

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA  
CENTRO MULTIDISCIPLINAR DE LUÍS EDUARDO MAGALHÃES – CMLEM

FRANCYSLAYNE DE JESUS OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA MONITORAMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE ETANOL EM FERMENTAÇÕES ALCOÓLICAS DE  
PEQUENA ESCALA**

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES – BA

2025

FRANCYSLAYNE DE JESUS OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA MONITORAMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE ETANOL EM FERMENTAÇÕES ALCOÓLICAS DE  
PEQUENA ESCALA**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia, sob a orientação do professor Dr. Kaio César da Silva Rodrigues e coorientação do professor Dr. Pedro Dias Pinto.

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES – BA

2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

---

O48 Oliveira, Francyslayne de Jesus.

Desenvolvimento de metodologia para monitoramento da concentração de etanol em fermentações alcoólicas de pequena escala. / Francyslayne de Jesus Oliveira. – 2025.

44 f.; il. color.

Orientador: Prof. Dr. Kaio César da Silva Rodrigues.

Coorientador: Prof.Dr. Pedro Dias Pinto.

Trabalho de Conclusão de Curso: (graduação em Engenharia de Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, Luís Eduardo Magalhães, BA, 2025.

1. Biocombustível - Etanol. 2. Fermentação alcoólica. 3. Processos biotecnológicos.

I. Rodrigues, Kaio César da Silva. II. Pinto, Pedro Dias. III. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. IV. Título.

CDD: 662.8

---

BIBLIOTECAS UFOB - Biblioteca Universitária de Luís Eduardo Magalhães

**FRANCYSLAYNE DE JESUS OLIVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA MONITORAMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE ETANOL EM FERMENTAÇÕES ALCOÓLICAS DE  
PEQUENA ESCALA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães da Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia.

Luís Eduardo Magalhães, BA, 26 de março de 2025

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira  
Universidade Federal do Oeste da Bahia

---

Prof. Dr. Jorge Luís Silveira Sonogo  
Universidade Federal do Oeste da Bahia

(A versão assinada deste documento encontra-se com a coordenação de curso)

## AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar, por ser minha fonte inesgotável de força e amor e por me guiar ao longo do processo.

Aos meus pais, Ed-Clécia e Luciano, que estiveram ao meu lado em todos os momentos dessa jornada, me dando carinho, apoio e incentivo.

Ao meu orientador, Professor Dr. Kaio César Rodrigues, por toda dedicação, empenho e esforço no desenvolvimento desse trabalho e por sempre ser gentil e compreensivo.

Ao meu coorientador, Professor Dr. Pedro Dias, por todas as valiosas contribuições e por ceder seu tempo e conhecimento em prol da finalização desse trabalho.

À minha equipe de laboratório, Lara e Tawa, por me ajudarem na condução dos experimentos e por compartilharem comigo dificuldades e conquistas.

Aos amigos que fiz na Universidade, especialmente Wallisson, Mateus, Tamires, Nubya, Giovana, Stefania, Adriana, Edielma e Beatriz, pelos momentos de descontração e por trazerem alegria e leveza para esse período tão desafiador.

Ao Professor Dr. Jorge Luís Silveira Sonogo e o Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela realização de análises químicas fundamentais para a conclusão desse trabalho.

À Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), por ceder o espaço onde foram realizadas a maior parte das análises experimentais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo auxílio financeiro (Termo de Outorga n° PPP0008/2024).

MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

O aumento na demanda global por energia, somado às exigências ambientais, tem impulsionado o uso de fontes mais sustentáveis, como o etanol, um biocombustível limpo e renovável. O Brasil, segundo maior produtor mundial, está expandindo sua produção e promovendo o desenvolvimento de novas tecnologias. O etanol é produzido majoritariamente a partir da fermentação do caldo de cana-de-açúcar, onde a sacarose é convertida em etanol,  $\text{CO}_2$  e outros compostos secundários. Durante o processo, o  $\text{CO}_2$  é liberado do meio e carrega consigo parte dos compostos voláteis, como água e etanol, criando um sistema constituído de duas fases, líquida e vapor. Dada a relevância econômica, a otimização da produção de etanol é um tema que desperta grande interesse, envolvendo geralmente estudos em pequena escala devido ao baixo custo e a facilidade de execução. Nesse contexto, o monitoramento da concentração dos compostos presentes no caldo fermentativo, especialmente o etanol, é fundamental. Contudo, técnicas tradicionais de quantificação geralmente são lentas ou complexas, dificultando a sua utilização. Assim, métodos mais práticos são desejáveis. O presente trabalho buscou, então, desenvolver uma metodologia simples para monitoramento da concentração de etanol em fermentações alcoólicas de pequena escala com base em conceitos de equilíbrio líquido-vapor e balanço de massa e na estequiometria da fermentação. A partir de um conjunto de equações, foi obtido um modelo matemático para determinação da concentração de etanol em função da perda de massa e temperatura do sistema. Para fins de validação, dados calculados através do modelo foram comparados com resultados obtidos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Por fim, o modelo foi utilizado no monitoramento de uma fermentação alcoólica. Os resultados da validação, bem como da aplicação prática, atestaram a precisão do modelo e evidenciaram a sua capacidade de oferecer uma alternativa simples e eficaz aos métodos convencionais na determinação da concentração de etanol.

**Palavras-chave:** Equilíbrio líquido-vapor, balanço de massa, modelo matemático, fermentação alcoólica e monitoramento de bioprocessos.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura <i>S. cerevisiae</i> . .7	
Figura 2 - Perfis de concentração de células (X), substrato (S) e produto (P) para um processo em batelada. ....9	9
Figura 3 - Esquema de um sistema de fermentação alcoólica em frasco de pequena escala. ..15	15
Figura 4 - Representação gráfica do ajuste linear da densidade em função da concentração de etanol e da temperatura. ....20	20
Figura 5 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com $\gamma$ constante e $\gamma$ modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 28 e 29 °C. ....25	25
Figura 6 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com $\gamma$ constante e $\gamma$ modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 30 e 31 °C. ....25	25
Figura 7 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com $\gamma$ constante e $\gamma$ modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 32,33 e 34 °C. ...26	26
Figura 8 - Comparação dos dados de concentração de etanol obtidos a partir dos dois métodos. ....28	28
Figura 9 - Análise de regressão linear dos dados obtidos pelo modelo matemático e pela análise em HPLC para as temperaturas de 29 e 33 °C.....30	30
Figura 10 - Representação gráfica da análise de sensibilidade. ....31	31
Figura 11 - Representação gráfica do coeficiente de variação. ....32	32
Figura 12 - Perfil de concentração de etanol. ....34	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vantagens e limitações dos métodos convencionais de quantificação de etanol. ...	12
Tabela 2 - Coeficientes do ajuste linear da densidade em função da concentração de etanol e da temperatura. ....	19
Tabela 3 - Constantes de Antoine adotadas na resolução numérica.....	21
Tabela 4 - Parâmetros do modelo NRTL utilizados na resolução numérica. ....	21
Tabela 5 - Valores numéricos adotados para as propriedades físicas de etanol, água e CO <sub>2</sub> ...	21
Tabela 6 - Condições de operação do sistema. ....	21
Tabela 7 - Dados de perda de massa e respectivos valores de concentração de etanol calculados pelo modelo matemático e determinados através de análise em HPLC para a temperatura de 29 °C. ....	28
Tabela 8 - Dados de perda de massa e respectivos valores de concentração de etanol calculados pelo modelo matemático e determinados através de análise em HPLC para a temperatura de 33 °C. ....	28
Tabela 9 - Resultados do Teste de Wilcoxon para as duas condições de temperatura avaliadas. ....	29
Tabela 10 - Resultados da análise de correlação linear realizada para as duas condições de temperatura avaliadas. ....	30
Tabela 11 - Dados médios de perda de massa e seus respectivos valores de concentração de etanol calculados através do modelo matemático.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- $C_{EL}$ : Concentração de etanol ( $\text{g.L}^{-1}$ )
- T: Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )
- $m_{TG}$ : Perda de massa total do gás (g)
- $n_{EL}$ : Número de mols de etanol no líquido (mols)
- $n_{TG}$ : Número de mols total do gás (mols)
- $V_L$ : Volume da fase líquida (L)
- $MM_E$ : Massa molar do etanol ( $\text{g.mol}^{-1}$ )
- $MM_W$ : Massa molar da água ( $\text{g.mol}^{-1}$ )
- $MM_C$ : Massa molar do  $\text{CO}_2$  ( $\text{g.mol}^{-1}$ )
- $y_E$ : Fração molar de etanol na fase vapor
- $y_W$ : Fração molar de água na fase vapor
- $y_C$ : Fração molar de  $\text{CO}_2$  na fase vapor
- $x_E$ : Fração molar de etanol na fase líquida
- $x_W$ : Fração molar de água na fase líquida
- $\gamma_E$ : Coeficiente de atividade do etanol
- $\gamma_W$ : Coeficiente de atividade da água
- $P_{SE}$ : Pressão de vapor do etanol (KPa)
- $P_{SW}$ : Pressão de vapor da água (KPa)
- P: Pressão absoluta do sistema (KPa)
- $\rho$ : Densidade da fase líquida ( $\text{Kg.m}^{-3}$ )
- $A_E$ : Constante de Antoine para o etanol
- $A_W$ : Constante de Antoine para a água
- $B_E$ : Constante de Antoine para o etanol ( $^{\circ}\text{C}$ )
- $B_W$ : Constante de Antoine para a água ( $^{\circ}\text{C}$ )
- $C_E$ : Constante de Antoine para o etanol ( $^{\circ}\text{C}$ )
- $C_W$ : Constante de Antoine para a água ( $^{\circ}\text{C}$ )

$\tau_{WE}$ : Parâmetro de energia interacional do modelo NRTL

$\tau_{EW}$ : Parâmetro de energia interacional do modelo NRTL

$G_{WE}$ : Energia de interação do modelo NRTL (

$G_{EW}$ : Energia de interação do modelo NRTL

$a_{EW}$ : Constante ajustada do modelo NRTL

$a_{WE}$ : Constante ajustada do modelo NRTL

$b_{EW}$ : Constante ajustada do modelo NRTL (°C)

$b_{WE}$ : Constante ajustada do modelo NRTL (°C)

$c_{EW}$ : Constante ajustada do modelo NRTL

$c_{WE}$ : Constante ajustada do modelo NRTL

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA .....	5
2	OBJETIVOS.....	6
2.1	Objetivo geral .....	6
2.2	Objetivos específicos .....	6
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	7
3.1	Bioquímica da fermentação alcoólica.....	7
3.2	Fatores que afetam a fermentação alcoólica.....	9
3.2.1	Temperatura.....	9
3.2.2	pH .....	9
3.2.3	Concentração de substrato .....	10
3.3	Produção de etanol no Brasil .....	10
3.4	Métodos de quantificação de etanol .....	10
3.5	Equilíbrio de fases - Equilíbrio líquido-vapor.....	12
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	15
4.1	Desenvolvimento do modelo matemático .....	15
4.2	Ajuste linear da densidade.....	19
4.3	Resolução numérica.....	20
4.4	Validação e aplicação do modelo matemático .....	22
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
5.1	Obtenção do modelo matemático .....	24
5.2	Validação .....	28
5.3	Influência da temperatura sobre a concentração de etanol .....	30
5.4	Aplicação do modelo matemático .....	33
6	CONCLUSÃO .....	35
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36

## 1 INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

A crescente demanda energética global, aliada às preocupações ambientais com o aquecimento global e à emissão de gases de efeito estufa, tem impulsionado a busca por fontes de energia mais sustentáveis (Joshi *et al.*, 2017). Nesse contexto, o etanol surge como uma alternativa vantajosa, já que é um combustível renovável, limpo e acessível (Kang *et al.*, 2015). Atualmente, ele é o biocombustível mais consumido mundialmente, com o Brasil sendo o segundo maior produtor (UNICA, 2024). E a tendência é que o setor brasileiro cresça ainda mais com a Política Nacional de Biocombustíveis, RenovaBio, que incentiva pesquisas para o desenvolvimento de novas tecnologias (RFA, 2018).

No Brasil, o etanol é produzido em larga escala através da fermentação de caldo de cana-de-açúcar concentrado ou melaço diluído (Flausinio, 2015). A sacarose presente no mosto é hidrolisada, gerando açúcares redutores (glicose e frutose) que são convertidos em etanol, CO<sub>2</sub> e energia pela ação de microrganismos em condições anaeróbicas. No processo também são produzidos, em menor proporção, biomassa celular, glicerol, ácidos orgânicos e álcoois superiores (Alterthum *et al.*, 2020).

Durante a fermentação alcoólica, o CO<sub>2</sub> é liberado do meio reacional e arrasta consigo uma parte dos componentes voláteis, como água e etanol. O sistema é constituído, então, por uma fase líquida e outra gasosa (Santos *et al.*, 2012). Nesse contexto, estudos de aperfeiçoamento da produção de etanol vêm sendo desenvolvidos levando em conta os balanços molares dos componentes e o equilíbrio termodinâmico entre as fases (Silva *et al.*, 2015).

Os estudos de otimização são altamente relevantes no contexto da produção de etanol, pois contribuem para o aumento da produtividade (Gimenez *et al.*, 2018). Nesse sentido, as investigações preliminares geralmente são conduzidas em pequena escala, por proporcionarem menor esforço experimental, simplicidade operacional e custos reduzidos (Mesquita, 2021). Dentre as análises importantes destaca-se o monitoramento da concentração dos compostos presentes no caldo fermentativo, principalmente o etanol. No entanto, técnicas tradicionais de quantificação, como cromatografia, não suprem as necessidades de todos os campos de atuação (Santos *et al.*, 2022). Assim, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos mais simples e práticos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver metodologia para monitoramento da concentração de etanol em fermentações alcoólicas de pequena escala.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Modelar matematicamente o processo fermentativo com base em conceitos de equilíbrio líquido-vapor e balanço de massa e na estequiometria da fermentação alcoólica;
- Obter modelo matemático para determinação da concentração de etanol a partir de dados de perda de massa e temperatura do sistema;
- Validar o modelo matemático através da comparação com resultados obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Aplicar o modelo matemático no monitoramento de uma fermentação alcoólica de pequena escala.

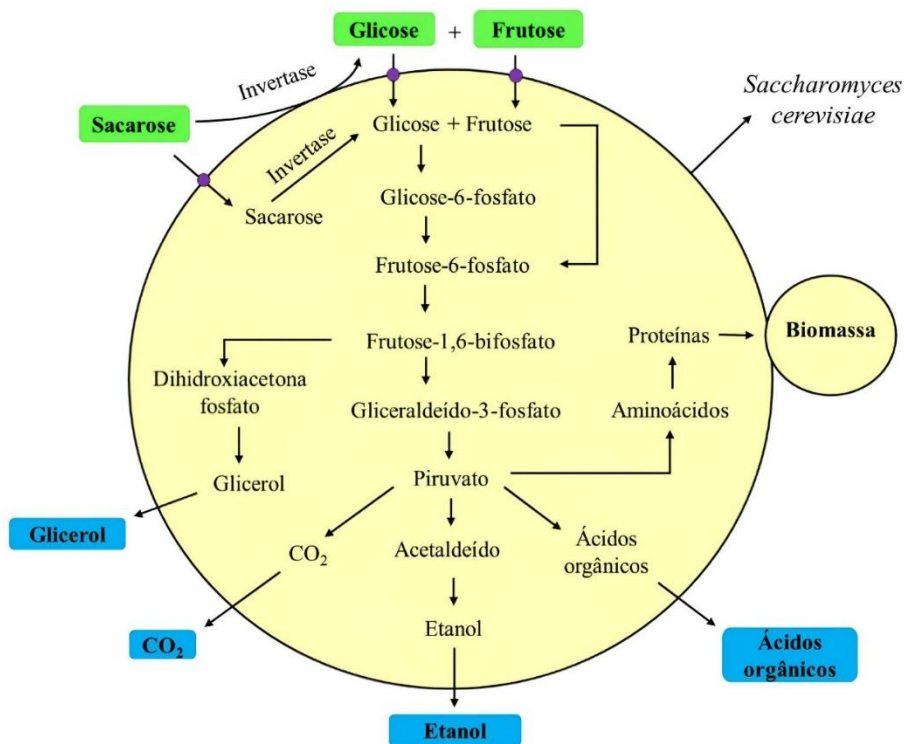
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Bioquímica da fermentação alcoólica

Fermentação alcoólica é a conversão de açúcares em etanol e  $\text{CO}_2$ , além de outros compostos secundários, pela ação de microrganismos. Esse processo biológico acontece em regime de anaerobiose no citoplasma da célula e envolve reações sequenciais ordenadas, catalisadas por enzimas glicolíticas, conforme esquema ilustrado na Figura 1. Essas enzimas são afetadas por fatores como concentração de substrato, pH e temperatura. Alguns desses fatores favorecem a ação enzimática, enquanto outros prejudicam o desempenho do processo fermentativo (Cruz, 2019).

A metabolização anaeróbica do açúcar é realizada pelo microrganismo visando a produção de energia na forma de ATP (Adenosina Trifosfato) para multiplicação e manutenção celular. Desse modo, o etanol, o  $\text{CO}_2$  e os demais compostos resultantes do processo fermentativo não possuem utilidade metabólica para a célula, sendo apenas produtos de excreção (Guidini, 2013).

Figura 1 - Esquema da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura *S. cerevisiae*.



Fonte: Rodrigues (2019).

Embora algumas bactérias também sejam capazes de produzir etanol, as leveduras são os agentes biológicos largamente utilizados na obtenção de álcool etílico por via fermentativa. Elas são microrganismos pertencentes ao reino Fungi, unicelulares, eucariontes e heterotróficos. A *Saccharomyces cerevisiae* é a espécie mais importante economicamente devido à sua produtividade, adequação ao meio e robustez (Borges, 2008).

O etanol é produzido pelas leveduras a partir de monossacarídeos. Sendo assim, quando o mosto possui sacarose (oligossacarídeo) como fonte de carbono, que é o caso do caldo da cana-de-açúcar, é necessário a ação da enzima invertase, produzida pelo próprio microrganismo, que catalisa a hidrólise da sacarose em glicose e frutose. Ambas as hexoses, resultantes da hidrólise ou já presentes no meio como açúcares livres, são convertidas em etanol e CO<sub>2</sub>, na ausência de oxigênio, de acordo com a equação abaixo (Veloso, 2019).

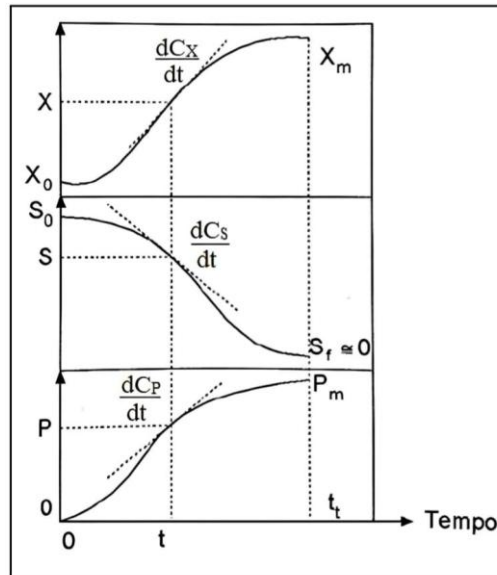


Segundo essa estequiometria, o consumo de 1g de glicose resultaria em 0,51 g de etanol e 0,49 g de dióxido de carbono. Todavia, o rendimento estequiométrico é limitado pela multiplicação celular e síntese de produtos secundários (Guidini, 2013). O rendimento de um processo fermentativo está diretamente relacionado com a performance do microrganismo que o executa. Por esse motivo, quase sempre, as fermentações são iniciadas com o inóculo de uma linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* de interesse, isolada de algum processo ou obtida através de melhoramento genético (Góes-Favoni *et al.*, 2018).

A formação de produtos durante o processo fermentativo pode ser de três tipos: associada ao crescimento celular, parcialmente associada ao crescimento e não associada ao crescimento. Na formação associada ao crescimento o produto é gerado simultaneamente e somente durante a multiplicação celular. Na parcialmente associada, a produção do metabólito inicia-se na fase de crescimento e permanece quando esta acaba. Por fim, na formação não associada ao crescimento, o produto é formado apenas quando o crescimento celular cessa, isto é, na fase estacionária. O etanol produzido durante a fermentação alcoólica se enquadra no primeiro caso (Sonego, 2016).

Nesse sentido, a Figura 2 contém os perfis de concentração de células (X), substrato (S) e produto (P) típicos de um processo fermentativo conduzido em batelada com formação de produto associada ao crescimento. No regime de operação em batelada, todos os reagentes são adicionados no início e o sistema é fechado, isto é, não há entrada ou saída de materiais durante o processo (Sonego, 2016).

Figura 2 - Perfis de concentração de células (X), substrato (S) e produto (P) para um processo em batelada.



Fonte: Adaptado de Sonogo (2016).

### 3.2 Fatores que afetam a fermentação alcoólica

#### 3.2.1 Temperatura

A temperatura é um fator primordial no desempenho da fermentação alcoólica. Nesse contexto, as leveduras costumam atuar melhor na faixa de 28 a 35°C. Altas temperaturas afetam o metabolismo da levedura e aceleram a fermentação, aumentando assim a produtividade. No entanto, ocorre a intensificação da toxicidade ao etanol em decorrência do aumento da fluidez da membrana celular, bem como o favorecimento da contaminação bacteriana. Em baixas temperaturas, por outro lado, obtém-se elevados teores alcoólicos devido a redução da sensibilidade ao etanol, além do decréscimo da formação de subprodutos em virtude do menor estresse abiótico. Todavia, a fermentação em baixas temperaturas é mais extensa e, portanto, possui menor produtividade (Cruz, 2019). De modo geral, a temperatura ótima de crescimento das leveduras é inferior à temperatura ótima para produção de etanol (Guidini, 2013).

#### 3.2.2 pH

O pH tem grande relevância sobre os processos fermentativos, atuando principalmente na velocidade da fermentação, na formação de subprodutos e no controle da contaminação bacteriana. Em princípio, a fermentação alcoólica se desenvolve bem em uma ampla faixa de

pH, sendo a ótima entre 4,0 e 5,5. Valores baixos geram perda de nutrientes e aumentam a sensibilidade da levedura ao etanol e aos ácidos orgânicos, restringindo o crescimento microbiano (Veloso, 2019).

### **3.2.3 Concentração de substrato**

Elevadas concentrações de substrato no início da fermentação modificam o metabolismo da levedura, que apresenta osmolerância restrita. O aumento da osmolaridade externa estressa a levedura, visto que altera o gradiente osmótico da membrana plasmática, ocasionando redução do crescimento e perda de viabilidade celular. Esses efeitos inibitórios normalmente são observados em concentrações de substrato acima de 150 g.L<sup>-1</sup> (Sonego, 2016).

## **3.3 Produção de etanol no Brasil**

O etanol pode ser obtido por três vias: destilatória, sintética ou fermentativa. Das três, a rota fermentativa é a mais importante para a produção de álcool etílico no Brasil, por ser a mais econômica. O caldo de cana-de-açúcar e o melaço diluído são utilizados preferencialmente como matérias-primas no Brasil, mas o etanol também pode ser obtido a partir de milho, batata, sorgo, beterraba, resíduos lignocelulósicos, entre outros. (Veloso, 2019).

Na década de 1970, visando contornar os efeitos do alto preço do petróleo e reduzir a dependência de importação, o governo brasileiro implementou o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), incentivando a produção em larga escala de etanol combustível (Góes-Favoni *et al.*, 2018). Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial, perdendo apenas para os Estados Unidos da América (UNICA, 2024).

## **3.4 Métodos de quantificação de etanol**

Devido a importância e necessidade dos processos biotecnológicos, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos visando a otimização, controle e estimativa do estado do processo. No caso da fermentação alcoólica, dentre as várias estratégias empregadas nesses estudos, destacam-se aquelas voltadas para o monitoramento das condições de fermentação e a quantificação dos compostos presentes no caldo fermentativo. Nesse sentido, a determinação

da concentração de etanol é um dos aspectos mais importantes e, também, um dos mais desafiadores (Oliveira, 2016)

Há uma ampla gama de métodos de quantificação de etanol já consolidados e disponíveis para uso em diferentes campos de atuação. Dentre os mais tradicionais estão a cromatografia (associada a um detector), densimetria, refratometria, titulação e espectroscopia no infravermelho (AOAC INTERNATIONAL, 2023).

A cromatografia separa os componentes de uma amostra, como o etanol, com base em seu grau de interação com uma fase móvel e uma fase estacionária. O etanol é quantificado por um detector acoplado ao sistema cromatográfico, que relaciona a intensidade do sinal correspondente ao composto com a sua concentração. A titulação é um método químico que envolve a reação do etanol com um reagente específico, como o dicromato de potássio. De acordo com a quantidade de reagente consumida na reação a concentração de etanol é calculada. Já a espectroscopia no infravermelho analisa a absorção de radiação infravermelha pelas moléculas de etanol, sendo a intensidade da absorção, em comprimentos de onda específicos, usada para determinar a concentração do composto (Buglass, 2011).

A densimetria baseia-se na medição da densidade da solução, que varia conforme a concentração de etanol. A densidade é medida com o auxílio de um densímetro ou picnômetro e o seu valor comparado com dados de referência para determinar a concentração. A refratometria, por outro lado, mede o índice de refração da solução, que também muda com a concentração de etanol. É usado um refratômetro para obter esse índice, que é então correlacionado com a concentração por meio de curvas de calibração (AOAC INTERNATIONAL, 2023).

Entretanto, embora eficazes e seguros, esses métodos convencionais possuem limitações, descritas na Tabela 1, que os impedem de suprir completamente as necessidades de todos os campos de atuação. Nesse contexto, diversos métodos alternativos e modernos vêm sendo desenvolvidos buscando contornar esses desafios. (Oliveira, 2016).

Dentre eles estão a espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR), que é mais rápida, precisa e sensível que a espectroscopia infravermelha convencional (Carréra *et al.*, 2016), a análise de imagens digitais de *spot test*, técnica que combina reações químicas com processamento de imagens em *softwares* modernos (Pessoa *et al.*, 2017) e a determinação fotométrica sem uso de reagentes explorando o efeito Schlieren, uma abordagem que explora o fenômeno da refração da luz em meios com diferentes índices de refração, como a solução de etanol em água (Silva, 2015). Contudo, apesar de promissoras, essas técnicas ainda apresentam limitações quanto ao monitoramento contínuo do processo.

Tabela 1 - Vantagens e limitações dos métodos convencionais de quantificação de etanol.

MÉTODO	VANTAGENS	LIMITAÇÕES
Cromatografia	Alta precisão e sensibilidade.	Equipamentos caros e preparo demorado da amostra.
Densimetria	Simple e de baixo custo.	Menor precisão e sensibilidade à presença de interferentes.
Refratometria	Rápido e de baixo custo.	Calibração frequente e sensibilidade à presença de interferentes.
Titulação	Baixo custo e fácil acesso.	Processo lento e sensibilidade à presença de interferentes.
Espectroscopia no infravermelho	Rápido e não destrutivo.	Calibração complexa e sensibilidade à presença de interferentes.

Fonte: AOAC INTERNATIONAL (2023).

### 3.5 Equilíbrio de fases - Equilíbrio líquido-vapor

O estudo dos aspectos termodinâmicos das soluções químicas compreende uma etapa fundamental na análise do comportamento das matérias-primas ao longo do processo de transformação em produtos de interesse. Esse comportamento pode ser descrito por equações matemáticas, que são formuladas com base nas limitações e características específicas dos componentes. Entre os modelos matemáticos frequentemente utilizados estão Peng-Robinson, Wilson, UNIQUAC, UNIFAC e NRTL, que ajudam a descrever o equilíbrio de fases e outros elementos importantes do processo (Damasceno *et al.*, 2018).

O equilíbrio de fases se refere a uma condição na qual as propriedades macroscópicas do sistema se mantêm constantes ao longo do tempo. Nesse estado, as diferentes fases apresentam potenciais químicos iguais, resultando em uma variação nula da energia livre de Gibbs (Matsoukas, 2013).

A energia livre de Gibbs (G) é uma função de estado que relaciona a entalpia (H), a temperatura (T) e a entropia (S) do sistema. Dessa forma, ela possibilita avaliar a espontaneidade de uma reação e calcular o trabalho máximo não expansivo que o sistema pode realizar (Smith *et al.*, 2017).

Já o potencial químico é a derivada parcial da energia livre de Gibbs em relação ao número de mols de uma substância. Ele indica a tendência dessa substância de ser transferida de uma fase para outra ou de participar de uma reação química e é uma propriedade intensiva, ou seja, não depende do tamanho do sistema (Moran *et al.*, 2011).

Dentre as variantes do equilíbrio de fases encontra-se o equilíbrio líquido-vapor, que ocorre quando a taxa de evaporação da solução líquida é igual à taxa de condensação do seu vapor (Pilla, 2010). Além disso, ele descreve a distribuição das espécies químicas entre as duas fases (Sarmad; Mikkola, 2020).

As variáveis de composição necessárias para o entendimento do equilíbrio líquido-vapor são as frações molares dos componentes nas respectivas fases. Nesse sentido, a lei de Raoult, descrita pela equação 2, se enquadra como um dos modelos mais simples para análise do comportamento desses sistemas (Smith *et al.*, 2017).

$$y_i P = x_i P_{Si} \quad (2)$$

onde  $y_i$  e  $x_i$  são as frações molares da espécie  $i$  nas fases vapor e líquida, respectivamente,  $P$  é a pressão do sistema e  $P_{Si}$  é a pressão de vapor da espécie  $i$ .

Entretanto, essa lei é válida apenas quando ambas as fases são ideais. Isso significa que sua utilização é restrita a condições de baixa pressão e para substâncias quimicamente semelhantes (Pilla, 2010). Em sistemas não ideais, o comportamento se desvia significativamente dos modelos mais simples, exigindo métodos de estimativa que considerem as interações entre as partículas (Martínez *et al.*, 2020).

O comportamento não ideal de um sistema resulta principalmente de sua estrutura química, incluindo a presença de grupos fortemente polares nas moléculas, seu tamanho, geometria e a possibilidade de ionização ou associação entre as partículas. A solução água-álcool é um exemplo de sistema não ideal, exibindo propriedades termodinâmicas anômalas, como densidade, viscosidade e entalpia molar (Martínez *et al.*, 2020).

Assim, outro modelo matemático foi desenvolvido para descrever o equilíbrio líquido-vapor em casos que fogem da idealidade, sendo nomeado como lei de Raoult Modificada. Essa lei, representada na equação 3, introduz o conceito de coeficiente de atividade para corrigir a inadequação (Smith *et al.*, 2017).

$$y_i P = x_i \gamma_i P_{Si} \quad (3)$$

em que  $\gamma_i$  é o coeficiente de atividade da espécie  $i$ .

O coeficiente de atividade é um indicador do desvio da idealidade de uma solução, pois relaciona a atividade efetiva do componente com a sua atividade ideal. Além disso, é um parâmetro associado com a temperatura do sistema (Matsoukas, 2013). A pressão de vapor ou pressão de saturação, por outro lado, é a pressão exercida pelo vapor de uma substância em equilíbrio termodinâmico com sua fase líquida, a uma determinada temperatura (Pilla, 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

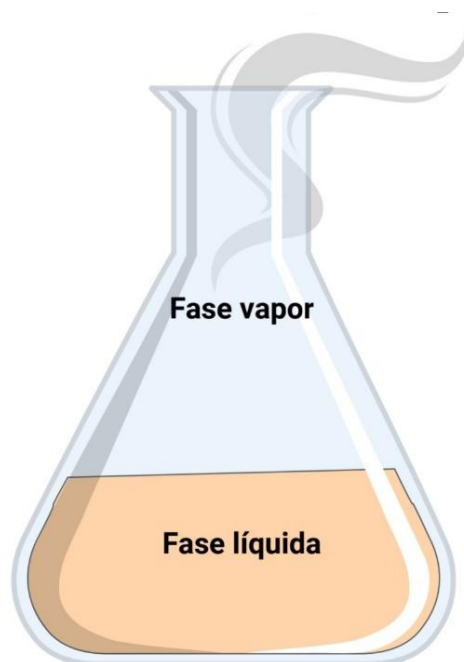
### 4.1 Desenvolvimento do modelo matemático

O processo de obtenção do modelo matemático pressupõe que a corrente gasosa liberada durante a fermentação alcoólica é formada de acordo com os fundamentos do equilíbrio líquido-vapor, ou seja, que ambas as fases, líquida e vapor, coexistem em equilíbrio termodinâmico. Além disso, foram definidas outras condições. O foco da modelagem matemática consistiu em obter uma equação para determinação da concentração de etanol no caldo de fermentação ( $C_{EL}$ ), a partir de dados de perda de massa ( $m_{TG}$ ) e temperatura ( $T$ ) do sistema, conforme o formato apresentado na equação 4.

$$C_{EL} = f(m_{TG}, T) \quad (4)$$

Nesse sentido, a corrente gasosa foi considerada uma mistura composta por etanol,  $CO_2$  e água, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema de um sistema de fermentação alcoólica em frasco de pequena escala.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A concentração de etanol na fase líquida ( $C_{EL}$ ) pode ser obtida a partir do número de mols de etanol na fase líquida ( $n_{EL}$ ), conforme a equação 5.

$$C_{EL} = \frac{MM_E \cdot n_{EL}}{V_L} \quad (5)$$

onde  $V_L$  é o volume da fase líquida (L) e  $MM_E$  é a massa molar de etanol ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

Assim,

$$n_{EL} = \frac{C_{EL} \cdot V_L}{MM_E} \quad (6)$$

Considerando a estequiometria da fermentação alcoólica (Equação 1), o número de mols de etanol na fase líquida pode ser relacionado com o número total de mols do gás ( $n_{TG}$ ) de acordo com a seguinte equação:

$$n_{TG} = \frac{n_{EL}}{y_C - y_E} \quad (7)$$

onde  $y_C$  e  $y_E$  são as frações molares de  $\text{CO}_2$  e etanol na fase vapor, respectivamente.

A perda de massa total do gás ( $m_{TG}$ ), que pode ser medida experimentalmente, corresponde à soma das massas parciais de cada componente no vapor. Assim,

$$m_{TG} = n_{TG} \cdot (y_E \cdot MM_E + y_W \cdot MM_W + y_C \cdot MM_C) \quad (8)$$

onde  $y_W$  é a fração molar de água na fase vapor e  $MM_W$  e  $MM_C$  são as massas molares de água e  $\text{CO}_2$  na fase vapor ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), respectivamente.

Considerando o equilíbrio de fases e assumindo que a fase líquida é uma solução hidroalcoólica com solubilidade de  $\text{CO}_2$  desprezível, as frações molares  $y_E$  e  $y_W$  podem ser definidas utilizando a Lei de Raoult modificada, conforme as equações 9 e 10, e a fração molar  $y_C$  pela equação 11.

$$y_E = \frac{x_E * \gamma_E * P_{SE}}{P} \quad (9)$$

$$y_W = \frac{x_W * \gamma_W * P_{SW}}{P} \quad (10)$$

$$y_C = 1 - y_E - y_W \quad (11)$$

em que  $x_E$  e  $x_W$  são as frações molares de etanol e água na fase líquida,  $\gamma_E$  e  $\gamma_W$  são os coeficientes de atividade,  $P_{SE}$  e  $P_{SW}$  são as pressões de vapor de etanol e água (KPa), respectivamente, e  $P$  é a pressão total do sistema (KPa).

A fração molar de etanol na fase líquida ( $x_E$ ), por sua vez, pode ser relacionada com a concentração desse composto na solução, conforme a equação 12.

$$x_E = \frac{\frac{C_{EL}}{MM_E}}{\frac{C_{EL}}{MM_E} + \frac{\rho_L - C_{EL}}{MM_W}} \quad (12)$$

onde  $\rho_L$  é a densidade do líquido, que pode ser expressa por uma relação linear em função de  $C_{EL}$  e  $T$ , como descrito pela equação 13.

$$\rho_L = \alpha C_{EL} + \beta T + \delta \quad (13)$$

Seguindo os fundamentos do balanço de massa, a fração molar de água na fase líquida ( $x_W$ ) é definida pela equação 14.

$$x_W = 1 - x_E \quad (14)$$

As pressões de vapor de etanol ( $P_{SE}$ ) e água ( $P_{SW}$ ) são dadas pela Equação de Antoine, representada nas equações 15 e 16.

$$P_{SE} = \exp\left(A_E - \frac{B_E}{C_E + T}\right) \quad (15)$$

$$P_{SW} = \exp\left(A_W - \frac{B_W}{C_W + T}\right) \quad (16)$$

em que  $A_E$ ,  $B_E$ ,  $C_E$ ,  $A_W$ ,  $B_W$  e  $C_W$  são coeficientes ajustados.

O coeficiente de atividade, por outro lado, é obtido pelo método NRTL, do inglês, *Non-Random Two Liquid*, como descrito por GUEVARA *et al.* (2018). Assim,

$$\ln \gamma_E = x_W^2 \left[ \tau_{WE} \left( \frac{G_{WE}}{x_E + x_W G_{WE}} \right)^2 + \tau_{EW} \frac{G_{EW}}{(x_W + x_E G_{EW})^2} \right] \quad (17)$$

$$\ln \gamma_W = x_E^2 \left[ \tau_{EW} \left( \frac{G_{EW}}{x_W + x_E G_{EW}} \right)^2 + \tau_{WE} \frac{G_{WE}}{(x_E + x_W G_{WE})^2} \right] \quad (18)$$

em que  $\tau_{WE}$ ,  $\tau_{EW}$ ,  $G_{WE}$  e  $G_{EW}$  são os parâmetros de interação definidos pelas equações 19 a 22.

$$\tau_{EW} = a_{EW} + \frac{b_{EW}}{T} \quad (19)$$

$$\tau_{WE} = a_{WE} + \frac{b_{WE}}{T} \quad (20)$$

$$G_{EW} = \exp(-c_{EW}\tau_{EW}) \quad (21)$$

$$G_{WE} = \exp(-c_{EW}\tau_{EW}) \quad (22)$$

onde  $a$ ,  $b$  e  $c$  são constantes ajustadas.

Dessa forma, ao substituir  $x_E$  e  $x_W$  (Equações 12 e 14) na Lei de Raoult modificada (Equações 9 e 10) para obter  $y_E$  e  $y_W$ , determinar  $y_C$  através da Equação 11, substituir essas frações em  $n_{TG}$  (Equação 7) e, por fim, utilizar  $n_{TG}$  para exprimir  $m_{TG}$  (Equação 8) em função das variáveis  $C_{EL}$  e  $T$ , obtém-se uma função do tipo:

$$f(C_{EL}, m_{TG}, T) = 0 \quad (23)$$

que é uma equação transcendental em  $C_{EL}$ , cuja solução, para uma dada combinação de  $m_{TG}$  e  $T$ , fornece a concentração de etanol na fase líquida.

#### 4.2 Ajuste linear da densidade

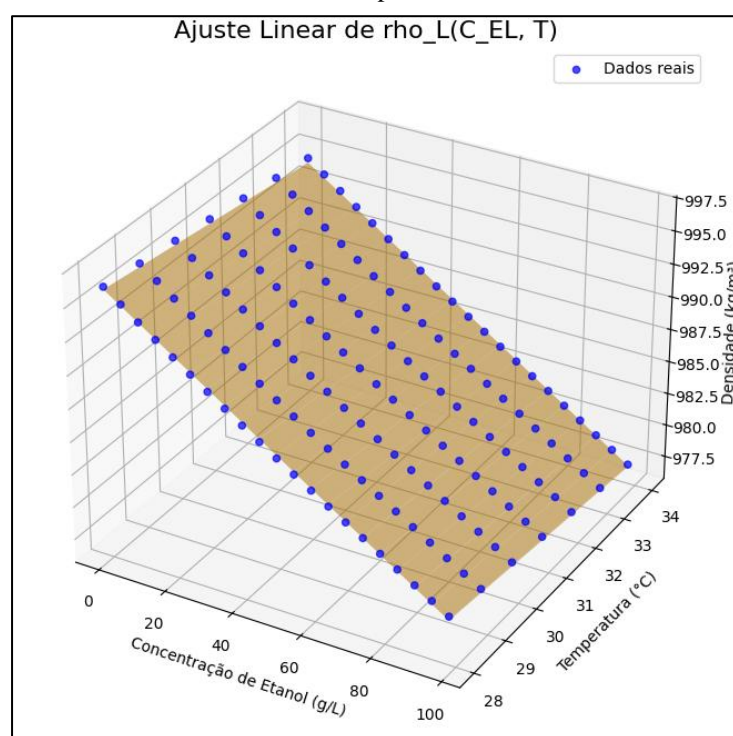
A tabela disposta em Perry;Green (2007) fornece valores de densidade em função da porcentagem em massa de etanol na solução hidroalcoólica e da temperatura do sistema. Nesse sentido, o ajuste da equação linear foi realizado em Python com dados referentes a concentrações de etanol entre 0 e 100 g.L<sup>-1</sup> e temperaturas entre 28 e 34 °C. Os coeficientes desse ajuste foram dispostos na Tabela 2 e a Figura 4 contém a sua representação gráfica.

Tabela 2 - Coeficientes do ajuste linear da densidade em função da concentração de etanol e da temperatura.

Coeficientes do ajuste	
$\alpha$	-0,1728
$\beta$ (g.L <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup> )	-0,3337
$\delta$ (g.L <sup>-1</sup> )	1005,3833
<b>R-Squared</b>	0,9992

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 4 - Representação gráfica do ajuste linear da densidade em função da concentração de etanol e da temperatura.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

*R-Squared* ( $R^2$ ) é uma métrica denominada coeficiente de determinação, que avalia o grau de correlação entre as variáveis e a qualidade do ajuste, sendo valores próximos de 1 um indicativo de alta correspondência e fidelidade do modelo aos dados. Sendo assim, a equação obtida para o cálculo da densidade pode ser considerada eficaz e precisa.

### 4.3 Resolução numérica

Para resolver a Equação 23 e obter  $C_{EL}$  em função de  $m_{TG}$  e  $T$ , o conjunto de equações descrito no tópico 4.1 foi implementado em Python. Nesse sentido, utilizando a biblioteca Sympy, foi realizada a manipulação simbólica das expressões matemáticas, a criação das variáveis simbólicas e a definição das equações de equilíbrio líquido-vapor, coeficientes de atividade, pressões de vapor e correlação de densidade.

Posteriormente, foi estabelecido o intervalo para  $C_{EL}$  (entre 0 e  $100 \text{ g.L}^{-1}$ ) e, a partir da biblioteca Scipy, obteve-se a solução numérica, definindo-se, para um par de valores ( $m_{TG}$ ,  $T$ ),

$f(C_{EL}) = 0$  e empregando a função *root\_scalar* com o método de Brent. Por fim, a biblioteca Pandas foi usada para organizar e apresentar os resultados em formato de tabelas (DataFrame). Os valores numéricos adotados para os parâmetros que compõem a modelagem matemática estão apresentados nas Tabelas 3 a 6.

Tabela 3 - Constantes de Antoine adotadas na resolução numérica.

CONSTANTES DE ANTOINE			
$A_E$	16,8958	$A_W$	16,3872
$B_E$	3795,17	$B_W$	3885,70
$C_E$	230,918	$C_W$	230,170

Fonte: Guevara *et al* (2018).

Tabela 4 - Parâmetros do modelo NRTL utilizados na resolução numérica.

PARÂMETROS NRTL			
$a_{EW}$	-0,8009	$a_{WE}$	3,4578
$b_{EW}$	246,18	$b_{WE}$	-586,081
$c_{EW}$	0,3	$c_{WE}$	0,3

Fonte: Guevara *et al* (2018).

Tabela 5 - Valores numéricos adotados para as propriedades físicas de etanol, água e CO<sub>2</sub>.

PROPRIEDADES FÍSICAS	
$MM_E$ (g.L <sup>-1</sup> )	46,07
$MM_W$ (g.L <sup>-1</sup> )	18,01528
$MM_C$ (g.L <sup>-1</sup> )	44,01

Fonte: Perry;Green (2007).

Tabela 6 - Condições de operação do sistema.

CONDIÇÕES DO SISTEMA	
$V_L$ (L)	0,03
$P$ (KPa)	101,325

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

#### 4.4 Validação e aplicação do modelo matemático

Os experimentos de validação foram conduzidos nas temperaturas de 29 e 33 °C, que estão dentro da faixa adotada (28-34 °C), sendo que para cada uma dessas temperaturas foram realizados cinco ensaios de fermentação. Além disso, para aumentar a abrangência da validação, cada ensaio teve duração diferente, visando obter concentrações de etanol distintas.

Os ensaios foram realizados com uma linhagem comercial liofilizada de *Saccharomyces cerevisiae* da marca Fleischmann. O meio de cultura foi baseado no meio proposto por Sonogo (2016) e apresentou a seguinte composição: glicose (145 g/L), fosfato de potássio (5,60 g/L), sulfato de magnésio (1,40 g/L), extrato de levedura (6,80 g/L) e uréia (5,32 g/L). Ademais, o pH inicial do meio foi ajustado para 4,6 com a adição de HCl 1M.

Frascos Erlenmeyer de 50 mL foram utilizados para a condução das fermentações. O volume total da fase líquida foi de 30 mL, sendo 21 mL de meio de cultura (70%) e 9 mL de solução aquosa de leveduras (30%). A formulação dessa solução foi elaborada de modo que a concentração de leveduras na fase líquida atingisse 20 g/L. Os ensaios foram feitos em triplicata.

Após a inoculação da solução de leveduras no meio de cultura, os frascos foram tampados com filme de PVC, onde foi feito pequeno furo visando garantir a saída da corrente gasosa e impedir a entrada de ar no sistema. Em seguida, a massa inicial dos Erlenmeyers foi determinada utilizando balança analítica. Os frascos foram, então, colocados em uma mesa incubadora rotativa, configurada para 100 rpm. Depois de um determinado período, a fermentação foi interrompida e os Erlenmeyers pesados novamente para registro da massa final. A perda de massa do sistema foi calculada como a média das perdas individuais, obtidas pela diferença entre a massa final e inicial de cada um dos três Erlenmeyers.

Imediatamente após as pesagens, alíquotas foram coletadas dos Erlenmeyers, centrifugadas e os sobrenadantes resultantes armazenados em freezer convencional. Posteriormente, essas amostras foram submetidas à análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*) no laboratório do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para determinação da concentração de etanol.

Antes da análise foi realizado o tratamento de diluição e filtragem do sobrenadante. Então, a concentração de etanol foi determinada por meio do cromatógrafo Agilent Technologies 1100, usando um detector de índice de refração e a coluna Aminex HPX-87H,

mantida a 35 °C. O eluente utilizado foi uma solução de ácido sulfúrico 5M na vazão de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>.

Os dados de perda de massa adquiridos nos ensaios de fermentação, assim como as temperaturas correspondentes, foram inseridos no modelo matemático para o cálculo das concentrações de etanol equivalentes. Esses valores de concentração foram então comparados com os resultados obtidos na análise por HPLC. Por fim, o modelo matemático obtido foi aplicado no monitoramento da concentração de etanol em uma fermentação alcoólica de pequena escala, conduzida de modo semelhante àquele descrito para os experimentos de validação, porém com acompanhamento contínuo da perda de massa.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

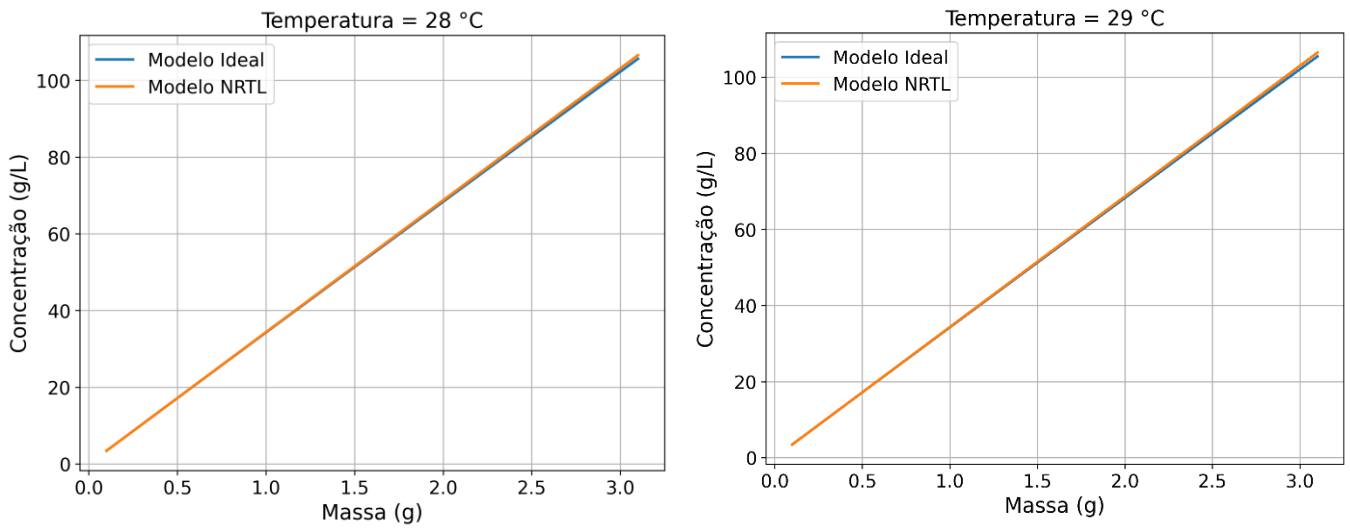
### 5.1 Obtenção do modelo matemático

A implementação, em Python, do conjunto de equações previamente descrito permitiu o desenvolvimento de uma solução numérica (código disponível no repositório do Github: [https://github.com/p3dr0id/modelo\\_etanol](https://github.com/p3dr0id/modelo_etanol)) eficaz para calcular a concentração de etanol com base nos dados de perda de massa e temperatura do sistema. Contudo, embora funcional e precisa, essa abordagem não atende um dos principais objetivos do trabalho, que consiste em estabelecer uma equação simples, prática e de fácil aplicação.

Nesse contexto, a dificuldade de obtenção de uma solução analítica direta mostrou-se intimamente ligada à consideração da não idealidade do sistema, isto é, do fato do coeficiente de atividade ( $\gamma$ ) ser um parâmetro variável.

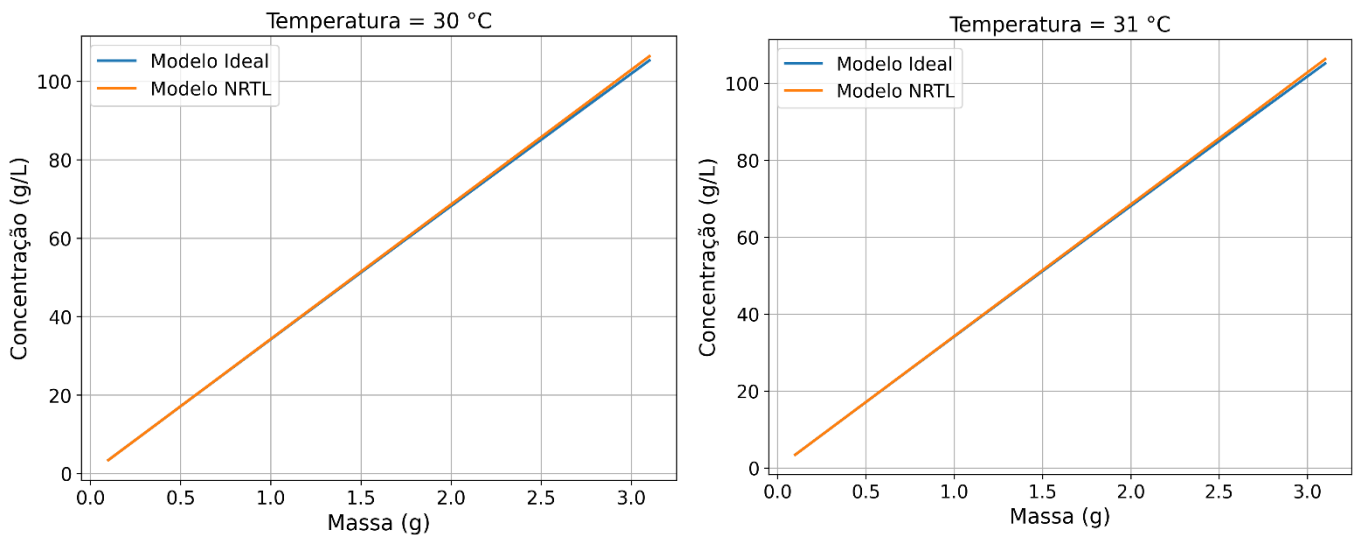
Tendo em vista isso, foi conduzida uma análise da relação entre a concentração de etanol e a perda de massa do sistema em dois cenários distintos: o sistema ideal, em que  $\gamma$  é considerado constante, e o sistema não ideal, no qual  $\gamma$  é modelado pelo método NRTL. Essa comparação foi realizada para a faixa de temperatura comumente adotada em processos de fermentação alcoólica (28 a 34 °C) e está representada nos gráficos dispostos nas Figuras 5 a 7.

Figura 5 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com  $\gamma$  constante e modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 28 e 29 °C.



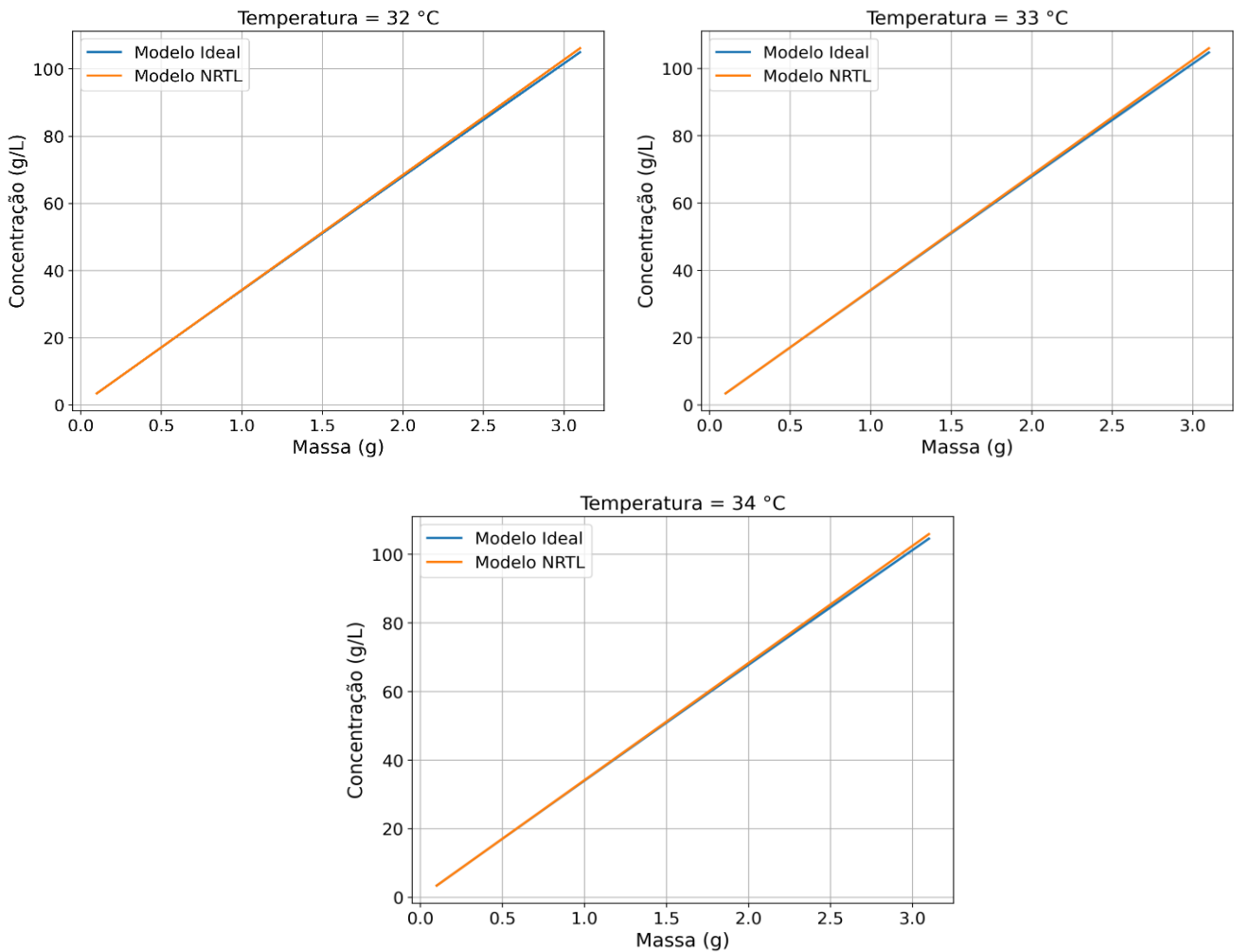
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 6 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com  $\gamma$  constante e modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 30 e 31 °C.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 7 - Comparativo entre a relação da concentração de etanol e a perda de massa do sistema com  $\gamma$  constante e  $\gamma$  modelado pelo método NRTL para as temperaturas de 32,33 e 34 °C.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os resultados evidenciam que, para as faixas de temperatura e concentração de etanol avaliadas, as curvas geradas pelo modelo ideal e pelo modelo NRTL convergem significativamente, indicando que a influência da não idealidade é mínima nessas condições e não compromete a precisão do modelo.

Diante disso, a abordagem matemática foi simplificada adotando o modelo ideal para o sistema, ou seja, assumindo os coeficientes de atividade  $\gamma_E$  e  $\gamma_W$  como constantes de valor unitário. Considerando essa aproximação, as equações modeladas foram novamente implementadas em Python e manipuladas para exprimir  $m_{TG}$  em função de  $C_{EL}$  e  $T$ . No entanto, diferente do primeiro caso, a equação obtida possibilitou uma solução analítica.

Nesse sentido, a Equação 23 foi escrita como um polinômio quadrático em  $C_{EL}$  da forma:

$$aC_{EL}^2 + bC_{EL} + c = 0 \quad (24)$$

Posteriormente, foi feita a construção simbólica dos coeficientes a, b e c da equação quadrática e a resolução por Bhaskara.

onde os coeficientes são:

$$\begin{aligned} \mathbf{a} &= V_L [ MM_C MM_E P (\alpha - 1) - MM_C MM_E \gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} (\alpha - 1) + MM_C MM_W P - \\ &MM_C MM_W \gamma_E e^{A_E} e^{(-B_E / (C_E + T))} + MM_E MM_W \gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} (\alpha - 1) + \\ &MM_E MM_W \gamma_E e^{A_E} e^{(-B_E / (C_E + T))} ], \\ \mathbf{b} &= V_L [ MM_C MM_E P (T\beta + \delta) - MM_C MM_E \gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} (T\beta + \delta) + MM_E MM_W \\ &\gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} (T\beta + \delta) - m_{TG} MM_E [ MM_E P (\alpha - 1) - MM_E \gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} \\ &(\alpha - 1) + MM_W P - 2MM_W \gamma_E e^{A_E} e^{(-B_E / (C_E + T))} ], \\ \mathbf{c} &= - m_{TG} MM_E [ MM_E P (T\beta + \delta) - MM_E \gamma_W e^{A_W} e^{(-B_W / (C_W + T))} (T\beta + \delta). \end{aligned}$$

Assim,

$$C_{EL} = \frac{(-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac})}{2a} \quad (25)$$

Tendo em vista que apenas a solução positiva para  $C_{EL}$  possui significado físico:

$$C_{EL} = \frac{(-b + \sqrt{b^2 - 4ac})}{2a} \quad (26)$$

## 5.2 Validação

Os dados de perda de massa obtidos durante os ensaios de fermentação nas duas temperaturas avaliadas, assim como os valores médios correspondentes de concentração de etanol calculados através do modelo matemático e determinados por meio da análise em HPLC, estão dispostos nas Tabelas 7 e 8 e representados graficamente na Figura 8.

Tabela 7 - Dados de perda de massa e respectivos valores de concentração de etanol calculados pelo modelo matemático e determinados através de análise em HPLC para a temperatura de 29 °C.

Temperatura - 29 °C		
Perda de massa (g)	$C_{EL}$ Modelo Matemático (g.L <sup>-1</sup> )	$C_{EL}$ HPLC (g.L <sup>-1</sup> )
0,1822	6,24	9,42 ± 0,44
0,3267	11,16	12,27 ± 0,55
0,5047	17,21	18,57 ± 1,23
0,6878	23,39	25,86 ± 0,17
1,3241	44,66	46,41 ± 0,81

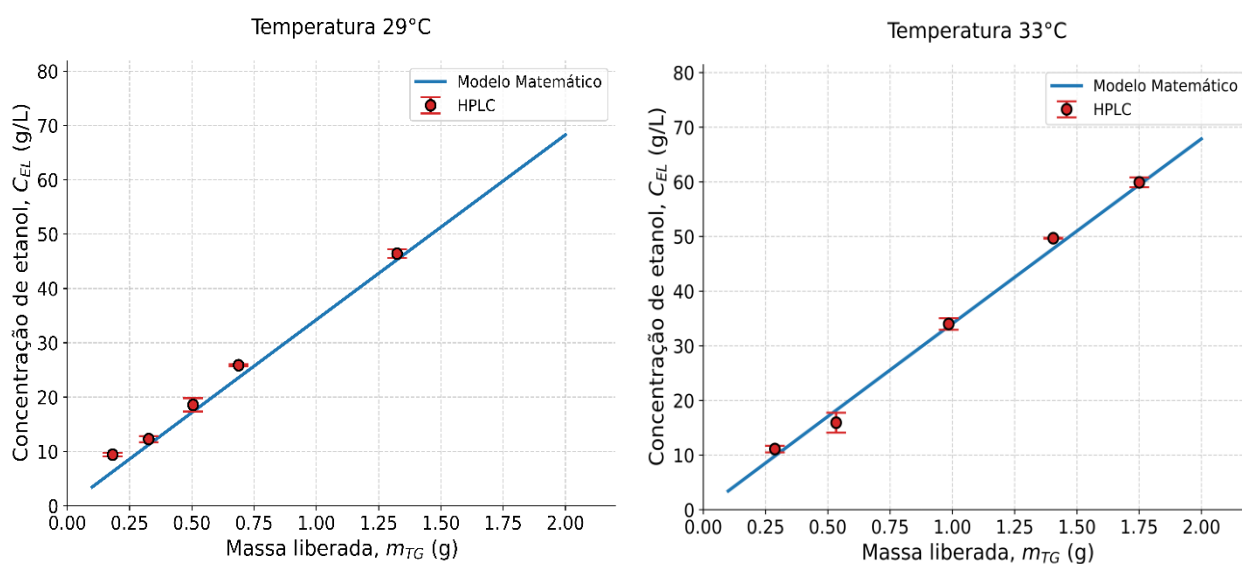
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 8 - Dados de perda de massa e respectivos valores de concentração de etanol calculados pelo modelo matemático e determinados através de análise em HPLC para a temperatura de 33 °C.

Temperatura - 33 °C		
Perda de massa (g)	$C_{EL}$ Modelo Matemático (g.L <sup>-1</sup> )	$C_{EL}$ HPLC (g.L <sup>-1</sup> )
0,2872	9,77	11,10 ± 0,59
0,5336	18,10	15,93 ± 1,82
0,9851	33,22	33,99 ± 1,06
1,4048	47,11	49,68 ± 0,08
1,7503	58,42	59,91 ± 0,89

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Figura 8 - Comparação dos dados de concentração de etanol obtidos a partir dos dois métodos.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tendo em vista que a comparação direta entre os resultados não é suficiente para atestar com precisão a convergência entre os valores obtidos, foi realizado o Teste de Wilcoxon em ambas as condições de temperatura para determinar se as médias apresentavam diferenças estatisticamente significativas. Esse teste é recomendado para dados que não seguem distribuição normal ou com amostragem pequena, sendo este último o caso do presente estudo. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados do Teste de Wilcoxon para as duas condições de temperatura avaliadas.

<b>TESTE DE WILCOXON</b>		
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>29</b>	<b>33</b>
<b>p-norm</b>	0,068	0,465
<b>p-exact</b>	0,125	0,625
<b>p-simul</b>	0,129	0,625

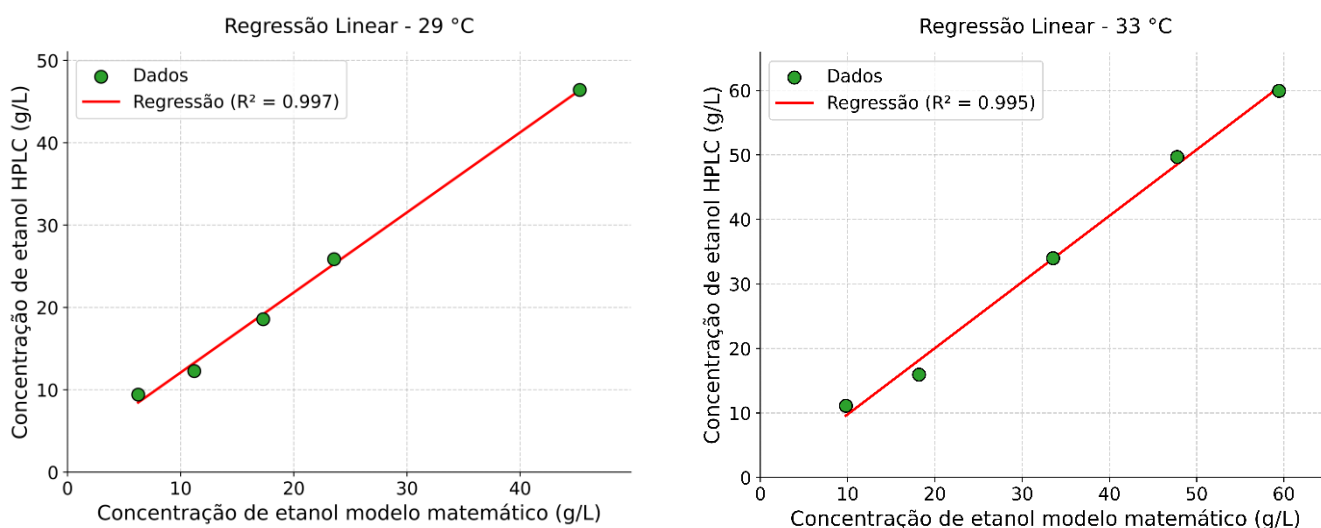
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

O valor-p (*p-value*) no Teste de Wilcoxon é uma métrica estatística que indica a probabilidade de que a diferença observada entre os métodos seja resultado do acaso. Se *p-value* for maior ou igual a 0,05 não há diferença estatisticamente significativa entre os valores. Dentre os três valores de *p-value* fornecidos pelo teste, o *p-exact* é o mais preciso para amostragens pequenas, pois usa uma abordagem exata sem aproximações estatísticas.

Nesse sentido, nas duas temperaturas avaliadas, os valores de *p-exact* superaram o limite de 0,05, indicando que os resultados obtidos pelo modelo matemático e pela análise em HPLC não são significativamente diferentes.

Para complementar a validação estatística e ampliar sua confiabilidade, também foram realizados o Teste de Pearson e a análise de regressão linear (Figura 9 e Tabela 10), que avaliam o grau de correlação entre os resultados obtidos pelos dois métodos.

Figura 9 - Análise de regressão linear dos dados obtidos pelo modelo matemático e pela análise em HPLC para as temperaturas de 29 e 33 °C.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Tabela 10 - Resultados da análise de correlação linear realizada para as duas condições de temperatura avaliadas.

CORRELAÇÃO LINEAR		
Temperatura (°C)	29	33
R-Squared	0,997	0,995
Coefficiente angular	0,988	1,046
Correlação de Pearson	0,999	0,997

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os valores de  $R^2$  obtidos para as duas temperaturas demonstram que os métodos possuem excelente concordância. Além disso, o coeficiente angular de ambas as condições também está próximo de 1, o que é ideal, pois sugere que os métodos fornecem resultados muito semelhantes, com forte grau de proporcionalidade. Do mesmo modo, os valores de correlação de Pearson próximos de 1 atestam a relação de linearidade entre as variáveis.

### 5.3 Influência da temperatura sobre a concentração de etanol

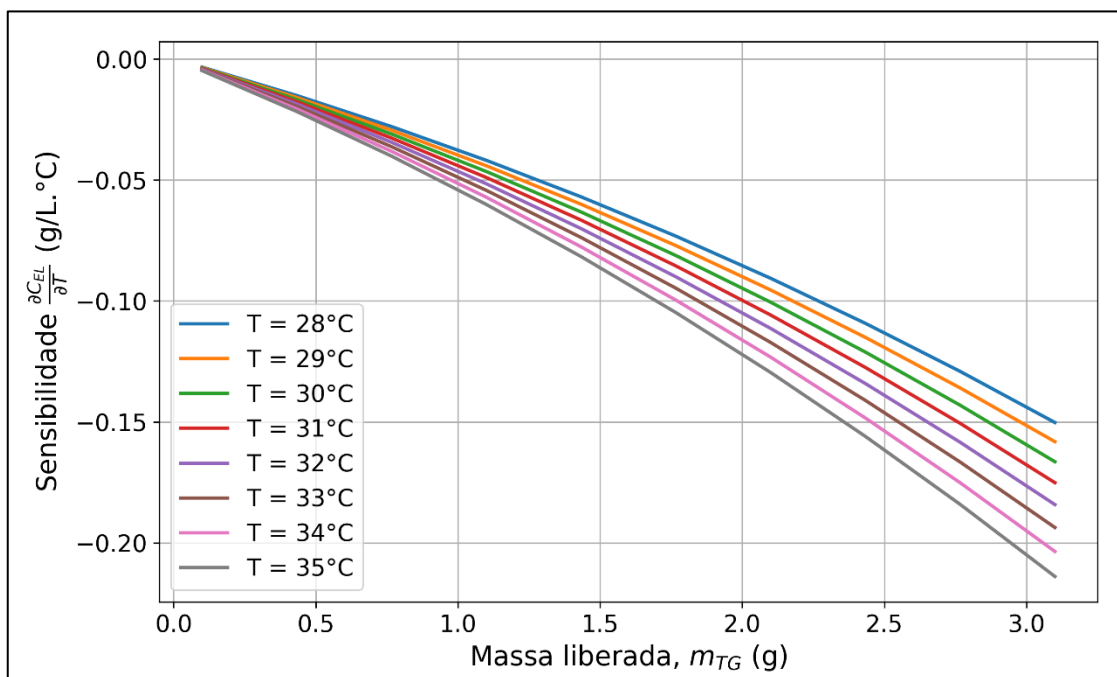
Considerando que a temperatura é um componente essencial do modelo proposto, foram utilizadas duas métricas para avaliar o seu impacto sobre a concentração de etanol: análise de sensibilidade e coeficiente de variação.

A análise de sensibilidade é uma técnica útil para identificar como pequenas mudanças em uma dada variável influenciam os resultados de um modelo. No presente estudo ela foi utilizada para avaliar como as variações de temperatura (entre 28 e 34 °C) afetam a concentração de etanol. Matematicamente, essa relação é expressa pela derivada parcial de  $C_{EL}$  em relação a  $T$ :

$$\frac{\partial C_{EL}}{\partial T} = \lim_{\Delta T \rightarrow 0} \frac{C_{EL}(T + \Delta T) - C_{EL}(T)}{\Delta T} \quad (26)$$

Os dados obtidos estão apresentados no gráfico abaixo (Figura 10).

Figura 10 - Representação gráfica da análise de sensibilidade.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Quando a sensibilidade é positiva ( $\frac{\partial C_{EL}}{\partial T} > 0$ ), o valor de saída do modelo aumenta com a variável analisada, indicando uma relação direta entre eles. Por outro lado, quando a sensibilidade é negativa ( $\frac{\partial C_{EL}}{\partial T} < 0$ ), a saída diminui com o aumento da variável, demonstrando uma relação inversa. Nos casos em que a sensibilidade é próxima de zero, a variável praticamente não influencia o resultado do modelo.

Nesse contexto, os valores de sensibilidade apresentados na Figura 10 são negativos, indicando que o aumento da temperatura reduz a concentração de etanol. Além disso, a sensibilidade não é constante ao longo da massa liberada. Conforme a perda de massa aumenta, o valor de sensibilidade também se eleva, demonstrando que a temperatura tem maior impacto nos estágios mais avançados da fermentação alcoólica, isto é, nos maiores valores de concentração de etanol.

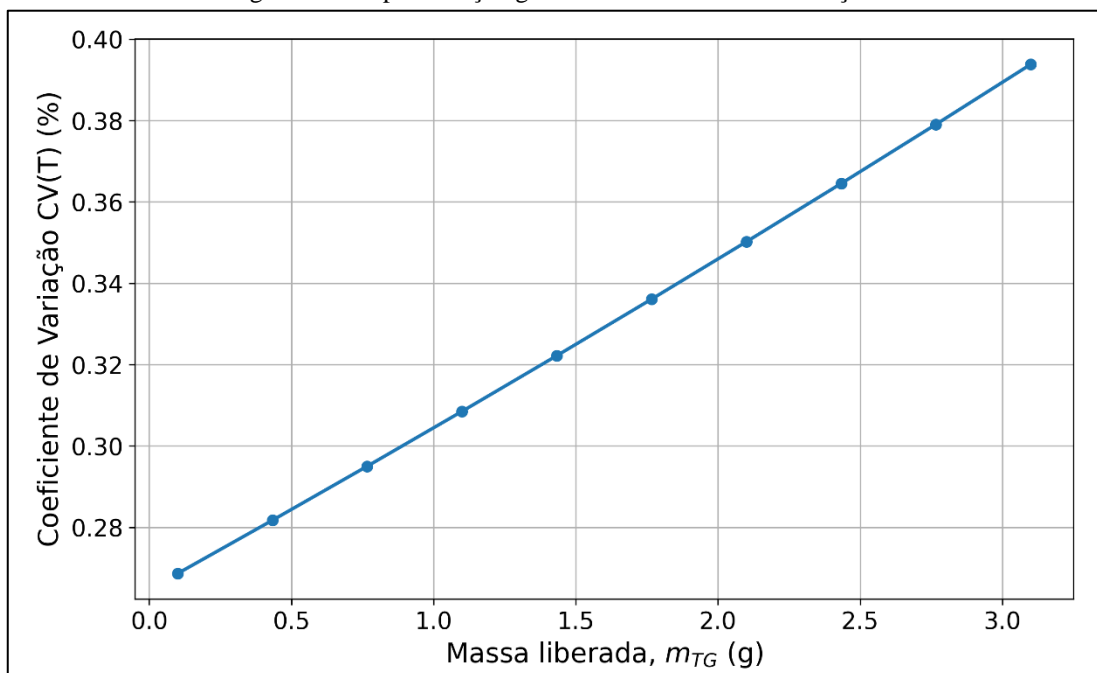
Já o coeficiente de variação (CV) foi usado para medir a dispersão relativa da concentração de etanol em função da temperatura, ou seja, o quanto  $C_{EL}$  se altera com a variação da temperatura. Ele é expresso matematicamente por:

$$CV(T) = \frac{\sigma T}{\mu T} * 100 \quad (27)$$

onde  $\sigma T$  é o desvio padrão dos valores de  $C_{EL}$  ( $g.L^{-1}$ ) ao longo de  $T$  ( $^{\circ}C$ ) e  $\mu T$  é a média dos valores de  $C_{EL}$  ( $g.L^{-1}$ ), para uma determinada massa  $m_{TG}$  (g).

Os resultados estão dispostos na Figura 11.

Figura 11 - Representação gráfica do coeficiente de variação.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Os valores de CV são expressos em porcentagem e interpretados de acordo com os seguintes critérios:

CV > 10%: Valor de saída altamente sensível à variável estudada.

CV < 5%: Pouco impacto da variável analisada.

CV  $\approx$  0: Valor de saída se mantém praticamente constante com alterações na variável.

Sendo assim, de acordo com os resultados apresentados na Figura 11, a influência da temperatura sobre a concentração de etanol é pequena. No entanto, à medida que a perda de massa aumenta, o CV cresce linearmente, indicando que o impacto causado pela temperatura na dispersão dos valores de  $C_{EL}$  se intensifica com o avanço do processo fermentativo.

De modo geral, as duas métricas utilizadas demonstram que a concentração de etanol não é altamente sensível a variações de temperatura. Contudo, elas também indicam que esse impacto é potencializado pelo avanço do processo fermentativo, que intensifica a perda de massa e, conseqüentemente, a concentração de etanol. Além disso, a inclusão da temperatura como variável de entrada no modelo proposto aumenta sua robustez e traz mais precisão aos resultados.

#### **5.4 Aplicação do modelo matemático**

O ensaio de fermentação realizado visando a aplicação do modelo matemático foi conduzido por um período total de 5,5 horas. Os dados médios de perda de massa obtidos ao longo da fermentação, assim como os respectivos valores de concentração de etanol, calculados através do modelo matemático, estão dispostos na Tabela 11.

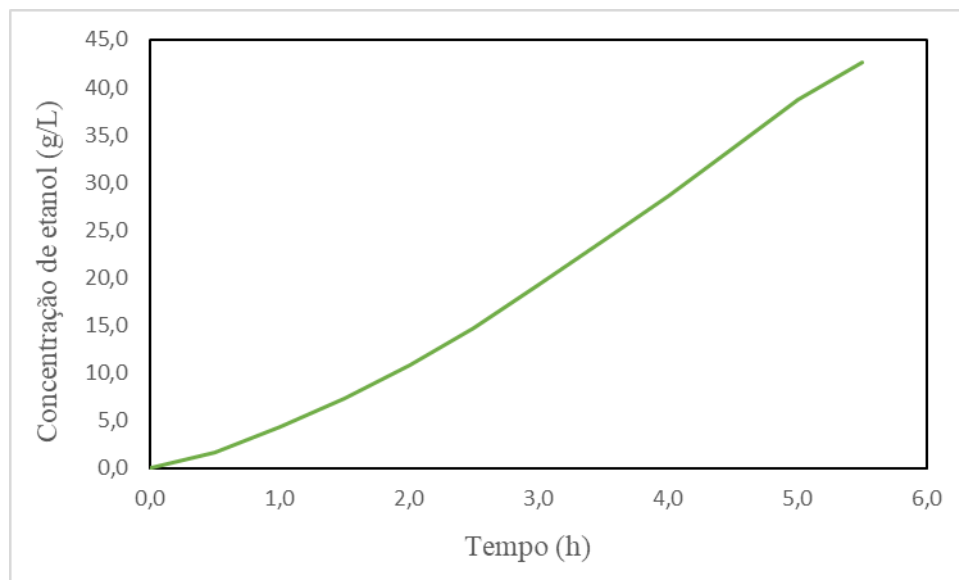
Tabela 11 - Dados médios de perda de massa e seus respectivos valores de concentração de etanol calculados através do modelo matemático.

Tempo (h)	Perda de massa (g)	Concentração de etanol (g.L <sup>-1</sup> )
0,0	0,0000	0,00
0,5	0,0494	1,69
1,0	0,1257	4,29
1,5	0,2139	7,29
2,0	0,3192	10,86
2,5	0,4325	14,69
3,0	0,5671	19,23
3,5	0,7046	23,85
4,0	0,8469	28,61
4,5	0,9980	33,65
5,0	1,1495	38,68
5,5	1,2673	42,57

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A partir dos dados fornecidos na Tabela 11, foi traçado o perfil de concentração de etanol, representado na Figura 12.

Figura 12 - Perfil de concentração de etanol.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A curva de concentração de etanol ao longo do tempo, apresentada na Figura 12, segue um perfil semelhante ao mostrado na Figura 2, que representa o comportamento característico de um processo em batelada. Esse resultado indica que o modelo matemático em questão é preciso e eficaz no monitoramento da concentração de etanol em um processo fermentativo conduzido nas condições avaliadas.

## **6 CONCLUSÃO**

O modelo matemático desenvolvido é uma equação fácil e prática de ser aplicada em diversos programas computacionais. Os resultados de concentração de etanol calculados através do modelo apresentaram boa concordância com os valores obtidos pela análise em HPLC, confirmando sua precisão. Além disso, as métricas utilizadas para avaliar a influência da temperatura sobre a concentração de etanol demonstraram que, embora seu efeito não seja intenso, a inclusão dela como variável de entrada contribuiu para elevar a confiabilidade dos resultados. Por fim, a aplicação prática do modelo mostrou-se eficaz, o que revela seu potencial para ser usado no monitoramento da concentração de etanol em processos fermentativos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTERTHUM, F. et al. **Biotecnologia industrial: Fundamentos**. v. 1. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2020.

AOC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 22. ed. Oxford, 2023.

BORGES, P. C. S. **Otimização dinâmica da fermentação alcoólica no processo em batelada alimentada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

BUGLASS, A.J. **Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects**. 2011.

CARRÉRA, L. D. C. et al. Aplicação de espectroscopia de infravermelho FTIR para quantificação de álcoois em soluções . In: 20º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E 4º SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. **Anais**. Belém : Embrapa, 2016.

CRUZ, M. L. **Avaliação de condições operacionais na fermentação alcoólica VHG empregando diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae***. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2019.

DAMASCENO, D. O. et al. Ferramenta em VBA para determinação do equilíbrio líquido-vapor. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 5, p. 2295-2298, 2018.

FLAUSINIO, B. F. P. G. **Produção de energia elétrica a partir do aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar gerado no setor sucroalcooleiro de Minas Gerais**. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências e Técnicas Nucleares), Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte - MG. 2015.

GIMENEZ, A.R. et al. O aumento da produtividade e a busca pela excelência na produção do etanol brasileiro: uma história de sucesso. **Research, Society and Development**, v. 7, n. 2, 2018.

GÓES-FAVONI, S. P. DE. et al. Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 4, p. 285–296, 2018.

GUEVARA, M. A., GUEVARA, F. A., BELALCÁZAR, L. C., Experimental Data and New Binary Interaction Parameters for Ethanol-Water VLE at Low Pressures Using NRTL and UNIQUAC. **TECCIENCIA**, v. 13, n. 24, p. 17-26, 2018.

GUIDINI, C. Z. **Fermentação alcoólica em batelada alimentada empregando *Saccharomyces cerevisiae* de características floculantes**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

JOSHI, G. et al. Challenges and opportunities for the application of biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 850–866, 2017.

KANG, Q. et al. Hybrid operation of the bio-ethanol fermentation. **Separation and Purification Technology**, v. 149, p. 322–330, 2015.

MARTÍNEZ, M. I. S; NAVARRO, S. F. M; JIMÉNEZ, H. J. M. Estimación del equilibrio líquido-vapor del sistema binario acetona-cloroformo mediante el modelo termodinámico de Van Laar y Peng Robinson. **Revista ION**, v.33, n. 2, p. 49-60, 2020.

MATSOUKAS, T. **Fundamentals of Chemical Engineering Thermodynamics**. Boston: Pearson, 2013.

MESQUITA, T. J. B. **Estruturas de controle de biorreator baseadas em Fluxos metabólicos para fermentações microaeradas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 169 p., 2021.

MORAN, M. J. et al. **Princípios de termodinâmica para engenharia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora GEN, 2011.

OLIVEIRA, A. S. **Determinação de etanol em bebidas alcoólicas empregando entalpiometria no infravermelho**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, 2016.

PESSOA, K. D. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica baseada em imagens digitais de spot tests para determinação de etanol em cachaça. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 7, p. 0995-1010, 2017.

PILLA, L. **Físico-química II: Equilíbrio entre fases, soluções líquidas e eletroquímica**. 2. ed. revista e atualizada por José Schifino. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2010.

RFA - Renewable Fuels Association. **RenovaBio Program Needs to Accurately Reflect Imported Ethanol Pathways**, 2018. Disponível em: <<https://ethanolrfa.org/media-and-news/category/news-releases/article/2018/05/renovabio-program-needs-to-accurately-reflect-imported-ethanol-pathways-rfa-says>>. Acesso em: 15 jun. 2024.

RODRIGUES, K. C. S. **Fermentação alcoólica extrativa com remoção de etanol por arraste com CO<sub>2</sub> e recuperação por absorção**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, 2019.

SANTOS, D. F. L; REBELATO, M. G; RODRIGUES, A. M. Análise da Viabilidade Econômica de uma Planta para Captura de CO<sub>2</sub> na Indústria Alcooleira. **Revista Gestão e Tecnologia**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 64-88, 2012.

SANTOS, M. V. et al. Real-Time Monitoring of Ethanol Fermentation Using Mid-Infrared Spectroscopy Analysis of the Gas Phase. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, São Paulo, v. 61, p. 7225-7234, 2022.

SARMAD, S; MIKKOLA, J. Vapor-Liquid Equilibrium of Ionic Liquids. **Springer, Singapore**, 2020.

SILVA, C. R. et al. Stripping of ethanol with CO<sub>2</sub> in bubble columns: Effects of operating conditions and modeling. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 102, p. 150-160, 2015.

SILVA, D. S. **Desenvolvimento de procedimento para determinação fotométrica de etanol em bebidas destiladas sem uso de reagentes explorando o efeito Schlieren.** Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de São Carlos, 2015.

SMITH, J. M. et al. **Introduction to chemical engineering thermodynamics.** 8. ed. Dubuque: McGraw-Hill Education, 2017.

SONEGO, J. L. S. **Estudo da produção de etanol de sacarose por fermentação extrativa utilizando arraste com dióxido de carbono.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 2016.

UNICA. **Safra 2023/2024 termina como a maior da história,** 2024. Disponível em:< <https://unica.com.br/noticias/safra-2023-2024-termina-como-a-maior-da-historia/>> Acesso em 26 jun. 2024.

VELOSO, I. I. K. **Modelagem e otimização da fermentação alcoólica em batelada alimentada a baixa temperatura.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 2019.