

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA - UFOB
CENTRO MULTIDISCIPLINAR DE LUÍS EDUARDO MAGALHÃES
ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA**

MARCOS SOUZA ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA VHG EM BATELADA
ALIMENTADA COM DIFERENTES TÉCNICAS DE REDUÇÃO DA
TEMPERATURA: MODELAGEM E SIMULAÇÃO**

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES-BA

2023

MARCOS SOUZA ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA VHG EM BATELADA
ALIMENTADA COM DIFERENTES TÉCNICAS DE REDUÇÃO DA
TEMPERATURA: MODELAGEM E SIMULAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Universidade Federal do
Oeste da Bahia como parte dos requisitos
necessários à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de
Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Kaio César da Silva Rodrigues

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES – BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

A663 Araújo, Marcos Souza.

Avaliação da fermentação alcoólica VHG em batelada alimentada com diferentes técnicas de redução da temperatura: modelagem e simulação. / Marcos Souza Araújo. – 2023.

58 f.; il. color.

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

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, 2023.

1. Biocombustível - Etanol. 2. Fermentação – Processos biotecnológicos.
3. Modelagem e simulação.

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

CDD: 662.8

BIBLIOTECAS UFOB - Biblioteca Universitária de Luís Eduardo Magalhães



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães - CMLEM
Colegiado do Curso de Engenharia de Biotecnologia - CEB

Ata da Apresentação de Trabalho de Conclusão de Curso II do Colegiado do Cursode Engenharia de Biotecnologia

Aos vinte e seis dias do mês de junho de 2023 (dois mil e vinte e três), às 09h35min (nove horas e trinta e seis minutos), na Sala 03 do Centro Multidisciplinar de Luis Eduardo Magalhães, reuniu-se a banca examinadora de defesa de Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC II), formada pelo docente orientador e presidente da banca, Prof. Dr. Kaio César da Silva Rodrigues, e pelos membros, Prof. Dr. Bruno Trindade Reis e Prof. Dr. Douglas Ferreira, para avaliar o TCC II intitulado “**Avaliação da fermentação alcoólica VHG em batelada alimentada com diferentes técnicas de redução da temperatura: Modelagem e simulação**”, apresentado por **Marcos Souza Araújo** como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia. Após análise do trabalho, da apresentação e da arguição, a banca atribuiu média igual a **9,5** e, assim, considerou o discente **APROVADO**. E nada mais havendo, às 11h06min, eu, Kaio César da Silva Rodrigues, Coordenador de Trabalho de Conclusão de Curso do Colegiado do curso de Engenharia de Biotecnologia, lavrei a presente ata que depois de lida será assinada por quem de direito. Luís Eduardo Magalhães, 26 de junho de 2023.

Documento assinado digitalmente



KAIO CESAR DA SILVA RODRIGUES
Data: 18/07/2023 16:58:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor orientador e presidente
da banca examinadora

Documento assinado digitalmente



DOUGLAS FERREIRA
Data: 19/07/2023 09:45:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro da banca examinadora

Documento assinado digitalmente



BRUNO TRINDADE REIS
Data: 20/07/2023 15:15:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro da banca examinadora

Documento assinado digitalmente



MARCOS SOUZA ARAUJO
Data: 18/07/2023 23:46:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Aluno

DEDICATÓRIA

À Deus e minha querida família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos recebidas.

Aos meus pais, Rita de Cássia e Luís Cláudio, aos meus irmãos, Mônica, Maike e Monalisa, pela colaboração, contribuição, incentivo, apoio, compreensão em muitos momentos ausentes, e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu tio João Ricardo e minha tia Maria Valéria e suas famílias, pela colaboração, compreensão, disponibilidade, apoio, amizade e incentivo.

Ao professor Dr. Kaio César da Silva Rodrigues pela orientação, paciência, compreensão, incentivo, colaboração, apoio, ensinamentos, amizade, conselhos e disponibilidade em todos os momentos que o procurei.

Aos colegas, amigas e amigos da graduação, não só pelos bons momentos de descontrações nos corredores, na biblioteca, mas também pelos momentos árduos durante execução de atividades, relatórios entre outros.

À banca avaliadora do presente trabalho, professor Dr. Douglas Ferreira e o professor Dr. Bruno Trindade Reis.

Aos professores do *Campus* de Luís Eduardo Magalhães, em especial, Kaio César, Bruno Trindade, Samuel, Nara, Douglas, Felipe, Pedro, Jamilly, Dannuza e Taidés.

À UFOB, pela oportunidade e estrutura.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para minha formação.

Obrigado!

RESUMO

O processo de fermentação alcoólica para produção de etanol de sacarose (primeira geração - 1G) tem como principal limitação a toxicidade do etanol à levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Durante o processo, o etanol se acumula no caldo fermentativo, inibindo o crescimento celular e, conseqüentemente, sua própria produção. Dessa forma, o processo é limitado à utilização de mostos com concentrações moderadas de substrato, o que resulta na obtenção de vinhos com baixa concentração de etanol (8 a 12 graus *Gay-Lussac*). A utilização de baixas temperaturas aumenta a tolerância da levedura ao etanol, possibilitando a realização de fermentações com maiores cargas de substrato (VHG, do inglês, *very high gravity*), com conseqüente produção de vinhos mais concentrados em etanol. No entanto, a produtividade volumétrica é relativamente baixa devido às baixas velocidades metabólicas da levedura em baixas temperaturas. No presente trabalho, avaliou-se a partir da modelagem e simulações, o processo fermentativo descontínuo alimentado VHG em diferentes condições de redução da temperatura (degraus e rampas), utilizando parâmetros cinéticos obtidos da literatura para linhagem industrial de levedura. Inicialmente, simulou-se uma fermentação VHG à temperatura constante de 28 °C (condição comumente reportada na literatura em fermentações VHG), para ser utilizada como controle. Na seqüência, foram simuladas fermentações VHG aplicando três estratégias de redução da temperatura de 34 para 28 °C durante o processo, no caso um degrau, três degraus e rampas, nas quais avaliou-se os melhores momentos para reduzir a temperatura com base da concentração de etanol no caldo fermentativo. Por fim, investigou-se a influência do tempo de enchimento no desempenho do processo utilizando as melhores condições obtidas para as estratégias de redução de temperatura estudadas. O desempenho das condições simuladas foi avaliado em termos de tempo de processo (t_p) e produtividade volumétrica em etanol (P_E) considerando a conversão de substrato de 98%. No geral, todas as estratégias avaliadas proporcionaram maior P_E em comparação à fermentação controle. A partir da variação do tempo de enchimento, foi possível alcançar melhora de 20,55% em P_E com relação ao controle, devido à redução de t_p . Esses resultados mostram que as estratégias propostas podem ser uma alternativa para viabilizar fermentações VHG, colaborando não só para redução do consumo de água na indústria, bem como para redução de custos globais do processo, associados com a necessidade de equipamentos de grande volume, recuperação do etanol e destinação da vinhaça.

Palavras-chave: produção de etanol; fermentação VHG; redução da temperatura; degraus de temperatura; rampas de temperatura.

ABSTRACT

The main limitation in ethanol fermentation from sucrose (first generation - 1G) is the toxicity of ethanol to the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. During the process, ethanol accumulates in the fermentative broth, inhibiting cell growth and consequently its own production. Thus, the process is limited to the use of musts with moderate concentrations of substrate, producing wines with a low concentration of ethanol (8 to 12 degrees Gay-Lussac). The use of low temperatures increases yeast tolerance to ethanol, enabling fermentations with higher substrate concentration (VHG, very high gravity), resulting in the production of wines with higher ethanol concentration. However, the ethanol volumetric productivity is low due to the low metabolic rates of yeast at low temperatures. This work aimed to model and simulate VHG fed-batch fermentation under different conditions of temperature reduction (steps and ramps), using kinetic parameters obtained from the literature for an industrial yeast strain. Initially, a VHG fermentation at a constant temperature of 28 °C (a condition commonly reported in the literature for VHG fermentations) was simulated to be used as a control. Subsequently, VHG fermentations were simulated using three strategies to reduce the temperature during the process from 34 to 28 °C: one step, three steps, and ramps. The best moments to reduce the temperature were evaluated based on the ethanol concentration in the fermentative broth. Finally, the influence of filling time on process performance was investigated using the best conditions obtained for the temperature reduction strategies studied. The performance of the simulated conditions was evaluated in terms of process time and ethanol volumetric productivity (P_E), considering a substrate conversion of 98%. Overall, all evaluated strategies resulted in higher P_E values in comparison to the control fermentation. By varying the filling time, it was possible to achieve a 20.55% improvement in P_E compared to the control, due to the reduction in process time. The results demonstrate that the proposed strategies could be an alternative to enable VHG fermentations, contributing to the reduction of the water consumption in the industry and the overall costs of the process associated with the need for large volume equipment, ethanol recovery, and vinasse disposal.

Keywords: ethanol production; VHG fermentation; temperature reduction; temperature steps; temperature ramps.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Ilustração da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
Figura 3.2 – Hidrólise da sacarose em glicose e frutose pela enzima invertase em meio aquoso.....	21
Figura 4.1 – Esquema ilustrativo do processo de produção de etanol em modo batelada alimentada.....	26
Figura 4.2 – Perfis das rampas de temperatura em função da concentração de etanol.....	31
Figura 5.1 – Perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S), etanol (C_E) e temperatura (T) ao longo do tempo obtidos na simulação da fermentação alcoólica VHG conduzida à temperatura constante de 28 °C (controle).....	33
Figura 5.2 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com um degrau (34-28°C) para os diferentes valores de C_{ED} (85 a 99% de $C_{Emáx}$).....	35
Figura 5.3 – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}) para as simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com um degrau (34-28°C).....	36
Figura 5.4 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com três degraus de temperatura (34-32, 32-30, 30-28 °C), considerando os diferentes valores de C_{ED} (85 a 99% de $C_{Emáx}$).....	38
Figura 5.5 – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}) para as simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com três degraus (34-32, 32-30, 30-28 °C).....	39
Figura 5.6 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com rampas de temperatura considerando diferentes funções do tipo $T = \alpha.C_{ER}^{-\beta}$, com C_{ER} variando de 85 a 99% de $C_{Emáx}$	41

- Figura 5.7** – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol referente a cada rampa (C_{ER}) para as simulações do processo fermentativo VHG conduzido com rampas de temperatura considerando diferentes funções $T = \alpha.C_{ER}^{-\beta}$, com C_{ER} variando de 85 a 99% de $C_{Emáx}$42
- Figura 5.8** – Perfis de produtividade volumétrica (P_E) em função da condição de concentração de etanol (C_{ED} ou C_{ER} em % do $C_{Emáx}$) para as estratégias de redução de temperatura com um degrau de (quadrados roxos), três degraus (círculos verdes) e rampas (triângulos vermelhos) e controle (linha tracejada)..... 43
- Figura 5.9** – Perfil de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com um degrau com $C_{ED} = 99\%$ do $C_{Emáx}$ 44
- Figura 5.10** – Perfil da produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com três degraus com $C_{ED} = 93\%$ do $C_{Emáx}$ 45
- Figura 5.11** – Perfil da produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com rampa com $C_{ER} = 89\%$ do $C_{Emáx}$ 46
- Figura 5.12** – Perfis de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna para as três estratégias avaliadas: um degrau (quadrados roxos), três degraus de (círculos verdes), rampa de temperatura (triângulos vermelhos). A produtividade da fermentação controle ($P_E = 4,33 \text{ g.L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) é representada pela linha tracejada..... 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Condições de fermentação empregadas nas simulações.....	28
Tabela 4.2 – Equações que descrevem os parâmetros $\mu_{m\acute{a}x}$, K_S , $C_{Em\acute{a}x}$ em função da temperatura (T) e n em função da concentração final de etanol (C_{EF}).....	29
Tabela 4.3 – Equações para a temperatura em função da concentração de etanol utilizadas nas simulações com rampas, com seus respectivos coeficientes de correlação (R2).....	31
Tabela 5.1 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com aplicação de um degrau de temperatura (34-28 °C).....	34
Tabela 5.2 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com aplicação de três degraus de temperatura (34-32, 32-30, 30-28 °C).....	37
Tabela 5.3 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com rampas de temperatura.....	40
Tabela 5.8 – Melhores resultados obtidos para as simulações com variação do tempo de enchimento.....	48

LISTA DE SÍMBOLOS

C_E : concentração de etanol (g L^{-1})

C_{E0} : concentração inicial de etanol (g L^{-1})

C_{ED} : concentração de etanol para aplicação do degrau de temperatura (g L^{-1})

C_{ER} : concentração de etanol para aplicação da rampa de temperatura (g L^{-1})

C_{EF} : concentração final de etanol (g L^{-1})

$C_{Emáx}$: concentração máxima de etanol a partir da qual cessa o crescimento celular (g L^{-1})

C_S : concentração de substrato (g L^{-1})

C_{SM} : concentração de substrato no mosto (g L^{-1})

C_{S0} : concentração inicial de substrato (g L^{-1})

C_X : concentração de células viáveis (g L^{-1})

F_e : vazão de alimentação de mosto (L h^{-1})

F_s : vazão de saída do caldo fermentado (L h^{-1})

K_{IS} : constante de inibição pelo substrato (g L^{-1})

K_S : constante de saturação (g L^{-1})

n : constante adimensional relacionada ao potencial tóxico do produto (-)

$Y_{E/S}$: coeficiente de rendimento em etanol ($\text{g}_E \text{g}_S^{-1}$)

$Y_{X/S}$: coeficiente de rendimento em células viáveis ($\text{g}_X \text{g}_S^{-1}$)

m_E : massa de etanol (g)

m_S : massa de substrato (g)

m_E : massa de etanol (g)

m_{SM} : massa de substrato no mosto (g)

m_{ST} : massa total de substrato alimentado (g)

m_X : massa de células (g)

μ : velocidade de crescimento celular (h^{-1})

$\mu_{máx}$: velocidade específica máxima de crescimento celular (h^{-1})

P_E : produtividade volumétrica em etanol ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)

t : tempo (h)

t_p : tempo de processo (h)

V_0 : volume inicial de inóculo (pé-de-cuba) (L)

V_U : volume útil da dorna (L)

SUMÁRIO

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE SÍMBOLOS	X
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1. Produção de etanol no Brasil	16
3.2. Modo de operação dos processos fermentativos	17
3.2.1. <i>Batelada (descontínuo)</i>	17
3.2.2. <i>Batelada alimentada (descontínuo alimentado)</i>	17
3.2.3. <i>Contínuo</i>	18
3.3. Efeitos inibitórios da fermentação alcoólica	18
3.3.1. <i>Etanol</i>	18
3.3.2. <i>Substrato</i>	18
3.3.3. <i>Potencial de hidrogenioiônico (pH)</i>	19
3.3.4. <i>Temperatura</i>	19
3.3.5. <i>Contaminação bacteriana</i>	19
3.4. Bioquímica da fermentação alcoólica	19
3.5. Modelos cinéticos	21
3.5.1. <i>Modelos sem inibição</i>	23
3.5.2. <i>Modelos com inibição</i>	23
3.5.2.1. <i>Inibição pelo substrato</i>	23
3.5.2.2. <i>Inibição pelo produto</i>	24
3.5.2.3. <i>Inibição celular</i>	24
3.5.2.4. <i>Inibição mista</i>	24
3.6. Fermentação alcoólica VHG	25
4. METODOLOGIA	26
4.1. Modelagem matemática	26
4.2. Simulações	27
4.2.1. <i>Fermentação VHG controle</i>	27

4.2.2.	<i>Fermentações conduzidas com degraus de temperatura</i>	29
4.2.3.	<i>Fermentações conduzidas com rampas de temperatura</i>	30
4.2.4.	<i>Fermentações conduzidas com diferentes tempos de enchimento</i>	32
4.2.5.	<i>Avaliação do desempenho das fermentações</i>	32
4.3.	Procedimentos numéricos	32
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1.	Fermentação VHG controle	33
5.2.	Fermentações conduzidas com degraus de temperatura	34
5.2.1.	<i>Um degrau de temperatura</i>	34
5.2.2.	<i>Três degraus de temperatura</i>	37
5.3.	Fermentações conduzidas com rampas de temperatura	40
5.4.	Fermentações conduzidas com diferentes tempos de enchimento	43
5.4.1.	<i>Um degrau de temperatura</i>	44
5.4.2.	<i>Três degraus de temperatura</i>	45
5.4.3.	<i>Rampa de temperatura</i>	46
6.	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
	ANEXO A: DESENVOLVIMENTO DO MODELO MATEMÁTICO PARA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA EM BATELADA ALIMENTADA	54

1. INTRODUÇÃO

O bioetanol é o biocombustível mais utilizado mundialmente, sendo importante no setor de transporte e contribuindo com a redução da emissão de gases que intensificam o efeito estufa (MOHD AZHAR *et al.*, 2017). O Brasil é o segundo maior produtor de etanol no mundo. Em 2021, o país produziu 27% de todo o etanol mundial, perdendo apenas para os Estados Unidos, que produziram 55% (Renewable Fuels Association, 2021). A implementação do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) na década de 70 foi o que impulsionou o setor sucroalcooleiro no Brasil (MICHELLON *et al.*, 2008). Atualmente, com a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio), espera-se que o setor cresça ainda mais. No estado da Bahia, a Secretaria de Desenvolvimento Econômico (SDE) criou o projeto do Polo Bioenergético e Sucroalcooleiro, que prevê a instalação de 10 usinas na região do Médio São Francisco (SDE-BA, 2020).

No Brasil, a produção de etanol se dá por via fermentativa e aplica-se como principal matéria prima a sacarose extraída da cana-de-açúcar (etanol de primeira geração - 1G) (BASSO *et al.*, 2011). Ao todo, 87% das destilarias utilizam cana-de-açúcar e 13% utilizam milho para produção de etanol (CONAB, 2023). Dentre os diferentes tipos de etanol, o de sacarose é o que apresenta o melhor balanço energético, pois com a queima do bagaço da cana-de-açúcar nas caldeiras é possível obter energia para fins térmicos, bem como energia elétrica (PEREIRA *et al.*, 2018). Quanto ao modo de operação, aproximadamente 85% das destilarias brasileiras realizam a fermentação alcoólica em modo batelada alimentada e os outros 15% operam em modo contínuo (GODOY *et al.*, 2008).

O processo industrial de produção de etanol, embora consolidado, apresenta limitações. Assim, a implementação de novas tecnologias de produção é indispensável quando se objetiva reduzir custos e aumentar a produção. A principal limitação é a inibição do etanol ao metabolismo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (MAIORELLA *et al.*, 1983; SONEGO, 2016; RODRIGUES, 2019; VELOSO, 2019; VELOSO *et al.*, 2019; GOMES, 2020), que está diretamente relacionada com a temperatura. Quanto maior a temperatura, maior a fluidez da membrana da célula, o que facilita o fluxo de substâncias tóxicas para o interior da célula, resultando em maiores efeitos de inibição (PHISALAPHONG *et al.*, 2006). A inibição pelo etanol dificulta a obtenção de vinhos com teor alcoólico superior a 80 g L⁻¹ (10 °GL), em processos conduzidos a 34 °C, valor relativamente baixo (DIAS *et al.*, 2015; VELOSO *et al.*, 2019). Além disso, quando a concentração de etanol aumenta no caldo fermentativo, reduz-se

as velocidades de crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol, refletindo negativamente na produtividade volumétrica em etanol no processo.

Uma forma de contornar os efeitos da inibição pelo etanol é conduzir a fermentação em temperaturas menores. Quando se utiliza menores temperaturas, é possível aumentar consideravelmente a concentração do substrato que se utiliza no mosto de alimentação e, conseqüentemente, obter vinhos mais concentrados ao final da fermentação (RIVERA *et al.*, 2017; VELOSO, 2019). Este tipo de fermentação, é denominada *very high gravity* (VHG), possibilita economia de energia na etapa de recuperação do etanol e gera menor volume de vinhaça, resíduo produzido no processo de destilação (CRUZ *et al.*, 2021). A literatura apresenta diversos trabalhos com tecnologia VHG (ALDIUIER *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2012; RIVERA *et al.*, 2017; VELOSO, 2019; CRUZ *et al.*, 2021; VELOSO, 2023).

Embora a fermentação VHG traga vantagens ao processo, convém salientar que o principal desafio desta estratégia é a baixa produtividade volumétrica em etanol, como consequência da redução das velocidades das reações metabólicas em menores temperaturas (VELOSO, 2019). Observa-se na literatura que estudos visando contornar esse gargalo são escassos, de modo que ainda se faz necessário explorar de forma mais sistemática novas estratégias de fermentações VHG com intuito de melhorar o processo. Neste contexto, a utilização de simulações computacionais empregando modelos matemáticos que descrevem a dinâmica da fermentação VHG pode ser uma alternativa para encontrar melhores condições de processo de modo a maximizar a produção e a produtividade em etanol.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar, utilizando simulação computacional, se a redução da temperatura durante o processo e o tempo de enchimento da dorna melhoram o desempenho da fermentação alcoólica VHG em batelada alimentada.

2.2. Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo proposto, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- Avaliar se a redução da temperatura utilizado degraus (redução abrupta) melhora o desempenho do processo;
- Avaliar se a redução da temperatura utilizado rampas de temperatura (redução gradual) melhora o desempenho do processo;
- Avaliar se o tempo de enchimento influencia o desempenho do processo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Produção de etanol no Brasil

Segundo a *Renewable Fuels Association* (RFA), o Brasil é o segundo maior produtor de etanol no mundo, tendo produzido em 2021 27% de todo etanol mundial, perdendo apenas para os Estados Unidos, que produziram 55% do total (RFA, 2021). Atualmente, o Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking dos países que mais produzem etanol de sacarose (GIMENEZ *et al.*, 2018). Desde 1975, com a criação do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) pelo governo federal, as pesquisas brasileiras acerca da otimização da cadeia produtiva contribuíram de forma extraordinária para o cenário atual. Cerca de 80% de todo petróleo consumido no Brasil no início da década de 1970 era importado. Conflitos entre países que se situam próximos às regiões produtoras de petróleo contribuíram para o primeiro choque do petróleo em 1973 e, conseqüentemente, para o aumento do preço do combustível afetando seriamente a economia brasileira. O Proálcool, dentre vários programas lançados com o objetivo de mudar o cenário do choque do petróleo foi o que obteve maior êxito (MICHELLON *et al.*, 2008). A princípio (no primeiro choque do petróleo), a inserção do etanol na matriz energética tinha como objetivo utilizar o etanol apenas como aditivo da gasolina, mas devido ao segundo choque do petróleo em 1979, o programa foi ampliado com o intuito de utilizar o etanol como substituto da gasolina (MICHELLON *et al.*, 2008).

O bioetanol pode ser obtido por meio de diversas matérias-primas, tais como: beterraba, sorgo, milho, cana-de-açúcar, batata dentre outras (VELOSO, 2019). A matéria prima mais utilizada para a produção de etanol no Brasil é a cana-de-açúcar, tendo em vista os menores custos de produção em comparação às outras matérias-primas, a disponibilidade e a elevada concentração de açúcares (BASSO *et al.*, 2011; SONEGO, 2016).

A principal limitação no processo de produção de etanol de primeira geração está associada à toxicidade do etanol às leveduras à medida que as mesmas realizam a conversão dos açúcares redutores resultantes da hidrólise da sacarose em etanol (RODRIGUES, 2019). O bioetanol possui potencial para cessar o metabolismo da levedura devido alterações que o mesmo provoca nas propriedades mecânicas da membrana celular a medida em que a fermentação é realizada (LY *et al.*, 2002). Como resultado ao final do processo, tem-se vinhos com baixa concentração em etanol. Assim, os custos associados a demanda energética utilizada na recuperação (até 2,6 Kg de vapor por litro de etanol recuperado) e na utilização de dornas de

grande volume, aumentam consideravelmente, resultando no aumento do volume de vinhaça produzida ao final do processo de recuperação (pode alcançar até 12,4 litros de vinhaça para cada litro de etanol recuperado) (AMORIM *et al.*, 2011; RUIZ, 2015).

3.2. Modo de operação dos processos fermentativos

Bioprocessos podem ser especificados/classificados com base na forma que o substrato é adicionado e o produto é retirado do biorreator. Dentre essas formas de condução, tem-se batelada, batelada alimentada e o modo contínuo (SONEGO, 2016).

3.2.1. Batelada (descontínuo)

Na batelada, após a inoculação do biorreator, nada mais é acrescentado ao mesmo, exceto reagentes para controle de espumas e de pH. Caso não ocorra evaporação ou retirada de amostra, o volume reacional não apresentará variações (SONEGO, 2016). Esse modo de operação é comumente utilizado nas indústrias alimentícias (VELOSO, 2019). A batelada foi muito empregada para produção de etanol até o início da década de 1960 (SONEGO, 2016).

Segundo Tosetto (2002), o processo em batelada pode ser operado no sistema de cultura ou de corte. No sistema de cultura, o substrato (mosto) é adicionado até se alcançar o volume útil do biorreator, após a inserção da cultura (inóculo). Já no sistema de corte, após a primeira fermentação ser realizada, o meio de cultivo é dividido em duas dornas que posteriormente terão seus volumes completados. (TOSETTO, 2002).

3.2.2. Batelada alimentada (descontínuo alimentado)

Nesse modo de operação, a inserção de substrato (alimentação) é feita de forma gradual, objetivando a redução do efeito da inibição por substrato, com vazão de alimentação podendo ser constante ou variável com o tempo (CARVALHO e SATO, 2001). Segundo Tosetto (2002), esse tipo de processo é uma variação do modo batelada e há uma economia de açúcar, por conta da menor necessidade de reprodução celular, resultando num elevado rendimento em etanol.

Aproximadamente 85% das destilarias brasileiras operam em modo batelada alimentada, conforme duas etapas. A primeira (batelada alimentada) consiste na adição de mosto à uma suspensão de células denominada “pé-de-cuba”, até que se chegue ao volume útil da dorna (VELOSO, 2019). Quanto à segunda etapa, a partir do momento que o volume útil do

biorreator for alcançado, o processo segue em modo batelada até o momento em que a concentração de substrato zere no caldo fermentativo (SONEGO *et al.*, 2018).

3.2.3. Contínuo

No modo contínuo, o sistema é operado em regime permanente, de modo que as concentrações de produto e substrato não apresentem variação com o tempo (VELOSO, 2019). Neste sistema de condução pode haver reciclo de células ou não, e os tanques utilizados no processo podem ser individuais ou conectados em série (SONEGO, 2016).

Uma das grandes vantagens de se operar no modo contínuo, diferentemente do modo descontínuo, é a redução dos “tempos mortos”, o que contribui para o aumento da produtividade em etanol e obtenção de um produto uniforme. Os pontos negativos estão associados à possibilidade de contaminação, por não ser um sistema fechado, e a mutação genética do microrganismo, devido aos longos tempos de operação (FACCIOTTI, 2001).

3.3. Efeitos inibitórios da fermentação alcoólica

3.3.1. Etanol

Segundo Maiorella *et al.* (1983), o etanol produzido na fermentação alcoólica é o principal inibidor do metabolismo da levedura. Em concentrações acima de 40 g L^{-1} à medida que sua concentração aumenta no caldo o metabolismo da levedura é afetado, conseqüentemente, reduzindo a velocidade de formação de produto. O metabolismo é completamente inibido em concentração acima de 90 g L^{-1} em fermentações conduzidas a $34 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.3.2. Substrato

Em processos conduzidos com concentrações de substrato superiores a 150 g L^{-1} torna-se possível observar efeitos inibitórios provocados pelo substrato (THATIPAMALA *et al.*, 1992). Segundo Schulz (2010), nesta condição de concentração há aumento da osmolaridade, promovido pelo excesso de substrato. O autor afirma ainda que além de provocar perda de viabilidade, há redução da velocidade de crescimento celular. O modo de operação batelada alimentada contorna essa problemática, pois, operando a $34 \text{ }^\circ\text{C}$, com esse modo o processo atinge no máximo 70 g L^{-1} de substrato (BASSO *et al.*, 2011).

3.3.3. Potencial de hidrogenioiônico (pH)

A contaminação bacteriana, formação de subprodutos e a velocidade da fermentação podem ser influenciadas pelo pH (AMORIM, 1996). Fermentações com pH muito baixo resultam em perda de potássio e nitrogênio e, como consequência, tem-se o aumento da sensibilidade da célula ao etanol, dióxido de enxofre e ácidos orgânicos (GOMES, 1988). Segundo Lima *et al.* (2001), no geral, em fermentações conduzidas industrialmente o pH fica entre 4,5 e 5,5.

3.3.4. Temperatura

Trabalhos da literatura afirmam que existe um intervalo de temperatura ideal para a realização da fermentação alcoólica (26 a 35 °C). Este parâmetro pode afetar o processo de diferentes maneiras. Em temperaturas maiores, aumenta-se a contaminação bacteriana, bem como os efeitos tóxicos do etanol e diminui-se a viabilidade celular. A temperatura também afeta as reações bioquímica das células. Temperaturas baixas contribuem para obtenção de elevados rendimentos em etanol, porém a produtividade em etanol diminui (TORIJA *et al.*, 2003). Por outro lado, quando se reduz a temperatura da fermentação, aumenta-se a resistência da levedura ao etanol, e reduz-se a formação de subprodutos indesejados durante o processo, por conta de menores estresses (LORA e VENTURI, 2012). O efeito da toxicidade do etanol à levedura aumenta com o aumento da temperatura, pois, aumenta-se a fluidez da membrana e, conseqüentemente, o fluxo de substâncias tóxicas para interior da levedura (FHISALAPHONG *et al.*, 2006). Em temperaturas de 12 a 28 °C, o efeito do etanol é constante, no entanto, em temperaturas maiores o mesmo é intensificado (AMORIM *et al.*, 1996).

3.3.5. Contaminação bacteriana

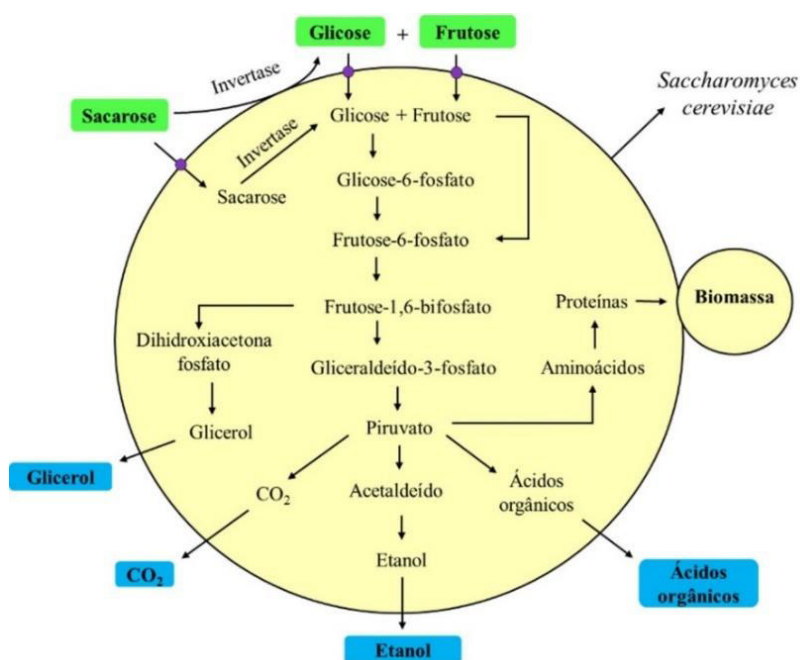
Sabe-se que microrganismos contaminantes podem se desenvolver no fermentador a depender das condições de processo. Os mesmos podem competir pelo mesmo substrato com a levedura, além de excretar produtos que apresentam efeitos inibitórios à levedura, e diversas outras moléculas que podem proporcionar a formação de espuma e provocar a floculação das leveduras (NEVES *et al.*, 2010).

3.4. Bioquímica da fermentação alcoólica

Segundo Rodrigues (2019) e Lima (2002), a fermentação alcoólica pode ser compreendida como a conversão de hexoses (glicose e frutose) em CO₂ e etanol pela levedura

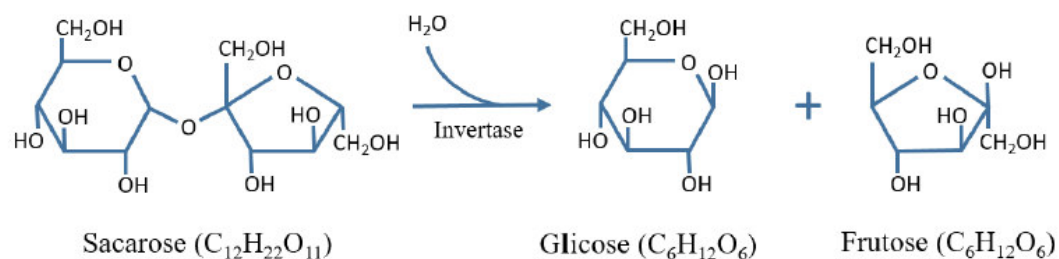
Saccharomyces cerevisiae, na ausência de oxigênio. Tal processo ocorre no citoplasma celular, local onde estão contidas as enzimas envolvidas no metabolismo (VELOSO, 2019). Segundo Lima *et al.* (2001), para que a conversão de açúcares em etanol seja alcançada, são necessárias várias reações enzimáticas, como mostrado na **Figura 3.1**. A princípio, a sacarose é convertida em frutose e glicose por meio da enzima invertase numa reação de hidrólise (BAEYENS *et al.*, 2015), conforme ilustra a **Figura 3.2**. Na sequência, a glicose e a frutose são convertidas em piruvato e o mesmo é convertido em etanol por uma sequência de reações que se dividem em duas etapas. Na primeira, forma-se acetaldeído devido a descarboxilação do piruvato. Na segunda, ocorre uma reação de redução onde o acetaldeído é reduzido a etanol (NELSON e COX, 2008). O objetivo principal da célula é metabolizar energia na forma de ATP (VELOSO, 2019). Assim sendo, produtos como; glicerol, etanol e CO₂, que não apresentam utilidade energética alguma, são excretados pela célula (LIMA *et al.*, 2001).

Figura 3.1 - Ilustração da via metabólica da fermentação alcoólica pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*.



Fonte: Rodrigues (2019).

Figura 3.2 – Hidrólise da sacarose em glicose e frutose pela enzima invertase em meio aquoso.



Fonte: Veloso (2019).

3.5. Modelos cinéticos

A dinâmica de processos fermentativos pode ser descrita por meio de equações matemáticas. A utilização de modelos possibilita a predição e compreensão das interações entre variáveis e parâmetros. A modelagem também possibilita analisar estratégias de otimização (RIVERA *et al.*, 2017). Segundo Bonomi e Schmidell (2001), os modelos matemáticos que descrevem bioprocessos podem ser classificados da seguinte forma:

Modelos não-estruturados: a variação de componentes intracelulares para a previsão do comportamento cinético do bioprocessos é desconsiderada (a estrutura celular é desconsiderada). Assim sendo, a biomassa do agente biológico é caracterizada por uma única variável.

Modelos estruturados: os componentes intracelulares estruturais são considerados. Portanto, o microrganismo é descrito em maiores detalhes, o que permite descrever a adaptação ao meio ambiente.

Modelos não-segregados: as populações celulares são consideradas homogêneas.

Modelos segregados: há distribuição de idade entre células e as mesmas são consideradas heterogêneas.

Bonomi e Schmidell (2001) afirmam que modelos segregados e estruturados descrevem com mais detalhes o comportamento cinético das fermentações, porém, exigem maiores esforços computacionais. Portanto, os modelos não-segregados e não-estruturados são mais utilizados, tendo em vista a facilidade de obtenção de parâmetros, devido ao menor número de variáveis envolvidas e ao menor esforço computacional (ANDRIETTA, 1994).

A concentração de células no meio fermentativo influencia diretamente o crescimento celular (auto catalítico). Por conseguinte, à medida que a concentração de células aumenta, as velocidades específicas de crescimento também aumentam, tornando-se comum que tais equações estejam em função da concentração celular (C_x). O crescimento celular pode ser caracterizado matematicamente pela velocidade específica de crescimento celular (μ), representado pela Equação 3.1, para os modos de operação batelada e batelada alimentada. Analogamente, as velocidades específicas de consumo de substrato (μ_S) e formação de produto (μ_P) para esses modos de operação podem ser representadas pelas Equações 3.2 e 3.3, respectivamente (RODRIGUES, 2019).

$$\mu = \frac{1}{m_X} \frac{dm_X}{dt} \quad (3.1)$$

$$\mu_S = \frac{1}{m_X} \left(-\frac{dm_S}{dt} \right) \quad (3.2)$$

$$\mu_P = \frac{1}{m_X} \frac{dm_P}{dt} \quad (3.3)$$

onde m_X , m_S e m_P são as massas de células, substrato e produto (g), respectivamente.

Para o modo contínuo, considerando regime transiente, sem reciclo de células, as velocidades específicas de crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto podem ser representadas pelas Equações 3.4, 3.5 e 3.6.

$$\mu = \left(\frac{dm_X}{dt} + \frac{F}{V} m_X \right) \frac{1}{m_X} \quad (3.4)$$

$$\mu_S = - \left[\left(\frac{dm_S}{dt} \right) + \frac{F}{V} (m_S - m_{SM}) \right] \frac{1}{m_X} \quad (3.5)$$

$$\mu_P = \left(\frac{dm_P}{dt} + \frac{F}{V} m_P \right) \frac{1}{m_X} \quad (3.6)$$

onde m_{SM} é massa de substrato no mosto (g).

3.5.1. Modelos sem inibição

As equações matemáticas para μ são, geralmente, função da concentração de substratos limitantes (C_S) e podem também ser função da concentração de produto (C_P) e concentração celular (C_X) (VELOSO, 2019). A literatura divide os modelos para μ em dois grupos: os que consideram inibição por produto, células e/ou substratos e aqueles que não consideram inibição alguma (BADINO e CRUZ, 2012), conforme apresentado a seguir.

- Modelo de Monod (1942):

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad (3.4)$$

sendo K_S a constante de saturação ($g L^{-1}$), C_S a concentração de substrato limitante ($g L^{-1}$) e $\mu_{m\acute{a}x}$ a velocidade específica máxima de crescimento celular (h^{-1}). Tal modelo foi utilizado como base para o desenvolvimento de outros modelos como o de Moser (1958).

- Modelo de Moser (1958):

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{C_S^u}{K_S + C_S^u} \quad (3.5)$$

sendo o expoente u , um parâmetro adimensional do modelo.

3.5.2. Modelos com inibição

Segundo Veloso (2019), diversos fatores podem afetar a velocidade específica de crescimento celular. A literatura apresenta diversos modelos, sendo que alguns consideram o produto como fator inibitório, uns consideram a concentração celular e outros a inibição por substrato limitante. Também são reportados modelos que consideram inibição mista, conforme apresentado a seguir:

3.5.2.1. Inibição pelo substrato

- Modelo de Andrews (1968):

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \quad (3.6)$$

sendo K_{IS} constante de inibição pelo substrato (g L^{-1}).

Este é o modelo mais aceito para descrever inibição por substrato, também sendo conhecido como “modelo de Monod com inibição pelo substrato”.

3.5.2.2. Inibição pelo produto

- Modelo de Levenspiel (1980):

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \cdot \left(1 - \frac{C_P}{C_P^*}\right)^n \quad (3.7)$$

sendo C_P^* a concentração crítica de produto a partir da qual se cessa o crescimento celular (g L^{-1}) e n uma constante adimensional relacionada ao potencial tóxico do produto.

3.5.2.3. Inibição celular

- Modelo de Lee - Pollard - Coulman (1983):

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \cdot \left(1 - \frac{C_X}{C_X^*}\right)^m \quad (3.8)$$

onde C_X^* é a concentração crítica de células a partir da qual cessa-se o crescimento celular (g L^{-1}) e m um parâmetro adimensional do modelo (-).

3.5.2.4. Inibição mista

Existem vários modelos de inibição mista, os quais podem considerar inibição envolvendo produto e células, substrato e produto, ou ainda substrato, produto e células (VELOSO, 2019). O modelo híbrido de Andrews-Levenspiel, por exemplo, considera inibição pelo substrato e pelo produto:

- Andrews-Levenspiel:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \cdot \left(1 - \frac{C_P}{C_P^*}\right)^n \quad (3.9)$$

3.6. Fermentação alcoólica VHG

Com o objetivo de elevar o teor alcoólico nas fermentações e reduzir problemas associados à operação, substratos com alta concentração de açúcares totais tem sido utilizados em processos fermentativos. Tal estratégia é conhecida como fermentação com alto teor de açúcares fermentescíveis (*very high gravity*, VHG) (CRUZ, 2019). Esta tecnologia foi desenvolvida na década de 1990. Inicialmente, avaliaram-se mostos com 25% (m.m⁻¹) de açúcares redutores totais (ART), objetivando obter concentração de etanol maior ou igual a 15% (BAYROCK; INGLEDEW, 2001).

Segundo Deesuth *et al.* (2015), as fermentações podem ser classificadas em NG, HG e VHG, conforme a concentração de substrato. Fermentações NG (*normal gravity*) são conduzidas com até 180 g L⁻¹ de ART, enquanto fermentações HG (*high gravity*) com 180 a 250 g L⁻¹ de ART e fermentações VHG com mais de 250 g L⁻¹ de ART. Nessa tecnologia utiliza-se baixas temperaturas na condução da fermentação para reduzir o efeito inibitório do etanol, o que possibilita a alimentação de mostos com maiores concentrações de ART (RIVERA *et al.*, 2017).

A principal vantagem dessa tecnologia é o aumento da concentração de etanol no caldo fermentativo de pelo menos 15% (v/v), o que resulta na redução do volume de vinhaça (YAMAKAWA *et al.*, 2019) e do consumo de energia e água utilizadas na destilação do etanol e, conseqüentemente, do custo operacional associado à destilação (CRUZ *et al.*, 2021). Além disso, temperaturas baixas minimizam a proliferação de bactérias contaminantes (SONEGO, 2016), o que contribui com a redução dos custos com a aplicação de antibióticos.

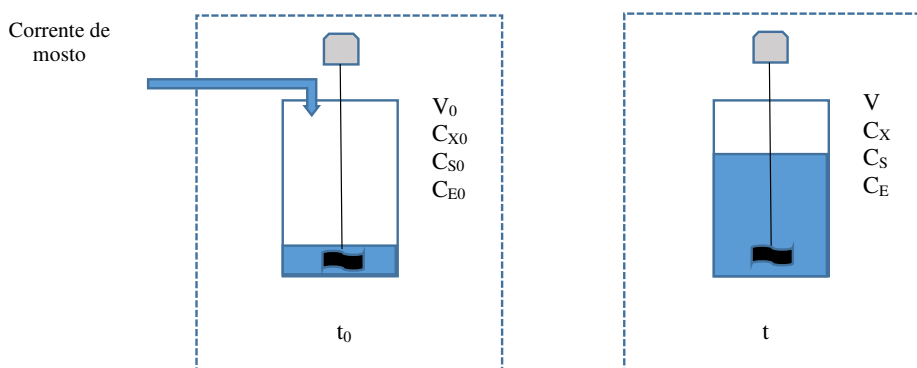
Embora a estratégia VHG possa trazer benefícios ao processo, o principal gargalo está associado às baixas produtividades volumétricas em etanol (VELOSO, 2019), consequência das baixas velocidades metabólica das leveduras (TORIJA *et al.*, 2003).

4. METODOLOGIA

4.1. Modelagem matemática

Na **Figura 4.1**, é apresentado um esquema ilustrativo do processo fermentativo alcoólico em batelada alimentada, objeto de estudo do presente trabalho. O processo se inicia com a alimentação de mosto contendo substrato ao “pé-de-cuba” (inóculo - suspensão de água e células), à uma vazão volumétrica constante, até se alcançar o volume útil da dorna. Após o enchimento da dorna, o processo continua em modo batelada até se alcançar a conversão de substrato desejada (~100% industrialmente).

Figura 4.1 – Esquema ilustrativo do processo de produção de etanol em modo batelada alimentada.



Fonte: Acervo pessoal do autor.

O modelo matemático do processo pode ser representado pelo sistema de equações diferenciais (**Equações 4.1- 4.4**), obtidas dos balanços de massa para células (X), substrato (S) e etanol (E) e balanço de massa total, assumindo formação de produto associada ao crescimento. O desenvolvimento do modelo se encontra no Anexo A.

$$\frac{dV}{dt} = F_e \quad (4.1)$$

$$\frac{dC_X}{dt} = C_X \cdot \left(\mu - \frac{F_e}{V} \right) \quad (4.2)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F_e}{V} \cdot (C_{SM} - C_S) - \frac{\mu}{Y_{X/S}} C_X \quad (4.3)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X - \frac{F_e}{V} \cdot C_E \quad (4.4)$$

onde, C_E é a concentração de etanol (g L^{-1}), C_S é a concentração de substrato (g L^{-1}), C_{SM} é a concentração de substrato no mosto (g L^{-1}), C_X é a concentração de células viáveis (g L^{-1}), F_e é a vazão de alimentação de mosto (L h^{-1}). Para a etapa em batelada do processo, $F_e = 0$.

Para descrever a velocidade específica de crescimento celular (μ), foi utilizado o modelo cinético de Andrews (1968) – Levenspiel (1980), que considera inibição por substrato e produto, conforme utilizado por Veloso *et al.* (2019).

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_{IS}}} \cdot \left(1 - \frac{C_E}{C_{E\text{máx}}} \right)^n \quad (4.5)$$

onde, $\mu_{\text{máx}}$ é a velocidade específica máxima de crescimento celular (h^{-1}), K_S é a constante de saturação (g L^{-1}), K_{IS} é a constante de inibição pelo substrato (g L^{-1}), $C_{E\text{máx}}$ é a concentração máxima de etanol a partir da qual cessa-se o crescimento celular (g L^{-1}) e n é uma constante adimensional relacionada ao potencial tóxico do produto (-).

4.2. Simulações

4.2.1. Fermentação VHG controle

Utilizou-se como controle a simulação do processo VHG conduzido à temperatura constante de 28°C , pois, esta é uma estratégia reportada em trabalhos da literatura (VELOSO *et al.*, 2019). Na **Tabela 4.1**, são mostradas as condições de vazão de alimentação e concentração de substrato no mosto que foram utilizadas nas simulações da fermentação VHG

controle e demais fermentações com redução de temperatura. Considerou-se volume útil (V_U) de 2 L e volume inicial de inóculo (V_0) correspondente a 30% do volume útil (0,6 L).

Tabela 4.1 – Condições de fermentação empregadas nas simulações.

Parâmetro	Valor
F_e (L h ⁻¹)	0,109
t_E (h)	12,84
C_{SM} (g L ⁻¹)	436,3
C_{SF} (g L ⁻¹)	305,4

F_e : vazão volumétrica de alimentação (L h⁻¹); t_E : tempo de enchimento (h) – relação entre volume e vazão de enchimento ($V F_e^{-1}$); C_{SM} : concentração de substrato no mosto (g L⁻¹); C_{SF} : concentração de substrato alimentado (g L⁻¹) (baseado na massa total de substrato alimentado e no volume útil da dorna).

Os valores dos parâmetros F_e , t_E e C_{SF} , mostrados na **Tabela 4.1** foram obtidos do trabalho de Veloso *et al.* (2019). Para o cálculo dos valores de C_{SM} , utilizou-se a Equação 4.6, que relaciona C_{SF} com C_{SM} .

$$C_{SF} = \frac{m_{ST}}{V_U} = C_{SM} \cdot \frac{(V_U - V_0)}{V_U} \quad (4.6)$$

onde, m_{ST} é massa total de substrato alimentado (g_S), V_U é o volume útil da dorna (L) e V_0 é o volume inicial de inóculo (pé-de-cuba) (L).

Os parâmetros cinéticos do modelo de Andrews - Levenspiel ($\mu_{m\acute{a}x}$, K_S , K_{IS} , $C_{Em\acute{a}x}$ e n), bem como os coeficientes de rendimento em células e etanol ($Y_{X/S}$ e $Y_{E/S}$) utilizados nas simulações foram obtidos do trabalho de Veloso *et al.* (2019). A **Tabela 4.2** apresenta os parâmetros $\mu_{m\acute{a}x}$, K_S , $C_{Em\acute{a}x}$ em função da temperatura e n em função da concentração final em etanol. Os parâmetros $Y_{X/S}$ ($0,0419 \pm 0,0040$) (g_X g_S⁻¹), $Y_{E/S}$ ($0,444 \pm 0,002$) (g_E g_S⁻¹) e K_{IS} ($170,35 \pm 0,31$) (g L⁻¹) foram considerados constantes nas simulações, e foram obtidos a partir das médias aritméticas dos parâmetros obtidos por Veloso *et al.* (2019) nas temperaturas de 28, 30, 32 e 34 °C.

Tabela 4.2 – Equações que descrevem os parâmetros $\mu_{\text{máx}}$, K_S , $C_{\text{Emáx}}$ em função da temperatura (T) e n em função da concentração final de etanol (C_{EF}).

Parâmetros	Equação
$\mu_{\text{máx}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$(4,05 \pm 1,14) \cdot 10^6 \cdot e^{-(5139,2 \pm 161,0) \cdot (\frac{1}{T(K)})}$
$C_{\text{Emáx}} \text{ (g}_E \text{ L}^{-1}\text{)}$	$(138,45 \pm 1,68) \cdot e^{-(1,88 \pm 0,11) \cdot (\frac{T(^{\circ}\text{C})-28}{28})}$
$K_S \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	$(14,35 \pm 1,92) \cdot e^{(7,64 \pm 0,70) \cdot (\frac{T(^{\circ}\text{C})-28}{28})}$
n (-)	$(0,143 \pm 0,014) \cdot (\frac{C_{\text{EF}}}{80,0})^{3,56 \pm 0,22}$

4.2.2. Fermentações conduzidas com degraus de temperatura

Rotinas de simulação foram implementadas para avaliar a condução da fermentação alcoólica VHG reduzindo-se a temperatura abruptamente (degrau) conforme duas estratégias. Para ambas, utilizou-se as mesmas condições do processo (F_e , t_E e C_{SM}) conduzido à temperatura constante 28°C (**Tabela 4.1**) e os parâmetros apresentados na **Tabela 4.2**.

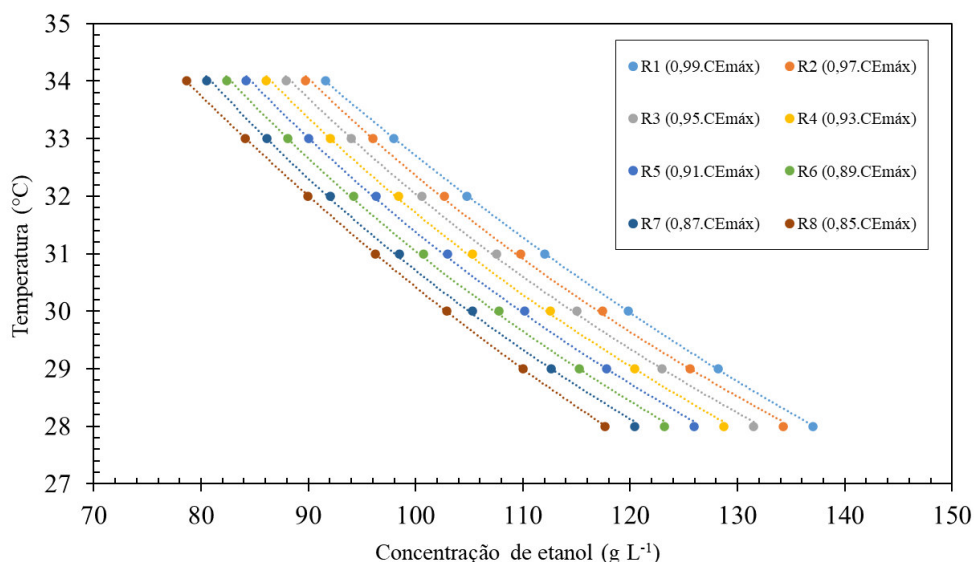
Na primeira estratégia, apenas um degrau de temperatura (34-28 °C) foi aplicado, de modo que o processo foi iniciado a 34 °C e conduzido nesta temperatura até que a concentração de etanol no caldo fermentado alcançou determinado valor (C_{ED} - concentração de etanol para aplicação de degrau). Posteriormente, a temperatura foi reduzida para 28 °C, temperatura em que o processo foi conduzido até atingir o critério de conversão de substrato.

Quanto à segunda estratégia, três degraus de temperatura para condução do processo (34-32, 32-30 e 30-28 °C) foram aplicados. O algoritmo foi instituído de forma similar ao processo conduzido com apenas um degrau, aumentando-se apenas o número de degraus. Assim, o processo iniciou-se a 34 °C e foi conduzido nesta temperatura até determinado valor de C_{ED} , a partir do qual a temperatura do processo foi reduzida para 32 °C (primeiro degrau). Em seguida, a temperatura foi mantida em 32 °C e, posteriormente, quando alcançou-se determinado valor C_{ED} , foi reduzida para 30 °C (segundo degrau). Por fim, de forma análoga, aplicou-se o terceiro degrau, reduzindo a temperatura para 28 °C, condição em que o processo foi conduzido até alcançar o critério de conversão de substrato

Sabe-se que o efeito inibitório do etanol à levedura é dependente da temperatura, pois processos conduzidos em maiores temperaturas tendem a ter maior inibição com menores concentrações de etanol no meio. No presente trabalho, foram avaliados diferentes valores de C_{ED} para cada degrau, objetivando a obtenção da melhor condição de C_{ED} para aplicação do degrau de temperatura (aquela que maximiza a produtividade volumétrica em etanol). Os valores de C_{ED} foram baseados no parâmetro $C_{Emáx}$ (concentração máxima de etanol a partir da qual cessa-se o crescimento celular) para cada temperatura. Foram avaliados valores de C_{ED} de 85 a 99% de $C_{Emáx}$, com passo de 2%. É importante notar que o C_{ED} era sempre vinculado ao $C_{Emáx}$, de modo que para cada degrau existia um valor de C_{ED} característico de acordo com a temperatura.

4.2.3. Fermentações conduzidas com rampas de temperatura

Para avaliação da condução da fermentação com rampas de temperatura, foram implementadas rotinas para simular o processo considerando a redução na temperatura (T) como uma função da concentração de etanol. No total, foram avaliadas 8 condições de rampa, cujas equações para T foram obtidas com base na equação de $C_{Emáx}$ em função da temperatura de processo, ajustada por Veloso *et al.* (2019) (**Tabela 4.2**). Para tal, foram levantados os dados da concentração de $C_{Emáx}$ para o intervalo de temperatura de 28 a 34 °C, utilizando passo de temperatura de 1 °C, isto é, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 °C. Uma vez obtidos os valores de $C_{Emáx}$, foram levantados os valores de concentração de etanol para as rampas (C_{ER}) variando de 85% a 99% do $C_{Emáx}$ com passo de 2%. Com esses dados, foram ajustadas oito equações empíricas para T em função de C_{ER} do tipo $T = \alpha \cdot C_{ER}^{-\beta}$ (α e β são constantes empíricas), conforme mostra a **Figura 4.2** e a **Tabela 4.3**, que foram avaliadas como rampas de temperatura. Os coeficientes de correlação (R^2) para todas as equações ajustadas foram também obtidos (**Tabela 4.3**).

Figura 4.2 – Perfis das rampas de temperatura em função da concentração de etanol.

Fonte: Acervo pessoal do autor.

Tabela 4.3 – Equações para a temperatura em função da concentração de etanol utilizadas nas simulações com rampas, com seus respectivos coeficientes de correlação (R^2).

Simulação (-)	T (°C)	R^2 (-)	C_{ER}^w (% $C_{Emáx}$)
1	$279,00.C_{ER}^{-0,482}$	1,000	85
2	$282,14.C_{ER}^{-0,482}$	0,999	87
3	$285,26.C_{ER}^{-0,482}$	0,999	89
4	$288,32.C_{ER}^{-0,482}$	0,999	91
5	$291,35.C_{ER}^{-0,482}$	0,999	93
6	$294,35.C_{ER}^{-0,482}$	1,000	95
7	$297,32.C_{ER}^{-0,482}$	0,999	97
8	$300,26.C_{ER}^{-0,482}$	1,000	99

^w C_{ER} concentração de etanol para aplicação da rampa de temperatura (variável independente da função temperatura).

A principal alegação para o fato do ajuste desses perfis $T = f(C_{ER})$, se dá pelo interesse em saber qual a melhor estratégia (aquela que maximiza a produtividade volumétrica em etanol) para a aplicação da rampa embasando-se na concentração de etanol no caldo fermentativo, uma vez que ele é inibidor do metabolismo das células que são utilizadas na fermentação.

No que diz respeito a forma com a qual a simulação foi realizada, o processo foi iniciado a 34 °C e conduzido nesta temperatura até se alcançar determinada concentração de etanol (C_{ER}) para iniciar a rampa. Após esse momento, a temperatura do processo foi conduzida em rampa, conforme a devida função de T, até atingir a temperatura de 28 °C, temperatura em que o processo foi conduzido até alcançar o critério de conversão de substrato.

4.2.4. Fermentações conduzidas com diferentes tempos de enchimento

O tempo de enchimento é um parâmetro que também influencia no desempenho da fermentação VHG, uma vez que a concentração de substrato afeta a pressão osmótica externa do caldo e conseqüentemente a biossíntese celular (SOUZA, 2009). Após a obtenção das melhores condições para realização dos degraus e rampas de temperatura, foram avaliadas diferentes condições de tempo de enchimento, variando-o de 7,20 a 15,00 h em intervalos de 0,2 h.

4.2.5. Avaliação do desempenho das fermentações

Para fins de comparação dos resultados das simulações, foi adotada conversão de substrato (X_S) de 98%. Como parâmetros de desempenho, foram utilizados o tempo de processo (t_P) e a produtividade volumétrica em etanol (P_E), dada pela seguinte equação:

$$P_E = \left(\frac{C_{EF} - C_{E0}}{t_P} \right) \quad (4.7)$$

onde, C_{E0} é concentração inicial de etanol ($g L^{-1}$), a qual normalmente é igual a zero.

4.3. Procedimentos numéricos

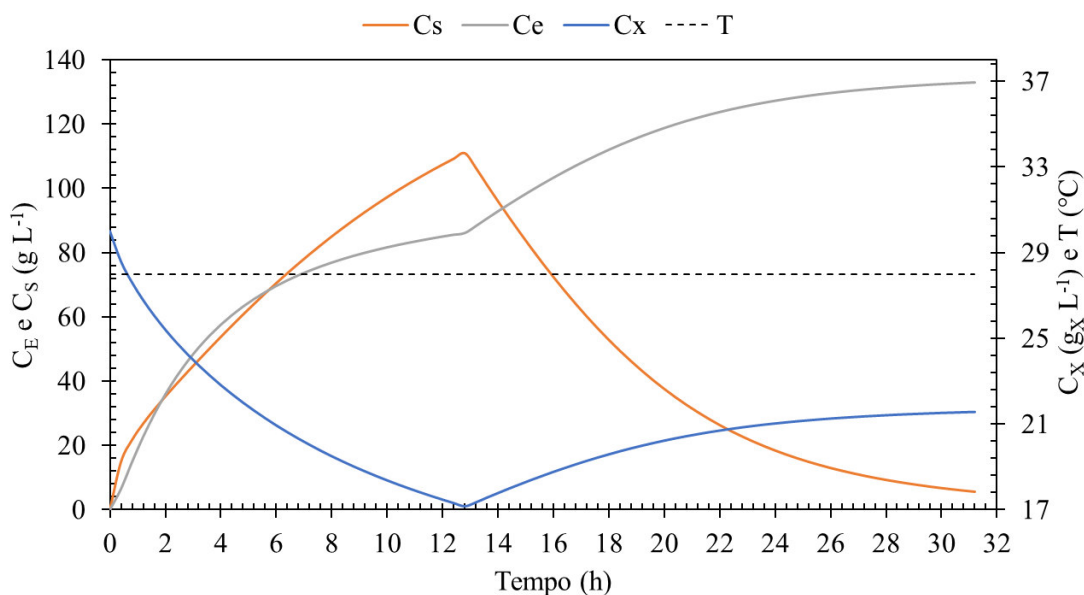
O sistema de equações diferenciais ordinárias que descreve o processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada (Eqs. 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4) foi resolvido utilizando o método de Runge Kutta de 4ª Ordem, cujo algoritmo foi implementado no software Scilab 6.1.1.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fermentação VHG controle

Para a simulação da fermentação conduzida à temperatura constante de 28°C, adotada como controle, os resultados obtidos para a concentração de etanol final (C_{EF}), produtividade volumétrica em etanol (P_E) e tempo de processo (t_P) foram de 132,9 g L⁻¹, 4,33 g L⁻¹ h⁻¹ e 30,66 h, respectivamente. Os perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S), etanol (C_E) e temperatura (T) em função do tempo são apresentados na **Figura 5.1**.

Figura 5.1 – Perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S), etanol (C_E) e temperatura (T) ao longo do tempo obtidos na simulação da fermentação alcoólica VHG conduzida à temperatura constante de 28 °C (controle).



Fonte: Acervo pessoal do autor.

Como esperado, os resultados para C_{EF} , t_P e P_E , bem como os perfis de concentração apresentados na **Figura 5.1**, estão condizentes com resultados da literatura (RIVEIRA *et al.*, 2017; VELOSO *et al.*, 2019; CRUZ, 2019). O elevado valor de concentração de etanol final no caldo foi devido à elevada concentração de substrato no mosto em comparação a fermentações convencionais. O valor relativamente baixo para P_E (4,33 g L⁻¹ h⁻¹) foi consequência das baixas velocidades metabólicas provocadas pela redução da temperatura durante a condução da fermentação que influencia negativamente aumentando o tempo de processo.

5.2. Fermentações conduzidas com degraus de temperatura

5.2.1. Um degrau de temperatura

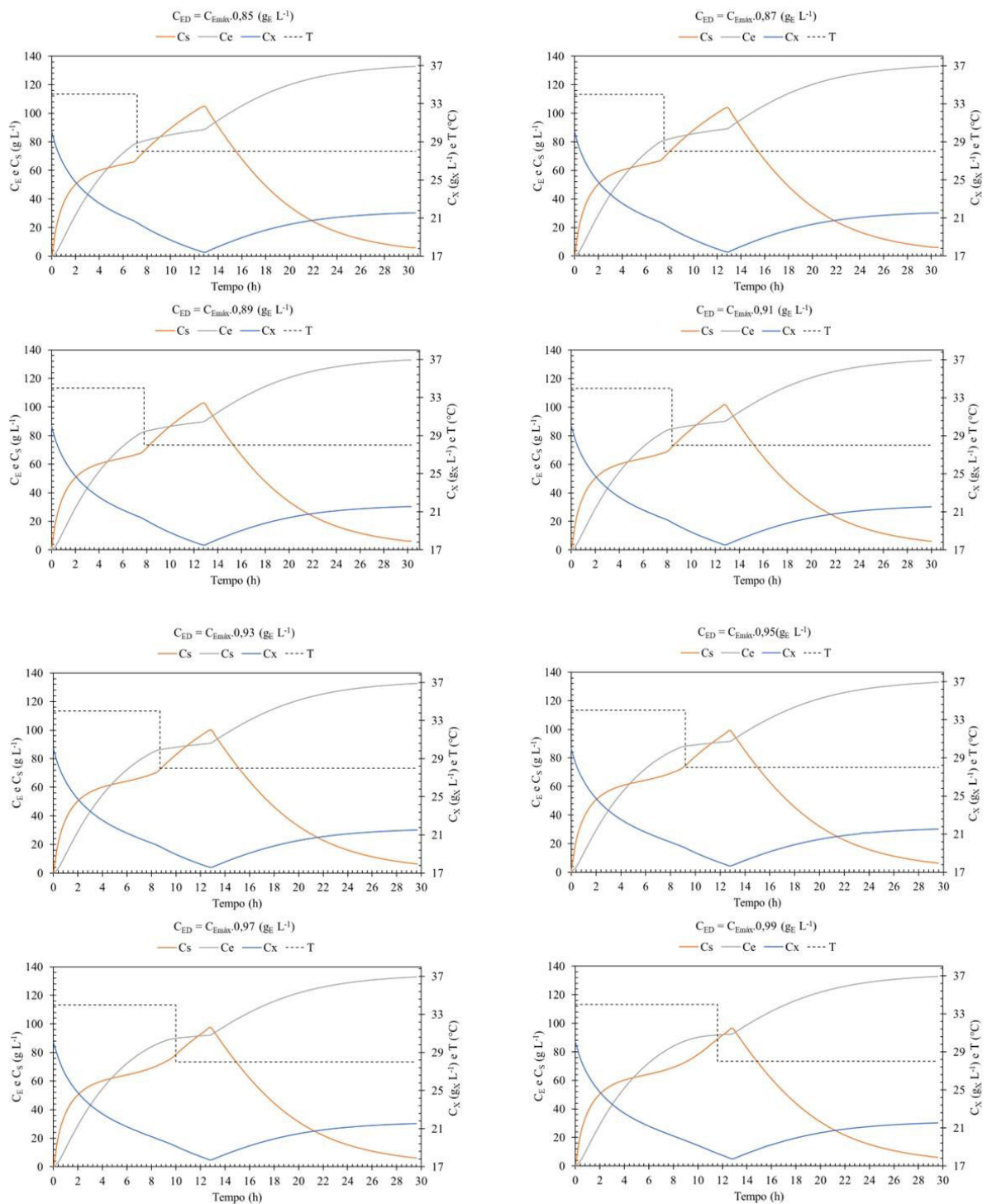
A seguir, tem-se na **Tabela 5.1** os resultados obtidos das simulações para o processo VHG conduzido com aplicação de um degrau de temperatura, (34-28 °C), para os diferentes valores de concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}). A **Figura 5.2** apresenta os perfis das concentrações de células (C_X) substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo obtidos das simulações.

Tabela 5.1 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com aplicação de um degrau de temperatura (34-28 °C).

Simulação (-)	T (°C)	C_{ED} (% $C_{Emáx}$)	t_p (h)	P_E (g L ⁻¹ h ⁻¹)	A_{PE}^y (%)
Controle	28	-	30,66	4,33	-
1	34 – 28	85	30,25	4,39	1,49
2	34 – 28	87	30,20	4,40	1,66
3	34 – 28	89	30,10	4,41	1,99
4	34 – 28	91	30,00	4,43	2,33
5	34 – 28	93	29,90	4,44	2,68
6	34 – 28	95	29,80	4,46	3,02
7	34 – 28	97	29,65	4,48	3,54
8	34 – 28	99	29,60	4,49	3,72

^yAumento na produtividade em etanol em relação à condição controle (%).

Figura 5.2 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com um degrau (34-28°C) para os diferentes valores de C_{ED} (85 a 99% de $C_{E\text{máx}}$).

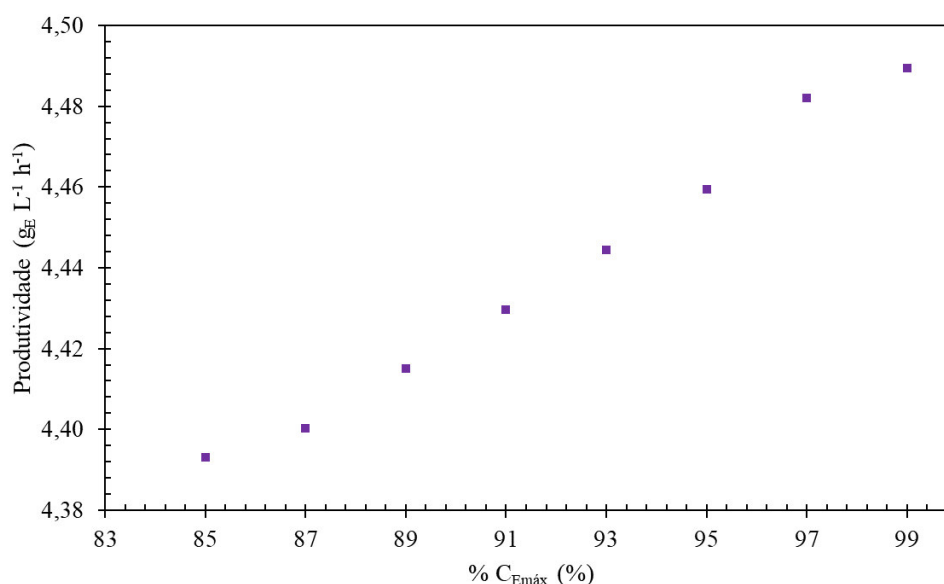


Fonte: Acervo pessoal do autor.

Quando se compara os resultados apresentados na **Tabela 5.1 e Figura 5.2**, constata-se que a aplicação de um degrau de temperatura na condução do processo proporcionou sutil melhoria no desempenho do mesmo. Obteve-se um valor máximo para produtividade volumétrica em etanol de $4,49 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para C_{ED} de 99% do $C_{Em\acute{a}x}$. Tal valor representa um aumento na produtividade de apenas 3,72 % em comparação à condição controle ($4,33 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Essa pequena melhora está associada com a redução no tempo de processo. Conforme pode-se observar na **Tabelas 5.1**, o valor de t_P para a condição controle foi 30,66 h, enquanto que para a melhor condição de degrau, t_P foi de 29,60 h, reduzindo t_P em 1,06 h.

Os resultados apresentados na **Figura 5.2 e na Tabela 5.1** mostram também que quando se aplica um degrau de temperatura, o tempo de processo é reduzido à medida que C_{ED} aumenta. Tal comportamento pode ser melhor visualizado na **Figura 5.3**, que mostra a produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}). Como pode ser observado, o melhor momento para aplicar o degrau de temperatura em processos conduzidos com somente um degrau de temperatura (34-28 °C) é quando $C_{ED} = C_{Em\acute{a}x} \cdot 0,99$, pois é a condição dentro da faixa avaliada para C_{ED} (85-99%) que proporcionou a maior produtividade volumétrica em etanol, devido à minimização dos efeitos inibitórios provocados pelo etanol.

Figura 5.3 – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}) para as simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com um degrau (34-28°C).



Fonte: Acervo pessoal do autor.

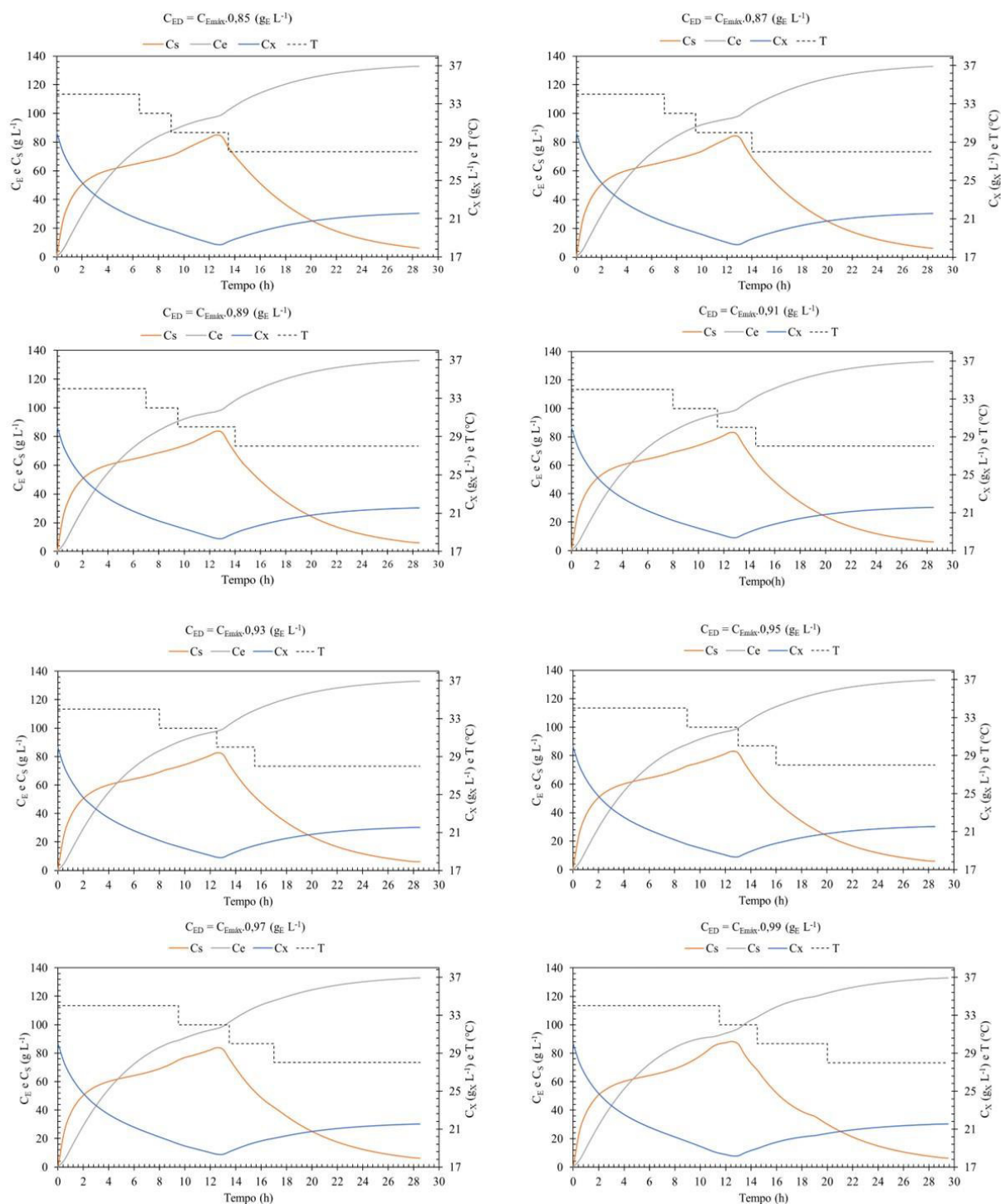
5.2.2. Três degraus de temperatura

Na **Tabela 5.2**, tem-se os resultados obtidos das simulações para o processo VHG conduzido com aplicação de três degraus de temperatura, (34-32, 32-30, 30-28 °C), para os diferentes valores de concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}). A **Figura 5.4** apresenta os perfis das concentrações de células (C_X) substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo obtidos das simulações.

Tabela 5.2 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com aplicação de três degraus de temperatura (34-32, 32-30, 30-28 °C).

Simulação (-)	T (°C)	C_{ED} (% $C_{Emáx}$)	t_p (h)	P_E (g L ⁻¹ h ⁻¹)	A_{PE} (%)
Controle	28	-	30,70	4,33	-
1	34-32, 32-30, 30-28	85	28,50	4,66	7,72
2	34-32, 32-30, 30-28	87	28,40	4,68	8,10
3	34-32, 32-30, 30-28	89	28,25	4,70	8,67
4	34-32, 32-30, 30-28	91	38,15	4,72	9,06
5	34-32, 32-30, 30-28	93	28,10	4,73	9,25
6	34-32, 32-30, 30-28	95	28,15	4,72	9,06
7	34-32, 32-30, 30-28	97	28,40	4,68	8,10
8	34-32, 32-30, 30-28	99	29,40	4,52	4,42

Figura 5.4 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com três degraus de temperatura (34-32, 32-30, 30-28 °C), considerando os diferentes valores de C_{ED} (85 a 99% de $C_{Emáx}$).

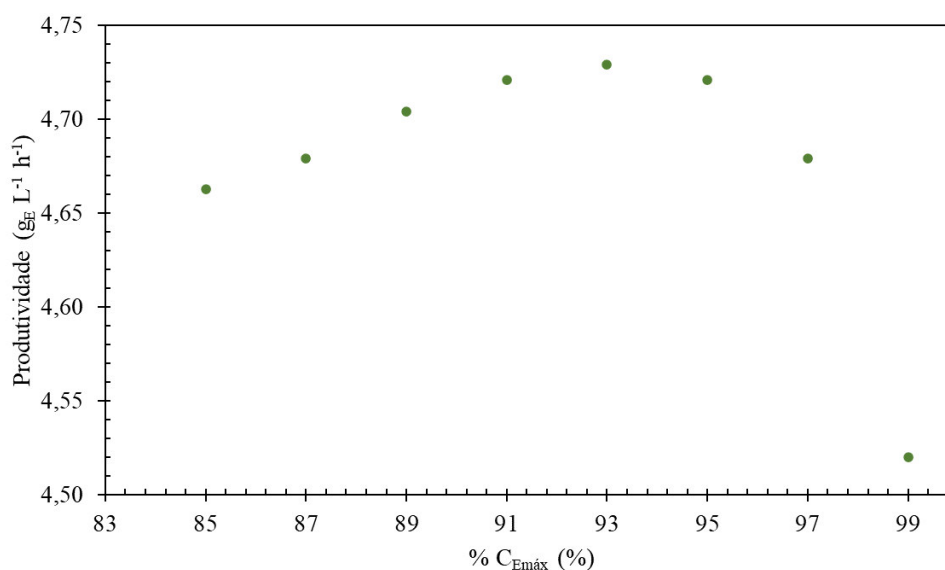


Fonte: Acervo pessoal do autor.

Os resultados da **Tabela 5.2 e Figura 5.4** mostraram que a aplicação de três degraus de temperatura melhora consideravelmente o desempenho do processo. Variando o C_{ED} , foi obtido um valor máximo para produtividade volumétrica em etanol de $4,73 \text{ (g L}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)}$ para C_{ED} de 93% do $C_{Emáx}$. Este valor representa um aumento de 9,25 % na produtividade em etanol, em comparação à condição controle. A justificativa para essa melhora está associada a redução no tempo de condução do processo. Com a aplicação de três degraus, houve redução do tempo de processo em 2,56 (h).

A **Figura 5.5** mostra a produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}). É notório que existe um valor de C_{ED} entre 85 e 99 % de $C_{Emáx}$ que maximiza a produtividade em etanol ($C_{ED} = 93\%$). A justificativa para esse comportamento é que antes de 93% de $C_{Emáx}$, a velocidade de crescimento diminui por conta dos efeitos da temperatura no metabolismo da levedura (a velocidade é menor devido à menor temperatura). No entanto, após 93% de $C_{Emáx}$, a velocidade fica mais lenta por conta de maiores efeitos da inibição provocado pelo etanol, uma vez que a concentração de etanol para realização do degrau se aproxima de $C_{Emáx}$.

Figura 5.5 – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol para aplicação de degrau (C_{ED}) para as simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com três degraus (34-32, 32-30, 30-28 °C).



Fonte: Acervo pessoal do autor.

5.3. Fermentações conduzidas com rampas de temperatura

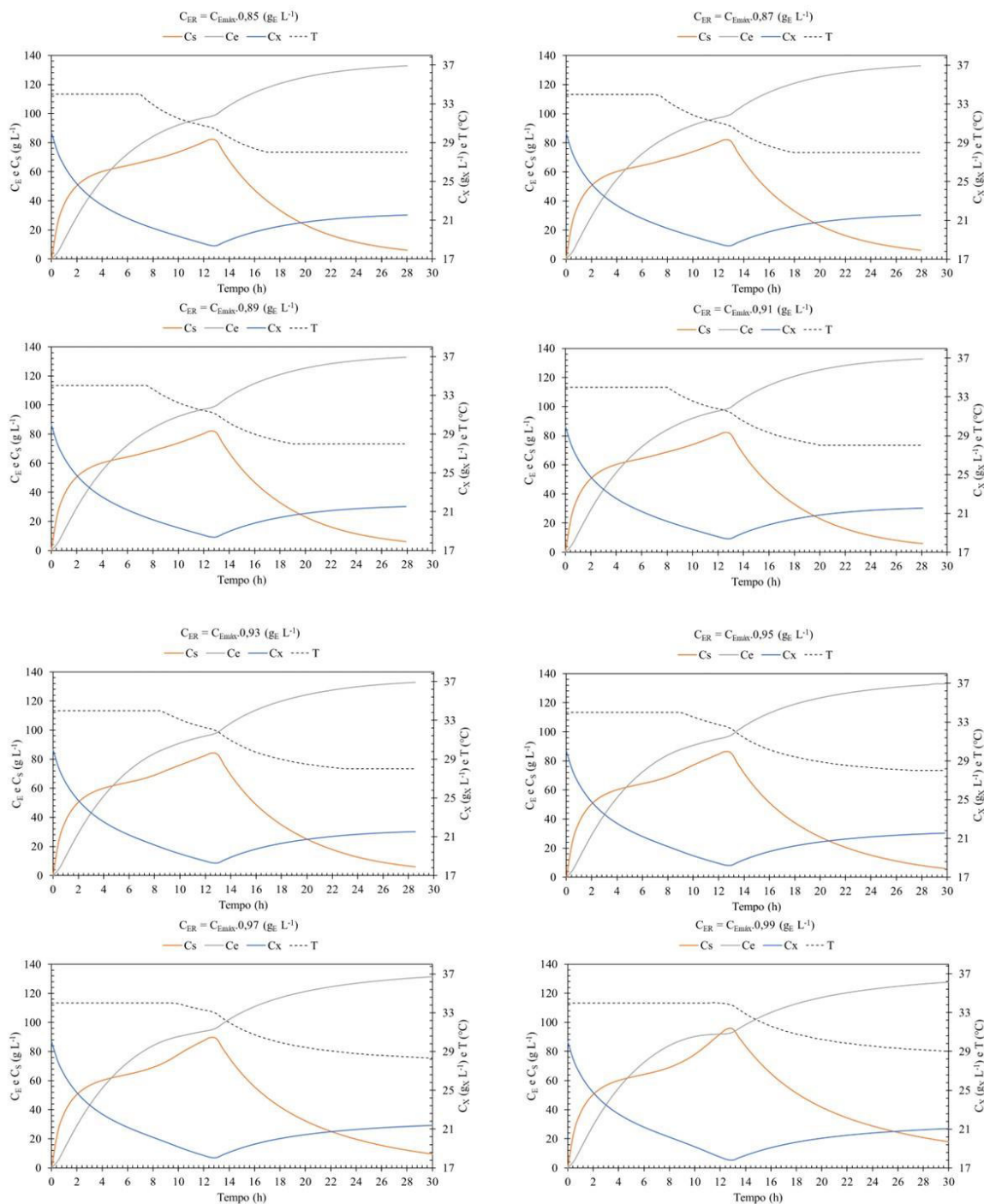
Nesta etapa, rotinas de simulação foram implementadas de modo a reduzir a temperatura do processo fermentativo em rampas, ou seja, gradualmente como uma função da concentração de etanol (C_{ER}). Realizou-se oito simulações utilizando diferentes funções do tipo $T = \alpha \cdot C_{ER}^{-\beta}$, nas quais C_{ER} foi variado de (85 a 99% de $C_{Emáx}$). Os principais resultados para cada condição de rampa são apresentados na **Tabela 5.3**. A **Figura 5.6** mostra os perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo de processo, obtidos das simulações.

Tabela 5.3 – Principais resultados obtidos nas simulações das fermentações VHG conduzidas com rampas de temperatura.

Simulação (-)	T (°C)	C_{ER} (% $C_{Emáx}$)	t_p (h)	P_E (g L ⁻¹ h ⁻¹)	A_{PE} (%)
Controle	28	-	-	4,33	-
1	279,00 $C_{ER}^{-0,482}$	85	28,00	4,75	9,70
2	282,14 $C_{ER}^{-0,482}$	87	27,92	4,76	9,93
3	285,26 $C_{ER}^{-0,482}$	89	27,91	4,76	9,93
4	288,32 $C_{ER}^{-0,482}$	91	28,06	4,74	9,46
5	291,35 $C_{ER}^{-0,482}$	93	28,53	4,66	7,62
6	294,35 $C_{ER}^{-0,482}$	95	29,81	4,46	3,00
7	297,32 $C_{ER}^{-0,482}$	97	33,59	3,96	-a
8	300,26 $C_{ER}^{-0,482}$	99	46,34	2,88	-a

^aProdutividade volumétrica menor que a do controle. ^w C_{ER} concentração de etanol para aplicação da rampa de temperatura (variável independente da função temperatura).

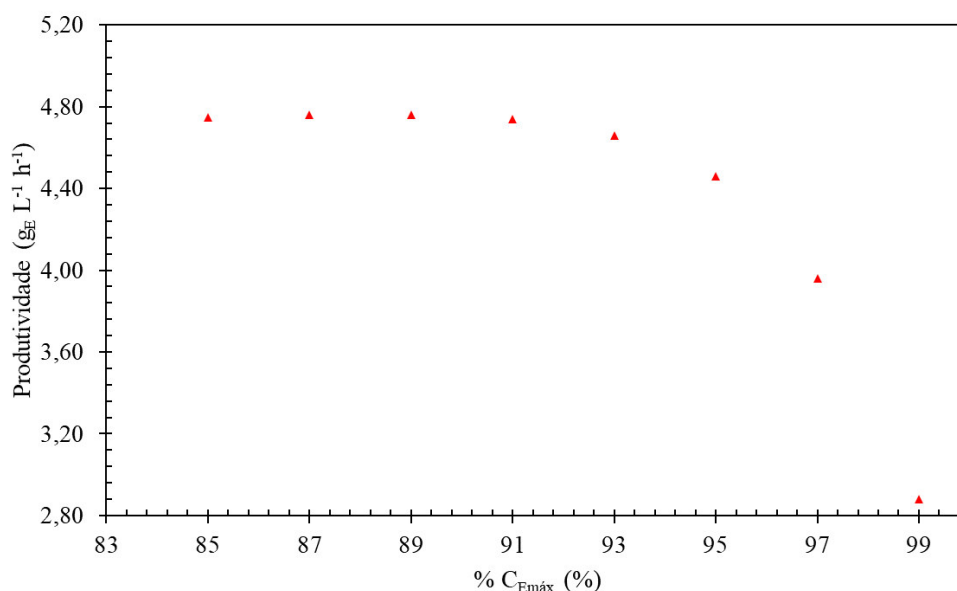
Figura 5.6 – Gráficos dos perfis das concentrações de células (C_X), substrato (C_S) e etanol (C_E) ao longo do tempo, obtidos nas simulações das fermentações alcoólicas VHG conduzidas com rampas de temperatura considerando diferentes funções do tipo $T = \alpha \cdot C_{ER}^\beta$, com C_{ER} variando de 85 a 99% de $C_{Emáx}$.



Fonte: Acervo pessoal do autor.

Os resultados obtidos para P_E (**Tabela 5.3**) mostraram que as rampas conduzidas com menores concentrações de C_{ER} (85, 87 e 89 % de $C_{Emáx}$) proporcionaram os melhores resultados, com valores de P_E de 4,75, 4,76 e 4,76 $g L^{-1} h^{-1}$, respectivamente. Observa-se ainda que a aplicação de rampas com concentração de etanol a partir de 97% de $C_{Emáx}$ não proporcionou melhoria alguma na produtividade em etanol, mas pelo contrário, P_E alcançou valores menores que o do controle (3,96 e 2,98 $g L^{-1} h^{-1}$ para as simulações com 97 e 99% de $C_{Emáx}$, respectivamente). A principal justificativa é o efeito inibitório do etanol, que é mais intenso quando C_{ER} se aproxima de $C_{Emáx}$. Os resultados de produtividade também podem ser observados na **Figura 5.7**, em que é apresentado o perfil de P_E em função da concentração de etanol de aplicação das rampas (C_{ER}).

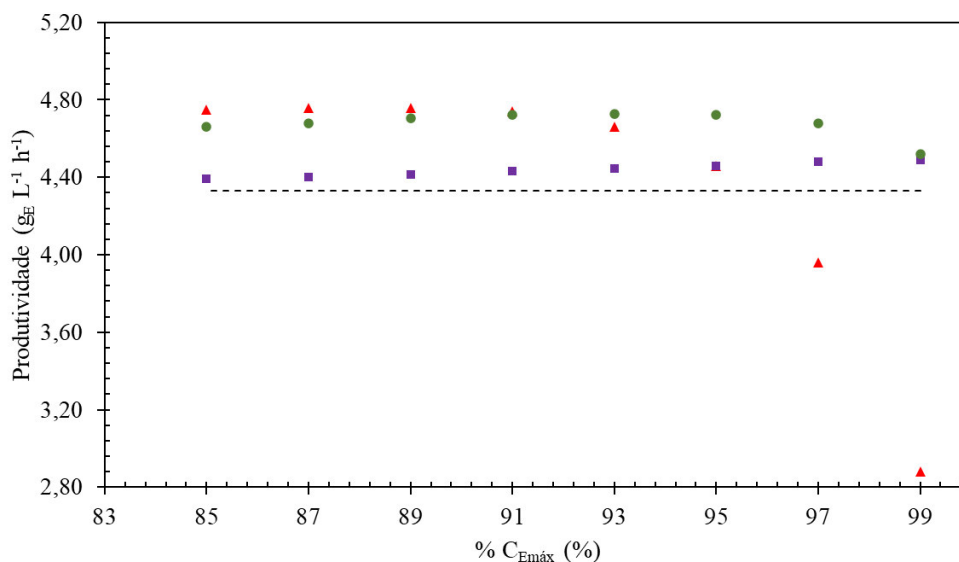
Figura 5.7 – Valores de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da concentração de etanol referente a cada rampa (C_{ER}) para as simulações do processo fermentativo VHG conduzido com rampas de temperatura considerando diferentes funções $T = \alpha \cdot C_{ER}^{-\beta}$, com C_{ER} variando de 85 a 99% de $C_{Emáx}$.



Fonte: Acervo pessoal do autor.

A **Figura 5.8** mostra os perfis de produtividade volumétrica em etanol (P_E) em função da variação percentual de $C_{Emáx}$ para todas as condições de variação de temperatura avaliada no presente trabalho, ou seja, com um e três degraus, e com redução de temperatura em rampas. O valor de produtividade para o processo convencional, conduzido a temperatura constante 28 °C (controle), é apresentado pela linha tracejada em preto.

Figura 5.8 – Perfis de produtividade volumétrica (P_E) em função da condição de concentração de etanol (C_{ED} ou C_{ER} em % do $C_{Emáx}$) para as estratégias de redução de temperatura com um degrau de (quadrados roxos), três degraus (círculos verdes) e rampas (triângulos vermelhos) e controle (linha tracejada).



Fonte: Acervo pessoal do autor.

Observando a **Figura 5.8**, é evidente que as estratégias de redução de temperatura avaliadas no presente trabalho, tanto de forma gradual (rampas) quanto abrupta (degraus) melhoraram consideravelmente a produtividade volumétrica em etanol (exceto as condições de 97 e 99 % de $C_{Emáx}$ para a estratégia em que utilizou-se rampa) sendo as fermentações conduzidas com três degraus de temperatura e com rampas de temperatura as melhores condições.

5.4. Fermentações conduzidas com diferentes tempos de enchimento

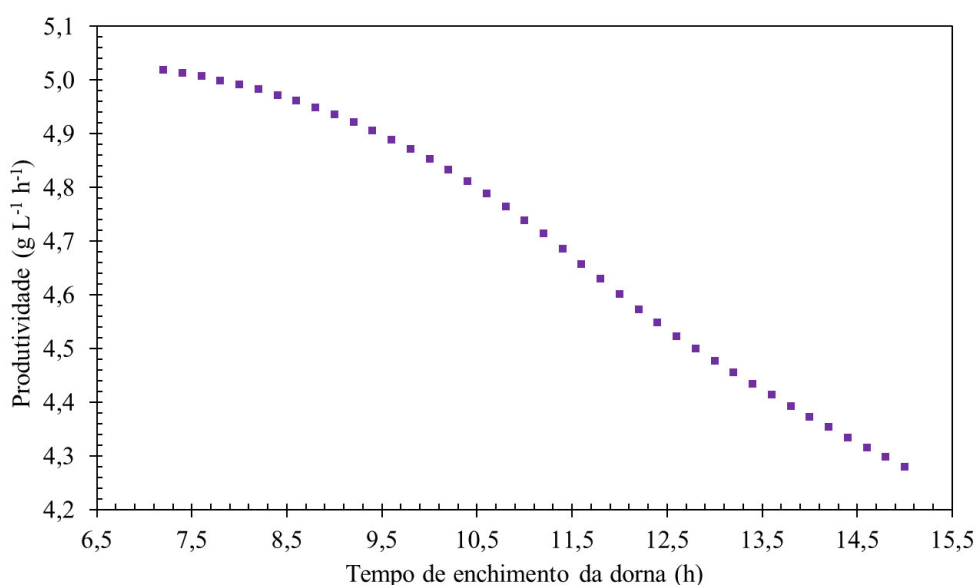
Nesta etapa do trabalho avaliou-se a influência do tempo de enchimento no desempenho do processo. Para tal, foram selecionadas as melhores condições de cada uma das estratégias de redução de temperatura avaliadas, a saber (um degrau 99% do $C_{Emáx}$, três degraus 93% do $C_{Emáx}$ e rampa de temperatura 89% do $C_{Emáx}$). As faixas de tempo de enchimento avaliada para cada uma das estratégias foram de 7,20 à 15,00 (h) para um degrau, de 7,40 à 15 (h) para três degraus e de 7,40 à 15 (h) para as rampas. O menor tempo de enchimento avaliado para cada uma das estratégias foi selecionado com base na inibição pelo substrato. Sabe-se que elevada concentração de substrato no caldo aumenta a pressão osmótica externa, e impacta negativamente o processo. Segundo Thatipamala *et al.* (1992), os efeitos inibitórios do substrato

começam a ser manifestados em concentrações superiores a $150 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$. Assim, utilizou-se este valor de concentração para selecionar o menor tempo de enchimento possível para se trabalhar com cada estratégia de redução de temperatura, sem comprometer o processo devido a efeitos inibitórios pelo substrato.

5.4.1. Um degrau de temperatura

A **Figura 5.9** mostra o perfil de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para aplicação de um degrau como estratégia de redução da temperatura com $C_{ED} = 99\%$ do $C_{Emáx}$ (condição de melhor desempenho para estratégia de um degrau).

Figura 5.9 – Perfil de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com um degrau com $C_{ED} = 99\%$ do $C_{Emáx}$.



Fonte: Acervo pessoal do autor.

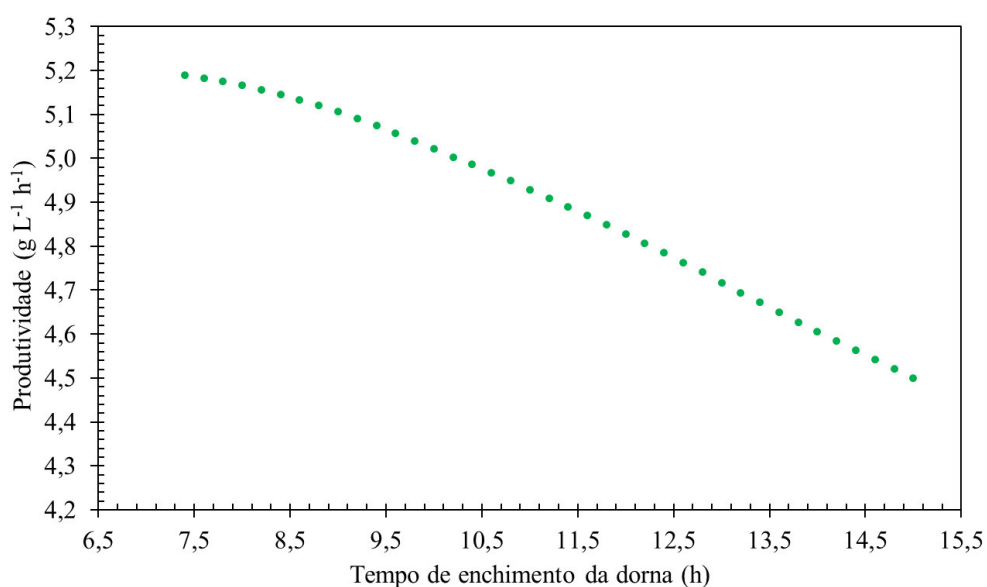
Observa-se na **Figura 5.9** que a produtividade volumétrica aumentou com a redução do tempo de enchimento (t_E) da dorna, mostrando que o melhor t_E para um degrau de temperatura com $C_{ED} = 99\%$ do $C_{Emáx}$ é de 7,20 (h), resultando em uma produtividade de $5,02 \text{ (g L}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)}$. Tal estratégia reduziu o tempo de processo em 4,18 h em comparação ao controle ($t_p = 30,66$ h). A **Figura 5.9** também mostra que para valores de $t_E \geq 14,60$ h, a produtividade foi menor que o resultado obtido no controle. A redução da produtividade com o aumento do tempo de enchimento está relacionada com a inibição provocada pelo produto, uma vez que o aumento

de t_E reduz F_e e, conseqüentemente, favorece o aumento da concentração de etanol no caldo durante a fermentação.

5.4.2. Três degraus de temperatura

A **Figura 5.10** mostra o perfil de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação aplicando três degraus como estratégia de redução da temperatura com $C_{ED} = 93\%$ do $C_{Emáx.}$ (condição de melhor desempenho para a estratégia de três degrau).

Figura 5.10 – Perfil da produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com três degraus com $C_{ED} = 93\%$ do $C_{Emáx.}$



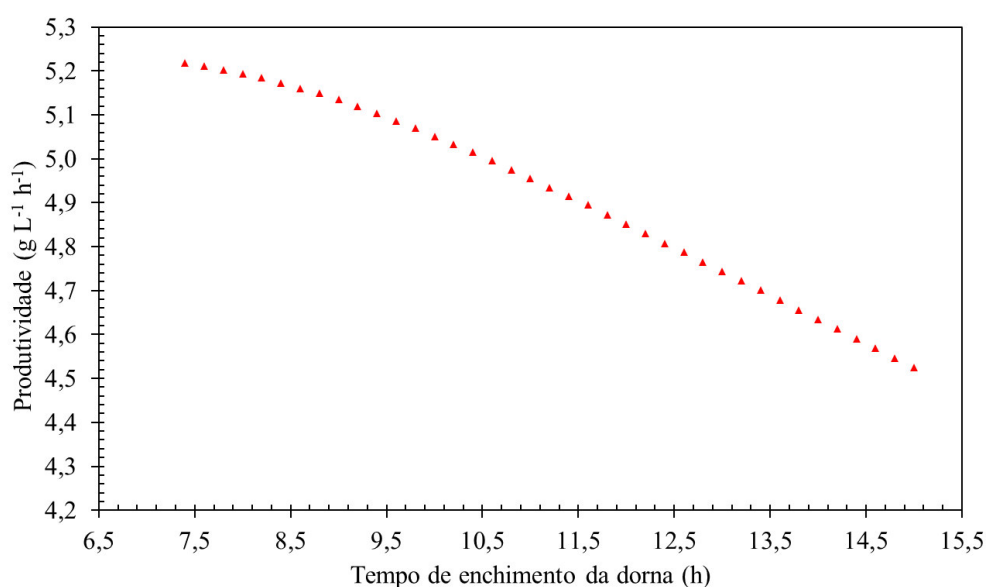
Fonte: Acervo pessoal do autor.

Os dados apresentados na **Figura 5.10** mostram que a variação do tempo de enchimento num intervalo de 7,40 a 15,00 (h) proporcionou valores maiores de P_E para todas as condições avaliadas em comparação à condição controle ($P_E = 4,33 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Novamente, observou-se o comportamento de redução de produtividade com aumento do tempo de enchimento, possivelmente devido à inibição provocada pelo etanol. Constatou-se que t_E de 7,40 h foi a condição com melhor desempenho de produtividade volumétrica em etanol ($P_E = 5,19 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), condição que reduziu 5,05 h o tempo de processo em comparação à condição controle.

5.4.3. Rampa de temperatura

A **Figura 5.11** mostra o perfil de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação aplicando rampa como estratégia de redução da temperatura com $C_{ED} = 89\%$ do $C_{Emáx}$ (condição de melhor desempenho para a estratégia de rampa).

Figura 5.11 – Perfil da produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna de fermentação para a estratégia de redução de temperatura com rampa com $C_{ER} = 89\%$ do $C_{Emáx}$.



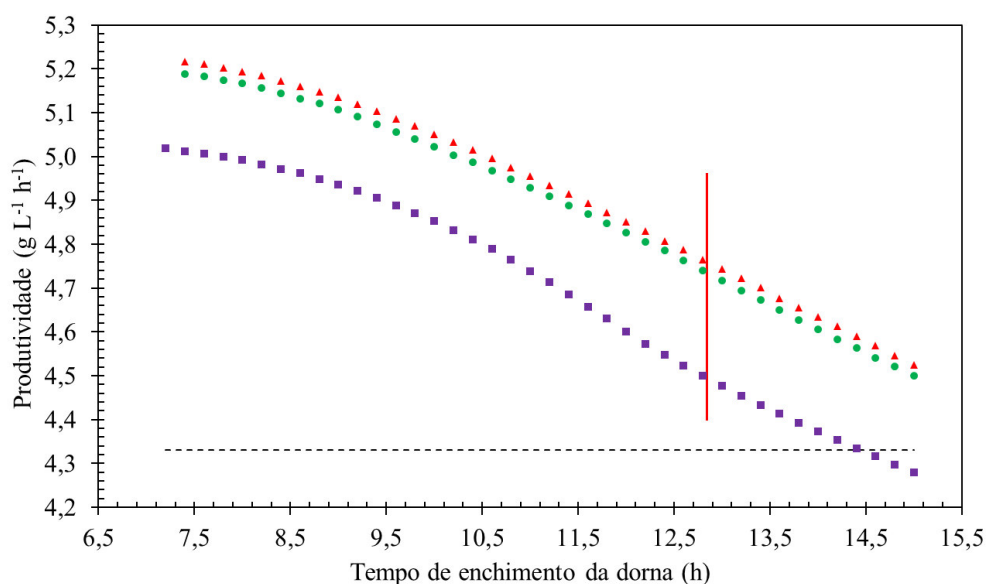
Fonte: Acervo pessoal do autor.

Os resultados apresentados na **Figura 5.11**, mostram que no intervalo de tempo de enchimento avaliado (7,40 a 15,00 h), todas as condições apresentaram valores maiores de produtividade em comparação ao controle ($P_E = 4,33 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Assim como nas outras estratégias, apresentou redução de produtividade com o aumento de t_E , provavelmente devido à inibição provocada pelo etanol. Constatou-se que t_E de 7,40 (h) proporcionou a maior produtividade volumétrica em etanol ($5,22 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Esta condição reduziu 5,19 h o tempo de processo em comparação ao controle.

Para melhor visualização dos resultados, os perfis de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna, para as melhores condições de cada uma das estratégias de redução de temperatura avaliadas, são apresentados na **Figura 5.12**,

evidenciando a melhoria das estratégias de fermentação VHG propostas em comparação ao controle

Figura 5.12 – Perfis de produtividade volumétrica em etanol em função do tempo de enchimento da dorna para as três estratégias avaliadas: um degrau (quadrados roxos), três degraus de (círculos verdes), rampa de temperatura (triângulos vermelhos). A produtividade da fermentação controle ($P_E = 4,33 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) é representada pela linha tracejada. A linha contínua vertical vermelha indica o tempo de enchimento baseado na fermentação controle (12,84 h).



Fonte: Acervo pessoal do autor.

Na **Figura 5.12**, é possível analisar o desempenho das estratégias de redução de temperatura (um degrau, três degraus e rampas) para os vários valores de t_E avaliados, comparando-os com o t_E de 12,84 h (linha contínua vertical vermelha), valor baseado na condição controle e utilizado antes da etapa de avaliação do tempo de enchimento. De modo geral, os perfis mostram que valores de t_E maiores que 12,84 h, estendem o tempo de fermentação e reduzem P_E , enquanto valores de t_E menores que 12,84 h reduzem o tempo de processo e aumentam P_E . Este comportamento, provavelmente, está associado à diluição do etanol produzido. Quanto menor o tempo de enchimento, mais lentamente o etanol se acumula no caldo, pois adiciona-se mosto de forma mais rápida, diluindo o caldo fermentativo e, conseqüentemente, menores são os efeitos da inibição provocados pelo etanol, resultando no aumento de P_E . Em contrapartida, quando maior o tempo de enchimento, mais rapidamente o etanol se acumula devido à adição mais lenta de mosto, resultando em efeitos mais pronunciados da inibição do etanol sobre a levedura.

Os resultados de desempenho, em termos de produtividade em etanol (P_E) e aumento de produtividade (A_{PE}), para os melhores tempos de enchimento obtidos para cada uma das estratégias avaliadas são sintetizados na **Tabela 5.8**.

Tabela 5.8 – Melhores resultados obtidos para as simulações com variação do tempo de enchimento.

Estratégia	t_P (h)	t_E (h)	P_E (g L ⁻¹ h ⁻¹)	A_{PE} (%)
Controle	30,66	12,84	4,33	(-)
Um degrau	26,48	7,20	5,02	15,94
Três degraus	25,61	7,40	5,19	19,86
Rampa	25,47	7,40	5,22	20,55

Os resultados apresentados na **Tabela 5.8** para P_E ressaltam que a redução da temperatura combinada com a redução do tempo de enchimento da dorna melhora significativamente o desempenho da fermentação alcoólica VHG. Conforme pode ser observado, para as estratégias com um, três degraus e rampas de temperatura pode-se aumentar P_E em 15,94, 19,86 e 20,55%, respectivamente.

6. CONCLUSÃO

A estratégias de redução da temperatura na fermentação alcoólica tanto de forma gradual (rampas), quanto abrupta (degraus) melhoram consideravelmente o desempenho do processo em termos da produtividade volumétrica em etanol e tempo de processo. Identificou-se que os melhores momentos para iniciar a redução da temperatura nas estratégias avaliadas, com base na concentração de etanol no caldo fermentativo, foram: para um degrau, $C_{ED} = 99\%$ do $C_{Emáx}$, para três degraus, $C_{ED} = 93\%$ do $C_{Emáx}$ e para rampas, $C_{ER} = 89\%$ do $C_{Emáx}$. Na etapa de avaliação do tempo de enchimento (t_E), constatou-se que os valores que maximizaram a produtividade em etanol foram $t_E = 7,20$ h para um degrau de temperatura e $t_E = 7,40$ h para três degraus e rampa de temperatura, estratégias estas que proporcionaram redução no tempo de processo de 4,18, 5,05 e 5,19 horas e aumento na produtividade de 15,94, 19,86, 20,55%, respectivamente, com relação a fermentação VHG controle (conduzida à temperatura constante de 28 °C). A redução do tempo de processo em indústrias sucroalcooleiras pode trazer benefícios relevantes. Tempos menores resultam em maior eficiência operacional, com economia de energia durante a fermentação e menores custos de manutenção de equipamentos. Portanto, esses resultados mostram que essas estratégias são alternativas promissoras para viabilizar fermentações VHG, com capacidade de reduzir o consumo de água de resfriamento e de vapor utilizado para recuperação do bioetanol nas indústrias, contribuindo para a redução de custos globais e aumento de receitas das indústrias, bem como para um processo ainda mais sustentável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDIGUIER, Andy Salomon et al. Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 26, n. 4, p. 217-222, 2004.
- AMORIM, HV de; BASSO, Luiz Carlos; ALVES, D. M. G. Processos de produção de álcool: controle e monitoramento. 1996.
- AMORIM, H. V. et al. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 5, p. 1267-1275, 2011.
- ANDREWS, J. F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 10, n. 6, p. 707–723, 1968.
- ANDRIETTA, S. R. Modelagem, simulação e controle de Fermentação alcoólica contínua em escala industrial. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.
- BADINO, A. C.; CRUZ, A. J. G. Reatores Químicos e Bioquímicos. Coleção UAB-UFSCar, São Carlos, 2012.
- BAEYENS, J. et al. Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 47, p. 60-88, 2015.
- BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. Ethanol Production in Brazil: The Industrial Process and Its Impact on Yeast Fermentation. **Biofuel Production-Recent Developments and Prospects**, v. 1530, p. 85–100, 2011.
- BAYROCK, D. P.; MICHAEL INGLEDEW, W. Application of multistage continuous fermentation for production of fuel alcohol by very-high-gravity fermentation technology. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 87-93, 2001.
- CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação Descontínua. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. In: **Biotecnologia Industrial – Engenharia Bioquímica**. v. 2. Editora Edgard Blucher. São Paulo, cap. 9, p. 193-204, 2001.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de cana-de-açúcar. 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Acesso em: 22 de abril de 2023.
- CRUZ, M. L. Avaliação de condições operacionais na fermentação alcoólica VHG empregando diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. 2019. 119 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.
- CRUZ, M. L.; DE RESENDE, M. M.; RIBEIRO, E. J. Improvement of ethanol production in fed-batch fermentation using a mixture of sugarcane juice and molasse under very high-gravity conditions. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 44, n. 3, p. 617-625, 2021.
- DIAS, M. O. S.; FILHO, R. M.; MANTELATTO, P. E.; CVALETT, O.; ROSSELL, C. E. V.; BONOMI, A.; LEAL, M. L. R. V. Sugarcane processing for ethanol and sugar in Brazil. **Environmental Development**. v. 15, p. 35-51, 2015.

- FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação Contínua. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. In: **Biotecnologia Industrial – Engenharia Bioquímica**. v. 2. Editora Edgard Blucher. São Paulo, cap. 12, p. 223-246, 2001.
- GIMENEZ, A. R. et al. The rise in productivity and search for excellence in the Brazilian ethanol production: a success story. **Research, Society and Development**, v. 7, n. 2, p. e1472195, 2018.
- GODOY, A. et al. Continuous and batch fermentation processes: Advantages and disadvantages of these processes in the Brazilian ethanol production. **International Sugar Journal**, v. 110, n. 1311, 2008.
- GOMES, B C. **Análise térmica da fermentação alcoólica convencional e extrativa com arraste por dióxido de carbono**. 87 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2020.
- GOMES, E. **Efeito do tratamento ácido da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação alcoólica**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, p. 206, 1988.
- LEE, J. M.; POLLARD, J. F.; COULMAN, G. A. - "Ethanol fermentation with cell recycling: computer simulation", **Biotechnology and Bioengineering**, v. 25, p. 497-511, 1983
- LEVENSPIEL, O. The monod equation: A revisit and a generalization to product inhibition situations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 8, p. 1671–1687, 1980.
- LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A.; **Álcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira**, Editora UFPR: Curitiba, p. 248, 2002.
- 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**. v. 3, cap. 1, p. 1-43, 2001
- LY, H. V.; BLOCK, D. E.; LONGO, M. L. Interfacial tension effect of ethanol on lipid bilayer rigidity, stability, and area/molecule: A micropipet aspiration approach. **Langmuir**, v. 18, n. 23, p. 8988-8995, 2002.
- MICHELLON, E.; SANTOS, A. A. L.; RODRIGUES, J. R. A. **Breve descrição do Proálcool e perspectivas futuras para o etanol produzido no Brasil**. 2008.
- MOHD AZHAR, S. H.; ABDULLA, R.; JAMBO, S. A.; et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 10, n. February, p. 52–61, 2017.
- MAIORELLA, B.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and bioengineering**, v. 25, n. 1, p. 103-121, 1983.
- MONOD, J. *Recherches sur la Croissance des Cultures Bacteriennes*, Hermann & Cie., Paris, 1942.
- MOSER, H. The dynamics of bacterial population maintained in the chemostat, **Carnegie Institute of Washington**, Washington, 1958.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Glycolysis, Gluconeogenesis, and the Pentose Phosphate Pathway: Principles of biochemistry*. 5ª. New York: W. H. Freeman and Company, 2008. 1158.

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. S.; PINTO, O. G.; NAVES, P. L. F. Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina sucroalcooleira. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**. Goiânia, v. 6, n. 11, p. 17, 2010

PEREIRA, F. B. et al. Cell recycling during repeated very high gravity bio-ethanol fermentations using the industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain PE-2. **Biotechnology letters**, v. 34, n. 1, p. 45-53, 2012.

PEREIRA, R. D. et al. A new methodology to calculate the ethanol fermentation efficiency at bench and industrial scales. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 48, p. 16182-16191, 2018.

PHISALAPHONG, M.; SRIRATTANA, N.; TANTHAPANICHAKOON, W. Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation. **Biochemical engineering journal**, v. 28, n. 1, p. 36-43, 2006.

RIVERA, E. C.; YAMAKAWA, C. K.; SAAD, M. B. W.; et al. Effect of temperature on sugarcane ethanol fermentation: Kinetic modeling and validation under very-high-gravity fermentation conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 119, p. 42–51, 2017.

RFA - Renewable Fuels Association, Industry Statistics - World Fuel Ethanol Production, 2021. Disponível em: <<https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production>>. Acesso em 10 de setembro de 2022.

RODRIGUES, K. C. S. **Fermentação alcoólica extrativa com remoção de etanol por arraste com CO₂ e recuperação por absorção**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 153p., 2019.

RUIZ, L. **Economia de milhões de reais - Cana online: a vez da vinhaça**. São Paulo: Paiva e Baldin: n. 25, 71-77 p. 2015.

SCHMIDELL NETTO, Willibaldo; FACCIOTTI, Maria Cândida Reginato. Biorreatores e processos fermentativos. **Biociência industrial: Engenharia bioquímica**, 2001.

SDE-BA. **Secretaria de desenvolvimento do Estado da Bahia**. 2022. Disponível em: <http://www.sde.ba.gov.br/wp-content/uploads/reportagens_especiais/sucro_2/>. Acesso em 25 de outubro de 2022.

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). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 139 p., 2016.

SONEGO, J. L. S. et al. Optimization of fed-batch fermentation with in situ ethanol removal by CO₂ stripping. **Energy & Fuels**, v. 32, n. 1, p. 954-960, 2018.

SOUZA, C S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae***. Tese (Doutorado). Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT 2009.

THATIPAMALA, R.; ROHANI, S.; HILL, G. A. Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentation. **Biotechnology and bioengineering**, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

THOMAS, K. C. et al. Production of fuel alcohol from wheat by VHG technology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 211-226, 1993.

TORIJA, M. J. et al. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. **International journal of food microbiology**, v. 80, n. 1, p. 47-53, 2003.

TOSETTO, G. M. Influência da matéria-prima no comportamento cinético de levedura na produção de etanol. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, (2002).

VELOSO, I. I. K. et al. Fed-batch ethanol fermentation at low temperature as a way to obtain highly concentrated alcoholic wines: Modeling and optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 141, p. 60-70, 2019.

VELOSO, I. I. K. **Modelagem e otimização da fermentação alcoólica em batelada alimentada a baixa temperatura**. 2019. 88 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.

VELOSO, I. I. K. **Avaliação da fermentação alcoólica extrativa em diferentes temperaturas com remoção de etanol por arraste com CO₂**. 2023. 155 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2023.

YAMAKAWA, C. K. et al. Study of influence of yeast cells treatment on sugarcane ethanol fermentation: Operating conditions and kinetics. **Biochemical Engineering Journal**, v. 147, p. 1-10, 2019.

ANEXO A: DESENVOLVIMENTO DO MODELO MATEMÁTICO PARA A FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA EM BATELADA ALIMENTADA

As seguintes hipóteses foram adotadas para a modelagem matemática do processo:

- (I) Não há morte celular;
- (II) Não há degradação de produto;
- (III) Manutenção celular desprezível;
- (IV) Formação de produto associado ao crescimento;
- (V) Inibição mista (substrato e produto);
- (VI) Biorreator homogêneo;
- (VII) Densidade constante;
- (VIII) Não há perda de massa durante a fermentação.

Balanco de massa total

Partindo-se da equação geral do balanço de massa (Eq. 1) e considerando que não há saída, geração e consumo de massa total, tem-se a Eq. 1.

$$[\text{Acúmulo}] = [\text{entra}] - [\text{sai}] + [\text{gerado}] - [\text{consumo}] \quad (1)$$

$$\frac{dm}{dt} = F_e \cdot \rho \quad (2)$$

onde, m é a massa (g), t é o tempo (h), F_e é a vazão volumétrica de alimentação ($L h^{-1}$) e ρ é a densidade ($g L^{-1}$).

Sabe-se que, por definição, a massa é dada pela seguinte expressão:

$$m = \rho \cdot V \quad (3)$$

onde, V é o volume da fase líquida (L).

Substituindo a Eq. (3) na Eq. (2), tem-se:

$$\frac{d(\rho V)}{dt} = F_e \cdot \rho \quad (4)$$

Considerando a densidade constante (hipótese VII) e simplificando a Eq. 4, tem-se a equação resultante do balanço de massa total:

$$\frac{dV}{dt} = F_e \quad (5)$$

Balanço de massa para células (X)

Partindo-se da equação geral do balanço de massa (Eq. 1) e considerando que não há entrada, saída e morte de células (hipótese I), tem-se a Eq. 6.

$$\frac{dm_X}{dt} = r_X \cdot V \quad (6)$$

onde, m_X é massa de células (g) e r_X é a velocidade de crescimento celular ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$).

Por definição, a massa de células é dada por:

$$m_X = V \cdot C_X \quad (7)$$

onde, C_X é a concentração de células (g L^{-1}).

Substituindo a Eq. (7) na Eq. (6) e aplicando a regra do produto, tem-se:

$$\frac{d(V \cdot C_X)}{dt} = r_X \cdot V \Rightarrow C_X \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dC_X}{dt} = r_X \cdot V \quad (8)$$

Substituindo a Eq. (5) na Eq. (8), tem-se:

$$\frac{dC_X}{dt} = r_X - C_X \cdot \frac{F_e}{V} \quad (9)$$

Por definição, a velocidade de crescimento celular é dada por:

$$r_X = \mu \cdot C_X \quad (10)$$

onde, μ é velocidade específica de crescimento celular (h^{-1}).

Assim sendo, a equação resultante do balanço de massa para células pode ser escrita como:

$$\frac{dC_X}{dt} = C_X \cdot \left(\mu - \frac{F_e}{V} \right) \quad (11)$$

Balanço de massa para o substrato (S)

Partindo-se da equação geral do balanço de massa (Eq. 1) e considerando que não há saída de substrato, tem-se a Eq. 12.

$$\frac{dm_S}{dt} = C_{SM} \cdot F_e - r_S \cdot V \quad (12)$$

onde, m_S é a massa de substrato (g), C_{SM} é concentração de substrato no mosto ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) e r_S é a velocidade de consumo de substrato ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Por definição, a massa de substrato é dada por:

$$m_S = V \cdot C_S \quad (13)$$

onde, C_S é a concentração de substrato ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$).

Substituindo a Eq. (13) na Eq. (12) e aplicando a regra do produto, tem-se:

$$\frac{d(V \cdot C_S)}{dt} = C_{SM} \cdot F_e - r_S \cdot V \Rightarrow C_S \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dC_S}{dt} = C_{SM} \cdot F_e - r_S \cdot V \quad (14)$$

Substituindo a Eq. (5) na Eq. (14), tem-se:

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F_e}{V} \cdot (C_{SM} - C_S) - r_S \quad (15)$$

A velocidade de consumo de substrato pode ser descrita conforme a seguinte equação:

$$r_S = \frac{\mu}{Y_{X/S}} C_X \quad (16)$$

onde $Y_{X/S}$ é coeficiente de rendimento em células viáveis ($\text{g}_X \cdot \text{g}_S^{-1}$).

Substituindo a eq. (16) na eq. (15), tem-se a equação resultante do balanço de massa para substrato:

$$\frac{dC_S}{dt} = \frac{F_e}{V} \cdot (C_{SM} - C_S) - \frac{\mu}{Y_{X/S}} C_X \quad (17)$$

Balanco de massa para o produto etanol (E)

Partindo-se da equação geral do balanço de massa (Eq. 1) e considerando que não há saída e degradação de produto (hipótese II), tem-se a Eq. 18.

$$\frac{dm_E}{dt} = r_E \cdot V \quad (18)$$

onde, m_E é a massa de etanol (g) e r_E é a velocidade instantânea de formação de etanol ($g L^{-1} h^{-1}$).

Por definição, a massa de etanol é dada por:

$$m_E = V \cdot C_E \quad (19)$$

onde, C_E é a concentração de etanol ($g L^{-1}$).

Substituindo a eq. (20) na eq. (19), e aplicando a regra do produto, tem-se:

$$\frac{d(V \cdot C_E)}{dt} = r_E \cdot V \Rightarrow C_E \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dC_E}{dt} = r_E \cdot V \quad (20)$$

Substituindo a eq. (5) na eq. (21), tem-se:

$$\frac{dC_E}{dt} = -\frac{F_e}{V} \cdot C_E + r_E \quad (21)$$

Para produtos associados ao crescimento, a velocidade de formação de produto pode ser descrita conforme a seguinte equação:

$$r_E = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot C_X \quad (22)$$

onde $Y_{E/S}$ é coeficiente de rendimento em etanol ($g_E g_S^{-1}$).

Substituindo a Eq. (22) na Eq. (21), tem-se a equação resultante do balanço de massa para etanol:

$$\frac{dC_E}{dt} = \frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot CX - \frac{F_e}{V} \cdot C_E \quad (23)$$

Assim sendo, tem-se o sistema de equações diferenciais ordinárias (EDO) de primeira ordem, formado pelas Equações 5, 11, 17 e 23, que descreve o processo fermentativo alcoólico em batelada alimentada.