante de inibição pela frutose
$K_{IG}$	Constante de inibição pela glicose
$K_P$	Constante de morte celular devido a concentração de produto
$K_S$	Constante de saturação do Substrato
$K_{SF}$	Constante de saturação da frutose
$K_{SG}$	Constante de saturação da glicose
$K_1$	Constante empírica
$K_2$	Constante empírica
$K_3$	Constante empírica
$k_1$	Coefficiente da taxa de reação
$k_2$	Coefficiente da taxa de reação
$k_p$	taxa do coeficiente de produção
$m$	Expoente da equação de inibição pela biomassa
$n$	Expoente da equação de inibição pelo produto
$N$	Número de pontos
$o_L$	Concentração de oxigênio
$P$	Concentração de etanol
$P_{m\acute{a}x}$	Máxima concentração de etanol na qual cessa o crescimento
$P_{m\acute{a}x}^F$	Máxima concentração de etanol na qual cessa o crescimento (frutose)
$P_{m\acute{a}x}^G$	Máxima concentração de etanol na qual cessa o crescimento (glicose)
$q_p$	Taxa específica de produto
$q_{Pmax}$	Taxa específica máxima de produto
$r_p$	Taxa de produção do produto
$r_s$	Taxa de consumo de substrato
$r_x$	Taxa de produção celular
$S$	Concentração de substrato
$t$	Tempo
$t_{max}$	Tempo máximo de produção

$X$	Concentração de biomassa
$X_{\text{máx}}$	Máxima concentração de biomassa na qual cessa o crescimento celular
$X_v$	Concentração de células viáveis
$X_d$	Concentração de células mortas
$X_t$	Concentração de células totais
$x_i$	Pontos calculados pelo modelo
$x_e$	Pontos experimentais
$Y_{G/S}$	Rendimento do processo (glicerol)
$Y_{P/S}$	Rendimento do processo (etanol)
$Y_{P/X}$	Coefficiente de produção de etanol associado ao crescimento celular
$Y_{X/S}$	Taxa de conversão de substrato por concentração de microrganismo

### **Letras Gregas**

$\alpha$	Produção de etanol associada com o crescimento celular
$\beta$	Produção de etanol associada com a concentração celular
$\mu$	Velocidade específica de crescimento celular
$\mu_{\text{máx}}$	Velocidade específica máxima de crescimento celular
$\mu_{\text{máx},i}$	Velocidade específica máxima de crescimento celular na presença de produto
$\mu_0$	Velocidade específica de crescimento celular aparente
$v$	Velocidade específica de obtenção de produto

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo analisar o comportamento cinético da cepa de levedura (Y904-Mauri do Brasil) em nove méis com diferentes níveis de esgotamento, provenientes de unidades produtoras de açúcar e álcool. Foi avaliada a relação entre a velocidade específica de produção de etanol e a velocidade específica de crescimento microbiano. Os ensaios foram conduzidos em reator de bancada dotado de sistema de agitação e temperatura controlada. O inóculo utilizado foi uma cepa de levedura comercial encontrada na forma seca. Foram estudadas as cinéticas de produção de etanol, células e de consumo de substrato, assim como o desempenho da cepa em cada matéria-prima no que diz respeito à produtividade e rendimento em etanol. Os parâmetros avaliados foram: concentração de substrato, etanol e células. Para avaliação cinética, utilizou-se seis modelos do tipo não estruturados considerando apenas uma fonte de substrato (ART), sendo eles o de GHOSE & THYAGI, SEVELY et al, JIN et al., LEE et al., LEVENSPIEL, GHOSE modificado e um modelo considerando duas fontes de substratos (glicose e frutose) baseado no modelo de GHOSE modificado. Foi desenvolvida uma rotina de ajuste exclusivamente para a determinação dos parâmetros adequados. Os resultados mostraram diferenças de comportamento cinético da cepa para as diferentes matérias primas testadas, assim como diferenças também nos valores dos rendimentos obtidos. Os modelos de GHOSE modificado e JIN et. al., utilizando um único substrato, foram os que mais se adequaram aos dados experimentais, mostrando que a inibição pelo substrato é significativa. Apesar do bom ajuste destes modelos, foi observado valores muito elevados para o parâmetro ( $K_s$ ) que, para o modelo de GHOSE modificado, representou uma incoerência por ser este maior que o valor de ( $K_I$ ). Estas incoerências foram eliminadas quando foi utilizado o modelo de GHOSE modificado que levou em consideração dois substratos (glicose e frutose). Em todos os ensaios realizados, observou-se que a velocidade específica de produção de etanol está vinculada a velocidade específica de crescimento microbiano até determinada fase da fermentação, sendo que após esta, observou-se uma diminuição da velocidade de crescimento microbiano, sem que isto ocorresse com a velocidade específica de produção de etanol mostrando que, nesta fase, as mesmas não estão mais associadas. A cinética de produção de glicerol mostrou-se similar ao do etanol, variando somente nos valores de rendimento, onde o do etanol foi 7 a 8 VEZES maior que o do glicerol.

**PALAVRAS-CHAVES** – fermentação alcoólica, cinética, substratos industriais.

## ABSTRACT

The purpose of this work was to analyze the kinetic behavior of the yeast strain (Y904-Mauri do Brasil) using nine molasses with different exhaustion levels coming from sugar and alcohol producing units. The relationship was evaluated between the product production specific rate and the microbial growth specific rate. The essays were made in a bench bioreactor endowed with agitation system and controlled temperature. The used inoculum was a dry commercial yeast strain. The kinetics of ethanol production, cells consumption and substratum consumption, as well as the strain performance with each raw material, were studied in concern to the ethanol productivity and yield. The evaluated parameters were: substratum, ethanol and cell concentration. For kinetic evaluation, six non-structural models considering only one substratum source (ART) were used. The models were the one of GHOSE & THYAGI, SEVELY et al, JIN et al, LEE et al, LEVENSPIEL, the modified GHOSE and another model considering two sources of substratum (glucose and fructose) which is based on the modified GHOSE model. An adjustment routine was developed exclusively to the appropriate parameters determination. The results showed differences in the strain kinetic behavior with the different raw materials tested as well as differences in the obtained yield values. The modified GHOSE and JIN et al models using only one substratum have adapted the most to the experimental data, showing that the substratum inhibition is significant. In spite of the good adjustment of these models, it was observed very elevated  $K_s$  values that, in the modified GHOSE model, appeared as an incoherence since it was larger than the  $K_I$  value. These incoherencies were eliminated when the modified GHOSE model was used considering the influence of the two substrata (glucose and fructose). In all the accomplished rehearsals, it was observed that the ethanol production specific rate was linked to the microbial growth specific rate until a certain fermentation phase and, after this, a decrease in the microbial growth rate was observed. This behavior didn't happen to the ethanol production specific rate showing that, at this phase, these rates are not associated anymore. The glycerol production kinetics showed to be similar the ethanol kinetics diverging only in the yield values – the ethanol yield was 7 to 8 times larger than the glycerol yield.

**KEY WORDS** – alcoholic fermentation, kinetics, industrial substratum.

# 1. INTRODUÇÃO

No início dos anos 70, com o advento do PROALCOOL, surgiram inúmeras destilarias autônomas que utilizavam somente o caldo de cana de açúcar como matéria prima para a produção de etanol. Mesmo as destilarias anexas, ou seja, acopladas a fábrica de açúcar recebiam quantidades razoáveis de caldo de cana e as fábricas de açúcar adaptaram-se rapidamente para produzir açúcar cristal de alta qualidade e mel final com nível de esgotamento baixo. Naquela época, esta forma de operação era vantajosa devido ao preço e o mercado do álcool ser garantido pelo governo.

Nos últimos anos, principalmente após a liberação do preço do álcool carburante e a queda da demanda deste combustível, houve uma reestruturação na indústria sucroalcooleira no Brasil, sendo que a maioria das destilarias autônomas montaram fábricas de açúcar e as destilarias anexas deixaram de receber caldo de cana como matéria prima e passaram a processar quase que exclusivamente mel final. O nível de esgotamento do mel final vem aumentando nas fábricas de açúcar, começando a surgir no centro sul unidades com processamento de 3 (três) massas permitindo alto nível de esgotamento do mel, o que gera matéria prima para as destilarias com baixo nível de pureza.

Esta mudança na matéria prima utilizada atualmente nas destilarias vem causando problemas de ordem operacional nos processos fermentativos e tornando os parâmetros de controle até então utilizados, inadequados.

Tendo em vista a importância de se avaliar os efeitos desta mudança de matéria prima sobre o comportamento cinético da cepa de levedura utilizada industrialmente, tanto do ponto de vista operacional das plantas já existentes como do projeto de novas plantas, pretende-se neste trabalho testar a variação do desempenho de uma cepa padrão em matérias primas proveniente de diferentes unidades industriais com diferentes níveis de esgotamento. Além disto, pretende-se estudar alguns processos de purificação do mel final e sua influência na performance da cepa estudada.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *Histórico*

No Brasil, produz-se álcool desde o início do século, mas devido à crise do petróleo no início da década de 70, o governo investiu na produção de álcool, implantando o Proálcool (Programa Nacional de Álcool), em 1975. Com isso, o Brasil tornou-se o primeiro país do mundo a desenvolver um programa alternativo de combustível para substituição à gasolina.

Segundo SIQUEIRA (1993), além das razões pelas quais o programa foi criado, destacam-se os seguintes fatores:

- Trata-se de energia renovável e combustível menos poluente;
- Utiliza tecnologia 100% nacional;
- Emprega mão-de-obra direta, com fixação do homem no meio rural;
- É um programa de conteúdo estratégico pelo seu caráter nacionalístico e pela sua dispersão territorial.

A partir do lançamento do programa houve, segundo BERTELLI (1992), um crescimento progressivo na produção de álcool, de 500 milhões de litros em 1975, até 12,7 bilhões de litros na safra de 1991/1992. O álcool carburante, em espécies anidro e hidratado, participa aproximadamente com 12% do consumo de derivados de petróleo.

No Brasil, o etanol era produzido por processo descontínuo, batelada simples. Quando o Proálcool foi implantado, segundo ZAPERLON & ANDRIETTA (1992), todas as novas destilarias foram montadas baseadas no processo Melle-Boinot (batelada-alimentada), que se mostrou muito conveniente e satisfatório em relação à operação e eficiência de conversão de açúcares a álcool. Mas visando a redução dos custos de produção e o aumento da produtividade, a fermentação alcoólica contínua mostrou ser um processo bastante atrativo.

ANGELIS (1986) já alertava que mesmo com a diminuição do preço do petróleo, ocorrido após o plano Proálcool e sua estabilização, os países que não são auto-suficientes em petróleo, para prover-se de energia no momento e no futuro necessitam desenvolver

diretrizes que conduzam ao aperfeiçoamento de todas as possibilidades de alternativas de aproveitamento de energia.

Nos E.U.A existe uma associação de 16 estados na produção de álcool etílico por via fermentativa, utilizando o milho como matéria prima. Segundo PHILIPPIDIS & HATZIS (1997) a produção de etanol através da fermentação alcoólica de substrato açucarado está despertando o interesse dos E.U.A, podendo-se converter em poucos anos num vital programa para a sustentação da próspera economia americana, reduzindo-se significativamente a importação de petróleo e garantindo, para um futuro bem próximo, a continuação do uso de um combustível alternativo e principalmente renovável, tornando-se já um tema de segurança nacional.

## **2.2. Processos Fermentativos**

Existem três tipos básicos de processos fermentativos para a obtenção de etanol, são eles: batelada, batelada alimentada (Melle-Boinot) e contínuo.

### **2.2.1. Processo Batelada**

Este processo no passado foi muito utilizado na produção de etanol, mas segundo MAIORELLA *et al* (1981), este processo é lento, pois se gasta muito tempo para o preparo do reator. O reator tem que ser, a cada batelada, limpo e preparado, o mosto e o inóculo carregado ao sistema.

Para este processo, podem ser utilizados dois sistemas:

- a) Sistema de cortes: consiste em realizar a primeira fermentação, então o volume de mosto é dividido em dois reatores, completando ambos com mosto deixando fermentar, e assim sucessivamente;
- b) Sistema de cultura pura ou pé-de-cuba: para cada fermentação, utiliza-se de uma cultura pura, adiciona-se o mosto até completar o volume do reator.

### **2.2.2. Processo Batelada Alimentada**

Este processo é uma variante do processo batelada. É também conhecido como Melle-Boinot. Neste processo não se pode ultrapassar um valor limite de substrato, fazendo

a alimentação do substrato ao mosto parceladamente, por pulsos ou contínua. Neste caso há o reaproveitamento do inoculo que é separado do vinho por centrifugação.

ALMEIDA (1960), descreve as seguintes vantagens do processo Melle-Boinot:

- economia de açúcar devido a menor reprodução celular elevando o rendimento em etanol;
- eliminação de contaminantes pela centrifugação do vinho (separação de células de levedura);
- fermentação mais pura devido ao tratamento de leite de levedura (tratamento ácido);
- eliminação da necessidade de cultura pura no preparo do pé-de-cuba, prática exigida no processo clássico, diminuindo, portanto a complexidade das operações da planta.

### **2.2.3. Processo Contínuo**

Este processo não sofre interrupções, há a retirada contínua do produto a uma vazão igual à da alimentação, permitindo um fluxo contínuo, diminuindo assim, o efeito inibitório do etanol e do substrato. Este tipo de processo atinge, quando bem operado, maior produtividade e rendimento.

Segundo RODRIGUES *et al* (1992) este processo tem apresentado uma maior produtividade, com um aumento que pode atingir 100% em relação à batelada alimentada. Os novos projetos que estão sendo desenvolvidos consideram a cinética do processo e utilizam ferramentas matemáticas e computacionais. Com isto obtém-se processos que:

- reduzem gastos em mão-de-obra;
- aumentam a produtividade;
- reduzem o tempo não produtivo (carga, descarga, limpeza);
- trabalham em condições ótimas de operação no estado estacionário;
- reduzem a utilização de insumos; entre outros.

### 2.3. **Bioquímica da Fermentação Alcoólica**

Segundo AMORIM *et al.*(1996), a levedura como entidade viva independente, realiza a fermentação do açúcar com o objetivo de conseguir a energia química necessária à sua sobrevivência, sendo o etanol apenas e tão somente um subproduto desse processo. Se o homem pretende beneficiar-se dessa habilidade metabólica, ele deve buscar os conhecimentos que lhe permitam propiciar às leveduras, condições ideais para que as mesmas trabalhem a seu favor, isto é, com maior eficiência na produção de etanol. A célula de levedura possui compartimentos para adequação de sua atividade metabólica. A fermentação alcoólica (glicólise anaeróbia) ocorre no citoplasma, enquanto que a oxidação total do açúcar (respiração), se dá na mitocôndria.

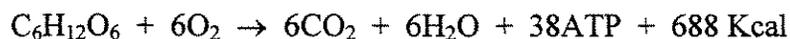
As leveduras são organismos eucarióticos e formam uma das classes mais importantes dos fungos. As células de *Saccharomyces cerevisiae* apresentam-se normalmente na forma unicelular e com 2 a 8 micrômetros de diâmetro. Estas se reproduzem basicamente por brotamento, onde a célula mãe, após um período de união entre os citoplasmas, dá origem a uma nova célula.

Existem dois ciclos distintos que definem o processo de transformação de açúcares solúveis em moléculas menores pela ação de levedura. O primeiro, denominado glicólise, tem a função de “quebrar” a molécula de glicose até ácido pirúvico, através de uma série de reações catalisadas por enzimas específicas, que se situam na parede celular e no interior da célula. Na ausência de oxigênio, há uma tendência para a atuação das enzimas piruvato-descarboxilase e álcool-desidrogenase, produzindo etanol e água a partir do ácido pirúvico. A equação de Gay-Lussac faz um balanço desta etapa. Porém, na presença de oxigênio há um deslocamento reacional de parte do ácido pirúvico para o Ciclo de Krebs, onde será oxidado enzimaticamente a dióxido de carbono e água.

O balanço global dos dois ciclos pode ser resumido pelas equações:



Equação de Gay-Lussac



Ciclo de Krebs

A reação global da glicólise demonstra que 1 mol de glicose (180g) produz 2 moles de etanol (92g), 2 moles de dióxido de carbono (88g) e 57 Kcal de energia. Assim, o rendimento teórico ( $Y_{P/S}$ ) para a produção de etanol é de 0,511 g/g. Na prática, segundo OURA (1974), este valor não é observado devido à utilização de parte da glicose para produção de glicerol e álcoois superiores, substâncias necessárias para síntese de material celular e manutenção da levedura.

Além da presença ou ausência de oxigênio, a disponibilidade de açúcar pode afetar o metabolismo das leveduras. OKADA (1981) o efeito Crabtree, que é o incremento na produção de etanol em concentrações de glicose superiores a 0,5-1,0 g/L (independentemente da concentração de oxigênio) como prejudicial ao processo de produção de leveduras de panificação, pois parte do açúcar disponível é convertida a etanol e dióxido de carbono em detrimento à biomassa, reduzindo o rendimento. Em contrapartida, o efeito Pasteur, causa um elevado rendimento celular em condições de aerobiose e concentração de glicose inferior a 1,5 g/L, diminuindo assim a taxa de fermentação alcoólica ou glicólise anaeróbia.

Assim, frente ao número elevado de reações catalisadas enzimaticamente no metabolismo celular, fatores como pH, temperatura, pressão, concentração de reagentes, concentração de nutrientes, etc., afetam os parâmetros cinéticos que definem as taxas de reprodução celular, consumo de substrato e produção de etanol.

## **2.4. Cinética dos processos Fermentativos**

O estudo da cinética de processos fermentativos tem como propósitos:

- medir a velocidade de transformação que ocorre durante uma fermentação;
- estudar a influência dos fatores nestas velocidades (pH, temperatura, etc...);
- correlacionar por meio de equações empíricas, ou de módulos matemáticos, as velocidades com os fatores que nelas influem;
- aplicar as equações na otimização e controle do processo.

### 2.4.1. Modelos Cinéticos

Segundo BAYLEY & OLLIS (1986), os modelos cinéticos normalmente usados em fermentações, podem ser divididos em:

- Não-estruturados e não-segregados, nos quais a célula de microrganismos é considerada 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 microrganismos são consideradas como indivíduos distintos e formados por múltiplos componentes.

Segundo MOULIN *et al* (1980) a cinética da fermentação alcoólica é complexa. A taxa de fermentação muda continuamente com o desaparecimento do substrato e formação do produto. O tipo de modelo mais encontrado na literatura para descrever a fermentação alcoólica é o tipo não-estruturado e não-segregado. ANDRIETTA (1994) explica que devido a esta complexidade, é pouco aconselhável a utilização de modelos que consideram as células como indivíduos distintos constituídos de vários componentes e que utilizando modelos mais simples, a imprecisão que possa ocorrer é compensada pela facilidade de obtenção e diminuição do número de parâmetros cinéticos necessários.

MONOD (1949) expressa a velocidade específica de crescimento do microrganismo ( $\mu$ ) como uma função da concentração de substrato limitante (S), como pode ser observado na equação 1.

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S}{(K_s + S)} \quad (1)$$

onde  $\mu_{m\acute{a}x}$  e  $K_s$  são, respectivamente, a velocidade específica máxima de crescimento e a constante de Monod.

Em trabalhos publicados, GHOSE & TYAGI (1979b) e BAZUA & WILKE (1977) verificou-se que a inibição pelo etanol afetava  $\mu_{\text{máx}}$  e não  $K_S$ , logo a velocidade de crescimento pode ser representada pela equação 2.

$$\mu = \mu_{\text{máx},i} \cdot \frac{S}{(K_S + S)} \quad (2)$$

onde  $\mu_{\text{máx},i}$  é a velocidade específica máxima de crescimento na presença de etanol.

LUONG (1985) cita que se pode dividir os modelos cinéticos que correlacionam a inibição pelo produto em 4 tipos:

- Relação linear (equação 3):

$$\mu_i = \mu_{\text{máx}} \cdot \left( 1 - \frac{P}{P_{\text{máx}}} \right) \quad (3)$$

- Relação exponencial (equação 4):

$$\mu_i = \mu_{\text{máx}} \cdot e^{-K_2 \cdot P} \quad (4)$$

$K_2$  é a constante de inibição empírica

- Relação hiperbólica (equação 5):

$$\mu_i \mu_i = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{1}{1 + \frac{P}{K_3}} \quad (5)$$

$K_3$  é a constante de inibição empírica

- Relação parabólica (equação 6):

$$\mu_i = \mu_{\text{máx}} \cdot \left( 1 - \frac{P}{P_{\text{máx}}} \right)^{0,5} \quad (6)$$

LEVENSPIEL (1980) revisou e generalizou uma equação matemática para o crescimento celular contendo um termo para inibição pelo produto:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}x}}\right)^n \left(\frac{S}{K_S + S}\right) \quad (7)$$

sendo  $P_{m\acute{a}x}$  a concentração limite do produto inibidor. LEVENSPIEL (1980) demonstrou que para uma concentração de P bem menor que o valor de  $P_{m\acute{a}x}$ , e equação (7) se reduz à equação 1, que é a cinética de Monod.

DOURADO *et al* (1987) apresenta para a fermentação alcoólica, um resumo dos modelos matemáticos propostos por vários autores:

- GHOSE & THYAGI (1979) (equação 8):

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_L}\right) \quad (8)$$

\* características do modelo:

- efeito do substrato limitante (Monod)
- inibição pelo substrato (exponencial)
- inibição pelo produto (linear)
- relação linear entre  $\mu$  e  $v$
- SEVELY *et al* (1980) (equação 9):

$$\mu = \mu_0 \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{K_p}{P + K_p} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_L}\right) \quad (9)$$

\* características:

- efeito do substrato limitante (Monod)
- sem inibição do substrato
- inibição pelo produto (parabólica)
- relação linear entre  $\mu$  e  $v$  (lei de Luedeking-Piret)
- JIN, CHIANG e WANG (1981) (equação 10):

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot e^{(-K_1 \cdot P)(-K_2 \cdot S)} \cdot \frac{S}{K_S + S} \quad (10)$$

\* características:

- efeito substrato limitante (Monod)
- inibição pelo substrato (exponencial)
- inibição pelo produto (exponencial)
- relação entre  $\mu$  e  $v$  não linear

- LEE, POULARD e COULMAN (1983) (equação 11):

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}x}}\right)^n \cdot \left(1 - \frac{X}{X_{m\acute{a}x}}\right)^m \quad (11)$$

onde  $m=1$ ,  $n=1$

\* características:

- efeito substrato limitante (Monod)
- sem inibição pelo substrato
- inibição pelo produto (não linear generalizada)
- inibição pela concentração de células
- relação linear entre  $\mu$  e  $v$

JARZEBSKI & MALINOWSKI (1989) apresenta um modelo (equação 12), considerando a perda da viabilidade celular, utilizando quando se tem alta concentração celular:

$$r_x = \mu_0 \left[1 - \left(\frac{P}{P_{m\acute{a}x}}\right)^{A1}\right] \cdot \left[1 - \left(\frac{Xt}{X_{m\acute{a}x}}\right)^{A2}\right] \cdot \frac{S \cdot Xv}{Ks + S} \quad (12)$$

onde:

$$X_t = X_v + X_d$$

$X_v$  – células viáveis

$X_d$  – células inativas (mortas)

## **2.5. Efeito da matéria prima sobre o desempenho dos processos fermentativos**

Segundo BASSO *et al.*(1996) as cepas de levedura são capazes de utilizar muitos compostos nitrogenados, tais como aminoácidos, bases nitrogenadas, uréia e amônio, utilizando-se de vários sistemas de transporte para as diversas fontes.

O nitrogênio na forma amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) é encontrado no mosto proveniente do caldo de cana, e sua concentração influi sobre o brotamento da levedura e a taxa de multiplicação da levedura, além de que a porcentagem de levedo no vinho está diretamente relacionada com a concentração de  $\text{NH}_4^+$ . Segundo BASSO *et al.*(1996) esta forma de nitrogênio na cana é intermediária, pois o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) absorvido do solo pela planta é reduzido a nitrogênio amoniacal e este transformado em aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos e demais compostos nitrogenados.

REED (1982) menciona a respeito da necessidade nutricional de leveduras, a importância de vitaminas como a biotina, tiamina, ou outras, que devem ser supridas pelo meio de crescimento. Em experimentos laboratoriais isto é geralmente feito com o uso de extrato de levedura. Em processos comerciais essa suplementação é feita pela adição de compostos minerais solúveis e vitaminas sintéticas, geralmente suplementadas com levedura ou extrato de levedura.

PINOTTI (1991) afirma que nas etapas do processo de produção de álcool existem perdas significantes de nutrientes, notadamente o nitrogênio. Devido a estas perdas principalmente na etapa de decantação, ocorre a necessidade da introdução do nitrogênio durante a fermentação, onerando o custo final do álcool.

BASSO *et al.* (1996) relata que a acidez resultante da utilização do sulfato de amônio, embora auxilie no controle a contaminação bacteriana (conseqüentemente reduz as formações de ácidos láctico e acético), causa estresse à levedura diminuindo a viabilidade e a sua multiplicação.

SU *et al.*(1969) verificaram que quando a uréia é usada como única fonte de nitrogênio, a levedura produzida apresenta menor teor em proteína e maior produção comparada com o sulfato de amônia.

ABRAMOV *et al.* (1994) enfatizam que a síntese de biomassa celular pela levedura é significativamente dependente do conteúdo em nitrogênio no meio de crescimento, uma vez que a proporção de compostos nitrogenados na célula de levedura atinge 50%. Reforçam o conhecimento de que as células de levedura sintetizam todos os aminoácidos e proteínas a partir de nitrogênio inorgânico e carbono orgânico, e também a partir de produtos intermediários da degradação de carboidratos formados durante a fermentação e respiração.

## **2.6. Tratamentos de melaços**

O mel final utilizado na fermentação é proveniente da produção de açúcar. À medida que ocorre a cristalização do açúcar do mel final, a taxa de cristalização torna-se mais baixa até atingir um ponto em que não se pode mais cristalizar a sacarose a uma dada temperatura, então se diz que o melaço está esgotado e a pureza deste depende principalmente do conteúdo de água. Embora todos os constituintes exerçam certa influência sobre a pureza, somente os que estiverem em maiores quantidades tem um efeito significativo. Destes, os açúcares redutores e cinzas são preponderantes. Estes dois ingredientes exercem efeitos opostos na retenção de sacarose. Os açúcares redutores tomam o lugar da sacarose, quase peso por peso, de maneira que, quanto mais açúcares redutores presentes, menor a quantidade de sacarose retida. Desta forma, quanto maior a porcentagem de açúcares redutores, menor a pureza do melaço esgotado a um dado teor de água. Por outro lado, cinzas em geral e o cloreto de potássio (principal constituinte das cinzas) em particular, tendem a aumentar a solubilidade da sacarose dando uma pureza maior do mel esgotado (PAYNE -1989).

O tratamento do melaço consiste em: diluição, aquecimento (ou Esterilização), e decantação. A Esterilização é baseada no binômio tempo versus temperatura, para destruição térmica do esporo do microrganismo mais resistente do meio, não devendo ser utilizada uma temperatura que exija muito tempo para a destruição do esporo mais termo-resistente, pois se arrisca destruir os fatores de crescimento essenciais à multiplicação da levedura. Primeiramente, dilui-se o melaço até obter o ° Brix desejado, em seguida aquece

(140°C/15-20 seg). Depois de aquecido, o melaço é resfriado e decantado. A lama decantada do melaço é composta principalmente de substâncias inorgânicas contendo muito sulfato de cálcio, sílica e outros materiais “terrosos”, mas contém também pequenas quantidades de proteínas precipitadas, gorduras e materiais celulares vegetais. (Fleishman-Royal)

Métodos mais modernos de tratamento de melaço para a eliminação desta borra, utilizam separadoras centrífugas como substitutos da decantação natural.

A Figura 01 mostra o fluxograma de tratamento do mel bruto realizado pela Mauri do Brasil S.A. Este tratamento se dá em três etapas: (a) Na primeira etapa o mel bruto com concentração inicial de sólidos solúveis (° Brix) em torno de 80% p/p é diluído até uma concentração final de 40% p/p ser atingida. (b) Na segunda etapa o mel previamente diluído na etapa anterior é centrifugado, onde a fase leve sofre um tratamento térmico sendo o mel pré-aquecido a temperatura de 121°C e resfriado a 80°C obtendo-se assim o mel tratado. (c) Na terceira etapa a fase pesada obtida na etapa de centrifugação é lavada com água e transferida para um decantador onde o sobrenadante obtido é utilizado na etapa de diluição descrita anteriormente juntamente com água, e o decantado obtido é constituído aproximadamente por 2% de sólidos com concentração de Açúcares Redutores Totais (ART) em torno de 0,2% do total.

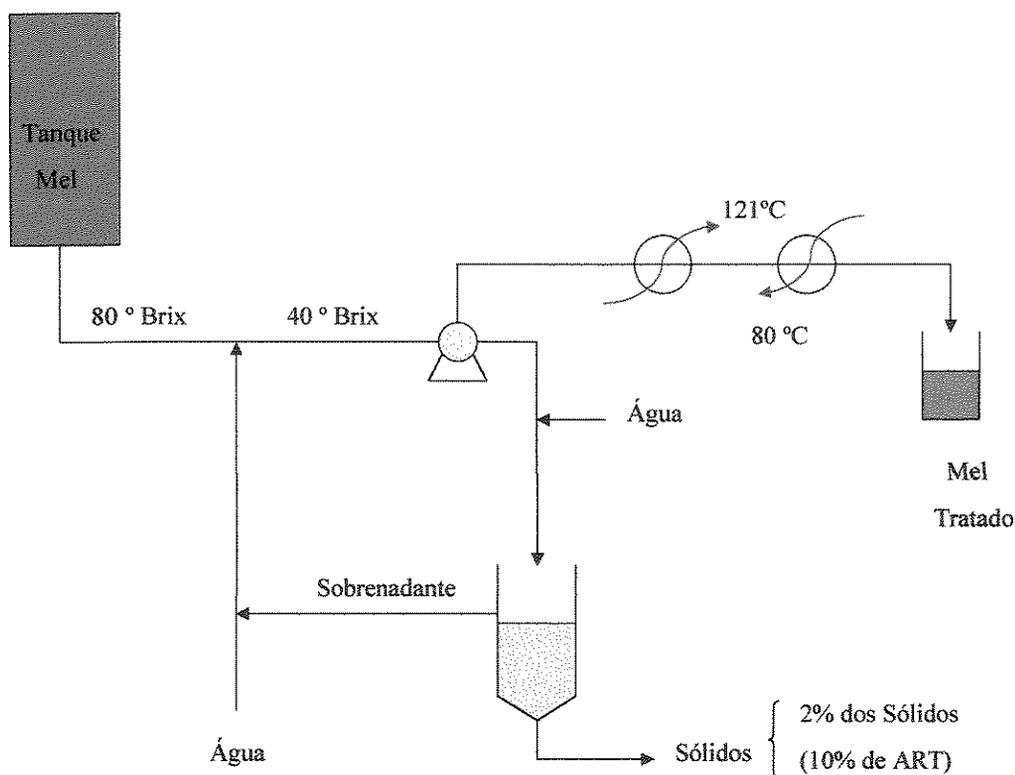


Figura 01 – Fluxograma do tratamento de mel (Mauri do Brasil S.A.)

## 2.7. Efeito dos meios que contém mais de um substrato

Segundo SCHLEGEL (1990), um bom exemplo de efeito de substrato na síntese enzimática é um fenômeno chamado *diauxia*. O efeito de diauxia consiste no consumo preferencial de um substrato em relação a outro quando mais de um estão presentes no meio fermentativo, que é o caso da fermentação alcoólica com meios à base de sacarose. A aparição de duas fases de crescimento ou duplo ciclo de crescimento é encontrada em meios que contém misturas de substratos. Na mistura de glicose e sorbitol, por exemplo, a *E.coli* utiliza somente a glicose em primeiro. A glicose induz a síntese das enzimas para seu consumo, bloqueando ao mesmo tempo o consumo de sorbitol. O sorbitol só será consumido quando toda a glicose for consumida.

## 2.8. Modelos Cinéticos para formação de produto

Pode se encontrar na literatura diversos modelos cinéticos que descrevam a formação de produtos.

Segundo REED & REHM (1985), é conveniente associar a formação de produto com o crescimento microbiano através de modelos matemáticos. Alguns destes modelos estão contidos na Tabela 01.

**Tabela 01** - Modelos cinéticos que relacionam a formação de produto com o crescimento microbiano - REED & REHM (1985)

Modelo Cinético	nº equação	Autor
$r_P = Y_{P/X} \cdot r_x$ ou $q_P = Y_{P/X} \cdot \mu$	13	
$r_P = Y_{P/S} \cdot r_s$	14	
$r_P = q_{Pmax} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot x$	15	GADEN (1959)
$r_P = k_p \cdot x$	16	
$q_P = k_1 \cdot O_L + k_2$	17	GIONA <i>et al.</i> (1976)
$q_P = Y_{P/X} \cdot \mu + k_P$	18	GADEN (1959)
$q_P = q_{Pmax} - Y_{P/X} \cdot \mu$	19	ROWLEY and PIRT (1972)
$q_P = q_{Pmax} \cdot \exp\{-k_2(t-t_{max})\} + K_1 \{ \exp\{-k_1(t-t_{max})\} - \exp\{-k_2(t-t_{max})\} \}$	20	TERUI (1972)
$r_P = Y_{P/X} \cdot \mu + k_p \cdot x - k_{pd} \cdot p$	21	CONSTANTINIDES (1970)

As equações 13 a 15 quantificam a formação de produto quando esta está associada ao crescimento microbiano. A equação 15 é obtida substituindo a equação de Monod (equação 1) na equação 13, obtendo-se assim, uma função hiperbólica que relaciona a formação de produto nos casos em que este está associado ao crescimento microbiano.

Nos casos onde a formação de produto não está relacionada ao crescimento microbiano, esta quantificação se torna mais difícil. Nesses casos, a dependência da taxa de formação de produto ( $r_p$ ) na concentração de biomassa é usualmente descrita pela equação 16.

Quando a taxa de acúmulo de produto é influenciada pela sua taxa de decomposição, o termo relacionado a esta taxa ( $k_{pd}$ ) deve ser adicionada a equação 16, obtendo-se assim a equação 21.

Segundo LUEDEKING E PIRET (1959) (equação 22) a velocidade de formação de produto pode ou não estar vinculada ao crescimento microbiano.

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \cdot \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (22)$$

Dividindo-se a equação 22 pela concentração de biomassa, obtém-se a equação 18, que relaciona a velocidade específica de formação de produto com a velocidade específica de crescimento microbiano.

Quando o coeficiente de rendimento produto/células ( $\alpha$ ) for muito maior que a taxa de produção devido a massa celular ( $\beta$ ), pode-se dizer que a velocidade específica de obtenção de produto ( $v$ ) depende somente da velocidade específica de crescimento microbiano ( $\mu$ ) (equação 23).

$$v = \alpha \cdot \mu \quad (23)$$

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. *Matéria prima utilizada*

Foram coletadas amostras de mel final de 10 unidades industriais de diferentes regiões do Estado de São Paulo, Minas Gerais e Goiás na mesma época de safra (mês de agosto). O meio de referência foi um meio sintético a base de sacarose e extrato de levedura.

A Tabela 02 apresenta as unidades industriais e suas respectivas localidades.

**Tabela 02** – Localidade das unidades industriais

Mel	Unidade Industrial	Localidade	Nº Massa
<b>Alvorada</b>	Usina Alvorada Açúcar e Álcool LTDA	Araporã - MG	2
<b>Benalcool</b>	Benalcool Açúcar e Álcool S.A.	Bento de Abreu - SP	2
<b>Corol</b>	Cooperativa Agropecuária Rolândia LTDA	Rolândia - PR	2
<b>Cruz Alta</b>	Açúcar Guarani S.A.	Olímpia - SP	3
<b>Equipav</b>	Equipav S.A. Açúcar e Álcool	Promissão - SP	2
<b>Ester</b>	Usina Açucareira Ester S.A.	Cosmópolis - SP	2
<b>Goiasa</b>	Goiatuba Álcool LTDA	Goiatuba - GO	2
<b>Guarani</b>	Açúcar Guarani S.A.	Severínia - SP	2
<b>Jalles Machado</b>	Jalles Machado S.A. Açúcar e Álcool	Goianésia - GO	2
<b>Mauri</b>	Mauri do Brasil S.A.	Pederneiras - SP	2

#### 3.2. *Descrição da caracterização da matéria prima*

Das matérias primas coletadas, foram analisadas: Brix (sólidos solúveis, por refratômetro), Pureza (relação ART (%)/Brix), AR (açúcares redutores, por HPLC), ART (açúcares redutores totais, por HPLC), Acidez Sulfúrica (pHmetro).

### **3.2.1. Determinação do Brix**

Consiste em analisar cada mel (com diluição de 1/6) em refratômetro ótico (Marca: American Optical ABBE Refractometer).

### **3.2.2. Determinação da Acidez Sulfúrica**

Acidez sulfúrica é a quantidade de ácidos totais presentes no mosto, expressos em g/l de ácido sulfúrico. Com o auxílio de uma bureta e do pHmetro, neutralizou-se o mel, gota a gota sob agitação, com NaOH 1N até atingir pH 8,7. O volume gasto de NaOH multiplicado por 0,98, forneceu a acidez sulfúrica do mel.

### **3.2.3. Determinação de Sacarose, Glicose e Frutose**

As análises foram realizadas utilizando detector de Índice de Refração, cujas condições são descritas abaixo:

Eluente – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N a vazão de 0,5 mL/min.

Volume de injeção – 75 µL.

Coluna – MetaCarb 87H Column 300x 7,8 mm

Temperatura da coluna – 35°C.

Padrão utilizado – Sigma e Merck

## **3.3. Ensaio em reator**

### **3.3.1. Cepa utilizada nos testes**

A cepa utilizada nos testes foi a Y904 produzida na forma seca pela Mauri do Brasil exclusivamente para partidas de destilaria de álcool.

### **3.3.2. Preparo do inóculo**

O inóculo foi preparado, adicionando 120 g do fermento seco para 1200g de água destilada a 34°C, mantido sob agitação por 30 minutos. Desta suspensão, foi determinada a concentração de matéria seca.

### **3.3.3. Preparo do mosto**

O mosto foi preparado de forma que a concentração de ART no mesmo fosse de 200 g/L. No meio sintético dissolveu-se 190 g de sacarose em 1000 ml de solução final. As

matérias primas industriais foram diluídas com água destilada até se atingir tal concentração.

### 3.3.4. Preparo do meio sintético

A utilização do meio sintético visa obter um comportamento padrão da cepa utilizada. A composição do meio está descrita na Tabela 03.

Tabela 03 – Composição do Meio Sintético.

Componente	Concentração (g/kg)
Sacarose	190
Extrato de levedura	6
Cloreto de amônio	5
Fosfato diácido de potássio	5
Sulfato de magnésio	1
Cloreto de potássio	1

### 3.3.5. Descrição do Reator

O sistema utilizado foi um reator de vidro com 6 litros de capacidade, dotado de agitação mecânica e temperatura controlada através da circulação de água proveniente de um banho termostatzado pela serpentina do mesmo. O esquema do reator está representado na Figura 02.

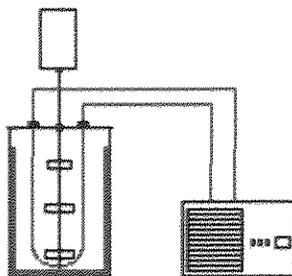


Figura 02 – Esquema do Reator

### 3.3.6. Execução dos ensaios

Após a hidratação do inóculo, 1200 g do mesmo foram transferidos para o reator contendo 4800 g do mosto previamente preparado. A massa do inóculo correspondeu a 20% da massa total adicionada ao reator.

A temperatura e a agitação do meio de fermentação foram mantidas a 34 °C e 100rpm, respectivamente. Sendo que amostras foram retiradas em intervalos de uma hora, a partir do momento de inoculação, até a décima hora de fermentação.

Para o cálculo do balanço de massa, em cada ensaio realizado, uma planilha foi montada contendo: o peso do reator vazio, com o mosto, com adição do inóculo, o peso de cada amostra retirada, o peso final do reator e a densidade do mosto.

### **3.3.7. Preparo das amostras**

Depois de retiradas as amostras, estas foram imediatamente pesadas e em seguida 20 mL de amostra foi centrifugada a 4500 rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi recolhido e congelado para análise posterior. O precipitado foi utilizado para determinar a concentração de biomassa no reator.

#### **3.3.7.1. Determinação de Sacarose, Glicose e Frutose Glicerol e Etanol**

As análises das amostras foram realizadas utilizando a mesma metodologia utilizada no item 3.2.3.

#### **3.3.7.2. Determinação da massa seca**

Para determinar a massa celular produzida na fermentação foi utilizado o método direto, que consiste na secagem do material produzido. Primeiramente pesou-se placas de Petri previamente secas ( $P_1$ ), e com auxílio de uma pipeta volumétrica, transferiu-se 20 mL de amostra de vinho fermentado para um tubo de centrifuga. Centrifugou-se a mesma a 4500 rpm por cinco minutos. Lavou-se o precipitado duas vezes transferindo-o então, para a placa. As placas foram para uma estufa a 80°C até atingirem peso constante. Esperou-se esfriar e pesou-se novamente as placas ( $P_2$ ). O valor da massa seca foi calculado pela diferença ( $P_1 - P_2$ ) sobre o volume de amostra centrifugada, obtendo-se assim o valor final expresso em gramas por litro de vinho fermentado.

### **3.3.8. Determinação de Rendimento e Produtividade**

Os rendimentos  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{G/S}$ ,  $Y_{P/X}$  e Produtividade foram calculados da seguinte forma:

$$Y_{X/S} = \frac{(\text{células produzidas})}{(\text{ART consumido})} \quad (24)$$

$$Y_{P/S} = \frac{(\text{Etanol produzido})}{(\text{ART consumido})} \quad (25)$$

$$Y_{G/S} = \frac{(\text{Glicerol produzido})}{(\text{ART consumido})} \quad (26)$$

$$Y_{P/X} = \frac{(\text{Etanol produzido})}{(\text{células produzidas})} \quad (27)$$

$$\text{Produtividade} = \frac{(\text{Etanol produzido})}{(\text{Tempo de Fermentação})} \quad (28)$$

onde:

$$\text{ART consumido} = (\text{ART entrado} - \text{ART convertido})$$

$$\text{ART entrado} = \frac{\text{Peso mosto}}{\text{densidade mosto}} * \text{Concentração ART mosto}$$

$$\text{ART convertido} = \frac{\text{Peso final vinho fermentado}}{\text{densidade mosto}} * \text{Concentração ART final}$$

$\text{Peso final do vinho fermentado} = \text{Peso final do reator} + \text{Peso das amostras retiradas}$

$$\text{Células produzidas} = (\text{Células início} - \text{Células final})$$

$$\text{Células início} = \text{Peso do inoculo} * \text{Concentração celular início}$$

$$\text{Células final} = \text{Peso final vinho fermentado} * \text{Concentração celular final}$$

$$\text{Etanol produzido} = \text{Peso final vinho fermentado} * \text{Concentração final de Etanol}$$

$$\text{Glicerol produzido} = \text{Peso final vinho fermentado} * \text{Concentração final de Glicerol}$$

### 3.3.9. Ajustes dos Parâmetros

Os parâmetros cinéticos foram calculados a partir de uma rotina de ajuste desenvolvido em DELPHI 5.0 por pesquisadores da Divisão de Biotecnologia e Processos do CPQBA/UNICAMP. Inicialmente foram avaliados dois modelos cinéticos, LEVENSPIEL (1980) (equação 7), que não considera a inibição pelo substrato, e o de

GHOSE (1979) Modificado onde  $n$  é diferente de 1 (equação 29), que leva em consideração a inibição pelo substrato. Este trabalho se refere a este último modelo como Modelo 1.

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_I}} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}x}}\right)^n \quad (29)$$

Além dos modelos citados acima, foram utilizados na rotina de ajuste mais cinco modelos encontrados na literatura, são eles: GHOSE (1979) (equação 8), SEVELY (1980) (equação 9), JIN (1981) (equação 10), LEE (1983) (equação 11), onde estes levam em consideração a presença de um único substrato (ART – Açúcares Redutores Totais) e ainda um modelo que leva em consideração a presença de 2 (duas) fontes de substrato (Glicose e Frutose). Este último, chamado de Modelo 2, utiliza para a glicose (equação 30) e a frutose o Modelo de GHOSE modificado (Modelo 1 - equação 29), porém para a frutose, este modelo foi acrescido de um termo desenvolvido neste trabalho que descreve a diauxia (equação 31). (Diauxia é a característica que um microrganismo tem em consumir preferencialmente um substrato, que neste caso, foi a glicose).

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{G}{K_{SG} + G + \frac{G^2}{K_{IF}}} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}xG}}\right)^n \quad (30)$$

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left(1 - \frac{G}{F}\right) \cdot \frac{F}{K_{SF} + F + \frac{F^2}{K_{IF}}} \left(1 - \frac{P}{P_{m\acute{a}xF}}\right)^n \quad (31)$$

onde  $\left(1 - \frac{G}{F}\right)$  é o termo de diauxia, G é a concentração de glicose e F é a concentração de frutose.

O cálculo dos parâmetros para cada modelo da Rotina de Ajuste está baseado na minimização da somatória dos desvios quadrados (equação 32), isto é, para encontrar os parâmetros que melhor se ajustam ao(s) modelo(s) a somatória dos desvios quadrados deve ser a menor possível.

$$D = \sum_{i=1}^N (x_i - x_e)^2 \quad (32)$$

onde:

$N$  = número de pontos

$x_i$  = dados calculados pelo modelo

$x_e$  = dados experimentais

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização dos Méis

A Tabela 04 mostra os resultados de cada mel analisado.

**Tabela 04** – Características dos méis.

	PH	Acidez		Brix	ART (g/l)	ART (%)	Pureza (%)
		Sulfúrica (g/l)	densidade				
<b>Alvorada</b>	5,88	5,58	1,3505	81,6	718,136	53,17	65,16
<b>Benalcool</b>	5,81	7,62	1,3792	88,2	725,200	52,58	59,62
<b>Corol</b>	6,08	4,98	1,3584	83,4	662,519	48,77	58,48
<b>Cruz Alta</b>	5,55	10,86	1,3271	76,2	521,900	39,33	51,61
<b>Equipav</b>	5,90	5,28	1,3297	76,8	638,220	48,00	62,50
<b>Ester</b>	5,87	4,38	1,3610	84,0	710,523	52,21	62,15
<b>Goiasa</b>	6,02	7,62	1,3558	82,8	667,358	49,22	59,45
<b>Guarani</b>	5,53	11,76	1,3089	72,0	439,519	33,58	46,64
<b>Jalles</b>	5,85	11,46	1,3636	84,6	632,676	46,40	54,85

Como pode ser observado na Tabela 04, a Pureza dos méis variam de 46,64% até 65,16%. Os méis com menor pureza (ou os mais esgotados) são os da Usina Guarani e Cruz Alta, com pureza de 46,64% e 51,61%, respectivamente. Os méis das Usinas Guarani e Cruz Alta são provenientes da fabricação de açúcar cristal branco, onde se utiliza maior quantidade de insumos, sendo que o oriundo da Usina Cruz Alta possui a agravante de ser proveniente de caldo extraído em difusores, onde é maior o nível de impurezas. A acidez sulfúrica, que indica a quantidade de ácidos totais presentes no mel, expressa em g/l de ácido sulfúrico, varia de 4,38 para o mel da Usina Ester até 11,76 para o mel da Usina Guarani.

### 4.2. Perfil Fermentativo

As Figuras 03 a 12 mostram a concentração de células e de etanol em função do tempo para todos os méis.

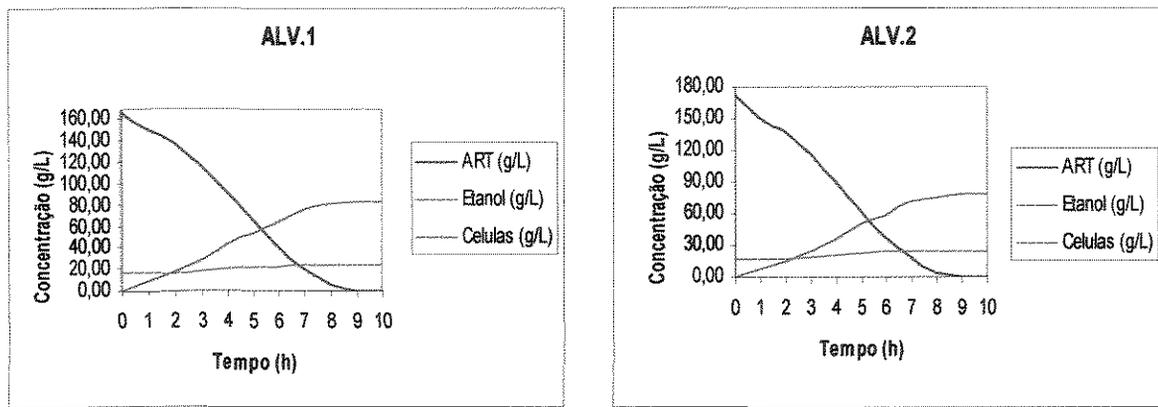


Figura 03 – Perfil fermentativo da Usina Alvorada (Repetições 1 e 2).

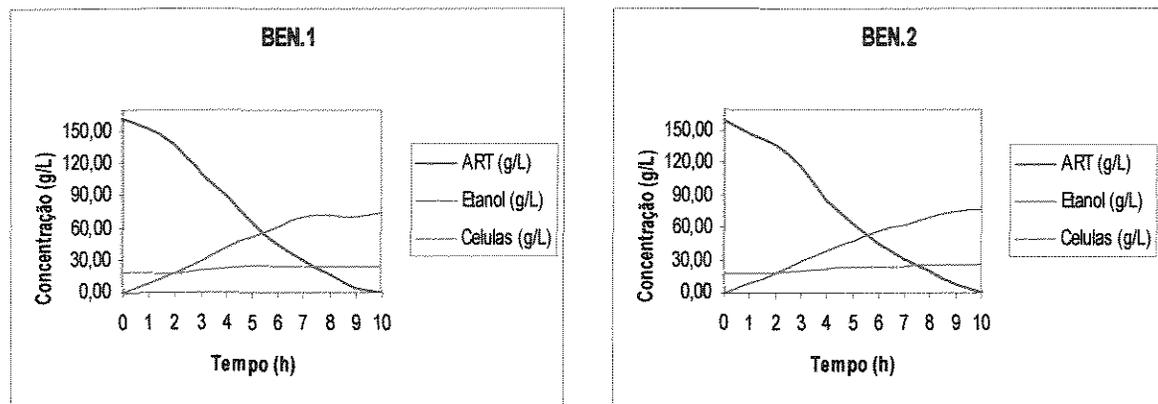


Figura 04 – Perfil fermentativo da Usina Benalcool (Repetições 1 e 2).

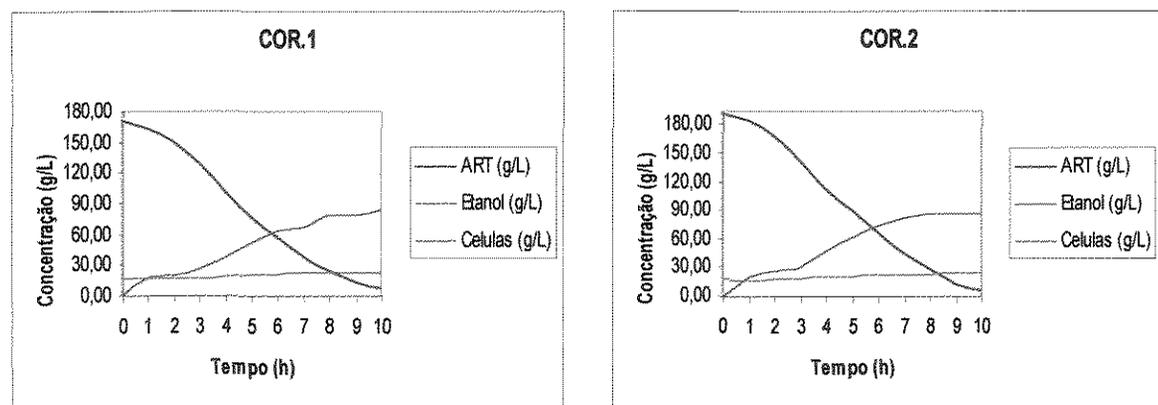


Figura 05 – Perfil fermentativo da Usina Corol (Repetições 1 e 2).

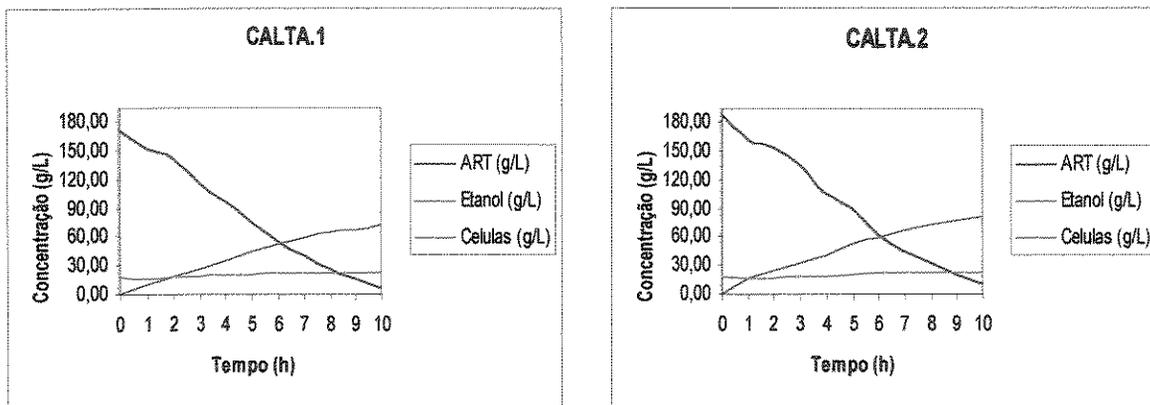


Figura 06 – Perfil fermentativo da Usina Cruz Alta (Repetições 1 e 2).

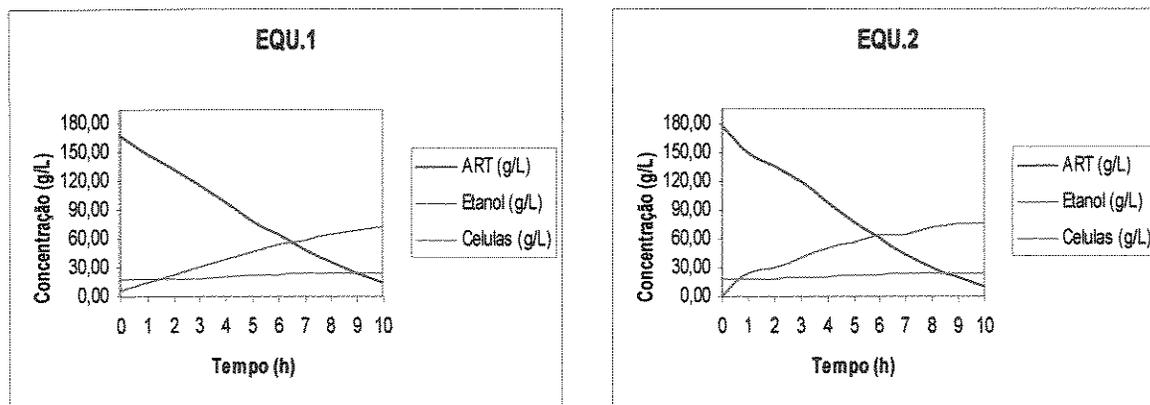


Figura 07 – Perfil fermentativo da Usina Equipav (Repetições 1 e 2).

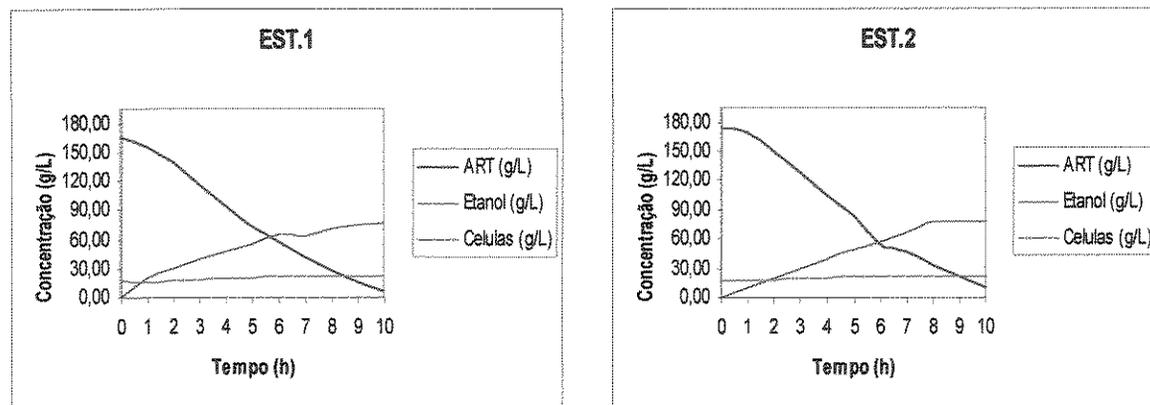


Figura 08 – Perfil fermentativo da Usina Ester (Repetições 1 e 2).

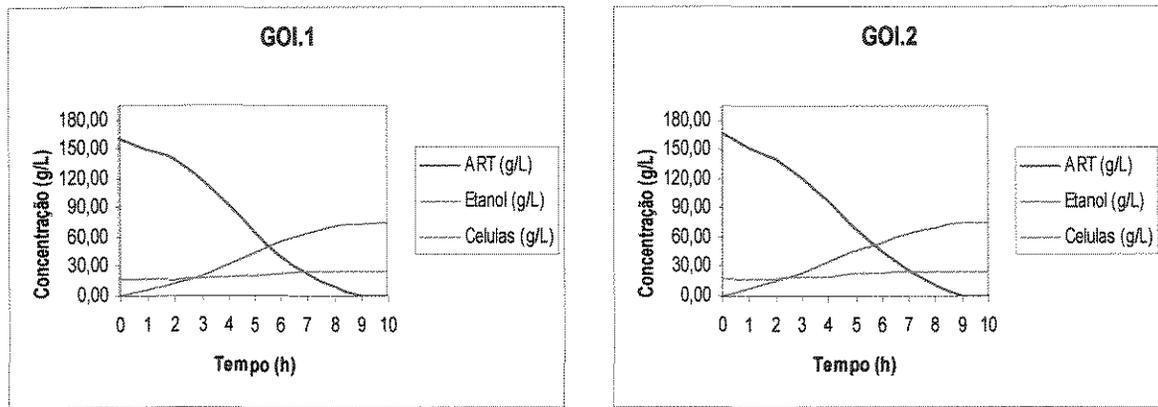


Figura 09 – Perfil fermentativo da Usina Goiás (Repetições 1 e 2).

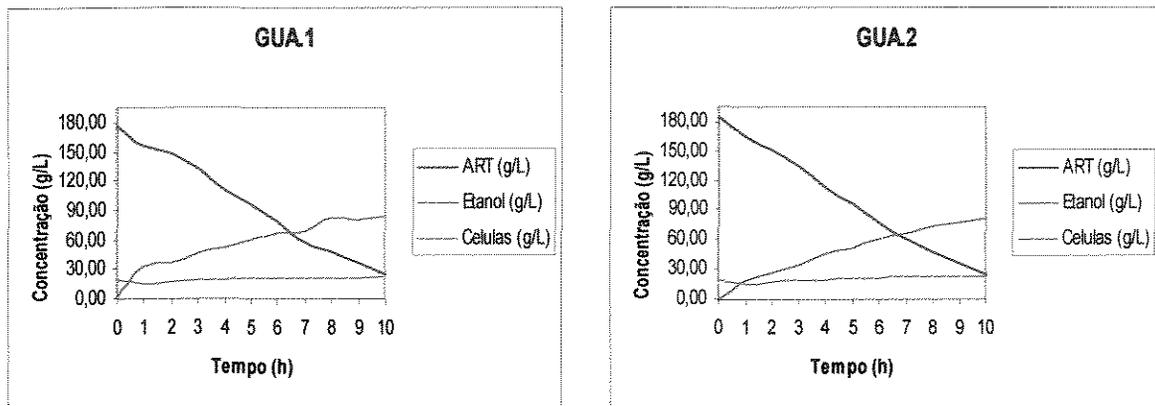


Figura 10 – Perfil fermentativo da Usina Guarani (Repetições 1 e 2).

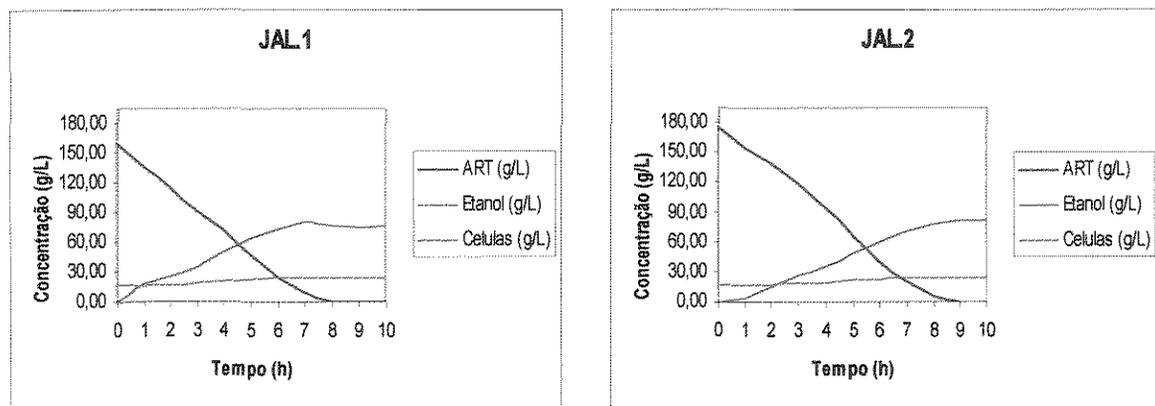


Figura 11 – Perfil fermentativo da Usina Jalles Machado (Repetições 1 e 2).

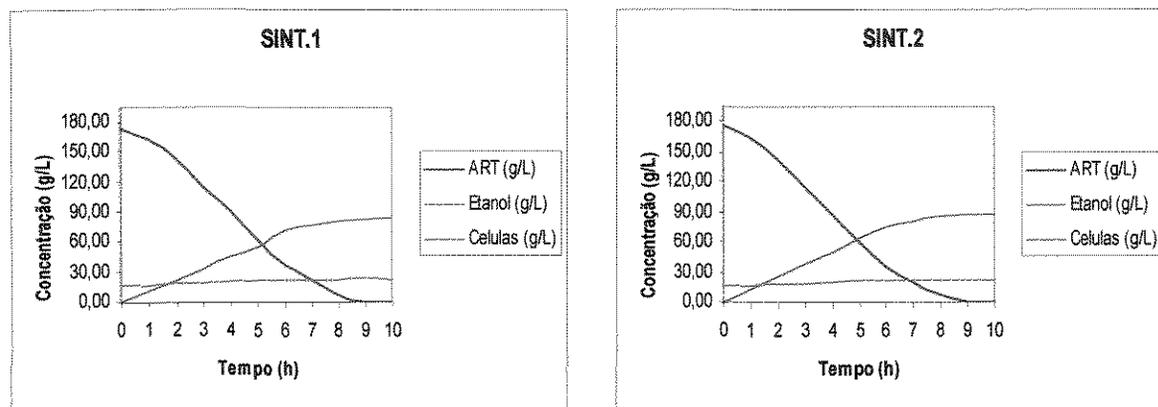


Figura 12 – Perfil fermentativo do Meio Sintético (Repetições 1 e 2).

As concentrações (sacarose, glicose, frutose, etanol, glicerol e células) obtidas para cada ensaio fermentativo estão contidas no Anexo A.

### 4.3. Produtividade e Rendimentos

A Tabela 05 mostra os dados dos rendimentos e produtividade, obtidos para cada matéria prima estudada.

Tabela 05 – Dados calculados dos rendimentos e Produtividade dos ensaios realizados

	Produtividade (g/L.h)	$Y_{X/S}$ (g/kg)	$Y_{P/S}$ (g/kg)	$Y_{P/X}$ (g/kg)
Alvorada	9,46 ± 0,345	0,040 ± 0,0023	0,497 ± 0,0030	12,6 ± 1,00
Benalcool	7,11 ± 0,075	0,032 ± 0,0034	0,447 ± 0,0010	13,5 ± 1,36
Cruz Alta	6,99 ± 0,260	0,023 ± 0,0010	0,431 ± 0,0045	18,8 ± 0,69
Corol	7,73 ± 0,334	0,027 ± 0,0003	0,469 ± 0,0028	17,7 ± 0,29
Equipav	6,85 ± 0,125	0,029 ± 0,0018	0,458 ± 0,0035	15,8 ± 1,10
Ester	7,24 ± 0,048	0,019 ± 0,0016	0,459 ± 0,0030	23,1 ± 0,04
Goiasa	8,61 ± 0,138	0,035 ± 0,0017	0,448 ± 0,0024	12,8 ± 0,59
Guarani	7,05 ± 0,347	0,016 ± 0,0020	0,438 ± 0,0020	28,5 ± 3,79
Jalles	9,88 ± 0,707	0,035 ± 0,0004	0,491 ± 0,0110	14,1 ± 0,45
Sintético	8,54 ± 0,012	0,024 ± 0,0028	0,459 ± 0,0080	19,2 ± 1,90

Onde  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{G/S}$ ,  $Y_{P/X}$  e produtividade foram calculados da seguinte forma:

$Y_{X/S}$  = (células produzidas)/(ART consumido), durante a fermentação

$Y_{P/S}$  = (Etanol produzido)/(ART consumido), durante a fermentação

$Y_{P/X}$  = (Etanol produzido)/(células produzidas), durante a fermentação

Produtividade = (Etanol produzido)/(Tempo de Fermentação)

Pelos dados contidos na Tabela 05 observa-se que os resultados normalmente obtidos para os processos industriais são semelhantes aos obtidos para o meio Sintético. Ao se comparar estes valores com os demais, observa-se que a produtividade e os rendimentos dos méis provenientes das Usinas Alvorada e Jalles Machado são maiores que o mesmo, já os méis provenientes das Usinas Cruz Alta, Benalcool, Corol, Equipav, Ester e Guarani mostraram valores de produtividade inferiores àqueles obtidos em meio Sintético. Apesar do mel da Jalles Machado possuir uma pureza baixa (54,85%), o mesmo obteve um desempenho bastante similar ao da Usina Alvorada que possui uma pureza mais elevada entre os méis testados (65,16%). Méis com maiores purezas como os das usinas Equipav e Ester, obtiveram desempenho bem abaixo daquele obtido pela Jalles Machado. Desta forma podemos afirmar que o nível de esgotamento dos méis não pode ser utilizado como ferramenta única para definir a qualidade fermentativa do mesmo. Outros fatores no mel podem interferir de forma decisiva na qualidade fermentativa do mel. Sabe-se que estão presentes nas canas infestadas por brocas, uma grande quantidade de compostos fenólicos produzidos pela planta como forma de proteção contra a invasão de microrganismos. Estes compostos são carregados pelo caldo e acabam se acumulando nos méis que posteriormente são utilizados como matéria-prima da fermentação. A presença destes compostos pode explicar em parte esta não correlação do nível de esgotamento do mel com a sua qualidade fermentativa.

Na Tabela 06 estão as conversões de ART, glicose e frutose para os ensaios fermentativos.

**Tabela 06** – Conversões de ART, Glicose e Frutose dos ensaios realizados

	Conversão (%)		
	ART	Glicose	Frutose
<b>Alvorada</b>	100,00	100,00	100,00
<b>Benalcool</b>	100,00	100,00	100,00
<b>Cruz Alta</b>	95,50	100,00	90,90
<b>Corol</b>	96,08	100,00	91,98
<b>Equipav</b>	92,88	100,00	84,93
<b>Ester</b>	95,02	100,00	89,61
<b>Goiasa</b>	100,00	100,00	100,00
<b>Guarani</b>	86,06	99,81	70,98
<b>Jalles</b>	100,00	100,00	100,00
<b>Sintético</b>	100,00	100,00	100,00

Observa-se pela Tabela 06 que só obteve-se 100 % de conversão do ART para o meio Sintético e para os méis provenientes das usinas Alvorada, Benalcool, Goiás e Jalles Machado. O fator que influenciou na conversão de ART foi a conversão da frutose, já que a glicose teve consumo de 100 % para todos os méis, com exceção do Mel oriundo da usina Guarani.

#### **4.4. Comportamento Cinético**

##### **4.4.1. Relação entre velocidade específica de produção de etanol ( $v$ ) e velocidade específica de crescimento celular ( $\mu$ )**

Os dados contidos na Tabela 07 foram obtidos segundo a equação 19. Esta relaciona a velocidade específica de formação de produto com a velocidade específica de crescimento microbiano. Os valores de  $\alpha$  e  $\beta$  foram obtidos para cada matéria prima, utilizando-se os valores de  $v$  e  $\mu$  calculados ponto a ponto. A Tabela 07 ainda mostra os valores de  $Y_{P/X}$  obtido pelo balanço de massa e seu desvio relativo a  $\alpha$ .

Tabela 07 – Relação entre  $\alpha$  e  $Y_{P/X(bal)}$ 

	$\alpha$	$\beta$	$R^2$	$Y_{p/x(bal)}$ (g/kg)	Desvio (%)
<b>Alvorada</b>	9,0	0,0012	0,9179	13,0	30,8
<b>Benalcool</b>	6,7	0,0014	0,8867	15,1	55,6
<b>Cruz Alta</b>	7,3	0,0014	0,8767	18,3	60,1
<b>Corol</b>	9,9	0,0003	0,8383	17,9	44,7
<b>Equipav</b>	4,5	0,0022	0,9835	15,1	70,2
<b>Ester</b>	11,1	-0,0003	0,8702	23,2	52,2
<b>Goiasa</b>	5,2	0,002	0,8016	12,4	58,1
<b>Guarani</b>	6	0,0021	0,6672	25,8	76,7
<b>Jalles</b>	5,8	0,0025	0,8124	13,8	58,0
<b>Sintético</b>	9,0	0,0015	0,9077	20,5	56,1

$$Y_{p/x} = \alpha, \text{ Desvio} = \frac{(y_{p/x(bal)} - \alpha)}{y_{p/x(bal)}} * 100 \quad \text{e} \quad Y_{p/x(bal)} = Y_{p/s} / Y_{x/s}$$

Pelos resultados apresentados pela Tabela 07 observa-se que os valores de  $\alpha$  são muito maiores que os de  $\beta$ , o que indica que a produção de etanol está vinculada ao crescimento microbiano. No entanto, os valores de  $R^2$  obtidos para os ajustes se apresentaram, em alguns casos, abaixo do desejado, indicando que podem existir fases no decorrer do processo fermentativo onde o valor de  $\beta$  possa ser significativo, ou seja, a produção de etanol não esteja diretamente ligada com o crescimento celular. Este fato pode ser melhor observado através das Figuras 13 a 15, que representam o comportamento típico obtido nos ensaios realizados.

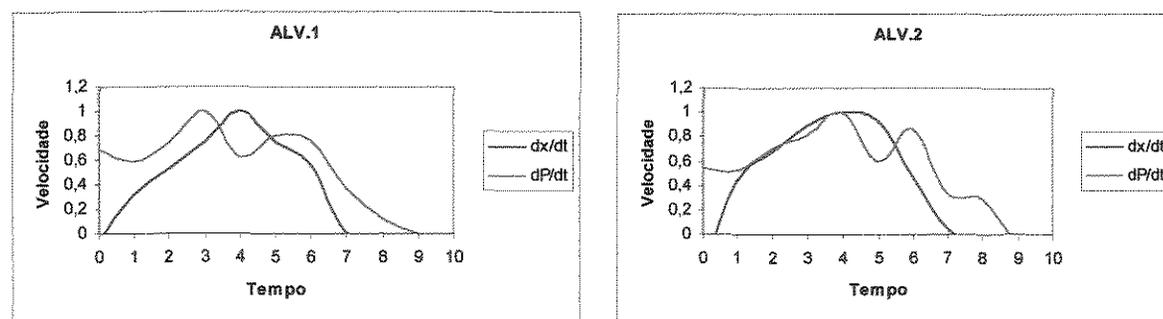
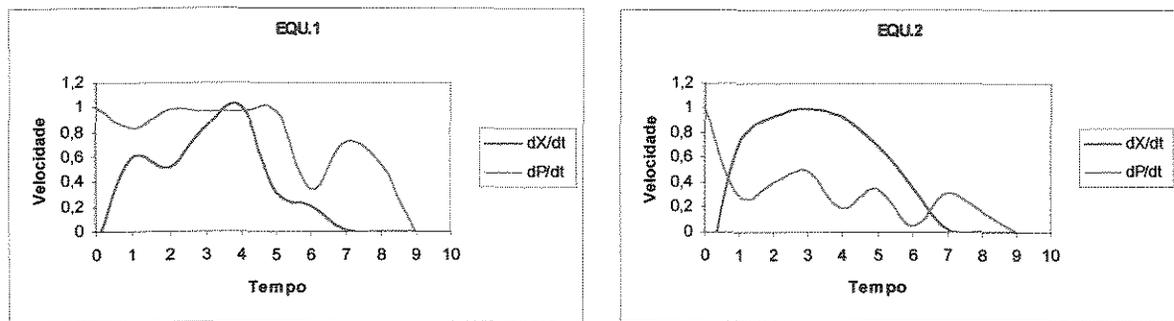
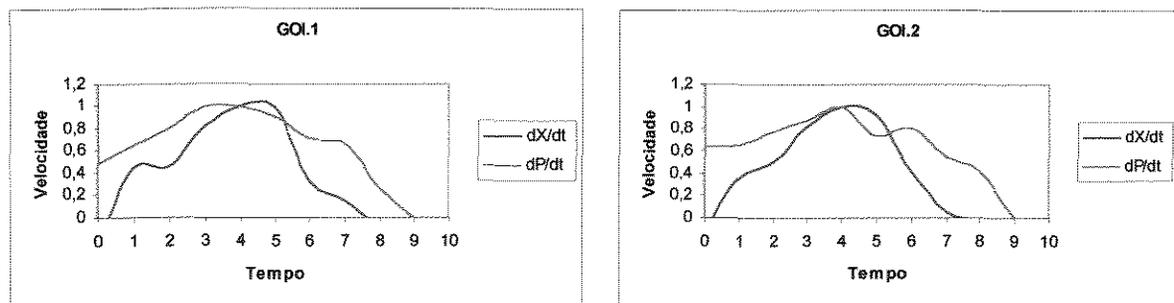


Figura 13 – Comportamento celular e produção de etanol utilizando o mel da Usina Alvorada



**Figura 14** – Comportamento celular e produção de etanol utilizando o mel da Usina Equipav



**Figura 15** – Comportamento celular e produção de etanol utilizando o mel da Usina Goiasa

Em todos os ensaios realizados, observou-se que a velocidade de produção de etanol está vinculada à velocidade de crescimento microbiano até determinada fase da fermentação (aproximadamente de 7 a 9 horas), sendo que após esta fase, observa-se que a velocidade de crescimento microbiano é praticamente nula, enquanto que a concentração de etanol continua aumentando. Desta forma pode-se afirmar que a velocidade específica de produção de etanol não é nula, mostrando que nesta fase, as mesmas não estão mais associadas. Este fato pode explicar a diferença entre os valores de  $\alpha$  e  $Y_{P/X(bal)}$ .

Pelas Figuras 03 a 12, nota-se que a concentração celular permanece constante a partir da sétima hora de fermentação, o que não acontece com a concentração de etanol. Desta forma, fica claro que a vinculação da produção de etanol e o crescimento celular ocorre na fase exponencial de crescimento, ou seja, onde as condições do meio permitem que a máxima velocidade de fermentação seja atingida. Nos casos de processo contínuos de múltiplos estágios, esta vinculação seria válida para os estágios iniciais, ficando os estágios finais desvinculados. Apesar desta verificação, os modelos utilizados neste trabalho continuarão levando em consideração a vinculação da produção de etanol com o crescimento celular em todas as fases da fermentação, visando simplificar os modelos e

conseqüentemente os ajustes dos parâmetros, levando-se em conta que esta desvinculação devem causar desvios pouco significativos.

#### 4.4.2. Ajuste dos Parâmetros Cinéticos considerando uma única fonte de substrato (ART)

No Anexo A estão as tabelas contendo os resultados experimentais obtidos em cada fermentação, as quais foram utilizadas como base para o cálculo dos parâmetros fermentativos. Através dos ajustes dos parâmetros observou-se que para os modelos considerando apenas uma fonte de substrato, os que mais se adequaram aos dados experimentais foram os Modelos: Modelo 1 e JIN (1981). Os modelos segundo LEVENSPIEL (1980), SEVELY (1980) e LEE (1983) não se ajustaram aos dados experimentais, indicando a existência da inibição pelo substrato. Os resultados dos parâmetros calculados para todos os modelos estão no Anexo B.

A Tabela 08 mostra os valores dos parâmetros cinéticos do Modelo 1 para as diferentes matérias primas testadas.

**Tabela 08 – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo 1**

	$K_s$	$K_I$	$P_{máx}$	$n$
<b>Alvorada</b>	21,0 ± 1,41	15,5 ± 2,12	88,0 ± 0,00	0,70 ± 0,000
<b>Benalcool</b>	15,5 ± 0,71	11,0 ± 1,41	76,0 ± 0,00	1,05 ± 0,071
<b>Cruz Alta</b>	17,5 ± 3,54	9,5 ± 2,12	78,5 ± 6,36	1,05 ± 0,071
<b>Corol</b>	20,0 ± 1,41	10,5 ± 0,71	84,5 ± 6,36	0,85 ± 0,071
<b>Equipav</b>	24,5 ± 2,12	11,5 ± 0,71	84,5 ± 0,71	1,10 ± 0,000
<b>Ester</b>	18,0 ± 1,41	6,5 ± 0,71	78,0 ± 2,83	1,00 ± 0,000
<b>Goiasa</b>	14,5 ± 0,71	11,0 ± 0,00	84,0 ± 0,00	0,80 ± 0,000
<b>Guarani</b>	34,5 ± 0,71	5,5 ± 0,71	76,5 ± 0,71	1,00 ± 0,141
<b>Jalles</b>	10,0 ± 1,41	15,5 ± 0,71	89,0 ± 1,41	1,05 ± 0,071
<b>Sintético</b>	21,0 ± 1,41	10,5 ± 0,71	85,5 ± 2,12	0,90 ± 0,000

Observa-se pelos dados contidos na Tabela 08, que os valores obtidos para o parâmetro  $n$  são em sua maioria diferentes de 1 como proposto por GHOSE (1979), indicando assim que a modificação proposta no item 3.3.9 confere ao modelo uma maior flexibilidade permitindo um melhor ajuste dos dados experimentais.

A Tabela 09 apresenta os resultados dos parâmetros cinéticos ajustados para o Modelo de JIN.

**Tabela 09** – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo de JIN

	$K_S$	$K_I$	$K_2$
<b>Alvorada</b>	186,0 ± 1,41	0,0025 ± 0,00071	0,0115 ± 0,00071
<b>Benalcool</b>	341,0 ± 0,71	0,0030 ± 0,00000	0,0115 ± 0,00071
<b>Cruz Alta</b>	390,5 ± 2,12	0,0090 ± 0,00000	0,0110 ± 0,00141
<b>Corol</b>	454,5 ± 0,71	0,0040 ± 0,00000	0,0095 ± 0,00071
<b>Equipav</b>	371,0 ± 1,41	0,0085 ± 0,00071	0,0100 ± 0,00000
<b>Ester</b>	485,5 ± 0,71	0,0070 ± 0,00141	0,0125 ± 0,00071
<b>Goiasa</b>	202,0 ± 1,41	0,0045 ± 0,00071	0,0130 ± 0,00000
<b>Guarani</b>	409,0 ± 0,00	0,0140 ± 0,00000	0,0120 ± 0,00141
<b>Jalles</b>	205,0 ± 1,41	0,0060 ± 0,00141	0,0110 ± 0,00000
<b>Sintético</b>	168,0 ± 1,41	0,0115 ± 0,00071	0,0135 ± 0,00071

Tanto para o modelo 1 (Tabela 08), como para o modelo de JIN (Tabela 09), ambos utilizando um único substrato, observa-se valores de  $K_S$  elevados, superiores aos valores encontrados na literatura. Para o modelo Laboratório, fica ainda mais evidente esta incoerência, quando se compara o valor de  $K_S$  com o valor de  $K_I$ . Teoricamente, o valor de  $K_S$  deve corresponder à concentração de substrato para que a velocidade específica de crescimento seja igual à metade do valor máximo de crescimento celular e,  $K_I$  deve corresponder à concentração de substrato onde se inicia a inibição pelo mesmo. Neste caso,  $K_I$  jamais poderia ser menor que  $K_S$ . No entanto, este fato ocorreu para o Modelo Laboratório para todos os ensaios fermentativos onde foi considerado o ART como única fonte de substrato. As Figuras 16 a 25 mostram os melhores ajustes obtidos para cada matéria prima testada. Observa-se por estas figuras que apesar desta incoerência, os perfis de consumo de substrato, produção de etanol e células apresentaram ajustes bastante satisfatórios aos dados experimentais.

Pode-se perceber pelos dados apresentados nas Figuras 16 a 25, que os modelos 1 e o proposto por JIN apresentaram melhor ajuste aos dados experimentais, sendo que para o modelo 1, os méis que mais se adequaram foram os provenientes das usinas Benalcool,

Corol, Equipav, Goiasa e Jalles Machado e para o modelo de JIN foram os méis provenientes das usinas Alvorada, Cruz Alta, Ester e Guarani e o meio sintético. Alguns desvios no que se refere a concentração de etanol podem ser devido à desvinculação da produção deste do crescimento celular que não foi levado em consideração no modelo utilizado.

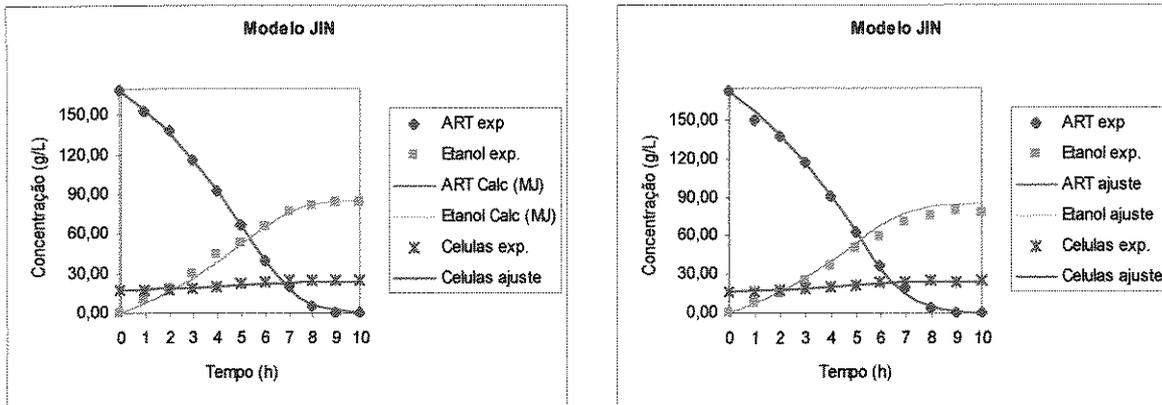


Figura 16 – Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Alvorada (Repetições 1 e 2)

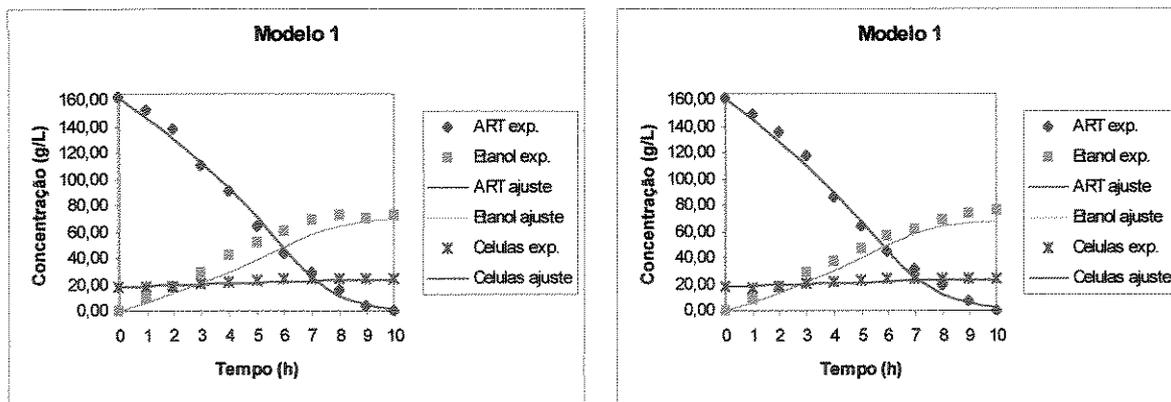


Figura 17 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Benalcool (Repetições 1 e 2)

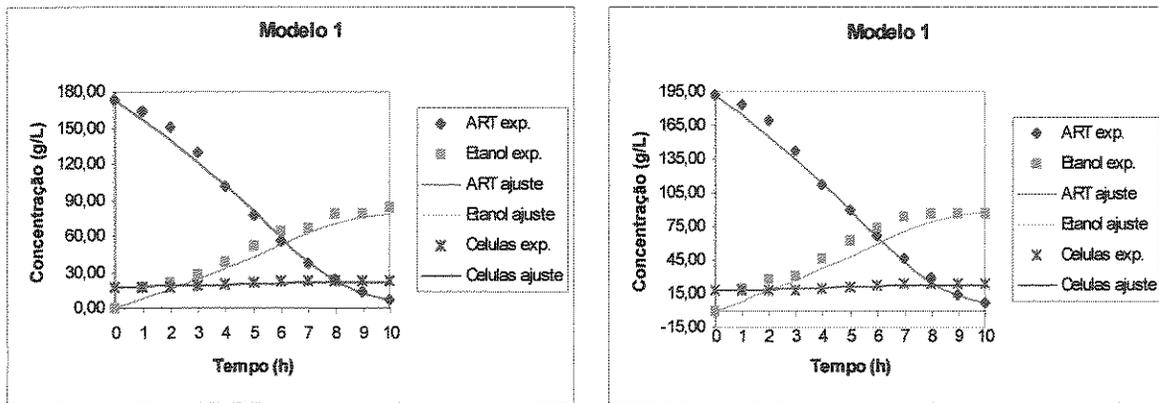


Figura 18 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Corol (Repetições 1 e 2)

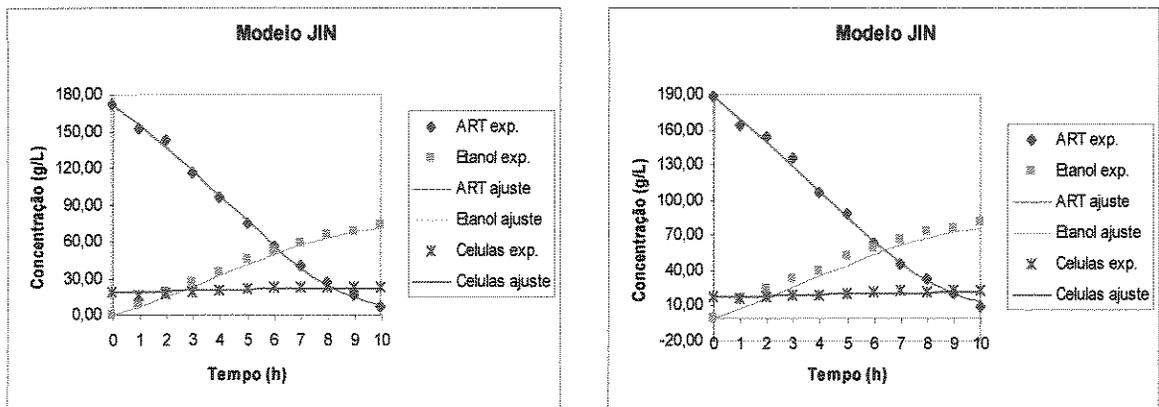


Figura 19 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Cruz Alta (Repetições 1 e 2)

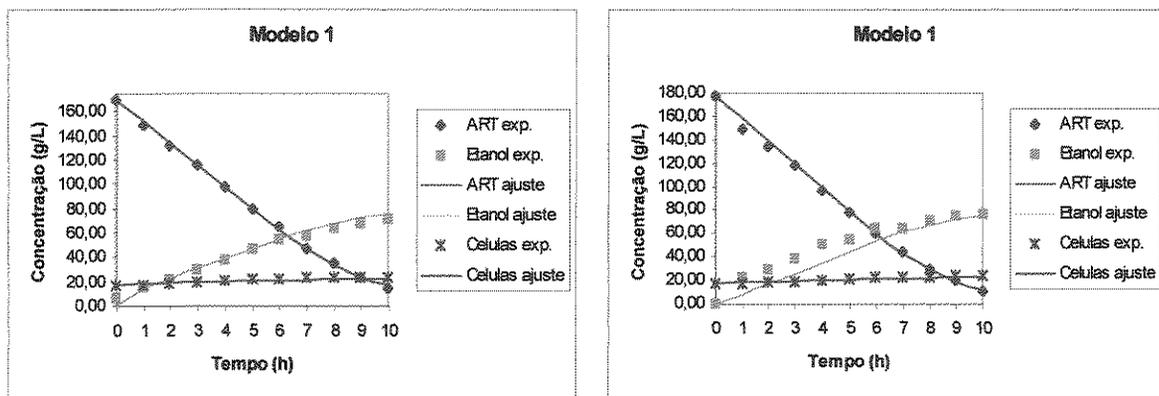
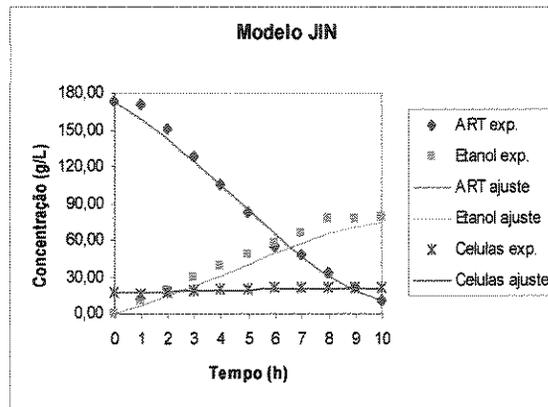
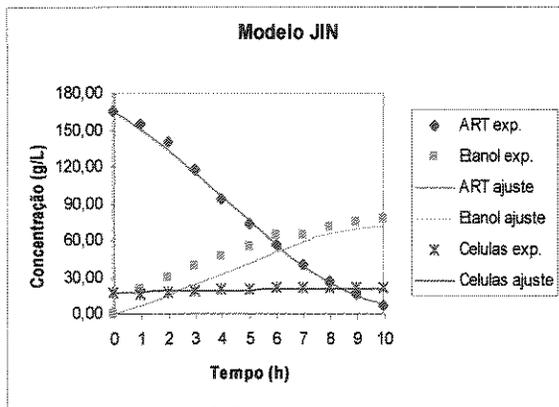
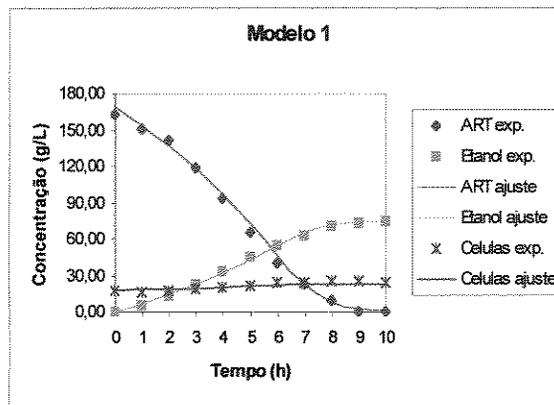
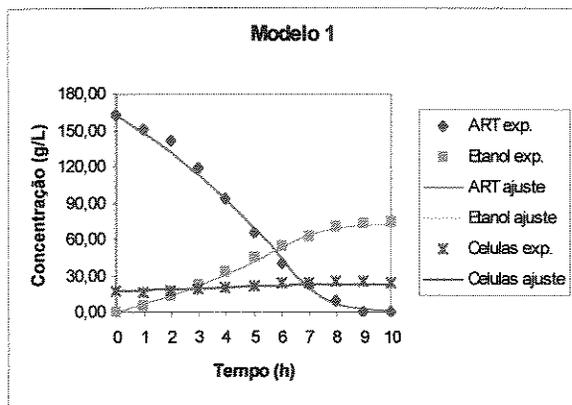


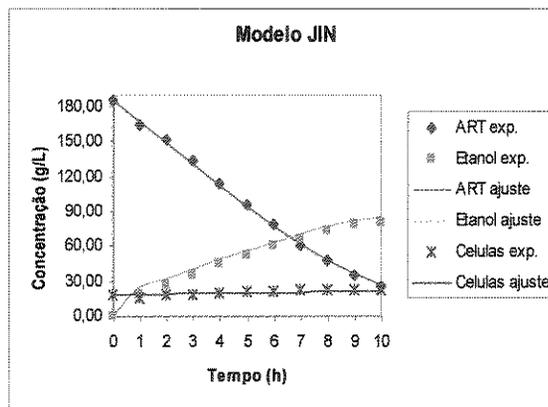
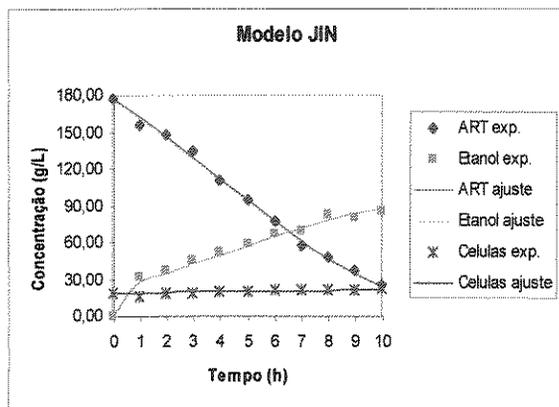
Figura 20 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Equipav (Repetições 1 e 2)



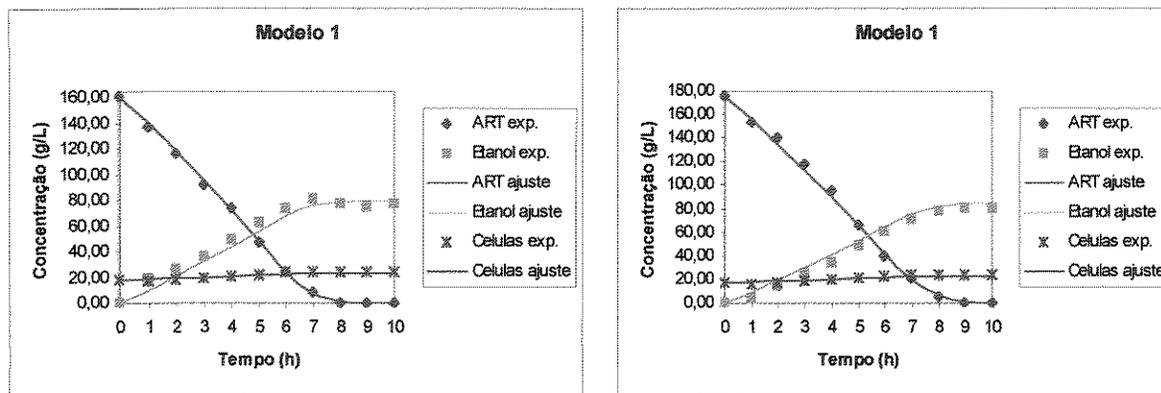
**Figura 21** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Ester (Repetições 1 e 2)



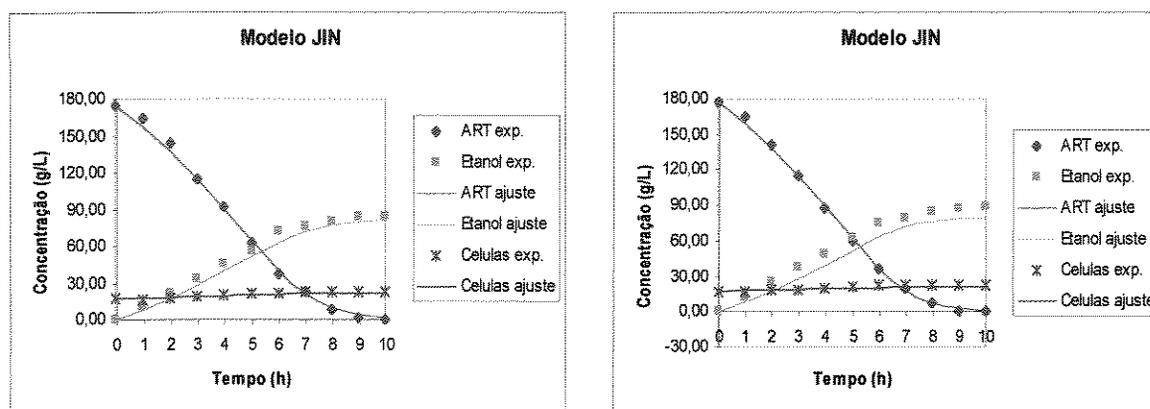
**Figura 22** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Goiasa (Repetições 1 e 2)



**Figura 23** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Guarani (Repetições 1 e 2)



**Figura 24** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Jalles Machado (Repetições 1 e 2)

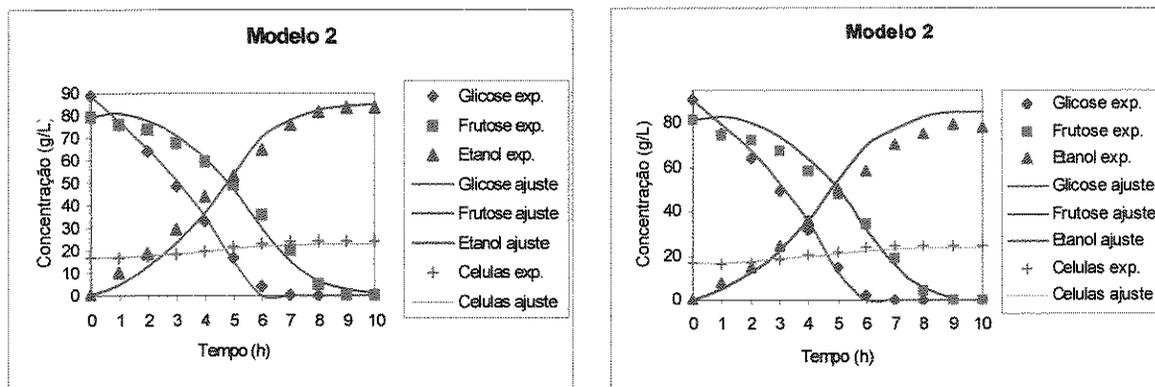


**Figura 25** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o Meio Sintético (Repetições 1 e 2)

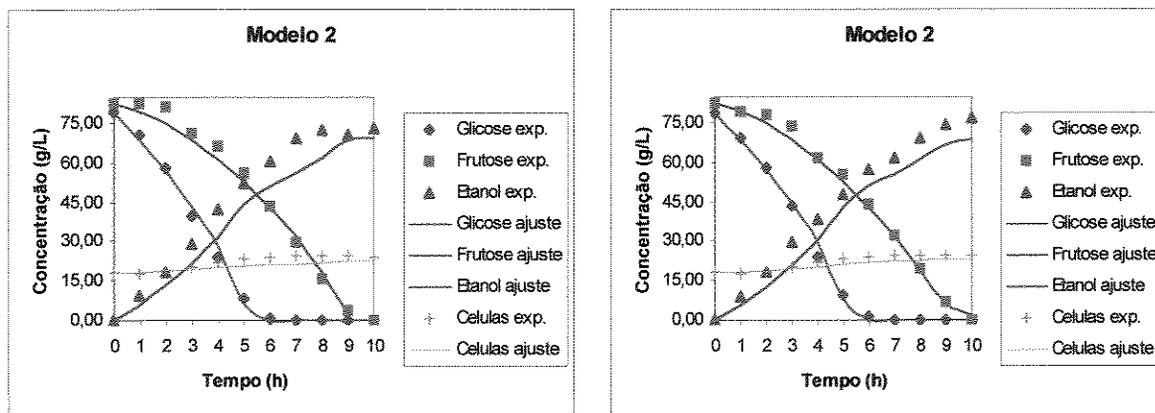
#### 4.4.3. Ajuste dos Parâmetros Cinéticos considerando duas fontes de substrato (Glicose e Frutose)

As incoerências observadas para os modelos onde o ART foi considerado como único substrato, mostrou a necessidade de se trabalhar com modelos diferentes para descrever o processo fermentativo que utiliza como substrato a sacarose, devido a hidrólise deste fornecer glicose e frutose como produto. Pelas Figuras 26 a 35, pode-se observar uma diferença bastante acentuada no perfil de consumo da glicose e frutose, mostrando a necessidade de se utilizar modelos diferenciados para cada um destes substratos. Nos ensaios realizados observou-se que a sacarose foi totalmente hidrolisada alguns minutos após o início da fermentação, devido a grande ação hidrolítica do microrganismo utilizado. Desta forma foi possível trabalhar somente sobre os perfis de consumo de glicose e frutose.

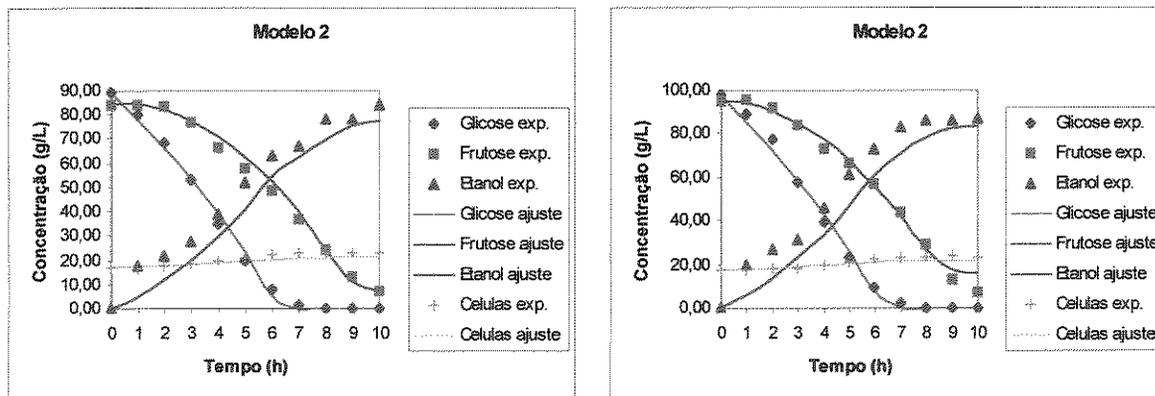
Pelas Figuras 26 a 35, observa-se que o consumo de frutose é mais lento que o da glicose, indicando um efeito de diauxia devido à concentração de glicose no meio. Estas mesmas figuras mostram os ajustes do Modelo 2 aos dados experimentais.



**Figura 26** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Alvorada (Repetições 1 e 2)



**Figura 27** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Benalcool (Repetições 1 e 2)



**Figura 28** - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Corol (Repetições 1 e 2)

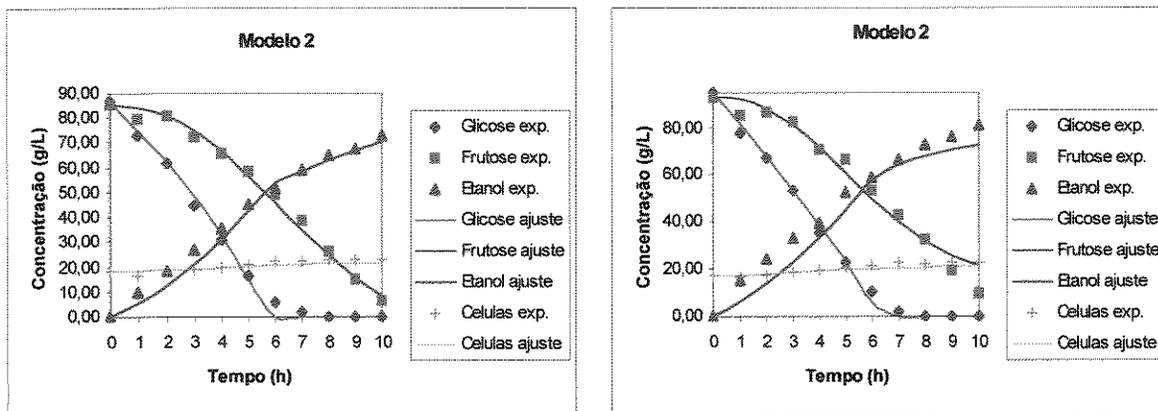


Figura 29 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Cruz Alta (Repetições 1 e 2)

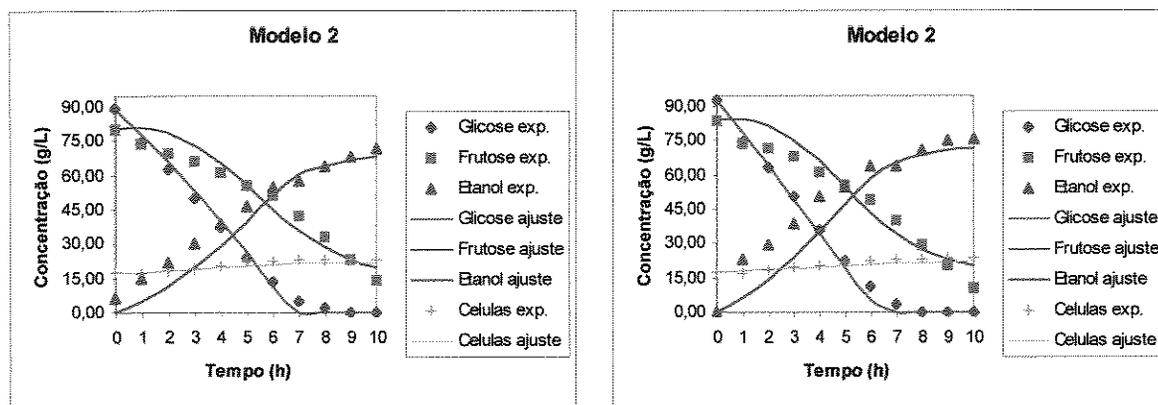


Figura 30 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Equipav (Repetições 1 e 2)

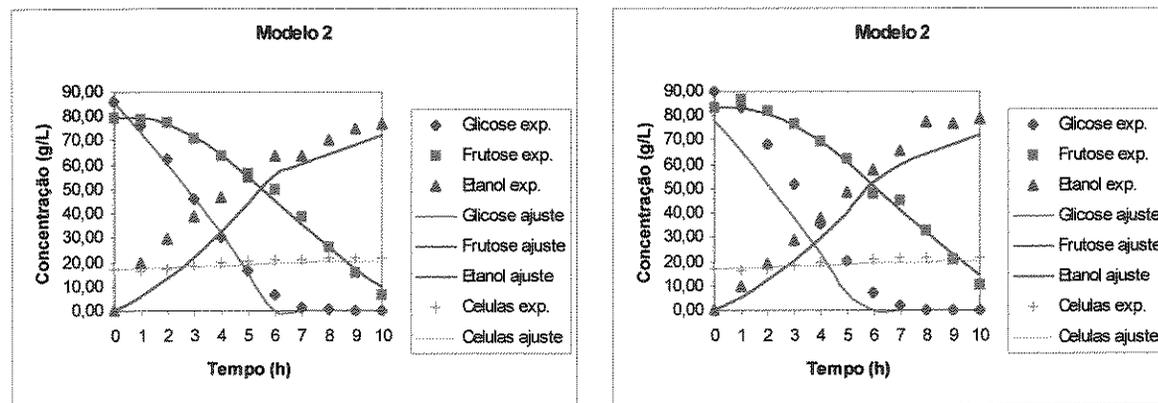


Figura 31 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Ester (Repetições 1 e 2)

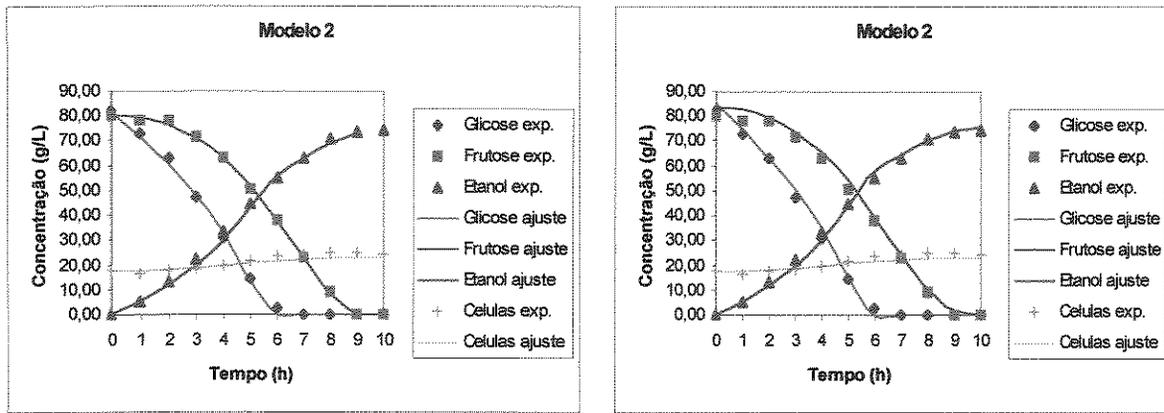


Figura 32 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Goiás (Repetições 1 e 2)

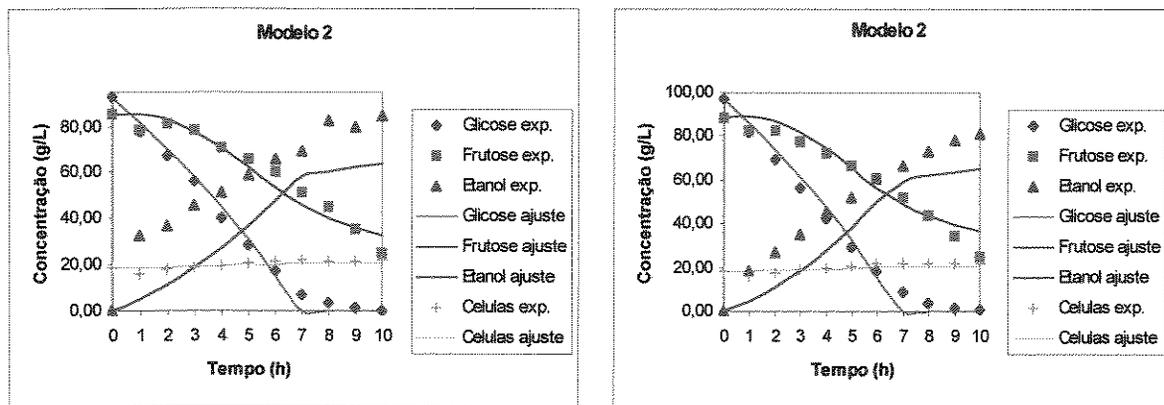


Figura 33 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Guarani (Repetições 1 e 2)

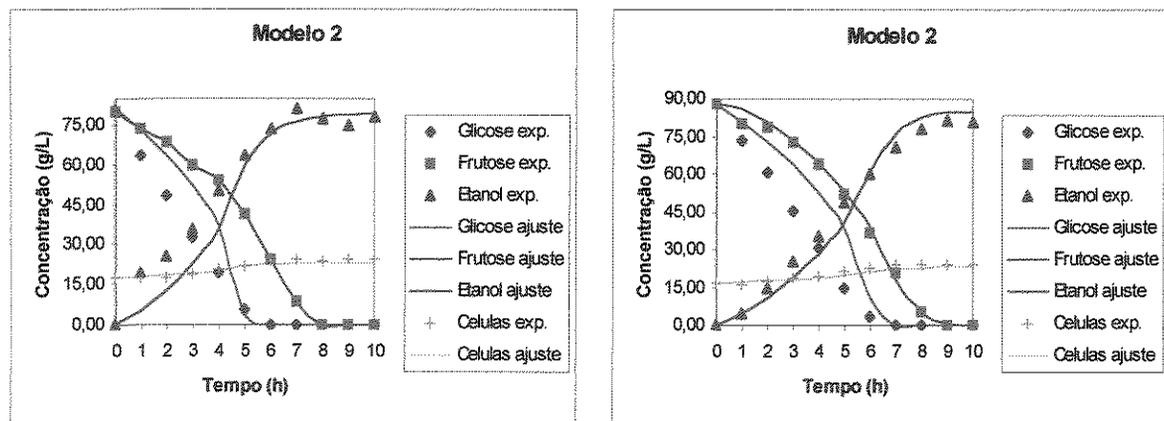


Figura 34 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Jalles Machado (Repetições 1 e 2)

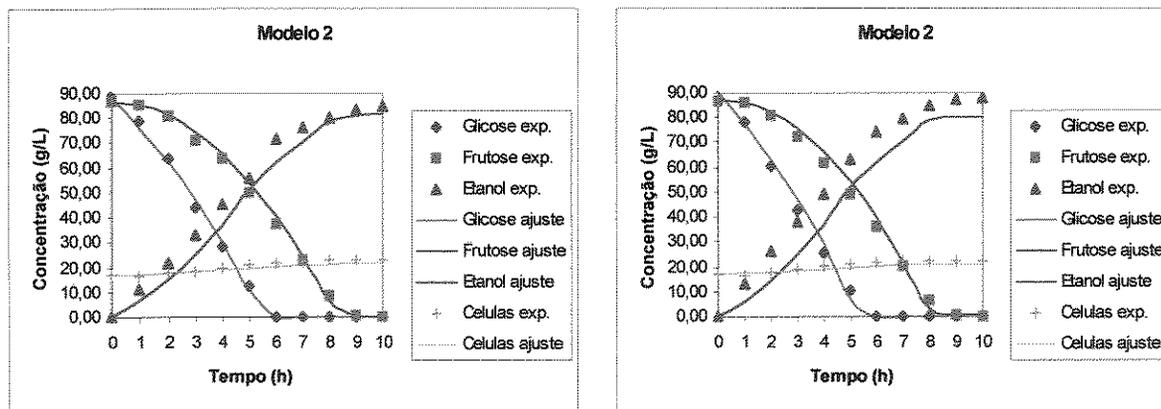


Figura 35 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o Meio Sintético (Repetições 1 e 2)

Observa-se pelas Figuras 26 a 35 que os ajustes aos dados experimentais para todos as matérias primas testadas mostraram um ótimo ajuste ao Modelo 2, indicando que o mesmo pode ser utilizado para descrever processos fermentativos que utilizam sacarose como substrato e cepas de levedura com alta capacidade hidrolítica (alta concentração de invertase). O termo desenvolvido para descrever o efeito de diauxia devido à glicose mostrou-se bastante satisfatório, permitindo um bom ajuste da curva de consumo de frutose.

Pequenos desvios observados em relação à concentração de etanol podem estar ligados ao fato dos modelos utilizados não levarem em consideração a desvinculação da produção do mesmo com o crescimento celular na fase final da fermentação.

A Tabela 10 mostra os valores dos parâmetros cinéticos obtidos utilizando o Modelo 2, considerando duas fontes de substrato (Glicose e frutose).

**Tabela 10** – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo 2

	nF	nG	K <sub>S</sub> F	K <sub>S</sub> G	K <sub>I</sub> F	K <sub>I</sub> G	P <sub>máx</sub> F	P <sub>máx</sub> G
<b>Alvorada</b>	1,10 ± 0,000	0,65 ± 0,071	1,00 ± 0,707	0,50 ± 0,000	20,5 ± 0,71	4,75 ± 0,354	86,5 ± 0,71	74,0 ± 0,00
<b>Benalcool</b>	0,95 ± 0,071	0,70 ± 0,000	4,00 ± 0,000	0,50 ± 0,000	15,5 ± 0,71	2,75 ± 0,354	70,5 ± 0,71	70,0 ± 1,41
<b>Cruz Alta</b>	1,05 ± 0,071	1,05 ± 0,071	2,75 ± 1,061	0,50 ± 0,000	6,0 ± 1,41	3,0 ± 0,707	74,5 ± 0,71	63,0 ± 0,00
<b>Corol</b>	0,85 ± 0,071	0,80 ± 0,000	0,50 ± 0,000	0,50 ± 0,000	12,5 ± 0,71	3,25 ± 0,354	80,5 ± 3,54	74,0 ± 5,66
<b>Equipav</b>	1,05 ± 0,071	1,10 ± 0,000	3,25 ± 0,354	0,50 ± 0,000	9,0 ± 0,00	3,75 ± 0,354	72,0 ± 1,41	64,0 ± 1,41
<b>Ester</b>	1,10 ± 0,000	1,05 ± 0,071	0,50 ± 0,000	0,50 ± 0,000	4,0 ± 0,00	2,50 ± 0,000	78,5 ± 2,12	58,5 ± 2,12
<b>Goiasa</b>	0,90 ± 0,000	0,90 ± 0,000	1,25 ± 1,061	0,50 ± 0,000	8,0 ± 0,00	3,50 ± 0,00	75,0 ± 1,41	72,5 ± 0,71
<b>Guarani</b>	1,05 ± 0,071	0,85 ± 0,071	2,50 ± 1,414	0,50 ± 0,000	4,5 ± 0,71	1,75 ± 0,354	67,0 ± 0,00	61,0 ± 1,41
<b>Jalles</b>	1,10 ± 0,000	0,00 ± 0,000	3,00 ± 3,536	0,50 ± 0,000	32,5 ± 3,54	2,50 ± 0,00	83,0 ± 4,24	82,5 ± 17,68
<b>Sintético</b>	0,85 ± 0,071	0,95 ± 0,071	3,25 ± 0,354	0,50 ± 0,000	12,5 ± 0,71	3,25 ± 0,354	81,0 ± 1,41	79,0 ± 1,41

Pelos dados contidos na Tabela 10, observa-se que as incoerências observadas quando da utilização do ART como único substrato desapareceram quando se trabalha com modelos separados para o consumo de glicose e frutose. Este fato vem confirmar que os processos fermentativos que utilizam como fonte de carbono a sacarose, devem ser encarados como processos contendo dois substratos distintos, glicose e frutose, e ainda devem levar em consideração a preferência do microrganismo em consumir a glicose (diauxia).

## 4.5. Glicerol

### 4.5.1. Perfil Fermentativo

Pelas Figuras 36 a 45 pode-se observar o perfil da produção de glicerol para cada matéria prima utilizada neste trabalho.

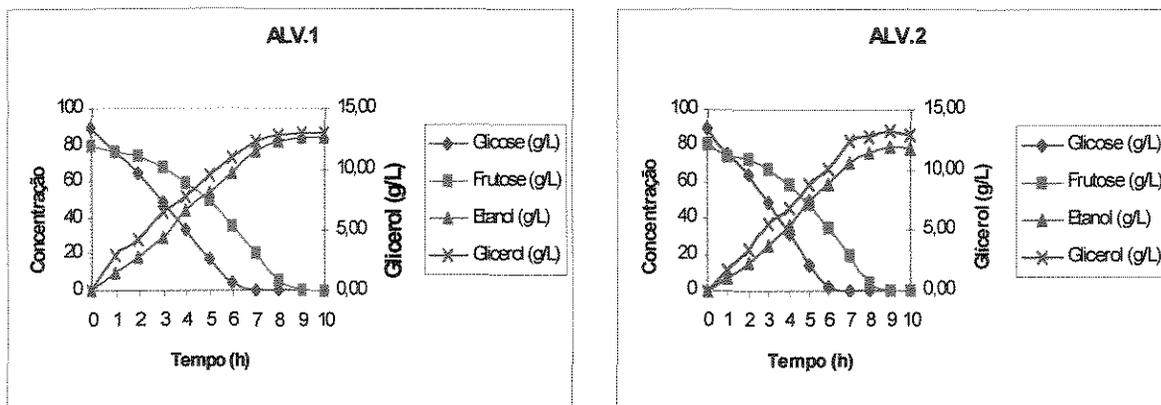


Figura 36 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Alvorada (Repetições 1 e 2).

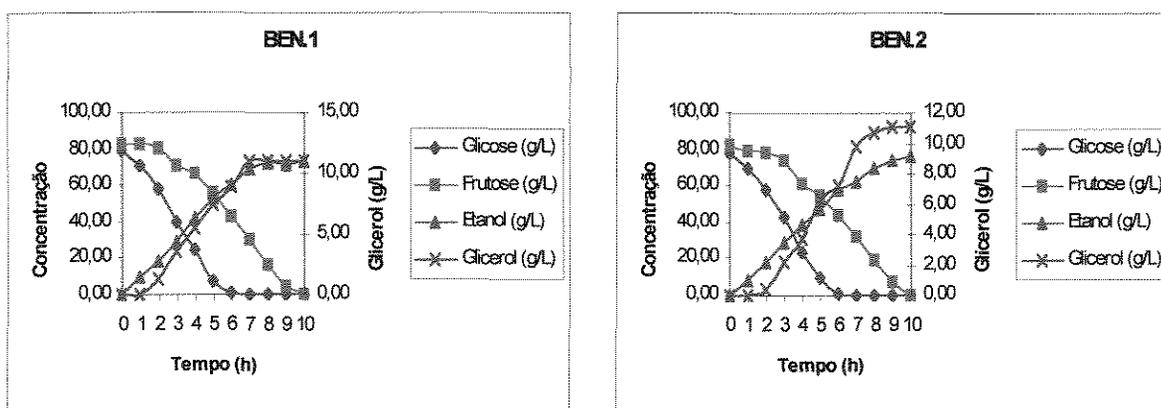


Figura 37 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Benalcool (Repetições 1 e 2).

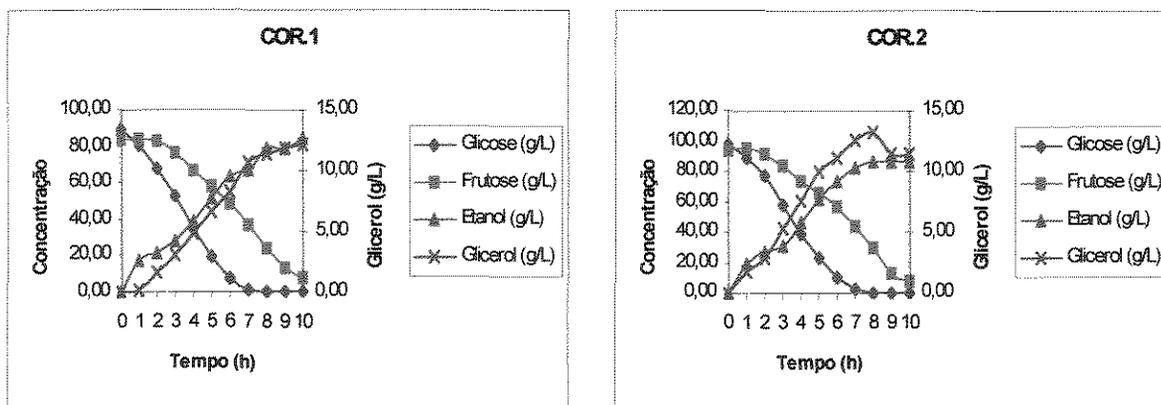


Figura 38 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Corol (Repetições 1 e 2).

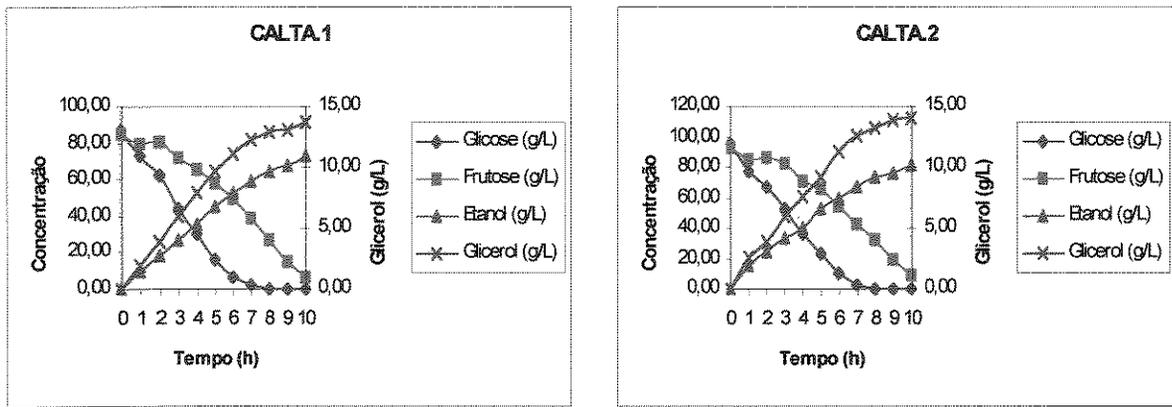


Figura 39 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Cruz Alta (Repetições 1 e 2).

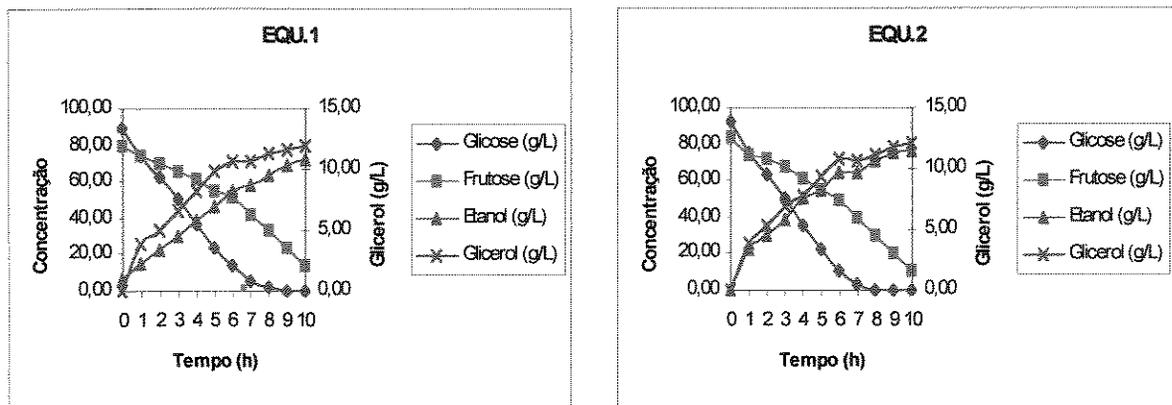


Figura 40 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Equipav (Repetições 1 e 2).

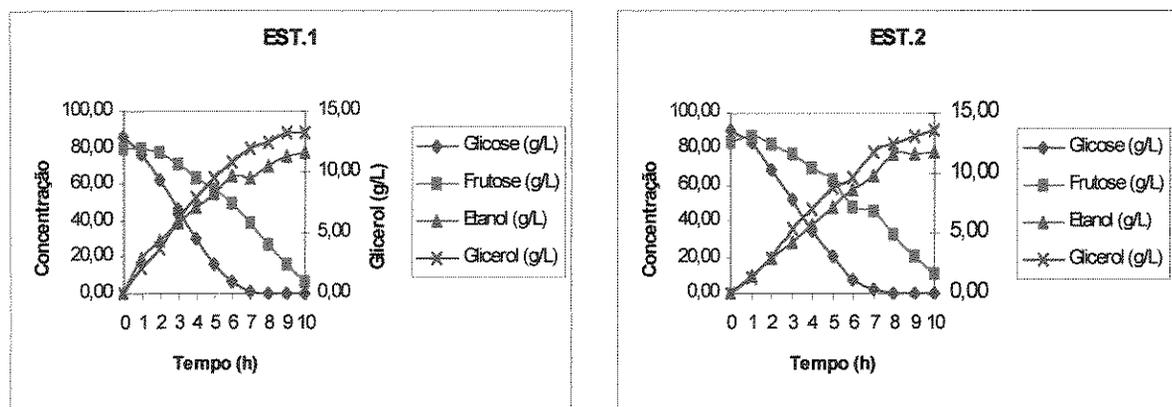


Figura 41 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Ester (Repetições 1 e 2).

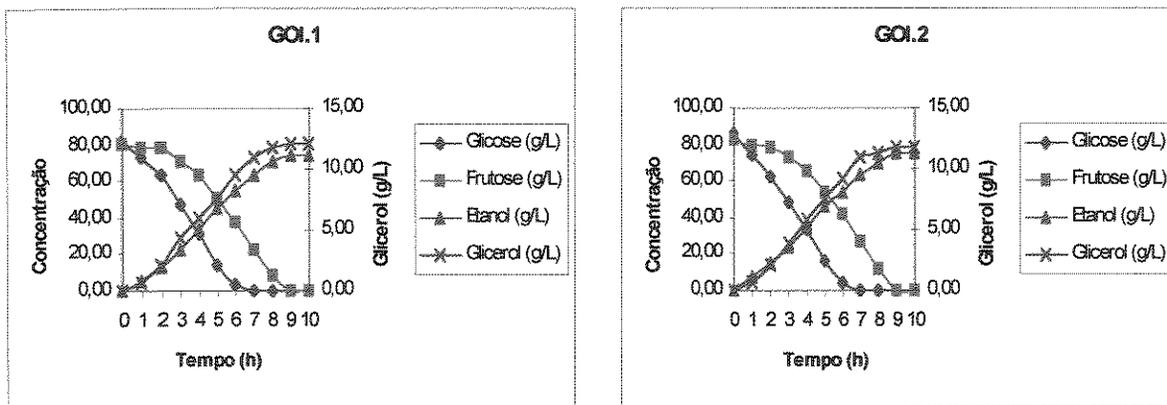


Figura 42 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Goiás (Repetições 1 e 2).

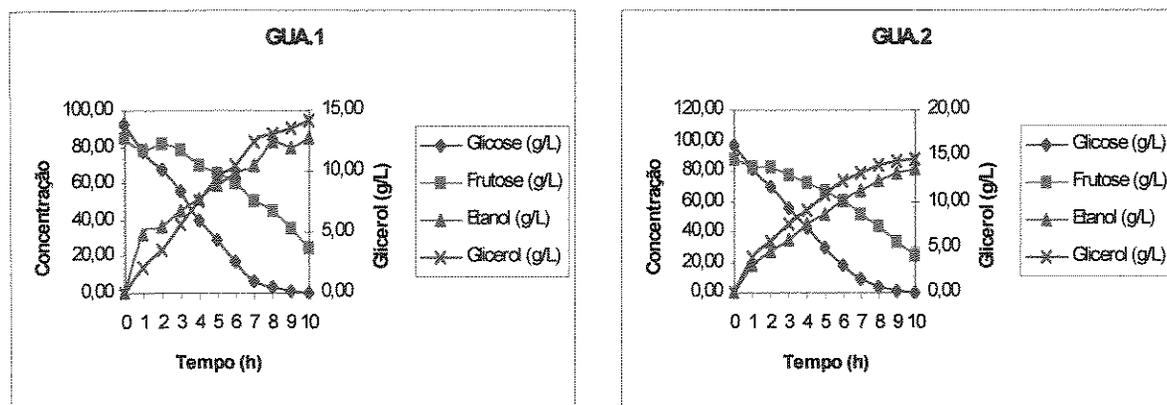


Figura 43 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Guarani (Repetições 1 e 2).

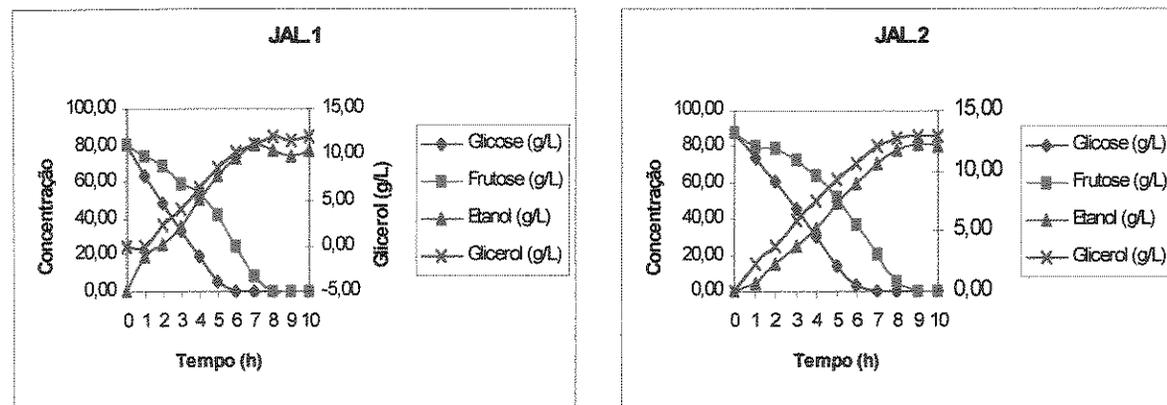


Figura 44 – Perfil fermentativo utilizando mel da Usina Jalles Machado (Repetições 1 e 2)

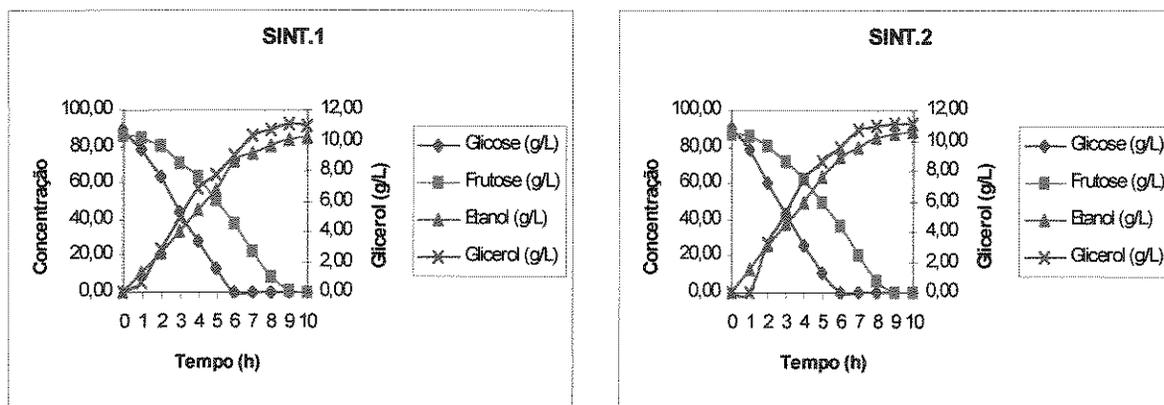


Figura 45 – Perfil fermentativo utilizando Meio Sintético (Repetições 1 e 2).

Analisando o perfil da produção de glicerol e comparando com o perfil da produção de etanol através das Figuras 36 a 45, pode ser observado que ambos tem o mesmo comportamento. Da mesma forma que para o etanol, observa-se uma desvinculação da produção de glicerol do crescimento celular, pois a concentração celular permanece constante a partir da sétima hora de fermentação o que não acontece com a concentração de glicerol (Figuras 36 a 45). Neste trabalho, não será levado em consideração esta desvinculação, visando facilitar o ajuste dos modelos para a produção de glicerol.

#### 4.5.2. Ajuste

Como os perfis de produção de glicerol e etanol são semelhantes, utilizou-se para o ajuste de glicerol, o mesmo modelo de ajuste que foi utilizado para o etanol, sendo que ao invés de utilizar  $Y_{P/S}$ , utiliza-se  $Y_{G/S}$ . O modelo escolhido foi o Modelo 2. Estes ajustes podem ser observados nas Figuras 46 a 55.

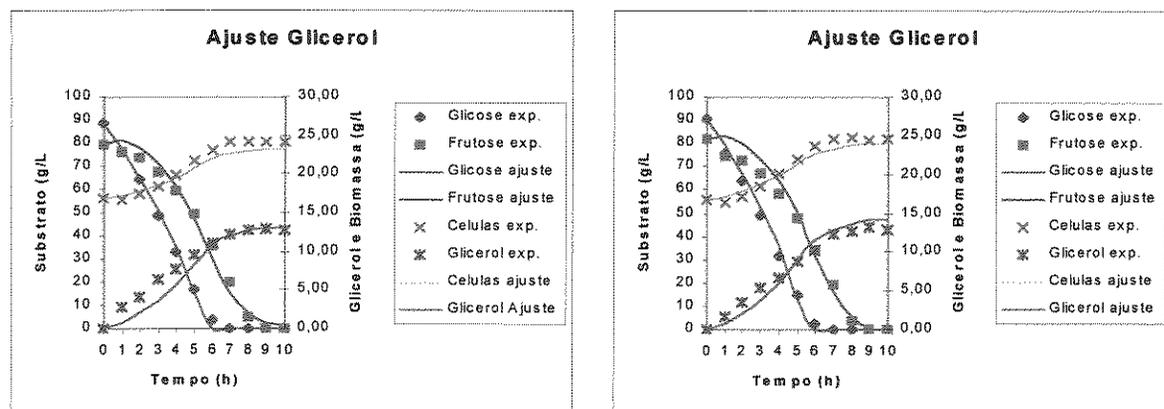


Figura 46 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Alvorada (Repetições 1 e 2)

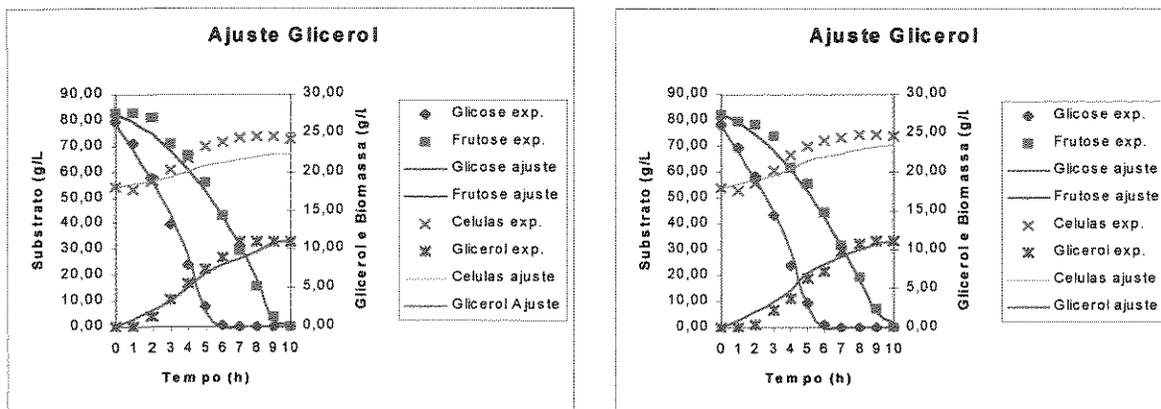


Figura 47 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Benalcool (Repetições 1 e 2)

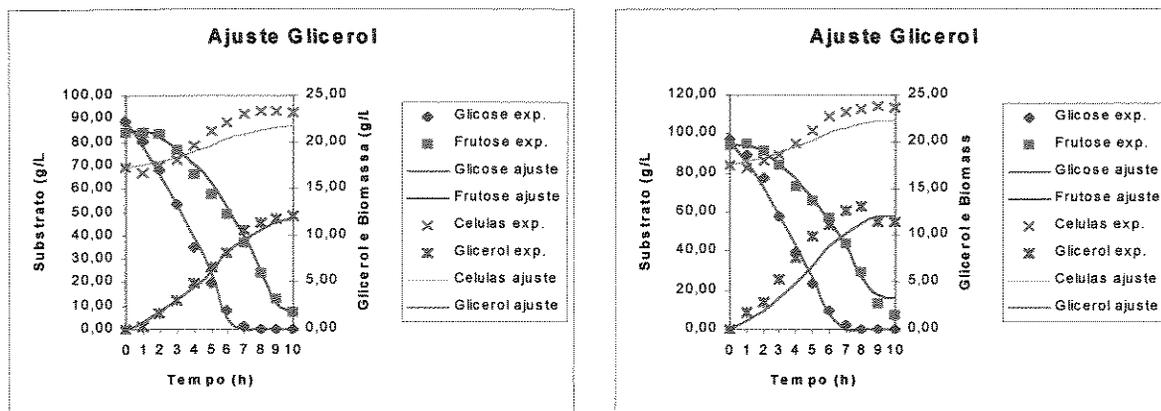


Figura 48 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Corol (Repetições 1 e 2)

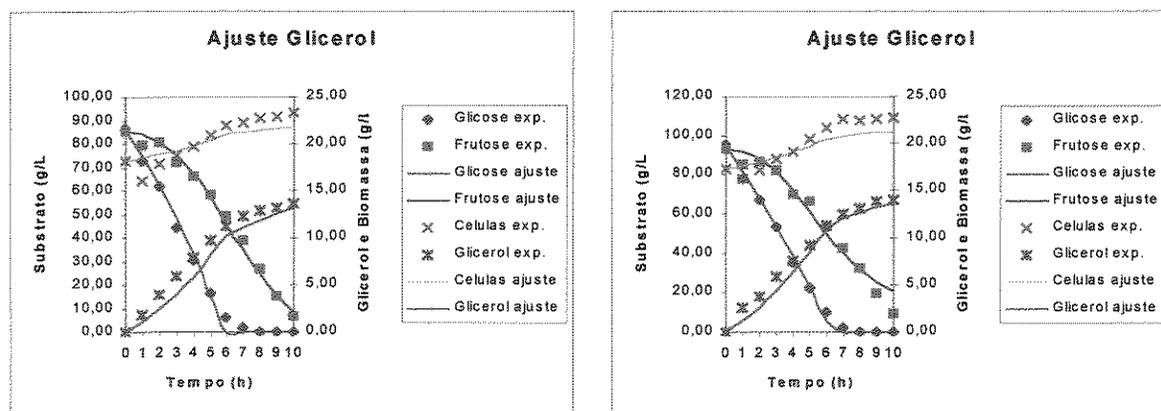


Figura 49 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Cruz Alta (Repetições 1 e 2)

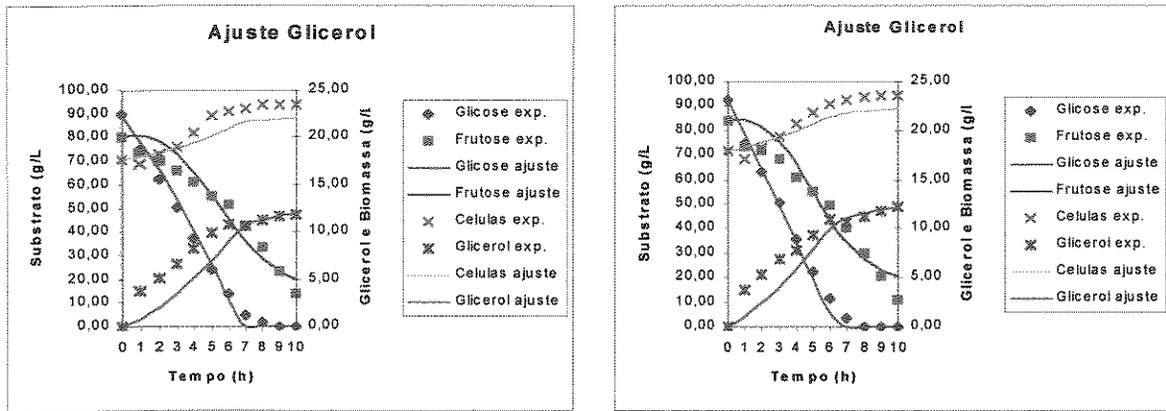


Figura 50 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Equipav (Repetições 1 e 2)

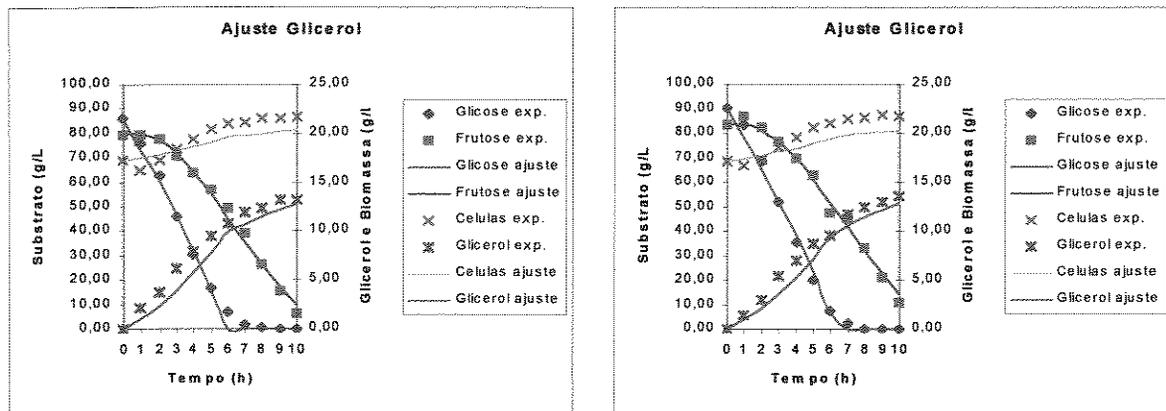


Figura 51 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Ester (Repetições 1 e 2)

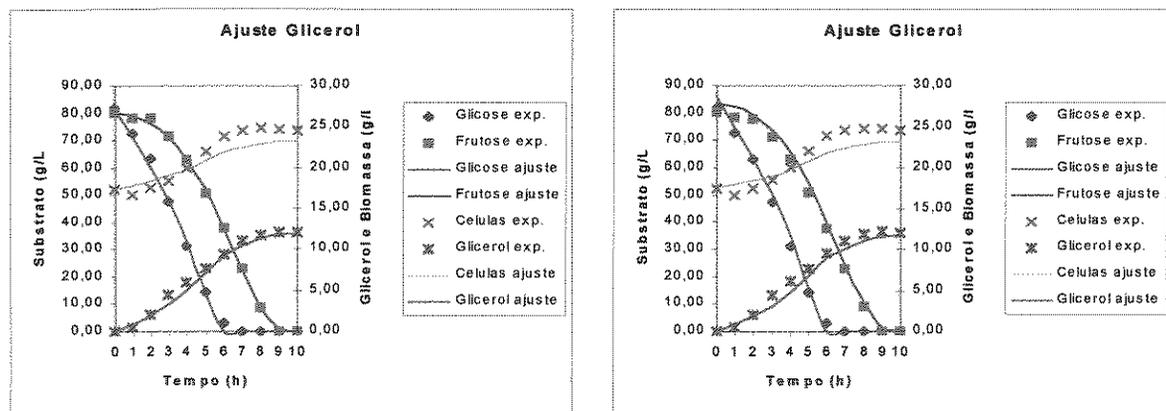


Figura 52 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Goiasa (Repetições 1 e 2)

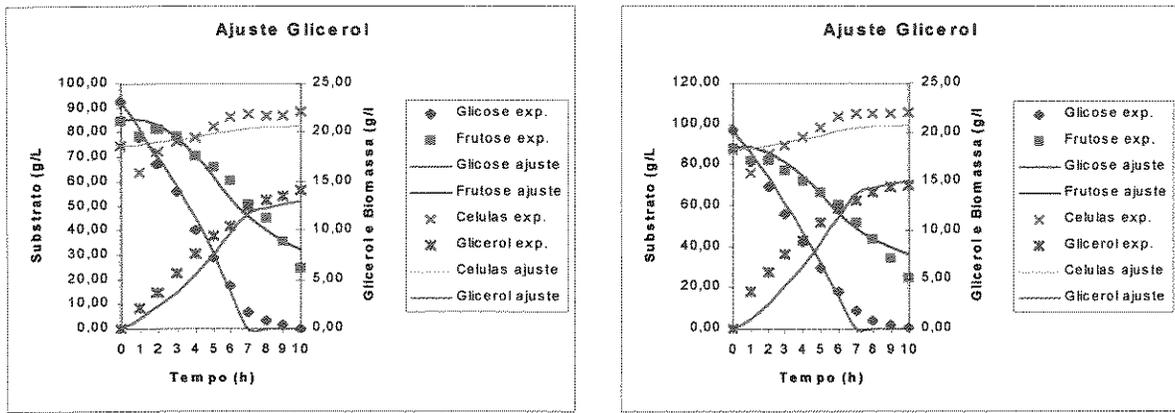


Figura 53 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Guarani (Repetições 1 e 2)

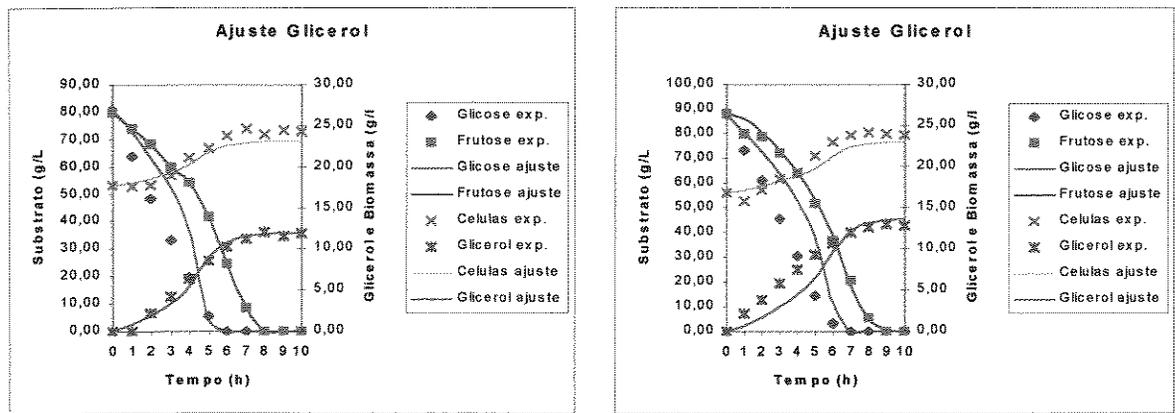


Figura 54 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o mel da Usina Jalles Machado (Repetições 1 e 2)

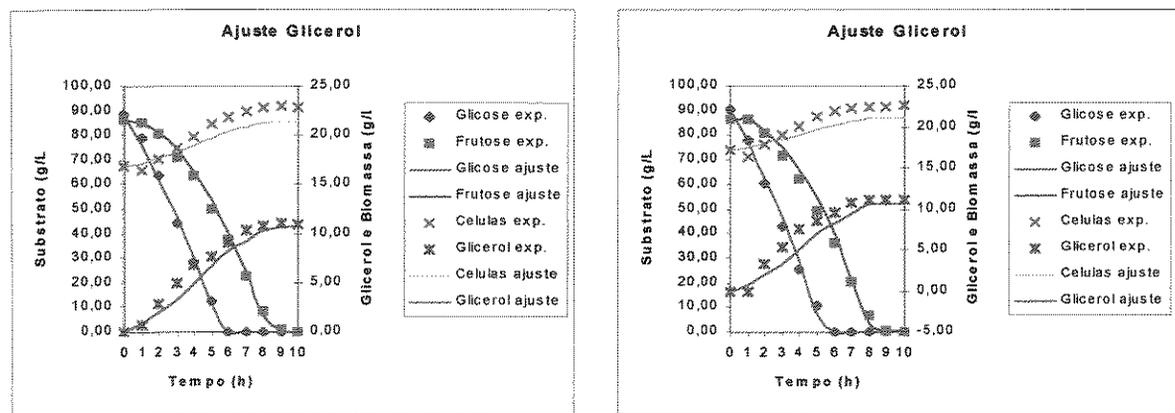


Figura 55 - Ajustes aos dados experimentais utilizando o Meio Sintético (Repetições 1 e 2)

Pelas Figuras 46 a 55 pode-se observar que algumas matérias primas utilizadas apresentaram um desvio mais acentuado dos valores descrito pelo modelo e os obtidos experimentalmente. No entanto, de uma forma geral, o modelo proposto para descrever a produção de glicerol no decorrer do processo fermentativo mostrou-se adequado. Este fato mostra que as cinéticas de produção de etanol e glicerol seguem modelos semelhantes, diferindo somente no valor dos parâmetros de rendimento ( $Y_{p/s}$  e  $Y_{G/s}$ ) onde o relativo ao etanol é cerca de 7 a 8 vezes maior que o do glicerol. A Tabela 11 mostra os valores de  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{G/S}$  e  $Y_{X/S}$  utilizados na obtenção dos perfis de aparecimento destes produtos em função do tempo, vinculados ao consumo de glicose e frutose, assim como os valores de pureza dos méis utilizados nestes ensaios.

**Tabela 11** – Dados calculados dos rendimentos dos ensaios realizados e da pureza dos méis utilizados

	Pureza (%)	$Y_{G/S}$ (g/kg)	$Y_{X/S}$ (g/kg)	$Y_{P/S}$ (g/kg)
Alvorada	65,16	0,080 ± 0,0018	0,040 ± 0,0023	0,497 ± 0,0030
Benalcool	59,62	0,069 ± 0,0023	0,032 ± 0,0034	0,447 ± 0,0010
Cruz Alta	51,61	0,082 ± 0,0003	0,023 ± 0,0010	0,431 ± 0,0045
Corol	58,48	0,071 ± 0,0011	0,027 ± 0,0003	0,469 ± 0,0028
Equipav	62,50	0,079 ± 0,0008	0,029 ± 0,0018	0,458 ± 0,0035
Ester	62,15	0,082 ± 0,0001	0,019 ± 0,0016	0,459 ± 0,0030
Goiasa	59,45	0,072 ± 0,0037	0,035 ± 0,0017	0,448 ± 0,0024
Guarani	46,64	0,094 ± 0,0066	0,016 ± 0,0020	0,438 ± 0,0020
Jalles	54,85	0,076 ± 0,0002	0,035 ± 0,0004	0,491 ± 0,0110
Sintético	-	0,060 ± 0,0000	0,024 ± 0,0028	0,459 ± 0,0080

As Figuras 56 a 58 mostram o comportamento do parâmetro  $Y_{G/S}$  em função dos parâmetros  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{X/S}$  e Pureza.

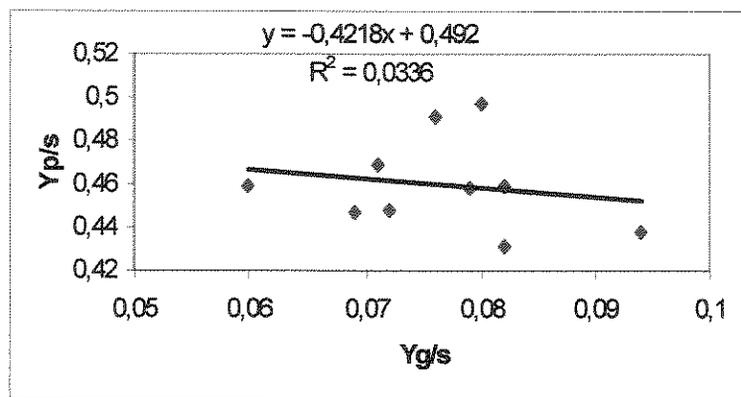


Figura 56 – Comparação entre  $Y_{G/S}$  e  $Y_{P/S}$

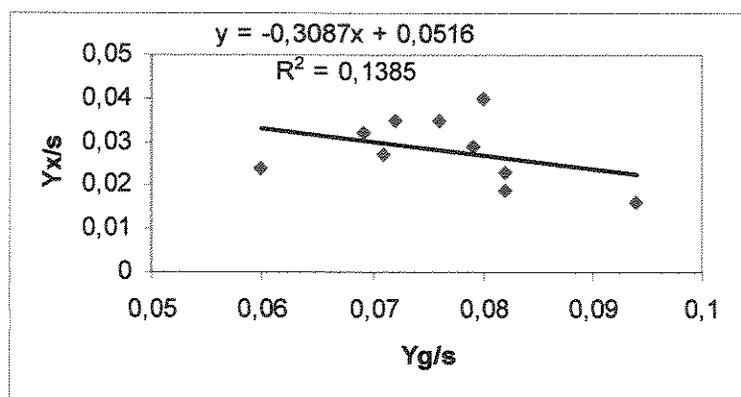


Figura 57 - Comparação entre  $Y_{G/S}$  e  $Y_{X/S}$

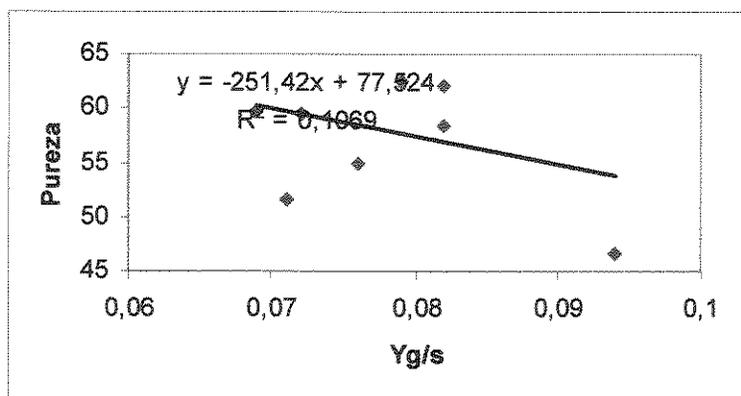


Figura 58 - Comparação entre  $Y_{G/S}$  e Pureza

Pode-se perceber pelas Figuras 56 a 58 que os valores do parâmetro  $Y_{G/S}$  não apresentaram nenhum tipo de relação de comportamento quando comparados com aqueles obtidos para os parâmetros  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{X/S}$  e Pureza. Observa-se ainda, que apesar de não ter

sido encontrada nenhuma relação entre as variáveis  $Y_{G/S}$  e Pureza, as maiores diferenças entre estes parâmetros foram observadas no mel proveniente das usinas Guarani e Cruz Alta, justamente nos de menor pureza.

Desta forma, não se pode afirmar com certeza que méis de menor pureza necessariamente elevem o valor de rendimento em glicerol. Devem existir outras variáveis que afetem a formação de glicerol além da pureza, as quais não puderam ser detectadas neste trabalho.

#### **4.6. Tratamento de Melaço**

Optou-se por realizar o ensaio em uma unidade industrial, pois, desta forma seria possível avaliar o produto obtido em grande escala que permitiria sua instalação em unidades produtoras de álcool. Foi eliminada desta forma a etapa de tratamento de mel em laboratório, onde dificilmente seria possível reproduzir com exatidão as condições de tratamento de uma unidade industrial.

Foi realizado um experimento com duração de cinco horas na unidade industrial de tratamento de melaço da Mauri do Brasil S.A., localizada em Pederneiras-SP. Foram recolhidas amostras de mel tratado (MT) e não tratado (MNT) para a realização dos testes fermentativos e posteriores comparações dos parâmetros cinéticos. Além disto foram estimados através de balanço de massa a quantidade de ART perdido no tratamento, que foi apurada como sendo 27,68 g por 100 Kg de mel tratado.

As características do mel bruto utilizado no ensaio foram:

- a) Concentração de ART = 43,66 % p/p
- b) Concentração de sólidos totais = 84 % p/p
- c) Pureza em ART = 51,98 %

Depois de efetuado o tratamento do mel bruto conforme descrito pela Figura 01, obteve-se o mel tratado cujas características são descritas abaixo:

- a) Concentração de ART = 24,66 % p/p
- b) Concentração de sólidos totais = 46,2 % p/p
- c) Pureza em ART = 53,38 %

A Tabela 12 mostra as características principais do mel tratado (MT) e não tratado (MNT).

**Tabela 12** – Características dos méis.

	PH	Acidez		°Brix	ART (g/l)	ART (%)	Pureza (%)
		Sulfúrica (g/l)	densidade				
MNT	5,32	1,18	1,3610	84,0	594,26	43,66	51,98
MT	5,03	2,16	1,1969	46,2	295,19	24,66	53,38

Observa-se pelos dados contidos na Tabela 12 que houve um acréscimo na pureza do mel tratado de 1,4 %. Observa-se ainda um aumento significativo na acidez sulfúrica do mel tratado, assim como uma queda no pH do mesmo.

O acréscimo na pureza é um fator positivo, no entanto o aumento da acidez sulfúrica é uma característica indesejável para o processo fermentativo.

As Tabelas 13, 14 e 15 mostram os resultados dos parâmetros cinéticos obtidos nos testes fermentativos realizados com mel tratado e não tratado para os Modelos 1, JIN e 2, respectivamente.

**Tabela 13** – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo 1

	$K_S$	$K_I$	$P_{m\acute{a}x}$	$n$
MNT	$179,0 \pm 1,41$	$5,0 \pm 0,00$	$84,0 \pm 1,41$	$1,15 \pm 0,07$
MT	$185,0 \pm 1,41$	$3,5 \pm 0,71$	$81,0 \pm 1,41$	$0,90 \pm 0,141$

**Tabela 14** – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo de JIN

	$K_S$	$K_I$	$K_2$
MNT	$234,0 \pm 1,41$	$0,0195 \pm 0,00071$	$0,0175 \pm 0,00071$
MT	$254,0 \pm 1,41$	$0,0220 \pm 0,00141$	$0,0180 \pm 0,00141$

Observa-se pelos dados contidos nas Tabelas 13 e 14, que o termo de limitação pelo substrato ( $K_S$ ) apresentou um aumento significativo no Modelo 1 e no Modelo JIN quando utilizado o mel tratado. Apesar dos ajustes obtidos nestes modelos terem sido satisfatórios, observa-se pela Tabela 12 que o termo de limitação pelo substrato ( $K_S$ ) apresentou valores maiores que o termo de inibição pelo substrato ( $K_I$ ), fato este observado

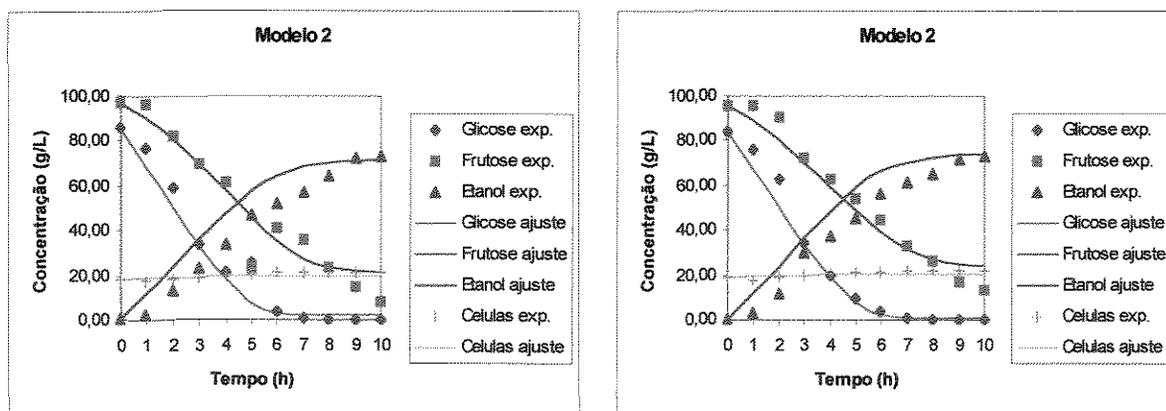
tanto na utilização do MNT e MT. Estes resultados foram obtidos utilizando na simulação modelos considerando uma única fonte de substrato (ART), evidenciando mais uma vez a necessidade de se trabalhar com modelos que levem em consideração duas fontes de substrato (glicose e frutose). Apesar desta incoerência no valor da constante de inibição, pode-se observar que a mesma é menor no mel tratado que no mel não tratado, indicando uma maior inibição no mel tratado.

A Tabela 15 mostra os resultados dos parâmetros cinéticos obtidos utilizando-se o Modelo 2.

**Tabela 15** – Resultados dos parâmetros cinéticos segundo o Modelo 2

	$n_F$	$n_G$	$K_{SF}$	$K_{SG}$	$K_{IF}$	$K_{IG}$	$P_{máx}F$	$P_{máx}G$
<b>MNT</b>	$1,10 \pm 0,000$	$1,10 \pm 0,000$	$0,50 \pm 0,000$	$0,50 \pm 0,000$	$5,0 \pm 0,00$	$1,50 \pm 0,000$	$70,5 \pm 0,71$	$68,0 \pm 2,83$
<b>MT</b>	$1,10 \pm 0,000$	$1,20 \pm 0,000$	$4,50 \pm 1,414$	$0,50 \pm 0,000$	$2,5 \pm 0,71$	$1,25 \pm 0,354$	$74,0 \pm 1,41$	$68,0 \pm 0,00$

Observa-se pela Tabela 15 que a limitação pelo substrato e a inibição pelo substrato e produto foram menor para o mel não tratado tanto para a glicose como para a frutose. Este fato pode ser melhor observado pelo comportamento cinético descrito pelas Figura 59 e 60.



**Figura 59** – Perfil fermentativo do Mel não Tratado (Repetições 1 e 2)

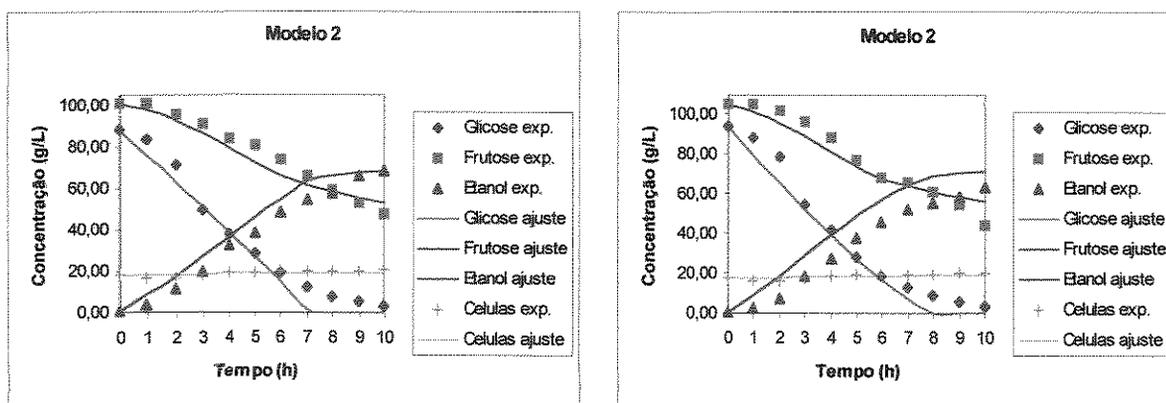


Figura 60 - Perfil fermentativo do Mel Tratado (Repetições 1 e 2)

Comparando-se os perfis de consumo de frutose contidos na Figura 60, nota-se que no MNT a velocidade de consumo deste substrato é bem maior. Este fato é confirmado pela maior quantidade de ART residual observado para a fermentação com mel tratado quando comparado com aquele realizado com mel não tratado (Figura 59).

A Tabela 16 mostra os resultados de produtividade e rendimentos obtidos para os ensaios fermentativos utilizando os méis tratados e não tratados.

Tabela 16 – Dados calculados dos rendimentos e Produtividade dos ensaios realizados

	Produtividade (g/L.h)	$Y_{X/S}$ (g/kg)	$Y_{P/S}$ (g/kg)	$Y_{G/S}$ (g/kg)	$Y_{P/X}$ (g/kg)
MNT	$6,79 \pm 0,032$	$0,0094 \pm 0,00078$	$0,4613 \pm 0,02178$	$0,0425 \pm 0,00431$	$48,9 \pm 1,72$
MT	$6,00 \pm 0,001$	$0,0090 \pm 0,00127$	$0,5019 \pm 0,00248$	$0,0523 \pm 0,00806$	$56,3 \pm 8,24$

Onde  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$ ,  $Y_{G/S}$ ,  $Y_{P/X}$  e produtividade foram calculados da seguinte forma:

$Y_{X/S}$  = (células produzidas)/(ART consumido), durante a fermentação

$Y_{P/S}$  = (Etanol produzido)/(ART consumido), durante a fermentação

$Y_{G/S}$  = (Glicerol produzido)/(ART consumido), durante a fermentação

$Y_{P/X}$  = (Etanol produzido)/(células produzidas), durante a fermentação

Produtividade = (Etanol produzido)/(Tempo de Fermentação)

A partir dos dados da Tabela 16, pode-se perceber que apesar da produtividade do MNT ser 13,2 % maior que no MT, observa-se um rendimento em etanol superior para o mel tratado. Observa-se ainda que o rendimento em células foi muito inferior para estes dois méis quando comparado àqueles obtidos para os demais méis testados neste trabalho (Tabela 05).

## 5. CONCLUSÕES

- Quando foram utilizados os modelos que levam em consideração o ART como única fonte de substrato e a inibição pelo mesmo (Modelo Laboratório e JIN), os ajustes aos dados experimentais foram satisfatórios.
- A utilização de modelos que consideram o ART como única fonte de substrato, apesar de ajustar-se satisfatoriamente aos dados experimentais, mostram valores dos parâmetros  $K_S$  e  $K_I$  sem sentido físico.
- Ao se trabalhar com o modelo que considera a fermentação alcoólica da sacarose como um processo fermentativo contendo dois substratos (glicose e frutose), observa-se um bom ajuste aos dados experimentais, além de não apresentar incoerências em relação dos valores dos parâmetros cinéticos ( $K_S$  e  $K_I$ ).
- O consumo preferencial da glicose evidencia o efeito de diauxia, que foi bem representado pelo termo inserido no modelo de consumo da frutose.
- A velocidade de produção de etanol e a velocidade de crescimento celular estão vinculadas na fase exponencial de crescimento, mas não após o término da mesma (fase estacionária).
- A velocidade de produção de etanol é menos afetada pela limitação do substrato e inibição pelo produto do que a velocidade de crescimento celular.
- A cinética de produção de glicerol segue a de etanol, diferenciando somente no valor do rendimento ( $Y_{P/S}$  e  $Y_{G/S}$ ).
- O valor de rendimento em etanol é cerca de 7 a 8 vezes maior ao do glicerol.
- O tratamento de mel utilizado neste trabalho não se mostrou eficiente na melhoria da qualidade fermentativa do mel.
- O tratamento de me utilizado foi capaz de aumentar a pureza.

## **6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Estudar a influência de compostos fenólicos no comportamento cinético da fermentação alcoólica.
- Estudar novos modelos que englobam o efeito de diauxia.
- Avaliar com mais critério os fatores que possam interferir na produção de glicerol.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAMOV, S.A.; ÉFENDIEVA, D.A.; KOTENKO, S.T. Effect of the growth médium on the protein content of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v.30, n.2, p 225-227, 1994.
2. ALMEIDA, J.R. *Processo de recuperação de Levedura ou processo Melle-Boinott In: Semana Da Fermentação Alcoólica*, 1., Piracicaba. Anais, p 254-262, 1960.
3. AMORIM, H. V.; BASSO, L.C; ALVES, D. M.G. Processo de Produção de Álcool – controle e monitoramento. *FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP*. Piracicaba, 1996.
4. ANDRIETTA, S.R. *Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua em escala industrial*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1994. 178p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos).
5. ANGELIS, D.F. Fermentação etanólica: microbiologia. *Buckman Laboratórios Ltda & Departamento de Bioquímica - UNESP*. p1-2, 1986.
6. BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G.; AMORIM, H.V. Fermentação alcoólica e alguns fatores que afetam o desempenho fermentativo. In: *AMORIM, H.V. Processos de produção de álcool*. Piracicaba: ESALQ/USP. 1996. Cap.4, p.38-85.
7. BAYLEY, J.E. & OLLIS, D.F. *Biochemical engineering fundamentals*. 2° ed. New York, McGraw Hill, 1986.
8. BAZUA, C.D.; WILKE, C.R. Ethanol effects on the kinetics of a continuous fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, New York, v.7, p.105-118, 1977.
9. BERTELLI, L. G. Dezesesseis anos de Proálcool. *Stab. Açúcar, Álcool e Sub-produtos* v.11 (1), p.19-20, 1992.
10. DOURADO, A.; GOMA, G.; ALBUQUERQUE, U.; SEVELY, Y. Modeling and statistic optimization of the ethanol production in a cascade reactor. I. Modeling. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.29, n.2, p.187-194, feb.5, 1987.

11. FLEISHMAN. Apostila de Procedimento Operacional da Fleishman-Royal para Produção de Fermento Biológico, 1977.
12. GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. I. Batch versus continuous systems. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.21, n.8, p.1387-1400, 1979.
13. GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. II. Product and substrate inhibition and optimization of fermentor design. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.21, n.8, p.1401-1420, aug., 1979b.
14. JARZEBSKI, A. B.; MALINOWSKI, J. J.; GOMA, G. Modeling of the ethanol fermentation at high yeast concentration. *Biotechnology And Bioengineering*, New York, v.34, n.9, p.1225-1230, may. 1989.
15. LEVENSPIEL, O. Monod equation: a revised and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.22, n.8, p.1671-1687, 1980.
16. LUONG, J. H. T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.27, n.3, p.285, mar., 1985.
17. MAIORELLA, B. L.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. Alcohol production and recovery. In: FLECHTER, A., *Advances in biochemical engineering*. Heidelberg: Springer Verlag, 1981, v.20, p.41-73.
18. MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chem.*, 31: 426-428, 1959.
19. MONOD, J. The growth of bacterial culture. *Annual Review of Microbiology*, Palo Alto, v.3, p.371-394, 1949.
20. MOULIN, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v.22, p.2375-2381, 1980.
21. OKADA, W.; FUKUDA, H.; MORIKAWA, H. Kinetic expressions of ethanol production rate and ethanol consumption rate in baker's yeast cultivation. *J. Ferment. Technol.*, 59:103-109, 1981.

22. OURA, E. Effect of aeration intensity on the biochemical composition of baker's yeast. I factors affecting the type of metabolism. *Biotechnology and Bioengineering*, v.26, n.6, p.1197-1212, 1974.
23. PAYNE, J.H. Operações unitárias na Produção de açúcar de cana. *Nobel/Stab*, p.145-148, 1989.
24. PHILIPPIDIS, G. P. & HATZIS, C. Biochemical engineering analysis of critical process factors in the biomass-to-ethanol technology. *Biotechnology Progress*, New York, v.13, n.3, may/jun., p.222-231, 1997.
25. PINOTTI, R.F. Quantificação do nível de nitrogênio nas etapas do processo de produção de álcool. *Stab Açúcar, Álcool e Sub-produtos*. 10(1) setembro/outubro, p.34-35, 1991.
26. REED, G. Microbial biomass, single-cell protein, and other microbial products. In: REED, G. *Prescott & Dunn's Industrial Microbiology*. 4º ed. Westport: AVI, p.541-592, 1982.
27. REHM, H.-J., REED, G. *Biotechnology v.2. Fundamentals of Biochemical Engineering*. Reading: Anton Moser, 1985. Cap. 14: Kinetics of Batch Fermentations, p.243-283.
28. RODRIGUES, M. I.; ANDRIETTA, S. R.; MAUGERI FILHO, F. Simulação da produtividade e rendimento em fermentação alcoólica contínua, para reatores em fermentação alcoólica contínua, para reatores operando em condições ideais e não ideais de mistura. *Stab. Açúcar, Álcool e Sub-produtos*. 10(5): 35-47, 1992.
29. SCHLEGEL, H. G. *General Microbiology*. Cambridge University Press. 7º ed., p.214, 1990.
30. SIQUEIRA, A. M. Proposta de otimização para destilarias autônomas. *Stab. Açúcar, Álcool e Sub-produtos*. 11(5): 33-38, 1993.
31. SU, K.; HSIE, M.; LEE, H.C. Amino acid composition of various yeasts prepared from cane molasses. In: Congr. Int. Soc. Sug. Cane Technol., 13, Taiwan, 1968. *Proceedings Amsterdam*: Elsevier, 1969. p.1934-1942.
32. VIEGAS, M.C., ANDRIETTA, S.R. Caracterização do comportamento cinético de reator tipo torre utilizando leveduras com características floculantes. *II EPFEQ (UNICAMP)*, out., 2001.

- 
33. ZAPERLON, F. & ANDRIETTA, S. R. Fermentação contínua para a produção de álcool. *Stab. Açúcar, Álcool e Sub-produtos*. 10(4): 23-28, 1992.

## **ANEXO A**

### **Resultados das Fermentações**

**Tabela A.1 – Resultados da fermentação do mel da Usina Alvorada (ALV.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	91,70	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	201,77	xx	xx
<b>0 h</b>	16,82	0,00	0,00	168,22	88,8	79,42
<b>1 h</b>	16,75	10,07	2,86	152,33	76,12	76,21
<b>2 h</b>	17,38	18,69	4,13	137,91	64,16	73,75
<b>3 h</b>	18,38	29,42	6,42	116,05	48,49	67,55
<b>4 h</b>	19,81	44,05	7,74	92,56	32,94	59,62
<b>5 h</b>	21,75	53,36	9,59	65,97	16,69	49,28
<b>6 h</b>	23,09	64,89	11,01	39,89	4,03	35,86
<b>7 h</b>	24,14	76,01	12,27	20,29	0,27	20,01
<b>8 h</b>	24,23	81,78	12,76	5,05	0,00	5,05
<b>9 h</b>	24,20	83,62	12,85	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	24,23	83,68	12,83	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.2 – Resultados da fermentação do mel da Usina Alvorada (ALV.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	94,22	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	196,55	xx	xx
<b>0 h</b>	16,81	0,00	0,00	172,54	90,76	81,781
<b>1 h</b>	16,39	7,67	1,73	150,08	75,59	74,49
<b>2 h</b>	17,18	14,99	3,45	136,83	64,13	72,70
<b>3 h</b>	18,45	24,79	5,49	116,59	49,37	67,22
<b>4 h</b>	20,12	36,20	6,78	90,26	31,84	58,42
<b>5 h</b>	21,97	50,17	8,73	62,62	14,66	47,97
<b>6 h</b>	23,73	58,65	10,16	36,62	2,29	34,33
<b>7 h</b>	24,53	70,55	12,33	19,25	0,00	19,25
<b>8 h</b>	24,74	75,60	12,74	4,03	0,00	4,03
<b>9 h</b>	24,48	79,42	13,19	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	24,58	78,12	12,86	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.3 – Resultados da fermentação do mel da Usina Benalcool (BEN.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	95,95	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	204,40	xx	xx
<b>0 h</b>	18,08	0,00	0,00	162,33	79,56	82,77
<b>1 h</b>	17,69	9,35	0,00	153,35	70,78	82,56
<b>2 h</b>	18,76	18,49	1,22	138,88	57,79	81,09
<b>3 h</b>	20,22	28,93	3,62	110,88	39,74	71,14
<b>4 h</b>	21,89	41,09	5,54	90,57	24,22	66,35
<b>5 h</b>	23,30	52,43	7,46	64,01	7,97	56,03
<b>6 h</b>	23,83	60,27	8,90	43,89	0,76	43,14
<b>7 h</b>	24,36	69,30	10,92	29,68	0,00	29,68
<b>8 h</b>	24,58	72,57	10,92	15,86	0,00	15,86
<b>9 h</b>	24,61	70,61	10,92	4,07	0,00	4,07
<b>10 h</b>	24,19	73,22	10,92	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.4 – Resultados da fermentação do mel da Usina Benalcool (BEN.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	104,73	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	199,44	xx	xx
<b>0 h</b>	18,02	0,00	0,00	160,88	78,58	82,30
<b>1 h</b>	17,52	8,90	0,00	148,97	69,55	79,42
<b>2 h</b>	18,56	18,11	0,39	136,28	58,13	78,15
<b>3 h</b>	20,25	29,55	2,25	117,16	43,46	73,70
<b>4 h</b>	22,19	38,20	3,75	85,84	24,11	61,73
<b>5 h</b>	23,34	47,78	6,27	64,77	9,47	55,30
<b>6 h</b>	24,05	57,57	7,27	45,45	1,07	44,38
<b>7 h</b>	24,44	61,97	9,76	31,92	0,00	31,92
<b>8 h</b>	24,86	69,48	10,66	19,51	0,00	19,51
<b>9 h</b>	24,80	74,06	11,16	7,23	0,00	7,23
<b>10 h</b>	24,72	76,79	11,14	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.5 – Resultados da fermentação do mel da Usina Cruz Alta (CALTA.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	85,68	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	220,70	xx	xx
<b>0 h</b>	18,22	0,00	0,00	172,28	86,83	85,44
<b>1 h</b>	16,12	9,56	1,89	152,34	72,93	79,42
<b>2 h</b>	17,84	18,69	3,93	142,56	61,98	80,58
<b>3 h</b>	18,79	26,89	5,98	116,52	44,40	72,12
<b>4 h</b>	16,69	35,29	7,88	96,55	30,56	65,99
<b>5 h</b>	20,93	45,24	9,75	74,84	16,44	58,40
<b>6 h</b>	22,03	52,20	11,15	55,42	6,07	49,35
<b>7 h</b>	22,34	58,82	12,33	40,28	1,74	38,54
<b>8 h</b>	22,68	65,03	12,91	26,57	0,00	26,57
<b>9 h</b>	22,88	67,43	13,13	15,42	0,00	15,42
<b>10 h</b>	23,30	72,92	13,68	6,90	0,00	6,90

**Tabela A.6 – Resultados da fermentação do mel da Usina Cruz Alta (CALTA.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	91,81	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	228,42	xx	xx
<b>0 h</b>	17,31	0,00	0,00	188,38	95,27	93,10
<b>1 h</b>	16,34	15,55	2,55	163,41	77,94	85,47
<b>2 h</b>	17,11	24,33	3,81	153,90	67,49	86,41
<b>3 h</b>	18,40	33,11	5,98	135,68	53,35	82,33
<b>4 h</b>	19,08	39,70	7,56	105,92	35,53	70,39
<b>5 h</b>	20,47	52,87	9,23	88,93	22,62	66,31
<b>6 h</b>	21,72	58,82	11,29	63,65	10,08	53,57
<b>7 h</b>	22,54	66,51	12,54	45,13	2,24	42,89
<b>8 h</b>	22,37	73,10	13,17	32,37	0,00	32,37
<b>9 h</b>	22,56	76,48	13,87	19,74	0,00	19,74
<b>10 h</b>	22,72	80,87	14,04	9,44	0,00	9,44

**Tabela A.7 – Resultados da fermentação do mel da Usina Corol (COR.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	94,18	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	214,56	xx	xx
<b>0 h</b>	17,31	0,00	0,00	173,27	89,22	84,06
<b>1 h</b>	16,72	17,46	0,24	164,35	80,14	84,21
<b>2 h</b>	17,44	21,59	1,65	151,31	68,12	83,19
<b>3 h</b>	18,15	27,69	3,10	129,76	53,07	76,69
<b>4 h</b>	19,70	38,61	4,84	100,97	34,81	66,15
<b>5 h</b>	21,18	51,66	6,65	77,14	19,43	57,71
<b>6 h</b>	22,02	63,36	8,19	56,58	7,73	48,85
<b>7 h</b>	23,02	67,01	10,57	37,96	1,27	36,69
<b>8 h</b>	23,25	78,29	11,32	24,04	0,00	24,04
<b>9 h</b>	23,32	78,27	11,74	12,89	0,00	12,89
<b>10 h</b>	23,13	84,23	12,16	7,15	0,00	7,15

**Tabela A.8 – Resultados da fermentação do mel da Usina Corol (COR.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	95,06	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	226,08	xx	xx
<b>0 h</b>	17,59	0,00	0,00	192,17	97,56	94,61
<b>1 h</b>	17,30	19,6,	1,76	184,20	88,94	95,26
<b>2 h</b>	18,03	27,24	2,93	169,03	77,25	91,78
<b>3 h</b>	18,53	31,05	5,27	141,73	57,78	83,95
<b>4 h</b>	19,78	46,27	7,61	112,24	39,17	73,07
<b>5 h</b>	21,21	61,50	9,95	89,70	23,59	66,11
<b>6 h</b>	22,70	72,92	11,12	66,72	9,74	56,98
<b>7 h</b>	23,15	83,08	12,58	45,99	2,27	43,71
<b>8 h</b>	23,44	85,94	13,17	29,36	0,00	29,36
<b>9 h</b>	23,75	86,26	11,47	13,04	0,00	13,04
<b>10 h</b>	23,69	87,02	11,47	7,13	0,00	7,13

**Tabela A.9 – Resultados da fermentação do mel da Usina Equipav (EQU.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	136,36	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	201,35	xx	xx
<b>0 h</b>	17,60	6,64	0,00	169,64	89,69	79,95
<b>1 h</b>	17,23	15,05	3,82	148,45	74,64	73,81
<b>2 h</b>	18,20	22,10	5,04	132,28	62,31	69,97
<b>3 h</b>	19,08	30,31	6,66	116,23	50,30	65,92
<b>4 h</b>	20,55	38,52	8,29	97,97	37,03	60,94
<b>5 h</b>	22,26	46,74	9,91	79,08	23,75	55,33
<b>6 h</b>	22,75	54,95	10,72	65,09	13,49	51,60
<b>7 h</b>	23,12	57,98	10,64	47,40	4,94	42,46
<b>8 h</b>	23,45	63,85	11,25	35,19	1,92	33,27
<b>9 h</b>	23,49	68,54	11,66	23,15	0,00	23,15
<b>10 h</b>	23,54	72,06	11,86	13,96	0,00	13,96

**Tabela A.10 – Resultados da fermentação do mel da Usina Equipav (EQU.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	129,37	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	203,62	xx	xx
<b>0 h</b>	17,90	0,00	0,00	176,83	92,80	84,04
<b>1 h</b>	17,14	22,96	3,79	148,60	74,91	73,69
<b>2 h</b>	18,19	29,84	5,37	134,90	63,01	71,88
<b>3 h</b>	19,37	39,01	6,95	118,79	50,52	68,27
<b>4 h</b>	20,68	50,48	7,73	96,68	35,64	61,04
<b>5 h</b>	21,91	55,06	9,31	77,57	22,25	55,32
<b>6 h</b>	22,72	64,23	10,89	60,84	11,24	49,60
<b>7 h</b>	23,20	64,21	10,57	43,85	3,54	40,31
<b>8 h</b>	23,38	71,09	11,16	29,62	0,00	29,62
<b>9 h</b>	23,63	75,10	11,75	20,43	0,00	20,43
<b>10 h</b>	23,60	76,25	12,14	10,65	0,00	10,65

**Tabela A.11 – Resultados da fermentação do mel da Usina Ester (EST.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	94,61	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	211,76	xx	xx
<b>0 h</b>	17,65	0,00	0,00	165,72	86,16	79,56
<b>1 h</b>	16,31	19,77	2,11	155,14	76,00	79,14
<b>2 h</b>	17,24	29,54	3,69	140,16	62,50	77,66
<b>3 h</b>	18,39	38,93	6,15	117,00	46,09	70,91
<b>4 h</b>	19,43	46,86	7,90	93,99	30,18	63,81
<b>5 h</b>	20,35	54,96	9,46	73,24	16,44	56,80
<b>6 h</b>	20,96	64,03	10,81	56,47	6,83	49,63
<b>7 h</b>	21,15	63,58	11,87	40,46	1,55	38,91
<b>8 h</b>	21,52	70,12	12,41	26,91	0,42	26,49
<b>9 h</b>	21,50	75,16	13,18	15,77	0,00	15,77
<b>10 h</b>	21,75	76,95	13,27	6,35	0,00	6,35

**Tabela A.12 – Resultados da fermentação do mel da Usina Ester (EST.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	94,40	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	215,15	xx	xx
<b>0 h</b>	17,21	0,00	0,00	173,51	90,23	83,28
<b>1 h</b>	16,65	10,02	1,38	170,15	83,55	86,60
<b>2 h</b>	17,23	19,30	2,98	150,86	68,53	82,33
<b>3 h</b>	18,55	28,77	5,37	128,53	51,78	76,75
<b>4 h</b>	19,60	38,10	6,94	104,89	35,18	69,72
<b>5 h</b>	20,52	48,34	8,74	82,88	20,21	62,66
<b>6 h</b>	21,02	49,48	8,63	55,11	7,41	47,70
<b>7 h</b>	21,38	65,73	11,69	47,48	2,29	45,19
<b>8 h</b>	21,59	77,32	12,38	33,13	0,00	33,13
<b>9 h</b>	21,82	77,07	12,98	21,02	0,00	21,02
<b>10 h</b>	21,72	78,59	13,50	10,66	0,00	10,66

**Tabela A.13 – Resultados da fermentação do mel da Usina Goiás (GOI.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	93,51	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	204,33	xx	xx
<b>0 h</b>	17,44	0,00	0,00	162,37	82,03	80,34
<b>1 h</b>	16,63	5,47	0,58	150,93	72,75	78,18
<b>2 h</b>	17,48	12,90	2,07	141,24	63,20	78,04
<b>3 h</b>	18,43	22,14	4,41	118,79	47,38	71,41
<b>4 h</b>	20,01	33,58	6,02	93,88	30,96	62,92
<b>5 h</b>	21,97	44,91	7,62	64,98	14,19	50,78
<b>6 h</b>	23,86	55,09	9,45	40,61	2,84	37,78
<b>7 h</b>	24,50	63,09	11,02	23,01	0,09	22,92
<b>8 h</b>	24,81	70,67	11,80	8,93	0,00	8,93
<b>9 h</b>	24,72	73,85	12,16	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	24,56	74,45	12,05	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.14 – Resultados da fermentação do mel da Usina Goiás (GOI.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	92,88	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	212,29	xx	xx
<b>0 h</b>	17,55	0,00	0,00	168,83	85,68	83,15
<b>1 h</b>	16,93	7,48	0,63	153,39	73,78	79,61
<b>2 h</b>	17,61	15,06	2,16	140,28	62,28	78,01
<b>3 h</b>	18,62	24,09	3,95	121,07	48,48	72,59
<b>4 h</b>	20,25	34,17	5,76	98,61	33,48	65,13
<b>5 h</b>	22,22	45,76	7,58	70,29	16,59	53,70
<b>6 h</b>	24,02	54,23	9,15	46,30	4,79	41,50
<b>7 h</b>	24,80	63,42	10,99	27,48	0,42	27,06
<b>8 h</b>	24,95	69,85	11,25	11,54	0,00	11,54
<b>9 h</b>	24,85	74,74	11,81	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	24,48	74,81	11,79	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.15** – Resultados da fermentação do mel da Usina Guarani (GUA.1)

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	96,34	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	233,84	xx	xx
<b>0 h</b>	18,67	0,00	0,00	177,58	92,59	85,00
<b>1 h</b>	15,93	32,44	2,15	156,29	77,95	78,34
<b>2 h</b>	18,12	36,83	3,63	148,47	67,25	81,22
<b>3 h</b>	19,07	45,60	5,59	134,17	55,83	78,34
<b>4 h</b>	19,50	51,45	7,56	110,55	40,13	70,41
<b>5 h</b>	20,66	58,76	9,53	94,81	28,72	66,09
<b>6 h</b>	21,57	66,07	10,52	77,62	17,30	60,32
<b>7 h</b>	21,89	69,58	12,39	57,93	6,87	51,06
<b>8 h</b>	21,69	82,73	13,13	48,24	3,30	44,94
<b>9 h</b>	21,74	79,81	13,63	36,90	1,52	35,39
<b>10 h</b>	22,13	84,93	14,12	25,12	0,00	25,12

**Tabela A.16** – Resultados da fermentação do mel da Usina Guarani (GUA.2)

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	97,26	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	217,91	xx	xx
<b>0 h</b>	18,25	0,00	0,00	185,32	97,27	88,05
<b>1 h</b>	15,88	18,21	3,84	164,09	81,87	82,22
<b>2 h</b>	17,80	27,24	5,69	151,84	69,69	82,15
<b>3 h</b>	18,71	34,98	7,55	133,70	55,96	77,73
<b>4 h</b>	19,53	45,30	8,94	114,53	42,58	71,95
<b>5 h</b>	20,46	51,75	10,79	96,04	29,52	66,51
<b>6 h</b>	21,65	60,78	12,18	78,54	18,14	60,40
<b>7 h</b>	21,86	66,51	13,04	60,69	8,57	52,12
<b>8 h</b>	21,87	72,97	13,97	47,51	3,72	43,80
<b>9 h</b>	21,89	78,13	14,43	35,82	1,71	34,11
<b>10 h</b>	22,11	80,71	14,66	25,47	0,37	25,10

**Tabela A.17**– Resultados da fermentação do mel da Usina Jalles Machado (JAL.1)

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	89,25	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	196,66	xx	xx
<b>0 h</b>	17,70	0,00	0,00	161,02	80,91	80,12
<b>1 h</b>	17,51	19,50	0,00	137,52	63,77	73,75
<b>2 h</b>	17,76	26,11	2,23	116,71	48,39	68,32
<b>3 h</b>	18,98	36,01	4,14	92,64	33,01	59,63
<b>4 h</b>	21,06	50,32	6,43	73,95	19,75	54,20
<b>5 h</b>	22,33	63,52	12,54	47,14	5,42	41,71
<b>6 h</b>	23,87	73,43	10,25	24,61	0,00	24,61
<b>7 h</b>	24,64	81,13	10,25	8,59	0,00	8,59
<b>8 h</b>	24,03	77,35	12,04	0,00	0,00	0,00
<b>9 h</b>	24,53	74,71	11,58	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	24,33	77,79	11,89	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.18** – Resultados da fermentação do mel da Usina Jalles Machado (JAL.2)

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	91,43	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	210,34	xx	xx
<b>0 h</b>	16,91	0,00	0,00	176,07	87,74	88,33
<b>1 h</b>	15,90	4,48	2,24	153,51	73,43	80,08
<b>2 h</b>	17,18	14,78	3,77	139,73	60,84	78,89
<b>3 h</b>	18,51	25,26	5,89	118,01	45,51	72,50
<b>4 h</b>	19,26	35,04	7,54	94,84	30,77	64,07
<b>5 h</b>	21,39	48,76	9,35	66,35	14,58	51,78
<b>6 h</b>	22,98	60,30	10,63	40,35	3,56	36,80
<b>7 h</b>	23,81	70,86	12,03	20,83	0,00	20,83
<b>8 h</b>	24,17	78,26	12,71	5,52	0,00	5,52
<b>9 h</b>	23,94	81,09	12,93	0,00	0,00	0,00
<b>10 h</b>	23,87	80,94	12,90	0,00	0,00	0,00

Tabela A.19 – Resultados da fermentação do Meio Sintético (SINT.1)

	Massa Seca (g/L)	Etanol (g/L)	Glicerol (g/L)	ART (g/L)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)
<b>Inóculo</b>	87,15	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	217,16	xx	xx
<b>0 h</b>	16,89	0,00	0,00	175,25	88,80	86,46
<b>1 h</b>	16,52	11,17	0,68	163,86	78,71	85,15
<b>2 h</b>	17,65	21,68	2,89	144,38	63,52	80,86
<b>3 h</b>	18,70	32,95	4,96	115,14	44,08	71,06
<b>4 h</b>	19,25	45,25	6,79	91,68	28,28	63,41
<b>5 h</b>	21,16	55,76	7,71	62,72	12,48	50,24
<b>6 h</b>	21,91	71,75	9,02	37,38	0,00	37,38
<b>7 h</b>	22,39	76,46	10,32	22,67	0,00	22,67
<b>8 h</b>	22,93	80,18	10,75	8,28	0,00	8,28
<b>9 h</b>	23,03	83,55	11,05	0,86	0,00	0,86
<b>10 h</b>	22,85	84,54	10,93	0,00	0,00	0,00

Tabela A.20 – Resultados da fermentação do Meio Sintético (SINT.2)

	Massa Seca (g/L)	Etanol (g/L)	Glicerol (g/L)	ART (g/L)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)
<b>Inóculo</b>	87,03	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	222,73	xx	xx
<b>0 h</b>	17,27	0,00	0,00	177,02	90,39	86,63
<b>1 h</b>	16,41	13,19	0,00	164,42	78,12	86,30
<b>2 h</b>	17,83	25,95	3,28	141,34	60,70	80,65
<b>3 h</b>	19,02	38,06	5,29	114,71	42,69	72,02
<b>4 h</b>	20,08	49,44	7,51	87,46	25,56	61,90
<b>5 h</b>	21,31	62,94	8,62	60,15	10,75	49,40
<b>6 h</b>	21,94	74,56	9,49	36,31	0,00	36,31
<b>7 h</b>	22,21	79,35	10,68	20,24	0,00	20,24
<b>8 h</b>	22,50	85,03	11,03	6,70	0,00	6,70
<b>9 h</b>	22,54	87,39	11,06	0,36	0,00	0,36
<b>10 h</b>	22,66	88,19	11,10	0,00	0,00	0,00

**Tabela A.21 – Resultados da fermentação do MNT (MNT.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	105,99	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	215,63	xx	xx
<b>0 h</b>	18,51	0,00	1,37	183,15	86,24	96,91
<b>1 h</b>	17,21	2,28	4,54	173,43	76,86	96,57
<b>2 h</b>	18,24	12,83	5,55	140,93	59,24	81,69
<b>3 h</b>	19,06	23,38	2,10	102,70	33,25	69,45
<b>4 h</b>	19,88	33,69	3,46	82,41	21,08	61,33
<b>5 h</b>	20,60	46,53	4,73	60,45	25,33	23,18
<b>6 h</b>	21,01	52,03	5,89	44,99	4,01	40,98
<b>7 h</b>	21,05	57,08	7,07	36,96	1,02	35,95
<b>8 h</b>	21,12	64,41	7,15	23,18	0,00	23,18
<b>9 h</b>	21,16	71,98	7,57	14,96	0,00	14,96
<b>10 h</b>	21,25	72,67	7,73	8,18	0,00	8,18

**Tabela A.22 – Resultados da fermentação do MNT (MNT.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	124,34	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	210,34	xx	xx
<b>0 h</b>	19,15	0,00	1,59	180,10	84,28	95,82
<b>1 h</b>	17,59	3,20	4,43	171,21	75,91	95,30
<b>2 h</b>	18,62	11,91	5,87	152,93	62,47	90,46
<b>3 h</b>	19,60	29,80	2,19	106,55	34,32	72,24
<b>4 h</b>	20,58	37,36	5,63	83,03	19,92	63,11
<b>5 h</b>	21,14	44,93	4,98	63,06	9,41	53,65
<b>6 h</b>	21,42	56,16	6,13	47,77	3,58	44,19
<b>7 h</b>	21,59	61,43	6,70	33,59	0,49	33,11
<b>8 h</b>	21,75	64,64	8,05	26,29	0,03	26,26
<b>9 h</b>	21,81	71,75	8,30	16,77	0,00	16,77
<b>10 h</b>	21,86	72,90	8,45	12,99	0,00	12,99

**Tabela A.23 – Resultados da fermentação do MT (MT.1)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	88,98	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	224,22	xx	xx
<b>0 h</b>	18,29	0,00	3,87	189,05	88,48	100,58
<b>1 h</b>	17,01	3,89	5,24	183,94	83,44	100,50
<b>2 h</b>	17,23	11,23	6,55	166,40	71,42	94,98
<b>3 h</b>	18,31	19,71	5,50	139,91	49,12	90,79
<b>4 h</b>	18,84	31,86	7,56	120,99	37,68	83,32
<b>5 h</b>	19,33	38,05	7,20	108,38	28,10	80,28
<b>6 h</b>	19,67	47,91	7,80	92,70	19,26	73,44
<b>7 h</b>	19,85	54,56	8,44	78,55	12,58	65,97
<b>8 h</b>	19,98	57,77	9,68	67,25	7,87	59,38
<b>9 h</b>	20,17	65,79	9,20	58,01	5,02	52,99
<b>10 h</b>	20,48	68,08	9,78	50,50	3,19	47,31

**Tabela A.24 – Resultados da fermentação do MT (MT.2)**

	<b>Massa Seca (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Glicerol (g/L)</b>	<b>ART (g/L)</b>	<b>Glicose (g/L)</b>	<b>Frutose (g/L)</b>
<b>Inóculo</b>	91,95	xx	xx	xx	xx	xx
<b>Mosto</b>	xx	xx	xx	220,99	xx	xx
<b>0 h</b>	17,55	0,00	1,70	199,01	93,65	105,36
<b>1 h</b>	16,22	2,28	4,38	193,52	88,47	105,05
<b>2 h</b>	16,34	7,56	5,71	180,75	78,39	102,36
<b>3 h</b>	17,66	18,79	4,80	150,82	54,40	96,42
<b>4h</b>	18,30	27,04	7,33	130,20	41,75	88,46
<b>5 h</b>	19,11	37,59	6,97	104,81	27,97	76,84
<b>6 h</b>	19,33	45,39	7,26	87,04	18,65	68,39
<b>7 h</b>	19,46	52,03	8,42	79,13	13,17	65,96
<b>8 h</b>	19,57	55,24	8,88	69,85	8,59	61,27
<b>9 h</b>	19,70	58,68	9,39	60,39	5,55	54,83
<b>10 h</b>	19,90	63,73	9,09	47,76	3,28	44,49

## **ANEXO B**

### **Resultados dos Ajustes**

**Tabela B.01 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo Laboratório**

	$K_S$	$K_I$	$P_{m\acute{a}x}$	$n$	Desvio
<b>ALV.1</b>	38	14	103	0,8	65,28
<b>ALV.2</b>	40	16	102	0,7	120,20
<b>BEN.1</b>	241	9	120	0,6	222,17
<b>BEN.2</b>	339	10	122	0,5	285,20
<b>CALTA.1</b>	419	7	74	0,2	256,98
<b>CALTA.2</b>	417	9	82	0,2	419,18
<b>COR.1</b>	455	9	249	0,2	264,89
<b>COR.2</b>	456	10	250	0	371,85
<b>EQU.1</b>	316	13	124	1,1	35,36
<b>EQU.2</b>	318	13	122	1,2	103,67
<b>EST.1</b>	445	6	195	1,6	136,23
<b>EST.2</b>	443	7	197	1,4	480,00
<b>GOL1</b>	240	11	265	0,4	181,70
<b>GOL2</b>	242	11	263	0,6	75,48
<b>GUA.1</b>	465	6	213	1,6	265,00
<b>GUA.2</b>	467	7	211	1,6	151,01
<b>JAL.1</b>	30	14	95	1	37,72
<b>JAL.2</b>	29	15	97	0,9	52,46
<b>SINT.1</b>	175	11	154	1	162,05
<b>SINT.2</b>	177	9	152	0,9	168,37
<b>MNT.1</b>	178	5	83	1,2	463,03
<b>MNT.2</b>	180	5	85	1,1	773,61
<b>MT.1</b>	186	3	80	1	288,80
<b>MT.2</b>	184	4	82	0,8	608,75

**Tabela B.02 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo segundo GHOSE**

	$K_S$	$K_I$	$P_{m\acute{a}x}$	Desvio
<b>ALV.1</b>	153	14	230	33,92
<b>ALV.2</b>	151	16	232	193,90
<b>BEN.1</b>	313	9	304	216,02
<b>BEN.2</b>	315	11	300	248,37
<b>CALTA.1</b>	390	7	225	347,86
<b>CALTA.2</b>	388	9	227	615,07
<b>COR.1</b>	444	10	300	262,16
<b>COR.2</b>	445	12	295	358,05
<b>EQU.1</b>	401	13	136	39,11
<b>EQU.2</b>	399	12	138	141,46
<b>EST.1</b>	435	5	242	351,05
<b>EST.2</b>	433	6	244	748,42
<b>GOL1</b>	187	11	285	202,46
<b>GOL2</b>	189	11	283	125,92
<b>GUA.1</b>	360	4	201	901,51
<b>GUA.2</b>	362	6	199	893,77
<b>JAL.1</b>	34	14	95	33,97
<b>JAL.2</b>	33	16	98	89,97
<b>SINT.1</b>	150	11	141	171,49
<b>SINT.2</b>	148	9	143	193,36
<b>MNT.1</b>	180	5	77	560,51
<b>MNT.2</b>	178	5	79	874,28
<b>MT.1</b>	185	3	80	288,80
<b>MT.2</b>	187	5	78	1066,09

**Tabela B.03 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo segundo JIN**

	$K_S$	$K_1$	$K_2$	Desvio
<b>ALV.1</b>	187	0,003	0,012	15,44
<b>ALV.2</b>	185	0,002	0,011	77,66
<b>BEN.1</b>	342	0,003	0,012	149,64
<b>BEN.2</b>	341	0,003	0,011	178,54
<b>CALTA.1</b>	389	0,009	0,012	53,81
<b>CALTA.2</b>	392	0,009	0,010	131,99
<b>COR.1</b>	454	0,004	0,010	333,6
<b>COR.2</b>	455	0,004	0,009	471,88
<b>EQU.1</b>	372	0,008	0,010	53,67
<b>EQU.2</b>	370	0,009	0,010	125,302
<b>EST.1</b>	485	0,008	0,013	97,05
<b>EST.2</b>	486	0,006	0,012	349,45
<b>GOL1</b>	203	0,004	0,013	136,11
<b>GOL2</b>	201	0,005	0,013	42,37
<b>GUA.1</b>	409	0,014	0,013	86,90
<b>GUA.2</b>	409	0,014	0,011	32,92
<b>JAL.1</b>	206	0,007	0,011	104,60
<b>JAL.2</b>	204	0,005	0,011	57,75
<b>SINT.1</b>	169	0,011	0,013	118,80
<b>SINT.2</b>	167	0,012	0,014	60,96
<b>MNT.1</b>	233	0,019	0,018	1269,01
<b>MNT.2</b>	235	0,020	0,017	978,72
<b>MT.1</b>	255	0,023	0,019	819,34
<b>MT.2</b>	253	0,021	0,017	1147,44

**Tabela B.04 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo segundo LEE**

	$K_S$	$P_{\text{máx}}$	$n$	$X_{\text{máx}}$	$m$	Desvio
<b>ALV.1</b>	325	215	0	34	1,2	3825,33
<b>ALV.2</b>	326	216	0	36	1,1	3275,75
<b>BEN.1</b>	300	380	0	29	1,2	3630,48
<b>BEN.2</b>	298	382	0	30	1,2	3216,30
<b>CALTA.1</b>	430	230	0	28	1,2	2265,89
<b>CALTA.2</b>	432	232	0	28	1,2	2736,73
<b>COR.1</b>	355	267	0	27	1,2	4028,31
<b>COR.2</b>	356	268	0	28	1,2	5039,87
<b>EQU.1</b>	355	190	0	27	1,1	1321,89
<b>EQU.2</b>	358	192	0	29	1,2	1403,70
<b>EST.1</b>	465	260	0	25	1,2	2657,16
<b>EST.2</b>	463	262	0	26	1,3	3408,29
<b>GOL.1</b>	245	273	0	28	1,1	4984,13
<b>GOL.2</b>	247	275	0	29	1,2	4489,76
<b>GUA.1</b>	465	206	0,2	24	1,2	1860,04
<b>GUA.2</b>	463	208	0	26	1,4	1467,77
<b>JAL.1</b>	212	87	1,2	66	1,2	6490,80
<b>JAL.2</b>	210	85	1,3	67	1,1	10854,50
<b>SINT.1</b>	170	172	0	30	1,8	3819,31
<b>SINT.2</b>	172	174	0	30	1,9	3503,30
<b>MNT.1</b>	190	103	0	25	1,9	1525,70
<b>MNT.2</b>	188	105	0	27	2,1	1956,69
<b>MT.1</b>	200	115	0	23	2	845,44
<b>MT.2</b>	198	117	0	24	2,2	1488,26

**Tabela B.05 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo segundo SEVELY**

	$K_s$	$K_p$	$P_{m\acute{a}x}$	Desvio
<b>ALV.1</b>	1	4	179	6238,24
<b>ALV.2</b>	1	4	180	5070,41
<b>BEN.1</b>	114	4	400	7227,68
<b>BEN.2</b>	112	4	402	6566,80
<b>CALTA.1</b>	430	9	230	5897,42
<b>CALTA.2</b>	429	10	232	6884,19
<b>COR.1</b>	380	11	250	8355,43
<b>COR.2</b>	381	12	251	10324,20
<b>EQU.1</b>	430	17	240	2963,68
<b>EQU.2</b>	432	15	242	3927,74
<b>EST.1</b>	470	7	26	6712,60
<b>EST.2</b>	472	8	262	7982,45
<b>GOL1</b>	340	17	255	8443,11
<b>GOL2</b>	342	15	257	8099,34
<b>GUA.1</b>	465	8	260	3197,36
<b>GUA.2</b>	467	10	262	3263,95
<b>JAL.1</b>	1	4	138	3702,14
<b>JAL.2</b>	1	4	140	6123,93
<b>SINT.1</b>	186	9	170	9387,74
<b>SINT.2</b>	184	7	172	9314,97
<b>MNT.1</b>	210	3	100	8622,49
<b>MNT.2</b>	212	4	102	9536,55
<b>MT.1</b>	198	1	115	5743,49
<b>MT.2</b>	200	2	117	7261,08

**Tabela B.06 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo segundo LEVENSPIEL**

	$K_S$	$P_{m\acute{a}x}$	n	Desvio
<b>ALV.1</b>	23	75	1,2	14369,10
<b>ALV.2</b>	25	72	1,2	27212,50
<b>BEN.1</b>	430	62	1,2	11976,10
<b>BEN.2</b>	432	64	1,2	9936,81
<b>CALTA.1</b>	440	74	0,2	42143
<b>CALTA.2</b>	442	82	0,2	48062,5
<b>COR.1</b>	460	80	1,3	15134,70
<b>COR.2</b>	461	79	1,3	17851,30
<b>EQU.1</b>	445	71	1,3	6547,22
<b>EQU.2</b>	448	69	1,4	8028,29
<b>EST.1</b>	470	150	1,6	35778,90
<b>EST.2</b>	472	148	1,7	36471,00
<b>GOL1</b>	400	108	2,4	10673,80
<b>GOL2</b>	402	108	2,5	10717,80
<b>GUA.1</b>	465	78	1,2	12416,2
<b>GUA.2</b>	467	76	1,3	11863,00
<b>JAL.1</b>	257	75	1,2	9076,06
<b>JAL.2</b>	255	73	1,1	14510,10
<b>SINT.1</b>	255	84	2,1	15327,1
<b>SINT.2</b>	257	82	2,2	16032,50
<b>MNT.1</b>	250	70	1,6	25696,70
<b>MNT.2</b>	252	68	1,7	23306,40
<b>MT.1</b>	264	55	1,9	18198,50
<b>MT.2</b>	266	53	2,1	8302,40

**Tabela B.07 – Ajustes dos Méis utilizando o Modelo Misto**

	$n_F$	$n_G$	$K_{SF}$	$K_{SG}$	$K_{IF}$	$K_{IG}$	$P_{\max F}$	$P_{\max G}$	$D_F$	$D_G$
<b>ALV.1</b>	1,1	0,7	1,5	0,5	20	4,5	86	74	127,30	36,32
<b>ALV.2</b>	1,1	0,6	0,5	0,5	21	5,0	87	74	220,12	65,29
<b>BEN.1</b>	0,9	0,7	4,0	0,5	15	2,5	71	69	110,36	38,11
<b>BEN.2</b>	1,0	0,7	4,0	0,5	16	3,0	70	71	52,87	35,04
<b>CALTA.1</b>	1,1	1,0	3,5	0,5	5	2,5	74	63	66,97	71,59
<b>CALTA.2</b>	1,0	1,1	2,0	0,5	7	3,5	75	63	266,13	49,20
<b>COR.1</b>	0,9	0,8	0,5	0,5	12	3,0	78	70	68,88	57,05
<b>COR.2</b>	0,8	0,8	0,5	0,5	13	3,5	83	78	139,01	64,47
<b>EQU.1</b>	1,1	1,1	3,5	0,5	9	3,5	71	65	333,18	92,95
<b>EQU.2</b>	1,0	1,1	3,0	0,5	9	4,0	73	63	479,27	74,76
<b>EST.1</b>	1,1	1,1	0,5	0,5	4	2,5	77	60	51,31	62,94
<b>EST.2</b>	1,1	1,0	0,5	0,5	4	2,5	80	57	57,33	65,35
<b>GOL1</b>	0,9	0,9	0,5	0,5	8	3,5	74	72	6,78	22,07
<b>GOL2</b>	0,9	0,9	2,0	0,5	8	3,5	76	73	24,99	32,82
<b>GUA.1</b>	1,1	0,9	3,5	0,5	4	1,5	67	62	180,35	120,16
<b>GUA.2</b>	1,0	0,8	1,5	0,5	5	2,0	67	60	275,35	192,16
<b>JAL.1</b>	1,1	0,0	5,5	0,5	30	2,5	80	70	157,39	965,51
<b>JAL.2</b>	1,1	0,0	0,5	0,5	35	2,5	86	95	53,88	1648,35
<b>SINT.1</b>	0,9	1,0	3,0	0,5	13	3,5	82	80	46,04	24,03
<b>SINT.2</b>	0,8	0,9	3,5	0,5	12	3,0	80	78	121,79	50,75
<b>MNT.1</b>	1,1	1,1	0,5	0,5	5	1,5	70	66	387,59	195,75
<b>MNT.2</b>	1,1	1,1	0,5	0,5	5	1,5	71	70	404,53	228,56
<b>MT.1</b>	1,1	1,2	5,5	0,5	2	1,0	73	68	263,49	363,79
<b>MT.2</b>	1,1	1,2	3,5	0,5	3	1,5	75	68	328,17	399,53