

## PRODUÇÃO ESTIMADA DE ETANOL A PARTIR DE MOSTOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SUBSTRATO E CÉLULAS

Edvânia da Silva Santana<sup>1</sup>; Marcos Felício Vieira<sup>2</sup>; Gustavo Correia de Moura<sup>3</sup>; Raquel Gomes do Nascimento<sup>4</sup>; Luzidelson Baracho Ribeiro<sup>5</sup>

1 IFPB, silvaedvania400@gmail.com

2 IFPB, marcosfelicioviera@gmail.com

3 IFPB, gustavo@gmail.com

4 UFPB, gn.raquel@gmail.com

5 IFPB, luzidelson.ribeiro@ifpb.edu.br

### Introdução

O etanol é um combustível produzido a partir de fontes renováveis e, na utilização como oxigenante da gasolina, diminui as emissões dos gases de efeito estufa. Essas duas características lhe dão uma importância estratégica ao combate à intensificação do efeito estufa e seus efeitos nas mudanças climáticas globais, e colocam o produto em linha com os princípios do desenvolvimento sustentável. Em comparação com o petróleo e seus derivados, apresenta baixa toxidez e elevada biodegradabilidade, fatores da maior importância no caso de derramamentos acidentais e vazamentos de combustíveis em costas litorâneas, solos, águas superficiais e subterrâneas. Isso quer dizer que, em caso de acidentes, os impactos ambientais do etanol são substancialmente menores e a recomposição do meio ambiente ocorre mais rapidamente em comparação com os combustíveis fósseis (UNICA, 2007).

A levedura utilizada na fermentação alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae*, da qual foram selecionadas várias linhagens, tidas por muito tempo como espécies: *Saccharomyces ellipsoideus*, *S. carlsbergensis*, *S. uvarum*. Cada linhagem (isolada de meios diferentes) tem suas características próprias, afetadas pelas condições que o processo fermentativo se desenvolve (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

A temperatura é sem dúvida, um dos mais importantes parâmetros ambientais que influenciam todas as atividades dos microrganismos, e as leveduras não são exceção. É regra prática estudar o metabolismo da levedura nas temperaturas ao redor de 25 a 30 °C, embora estas temperaturas possam não ser estritamente pertinentes ao considerar os habitats naturais de muitas espécies de leveduras (WATSON, 1987).

O etanol em concentrações relativamente baixas, inibe o crescimento da levedura, inibindo a divisão celular, diminuindo o volume celular e a taxa de crescimento específico, enquanto que altas concentrações de etanol diminuem a vitalidade da célula e aumentam a morte celular (BIRCH; WALKER, 2000).

O trabalho teve por objetivo avaliar a produção de etanol a partir da fermentação do caldo de cana e mel final, pela levedura Fermol Millenium Destiler – SC 20 à concentrações distintas de açúcares (13, 15 e 18 °Brix) e células (10 e 30 g/L), à uma temperatura fixa de 32 °C.

### Metodologia

Antes de iniciar o processo de fermentação, foi necessário a realização de uma multiplicação de leveduras, onde foi adicionado a levedura liofilizada em um meio de cultura e submetido ao processo de propagação a uma temperatura fixa, de 32 °C.

O meio de cultura utilizado foi o caldo de cana comercial, onde foram preparadas soluções na concentração de 10 °Brix, utilizando água destilada e esterilizada em autoclave por 15 min, a uma temperatura de 120 °C. As soluções preparadas foram transferidas para erlenmeyers de 1 litro, onde em cada erlenmeyer foi adicionado 2,0 g/L da levedura industrial Fermol Millenium Destiler (SC 20), liofilizada. Após a inoculação da levedura, as amostras foram transferidas para uma incubadora, onde foram submetidas a temperatura e agitação orbital constantes, de 32°C e 150 rpm. As amostras foram mantidas na incubadora durante 24 horas e após esse período (fim da propagação), foram transferidas para tubos falcon de 50 mL, previamente pesados, onde os mesmos foram submetidos a uma centrifugação a 6.000 rpm durante 10 minutos. Após a centrifugação foi descartado a parte sobrenadante e os tubos foram novamente pesados para determinação da biomassa produzida (massa úmida).

Após o processo de propagação de leveduras, foi realizado a transferência de células para os meios de fermentação (mostos) a serem estudados. A transferência foi realizada com auxílio de uma câmara de fluxo laminar, para evitar contaminação das amostras. Os meios de fermentação utilizados foram caldo misto e mel final, obtidos diretamente do processo industrial, onde foram preparadas soluções a concentrações de 15 e 18 ° Brix a partir do caldo misto e solução de 13° Brix, a partir do mel final. Para as soluções de 15 e 18 ° Brix, foram inoculados 10 g/L de células e para a solução de 13 °Brix, 30 g/L de células.

Foram realizadas amostragens, em duplicata, ao término de 8 e 12 horas de fermentação. Das amostras coletadas, 2,0 mL foram transferidas para micro tubos, com auxílio de uma pipeta automática e estes foram submetidos à uma centrifugação, em centrífuga do tipo eppendorf, a uma rotação de 10.000 rpm por um tempo de 5 minutos. Após a centrifugação, foi retirado a parte sobrenadante contida nos micro tubos, com auxílio de uma pipeta automática, para análise da concentração de sólidos solúveis, medida em graus brix, onde foi utilizado um refratômetro de bancada.

As concentrações de substrato foram tabeladas e em seguida, calculado as produções (g/L) e produtividades (g/L.h) teóricas de etanol, durante o período de 8 e 12 horas de fermentação.

## **Resultados e discussão**

O mosto de caldo misto, a 15 °Brix e 10 g/L de células, apresentou produções teóricas de etanol de 0,95 g/L a 8 horas e de 1,76 g/L a 12 horas. Suas produtividades foram de 0,12 g/L.h e 0,15 g/L.h, respectivamente. O mosto de caldo misto a 18 °Brix e 10 g/L de células, apresentou produções teóricas de etanol de 0,73 g/L a 8 horas e de 1,56 g/L a 12 horas e produtividades, respectivamente iguais a 0,09 g/L.h e 0,13 g/L.h. O mosto de mel final, a 13 °Brix e 30 g/L de células, apresentou produções teóricas de etanol de 2,15 g/L a 8 horas e de 3,12 g/L a 12 horas e produtividades de 0,27 g/L.h e 0,26 g/L.h, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos, observamos que o mosto preparado a 18° Brix com concentração de células de 10 g/L, foi o que obteve menor produção teórica de etanol, tanto para 8 horas de fermentação, como para 12 horas. Ao reduzirmos a concentração de substrato desse mesmo mosto de 18 para 15 ° Brix, mantendo fixa a concentração de células em 10 g/L, a produção teórica aumentou em 0,21 g/L em 8 horas e em 0,20 g/L em 12 horas de fermentação. Reduzindo ainda mais a concentração de substrato para 13 °Brix, conforme o mosto produzido com mel final, e elevando a concentração celular para 30 g/L, obtivemos os melhores resultados para as 8 e 12 horas de fermentação.

## Conclusões

Observamos que ao reduzir a concentração de substrato do mosto produzido a partir do caldo misto, de 18 °Brix para 15 °Brix, obtivemos resultados mais satisfatórios, o que nos faz concluir que, a concentração de células utilizada (10 g/L) não é ideal para concentrações elevadas de substratos, no caso em estudo, 18 ° Brix. Ao reduzir ainda mais a concentração de substrato para 13 °Brix e elevar a concentração de células para 30 g/L, obtivemos produções bem superiores, tanto para 8 como para 12 horas de fermentação, o que nos faz concluir que a escolha das concentrações de substrato e de células são fundamentais para a eficiência do processo de fermentação alcoólica e deve ser estudada para cada tipo de mosto, cepa de levedura e condições de processo.

Comparando as produções teóricas nos tempos de 8 e 12 horas, podemos verificar que os melhores resultados se deram para o tempo de 12 horas, porém esse tempo de fermentação deve ser levado em consideração, pois nem sempre as indústrias dispõem do fator tempo, sem falar que fermentações mais demoradas favorecem o surgimento de produtos secundários e, conseqüentemente, a perda de etanol. A escolha do tempo ideal dependerá não somente da produção, mas também das condições do processo e da qualidade do produto requerida.

**Palavras-Chave:** mel final; mosto; levedura; fermentação; etanol.

## Referências

- ARAÚJO, Frederico A. Dantas de, Processo de Clarificação do Caldo da Cana pelo Método da Bicarbonatação, Revista Ciência & Tecnologia, ano I, n. 1, julho-dezembro, 2007.
- BIRCH, R.M.; WALKER, G.M. Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, Surrey, v. 26, p. 678–687, 2000.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Métodos Analíticos de Controle Químico da Fermentação. Piracicaba, 2005.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Métodos de Microbiologia do Fermento. Piracicaba, 2007.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Controle Químico da Fabricação de Açúcar. Piracicaba, 2005.
- FERNANDES, A. C. Cálculos na Agroindústria da Cana-de-Açúcar. Piracicaba: STAB, 2003. 240 p.
- LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. Produção de etanol. In: LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos*. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. cap. 1, p. 1-40.
- UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA. Produção e uso do etanol combustível no Brasil. São Paulo, 2007. 68 p.
- WATSON, K. Temperature relations. In: ROSE, A. (Ed.). *The yeasts*. London: Academic Press, 1987. v. 2, chap. 3, p. 41-71.