

ANÁLISE DO DESEMPENHO DE FERMENTAÇÕES ALCOÓLICAS COM ALTOS TEORES DE AÇÚCARES A PARTIR DA TECNOLOGIA VHG (VERY HIGH GRAVITY)

A. L. M. CASTRO¹, M. L. CRUZ¹, E. J. RIBEIRO¹, M. M. DE RESENDE¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química
E-mail para contato: mresende@ufu.br

RESUMO – Este trabalho baseia-se em analisar de forma comparativa os efeitos de utilizar uma alta concentração de açúcares, a partir da tecnologia VHG, no meio de alimentação para fermentações alcoólicas. Empregou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 e açúcar cristal comum nas concentrações de 189,5g/L e 290g/L, temperatura de 24°C e 45% v/v em 0,5L de células no inóculo para produção de etanol. A fermentação estudada apresentou ao final uma produção de etanol de 16,8°GL.

1. INTRODUÇÃO

A produção de etanol por meio da fermentação alcoólica resulta em uma grande produção de resíduo, mais conhecido como vinhaça. Em média para cada litro de etanol produzido são gerados cerca de 12 litros de vinhaça (UNICA, 2012). No Brasil, estimou-se que na safra de 2015/16 foi produzido em torno de 365 bilhões de litros de vinhaça (UNICA, 2016), um valor três vezes maior que a produção mundial de etanol no mesmo período (RFA, 2016). A avaliação da produção de vinhaça é feita através da análise da concentração de etanol, desta forma, uma maior concentração de etanol gera uma menor produção de vinhaça.

Em consequência das características físico-químicas que a vinhaça possui, ela é utilizada como fertilizante agrícola, contudo segundo Silva et al. (2007) a vinhaça possui DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) de 20.000 a 35.000 mg/L. A mesma foi estudada por Freire e Cortez (2000), que alegaram que o esgoto doméstico é 100 vezes menos poluidor que a vinhaça. Ocorre que ao entrar em contato com o solo, ela provoca modificações na dinâmica de íons, que acarretam em lixiviação de solos podendo, portanto, atingir aquíferos e águas subterrâneas. Além disto, a vinhaça em grande volume provoca um maior gasto energético para as destilarias.

O setor sucroalcooleiro sempre está à procura de formas para melhorar o processo fermentativo, estudando diferentes tecnologias. Baseado nisto a tecnologia de fermentação com altos teores de açúcares fermentescíveis (Very High Gravity) surge como uma importante técnica a ser analisada. Os benefícios da VHG incluem considerável economia de água, maior produtividade etanol, redução de custos associados ao tratamento do efluente (vinhaça), considerável economia energética na etapa de destilação, menor custo de capital e menor contaminação bacteriana (PULIGUNDLA, 2011).

Contudo, são poucos os casos em que estas fermentações são completas, pois o açúcar provoca um aumento da pressão osmótica, afetando a fisiologia celular, além de que o teor de etanol é maior, elevando o estresse etanoico para as células (PEREIRA et al., 2010).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o grupo mais utilizado atualmente devido aos bons resultados que esta espécie apresenta frente aos estresses que as fermentações causam e à sua capacidade de fermentar com diferentes açúcares (LANDRY et al., 2006).

Este trabalho propôs-se comparar os resultados gerados por uma fermentação alcoólica usual e outra que utilizou da tecnologia VHG, ou seja, variaram-se as concentrações de açúcar no mosto fermentativo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Na realização dos experimentos foi utilizado um fermentador modelo New Brunswick Multigen, o qual permite controlar a agitação e a temperatura de operação em batelada. O volume útil do reator é de 1,5 litros. As fermentações foram realizadas em batelada. Permitiu-se fixar a temperatura para os experimentos em 24°C em razão de um banho termostático.

Para o inóculo utilizou a levedura *Saccharomyces cerevisiae* da cepa industrial Y904 produzida pela AB Brasil. A levedura foi posta para hidratação em água e armazenada na geladeira com aproximadamente 2 horas de antecedência a fermentação. A quantidade de levedura inoculada 45% v/v e foi a mesma para ambos os experimentos.

O meio de cultura foi composto por KH_2PO_4 (5g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1g/L), NH_4Cl (1,67g/L), KCl (1g/L), extrato de levedura puríssima (6g/L) e sacarose, que variou-se para cada experimento (189,5g/L e 290g/L). Todos reagentes são de grau analítico, com exceção da sacarose, que foi açúcar cristal comercial.

Em certos intervalos, a maioria de aproximadamente 2 horas, desde o início da fermentação até o seu fim, retirou-se amostras de cada uma das fermentações. As amostras eram então diluídas, filtradas e injetadas em um sistema cromatográfico capaz de detectar, por índice de refração, e quantificar o etanol, os açúcares totais e o glicerol. Este método é mais conhecido como cromatografia de alta eficiência (HPLC – High Performance Liquid Chromatography).

A viabilidade celular das amostras foi analisada por meio de uma câmara de Neubauer espelhada e um microscópio óptico (Olympus). E para a contagem das células usou-se a técnica de coloração de azul de metileno, esta método as células permanecem não coradas quando estão viáveis e enquanto as que estão mortas coram-se de azul.

O rendimento em grama de etanol por grama de açúcar residual total inicial (ART_i) foi determinado pela Equação 2.1

$$Y_{P/S} = \frac{C_{\text{etanol } f}}{0,511 * C_{\text{ART } i}} * 100\% \quad (2.1)$$

$Y_{P/S}$ = rendimento de etanol formado em relação aos açúcares totais consumidos (%);

$C_{\text{etanol } f}$ = concentração de etanol (g/L) ao final da fermentação;
 C_{ATRI} = concentração de açúcar redutor total inicial (g/L).

A produtividade do etanol foi calculada pela Equação (2.2.)

$$Pr_{\text{etanol}} = \frac{C_{\text{etanol } f}}{t} \quad (2.2)$$

Pr_{etanol} = produtividade do etanol (g/ L.h);
 $C_{\text{etanol } f}$ = concentração de etanol (g/L) ao final da fermentação;
 t = tempo final de fermentação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi feita a análise do rendimento, produtividade e do teor alcoólico obtido ao final de cada uma das fermentações. Para determinar a finalização dos experimentos esperou-se que todo o substrato fosse consumido, isto é, esperou-se que o ART chegasse à zero.

A Figura 3.1 apresenta os perfis de consumo de sacarose, de produção de etanol e do crescimento celular em função do tempo para a fermentação que teve concentração inicial de sacarose de 189,5g/L, concentração usualmente utilizada nas indústrias brasileiras.

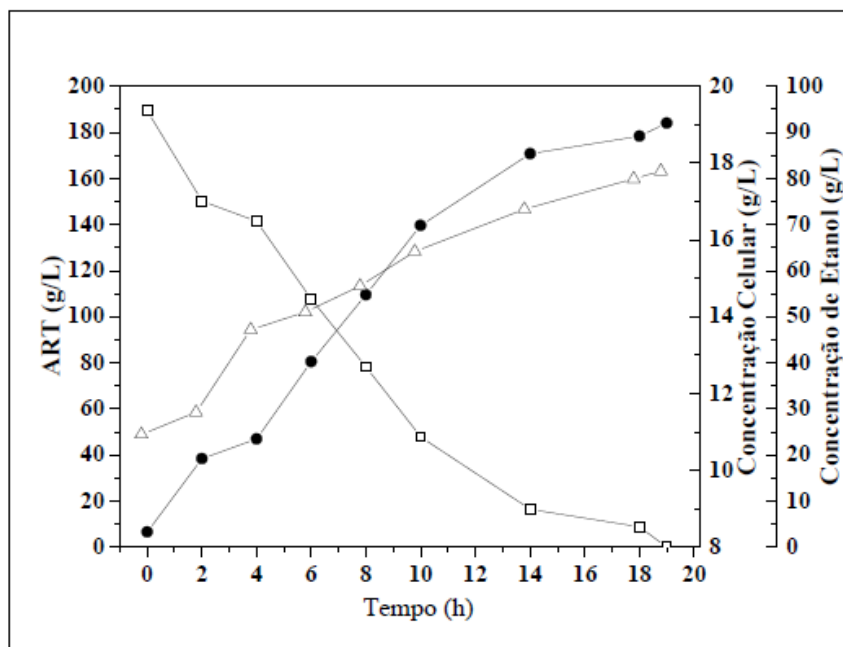


Figura 3.1 - Perfis de concentração de açúcar redutor total - ART (□), concentração de etanol (●) e concentração celular (Δ) em função do tempo para o experimento realizado a 24°C.

A Figura 3.2 mostra os mesmos perfis observados na Figura 3.1, em função do tempo, com exceção dos dados do crescimento celular da fermentação.

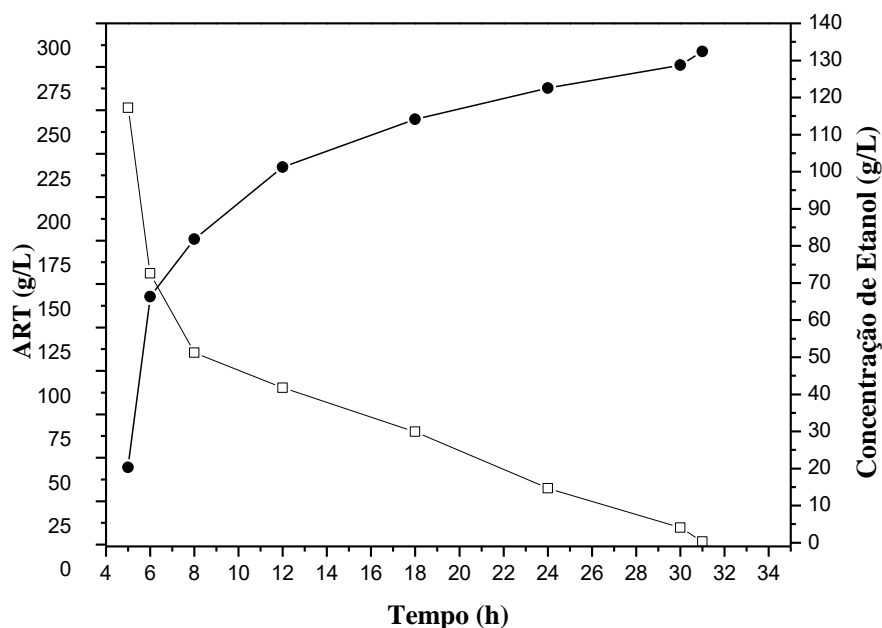


Figura 3.2 - Perfis de concentração de açúcar redutor total- ART (□) e concentração de etanol (●) em função do tempo, para o experimento realizado a 24°C.

Os cálculos mostraram que na fermentação com 189,5g/L de sacarose inicial alcançou um tempo final de fermentação de 19 horas, um rendimento de 87%, produtividade de 4,73 g_{etanol}/L.h e o teor alcoólico foi de 10,5°GL, com todo substrato consumido. Enquanto que na fermentação VHG, que teve 290g/L de concentração inicial de sacarose, obteve-se no tempo final de fermentação de 31 horas, rendimento de 91%, produtividade de 4,42 g_{etanol}/L.h e teor alcoólico de 16,8°GL, novamente com o consumo total do substrato.

Em sua pesquisa F. W Bai et. al. (2004) realizou experimentos numa concentração inicial de açúcares de 280g/L, valor semelhante ao utilizado na fermentação VHG deste trabalho, e com a mesma levedura. O melhor resultado obtido foi de uma produção de concentração média de etanol de 124,6 g/L ou 15,8°GL. Portanto, os resultados obtidos foram satisfatórios e a mostrou-se que a tecnologia VHG apresenta-se como um bom aprimoramento às fermentações alcoólicas.

4. CONCLUSÕES

A fermentação que teve uso da tecnologia VHG (Very High Gravity), com uma concentração inicial de sacarose de 290g/L, apresentou-se um tempo final maior de fermentação, porém atingiu produtividade aproximadamente igual; e rendimento e teor alcoólico superiores. Desta forma, a fermentação VHG se mostrou superior em termos dos benefícios da mesma, tais como economia de água, maior produtividade etanol, redução de custos associados ao tratamento da vinhaça.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UFU, CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo apoio para realização deste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- BAY F.W.; CHEN L.J.; ZHANG W.A.; MOO-YOUNG M. Continuous ethanol production and evaluation of yeast cell lysis and viability loss under very high gravity medium conditions, *Journal of Biotechnology*, v. 110, p. 287-293, 2004.
- FREIRE, W.J.; CORTEZ, L.A.B. Vinhaça de Cana-de-Açúcar. Guaíba: Agrupercuária, 2000. 203p.
- LANDRY, C. R.; TOWNSEND, J. P.; HARTL, D. L.; CAVALIERI, D. Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Ecol.* v. 15, p. 575-591, 2006.
- PEREIRA, F. B.; GUIMARÃES, P. M. R.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Optimization of low-cost medium for very high gravity ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* using statistical experimental designs. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 7856-7863, 2010.
- PULIGUNDLA, P.; SMORGROVICOVA, D.; OBULAN, V.S.R.; KO, S. Very high gravity ethanolic brewing and fermentation: a research update. *Journal of Industry Microbiology and Biotechnology*, Hampshire, v.38, p.1133-1144, 2011.
- RFA – World Fuel Ethanol Production. Disponível em: <<https://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1456770302650-ba1c280f-bad8>> acesso em 30 de abril de 2016.
- SILVA, M. A. S. da; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso da vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 11, p. 108-114, 2007.
- UNICA – Cresce Utilização de Vinhaça de Cana Para Gerar Energia e Como Fertilizante, 2012. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticia/39870311920324775593/cresce-utilizacao-de-vinhaca-de-cana-para-gerar-energia-e-como-fertilizante-/>> acesso em 27 de março de 2017.
- UNICA – Resumo de Atividades Safra 2015/16. Disponível em: <<https://www.unica.com.br/download.php?idSecao=17&id=1053474>> acesso em 30 de abril de 2016.