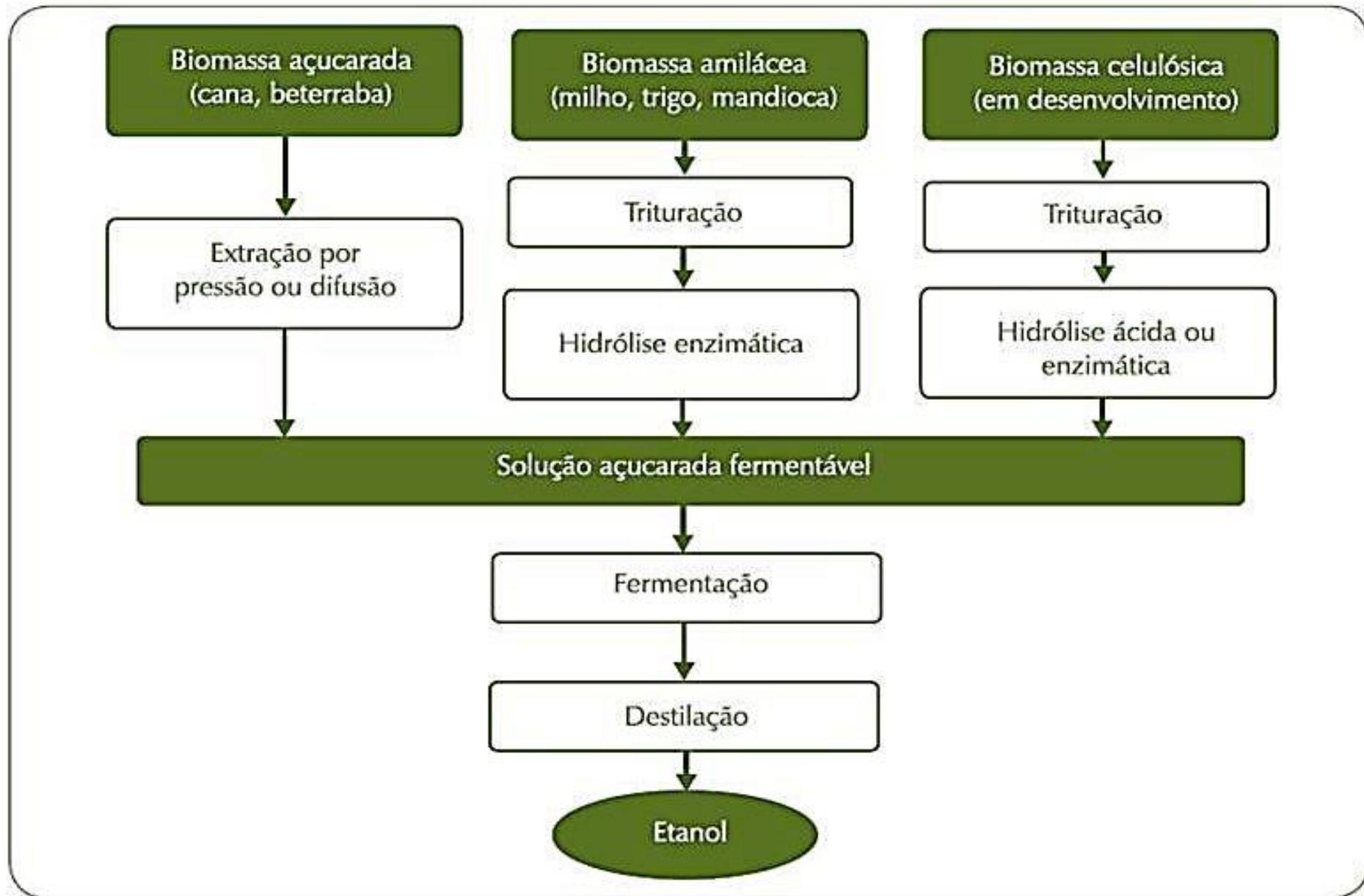


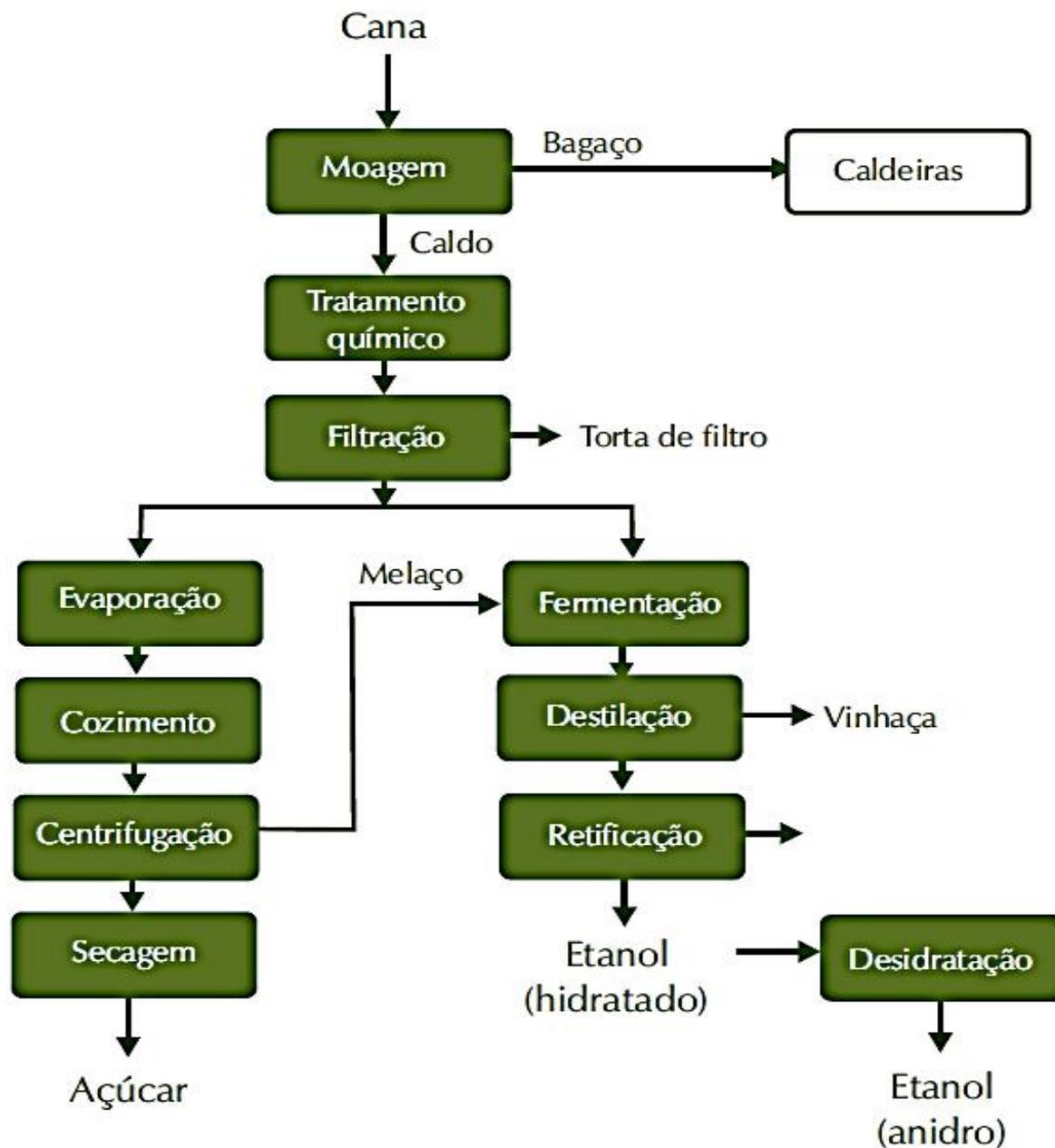
Álcool Combustível



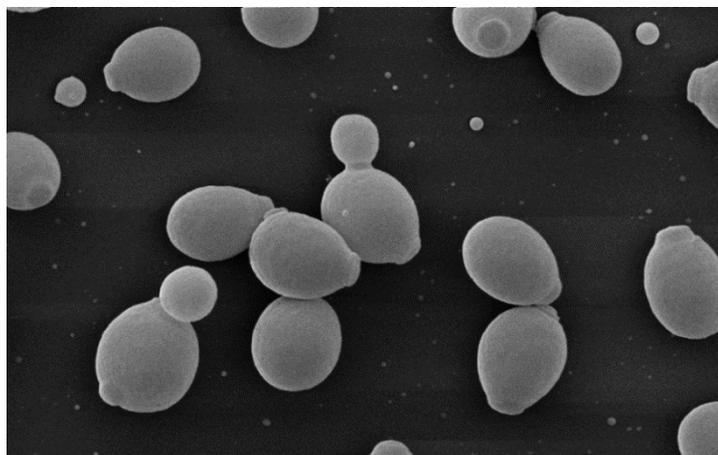
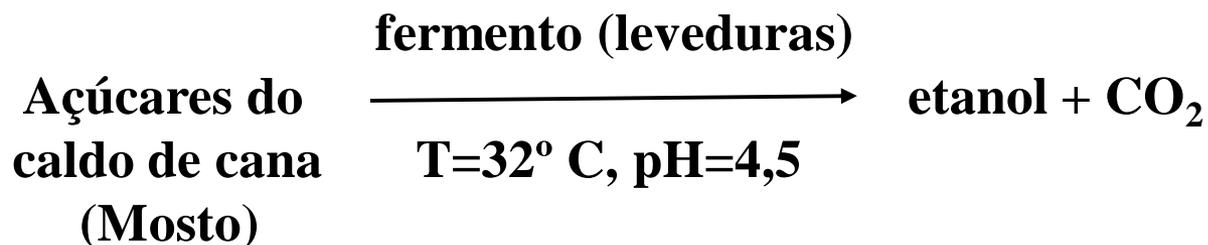
Tecnologia da Fabricação de Etanol



Fonte: Elaboração de Luiz Augusto Horta Nogueira.



Fermentação alcoólica



Açúcares

Glicose
Frutose

Calor

Biomassa

Energia (ATP)

Etanol

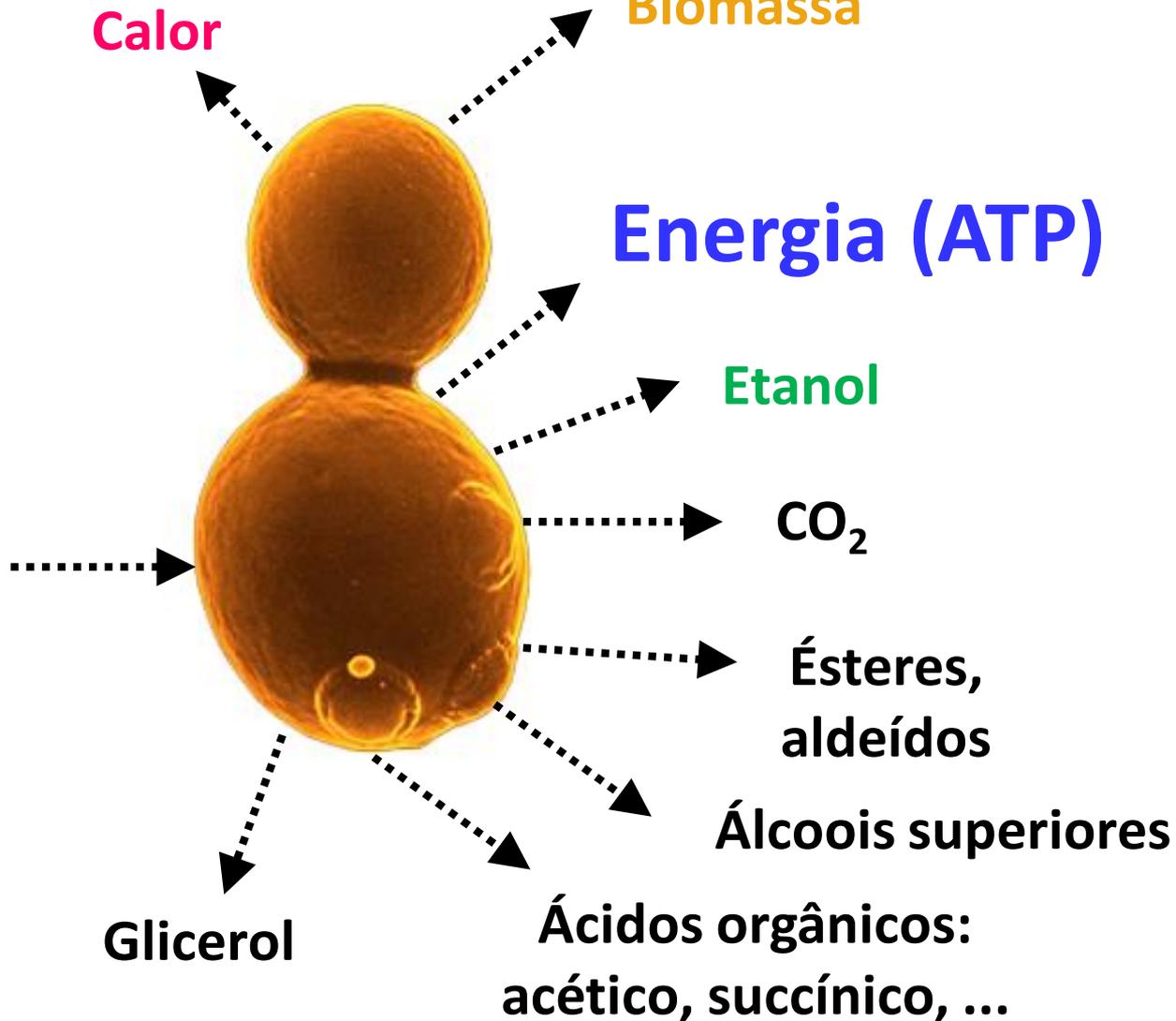
CO₂

**Ésteres,
aldeídos**

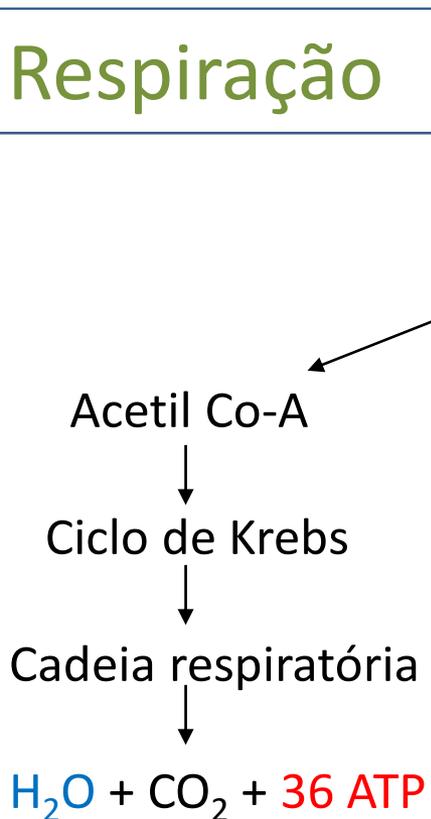
Álcoois superiores

Glicerol

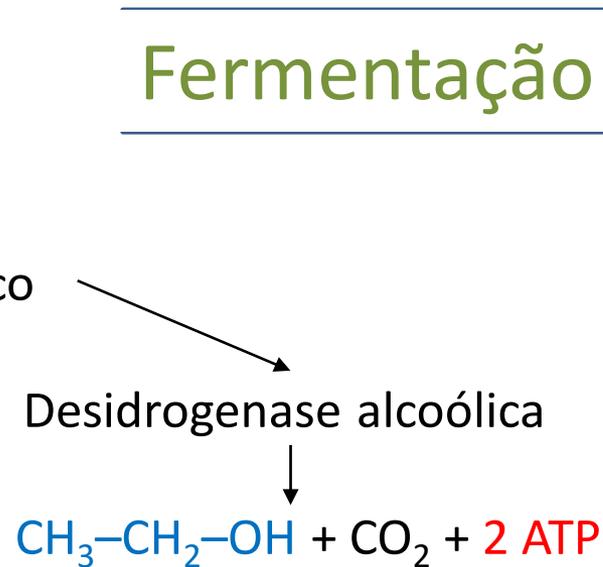
**Ácidos orgânicos:
acético, succínico, ...**



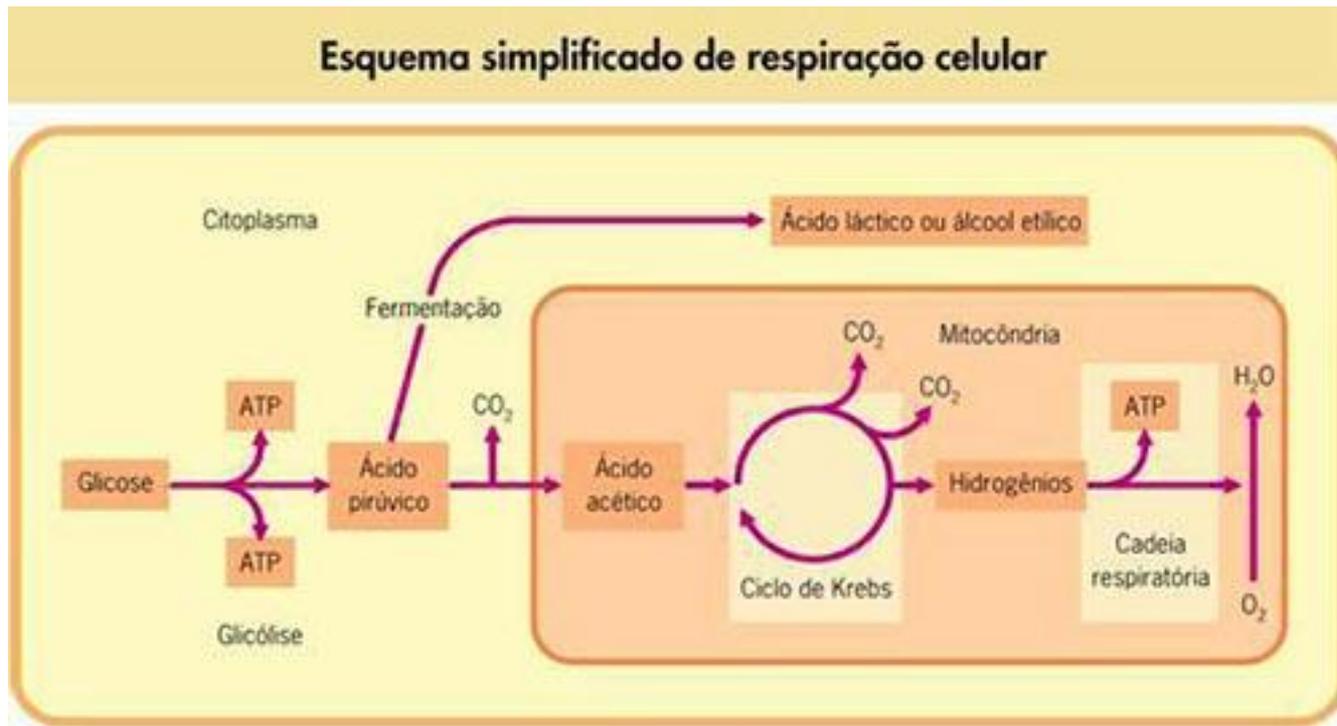
Respiração



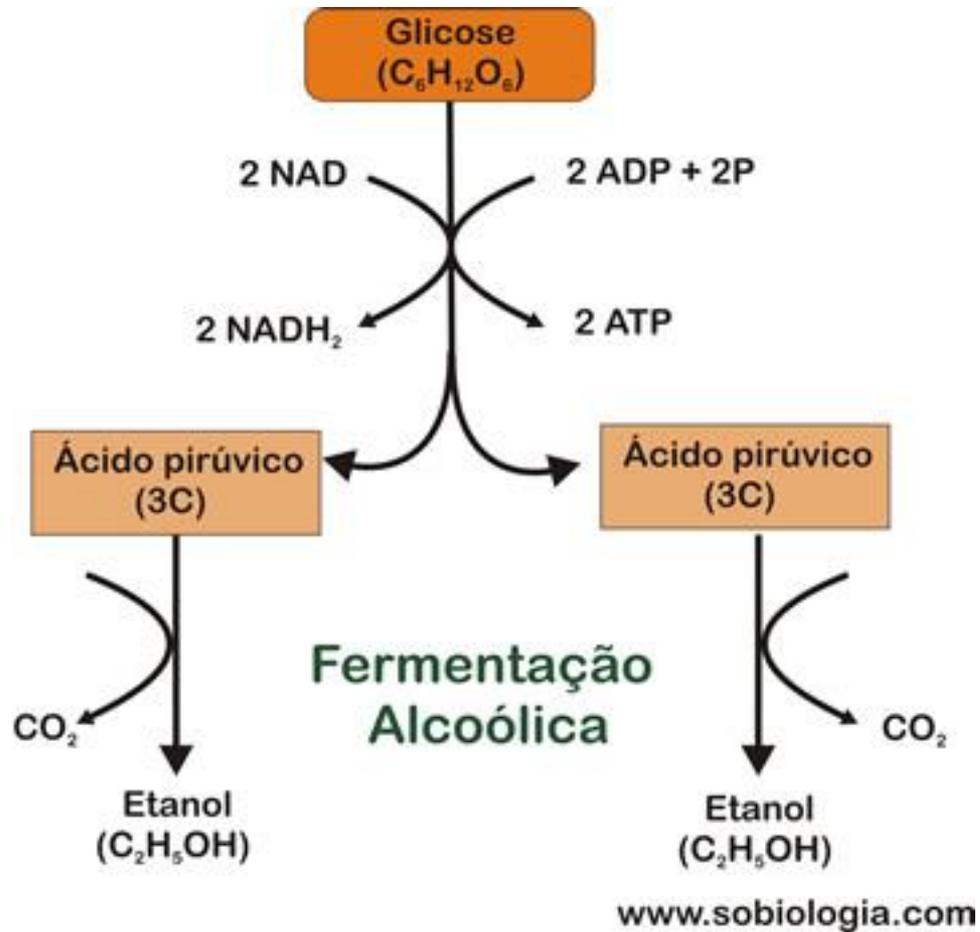
Fermentação



Vias de degradação de carboidratos: respiração e fermentação

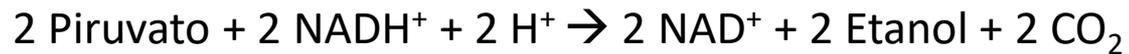
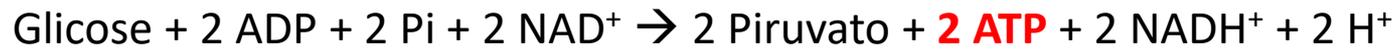


Vias de degradação de carboidratos: fermentação





Fermentação:



(Zn)

TRATAMENTOS INICIAIS

10

PREPARO DO MOSTO

- Líquido açucarado passível de ser fermentado

Preparo do mosto

→ condicionar a MP p/ atender as exigências da fermentação

(Objetivos)

- ✓ eliminar impurezas grosseiras (**peneiragem**);
- ✓ eliminar partículas coloidais (**caleagem mais branda**);
- ✓ preservar os nutrientes (vitaminas, aminoácidos, etc.);
- ✓ reduzir a contaminação microbiana (**aquecimento e decantação**);
- ✓ teores adequados de açúcar total (Brix) através de **diluição/concentração**;
- ✓ controle da acidez do meio e da temperatura.

Mosto

12

- Condições ótimas:
 - temperatura, pH, nível de oxigênio dissolvido, etc.
- fontes dos elementos “principais”
 - C, H, O, N
- fontes dos elementos “secundários”
 - P, K, S, Mg
- vitaminas
- fontes de elementos “traços” (quantidades mínimas)
 - Ex. Ca, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, etc.

Produção Sucroalcooleira

**Fatores físicos e químicos que
influenciam a fermentação
alcoólica:**

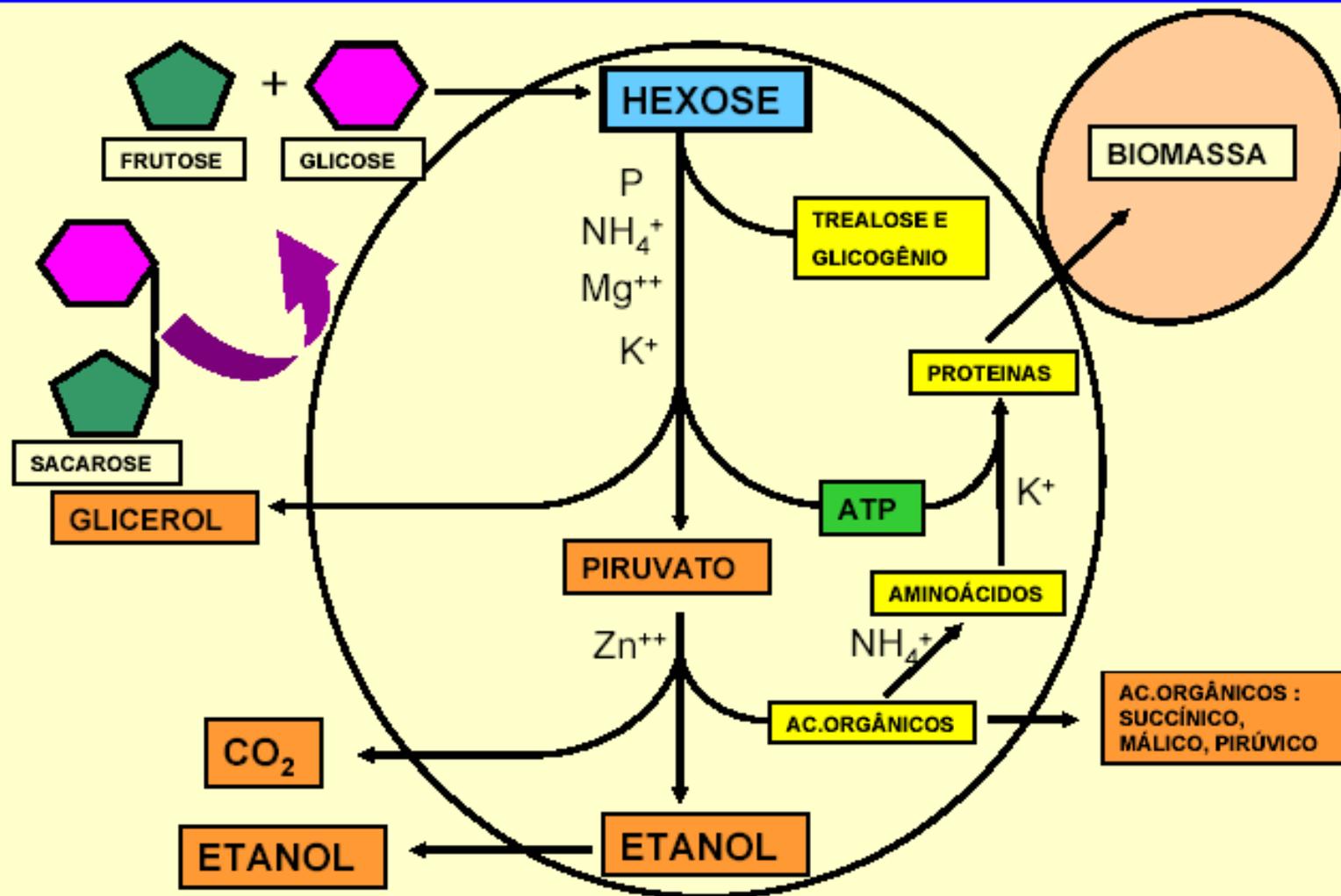
Fermentação alcoólica

Fatores que limitam a produtividade:

- Nutrientes minerais → N; K; P; Mg; Zn; Mn; etc.
- Agentes tóxicos → Sulfito, excesso de K^+ ; Ca^{++} ; Al^{+++}
- Temperatura elevada.
- Concentração de etanol.
- Acidez (pH).
- Pressão osmótica → Açúcares e sais.
- Contaminação → Bactérias e leveduras.

Condições estressantes para a levedura.

A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA



Efeitos da temperatura: **Temperatura**

- ❑ Fatores externos;
 - ❖ mudança na temperatura da água, clima, mosto.
- ❑ Fatores intrínsecos;
 - ❖ Calor liberado durante a fermentação.

Tabela: Influencia da temperatura na variação do tempo de geração e do coeficiente específico de crescimento para a linhagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Temperatura	Tempo de geração	Coef. Espc. De Cresc. (g/l/h)
20	5.0	0.15
24	3.5	0.21
27	3.0	0.30
30	2.2	0.31
36	2.1	0.29
38	4.0	0.19
40	---	---

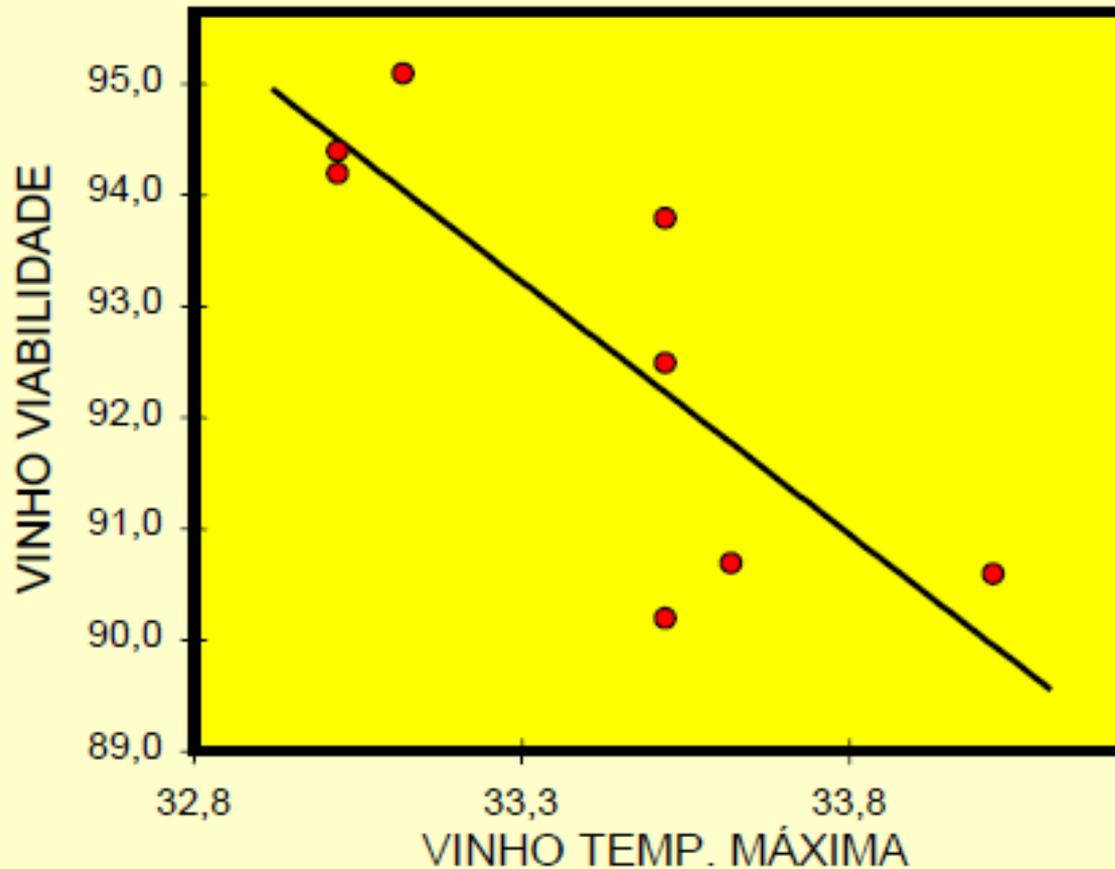
Temperatura da fermentação

- ❑ Influência direta sobre a fermentação.
- ❑ Favorece multiplicação bacteriana.
- ❑ Acima de 35 °C afeta o desempenho da levedura.
- ❑ Redução da viabilidade de fermentação.

➤ Temperatura ótima;

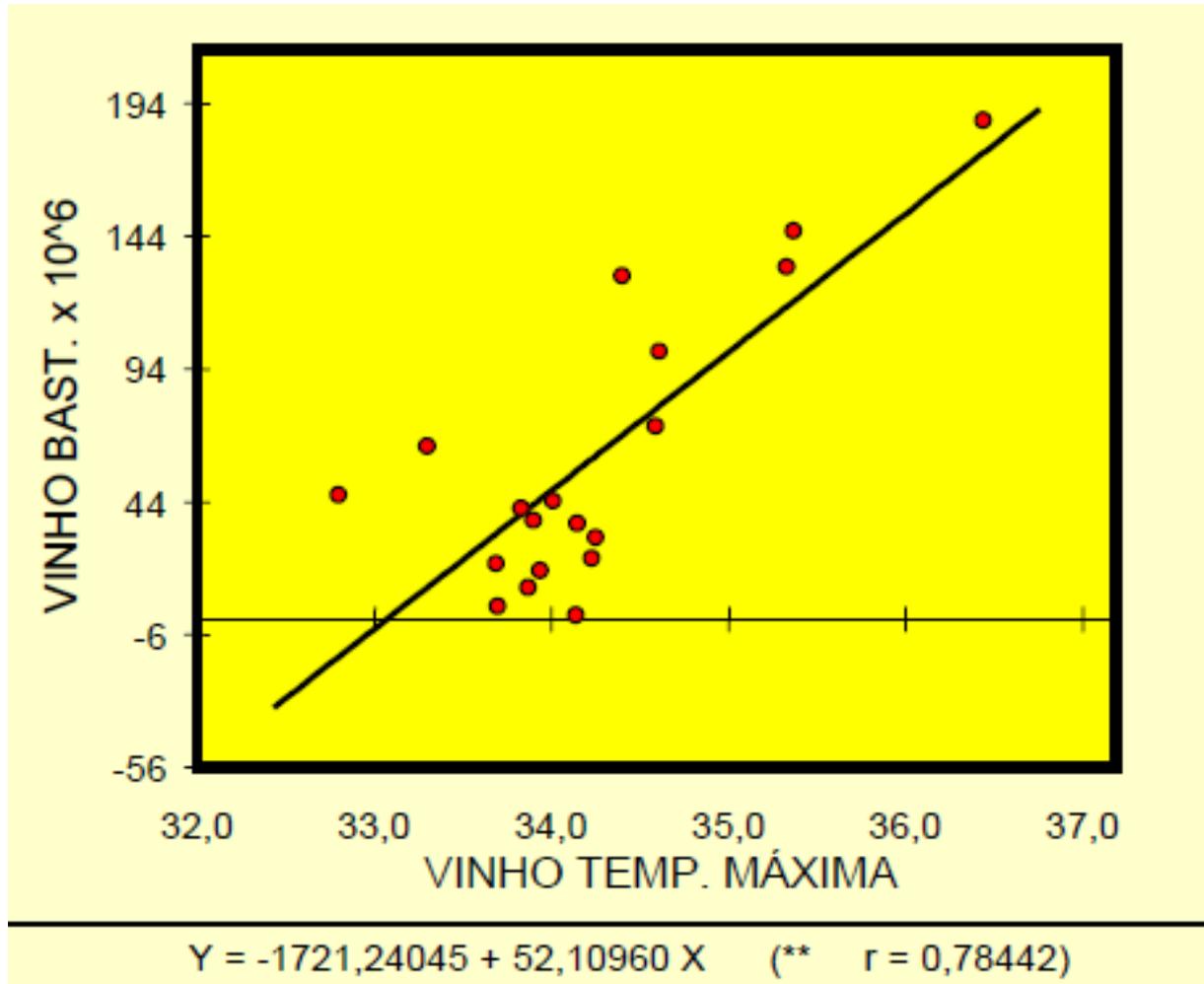
❖ Fermentação 28 a 34 °C.

Temperatura X Viabilidade



$$Y = 244,57798 - 4,54762 X \quad (* \quad r = -0,80498)$$

Temperatura X Contaminação do vinho



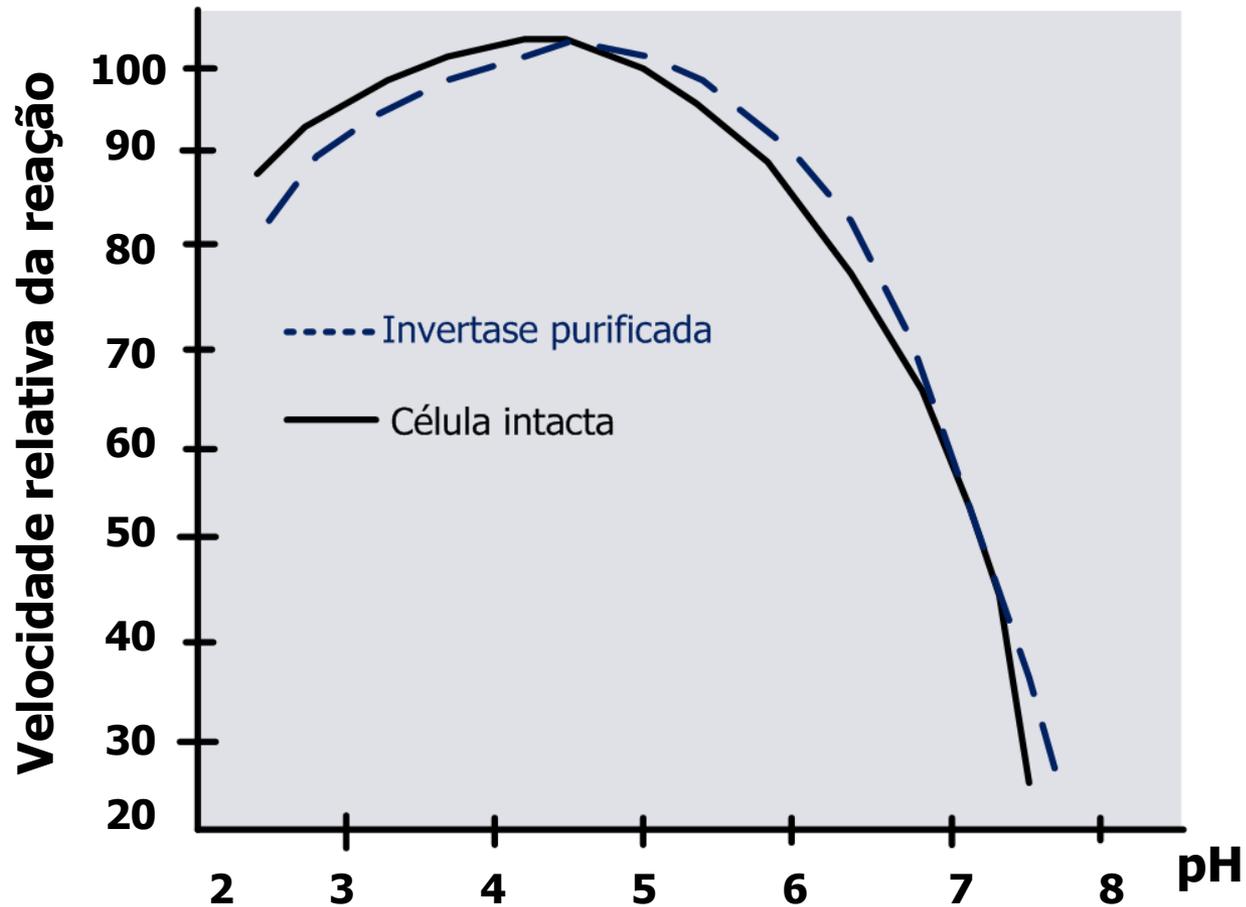
pH

☐ Fermentação

pH inicial 4,2 a 5,1.

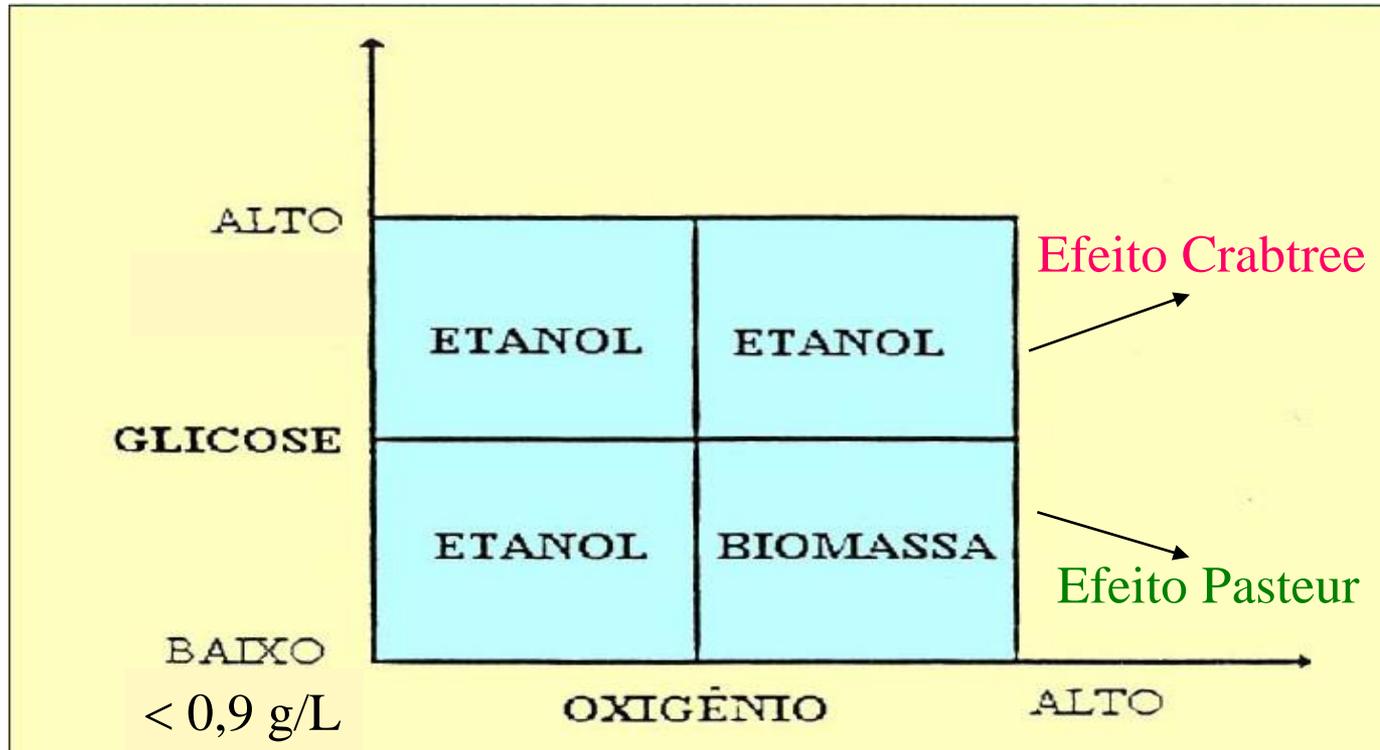
Reduz com pH 3,9 a 4,1.

Efeito do pH na atividade de invertase da levedura



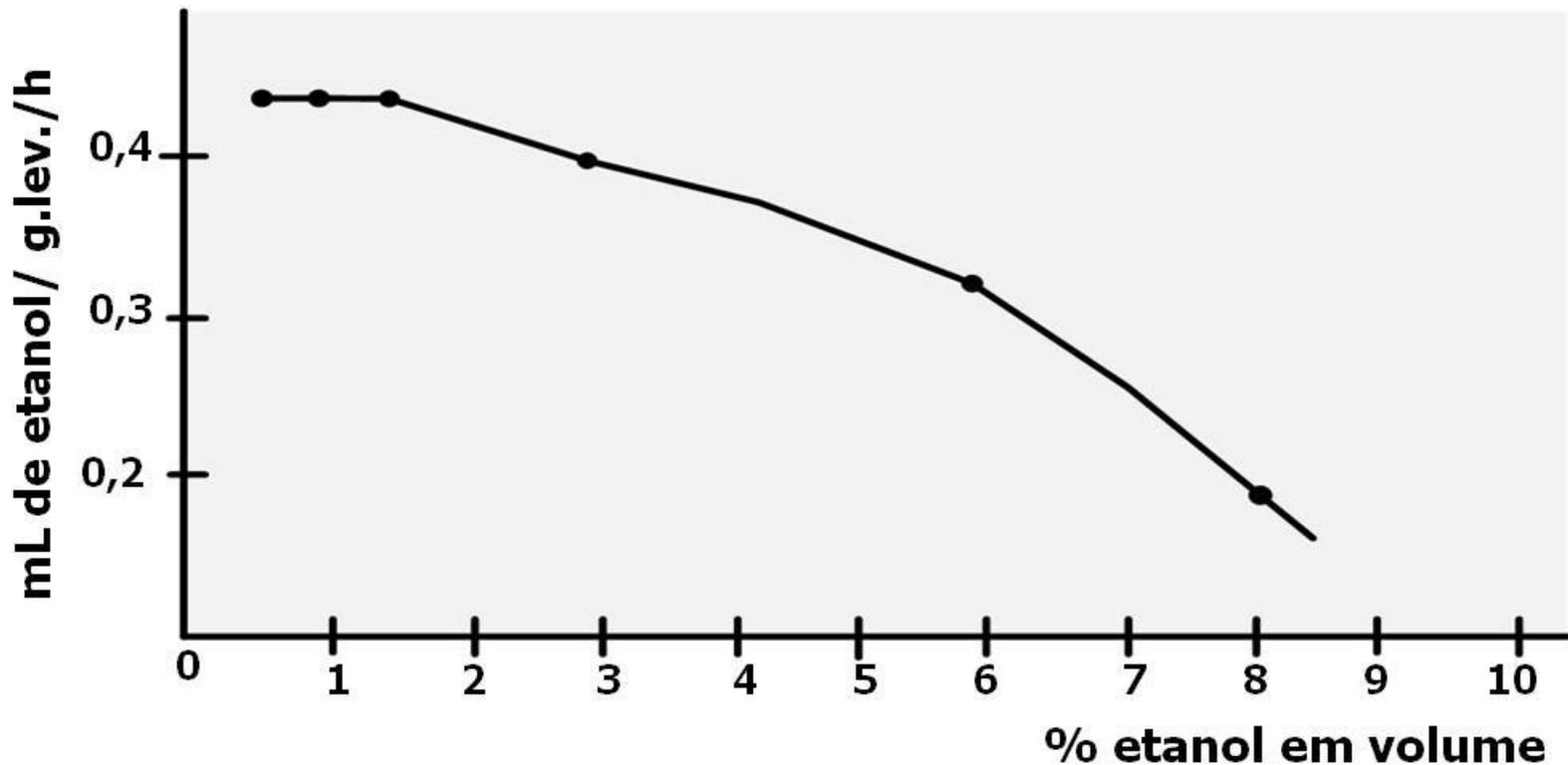
Condições ambientais (substrato x produto)

Efeito da concentração de etanol e glicose sobre o metabolismo de *S. cerevisiae*.



Efeito da concentração de etanol

- ❖ Inibe a atividade metabólica e leva a morte (sem condições de sobrevivência).
- ❖ Limite do vinho → 12% de álcool → variável (espécie e linhagem de leveduras e condições da fermentação).



Agentes da fermentação

24

alcoólica

ESALQ / USP

MORFOLOGIA DAS LEVEDURAS

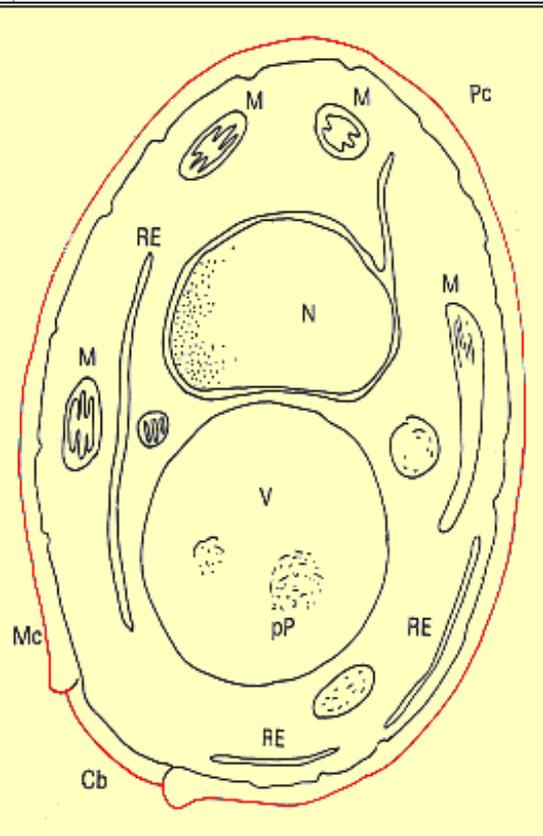
25

- leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) → unicelulares, frequentemente ovais, arredondadas e as elípticas.
 - Comprimento: 5 - 16 micra
 - largura: 3 - 7 micra
- ✦ Obs: 5 vezes maior que bactérias.
 - permite a separação na centrifugação

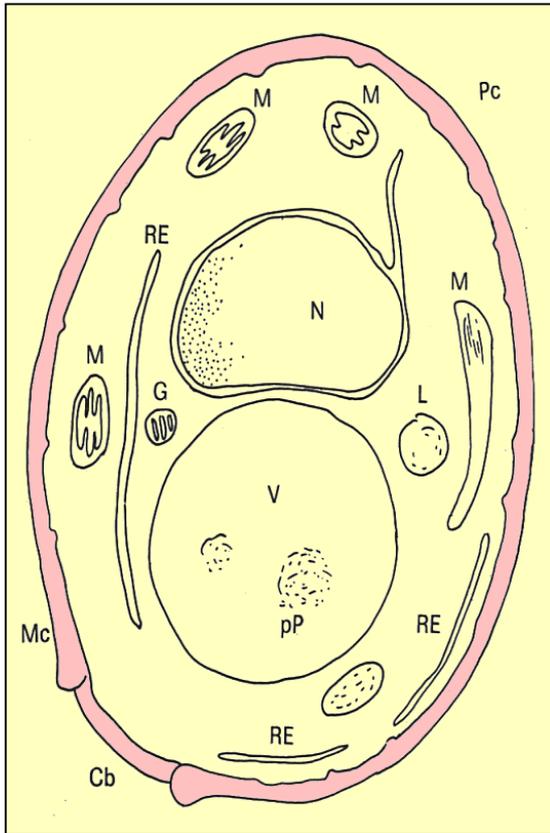


(1) Parede celular

- Enzimas Extracelulares: invertase (translocação e desdobramento das fontes para utilização pelo citoplasma).



(2) Membrana citoplasmática ou plasmalema



- Integridade e estabilidade
- Permeabilidade seletiva (controle de translocação de compostos do meio externo ao interior da célula e vice-versa).

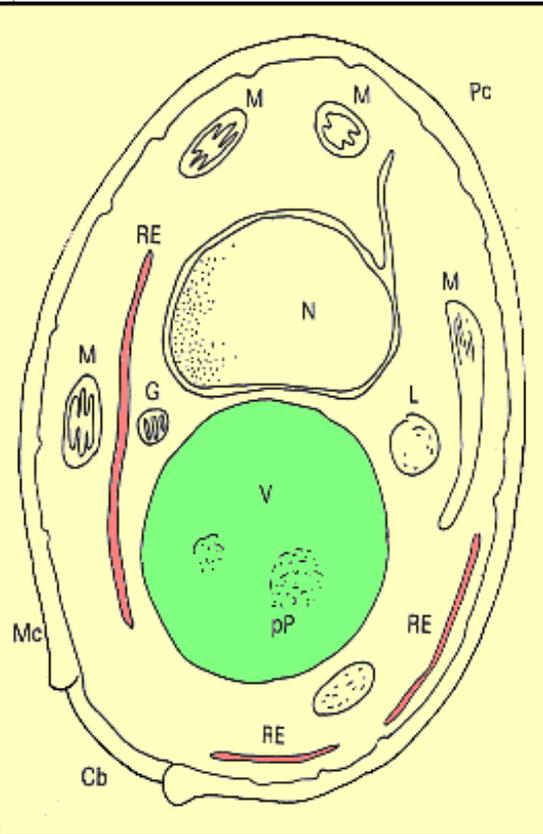


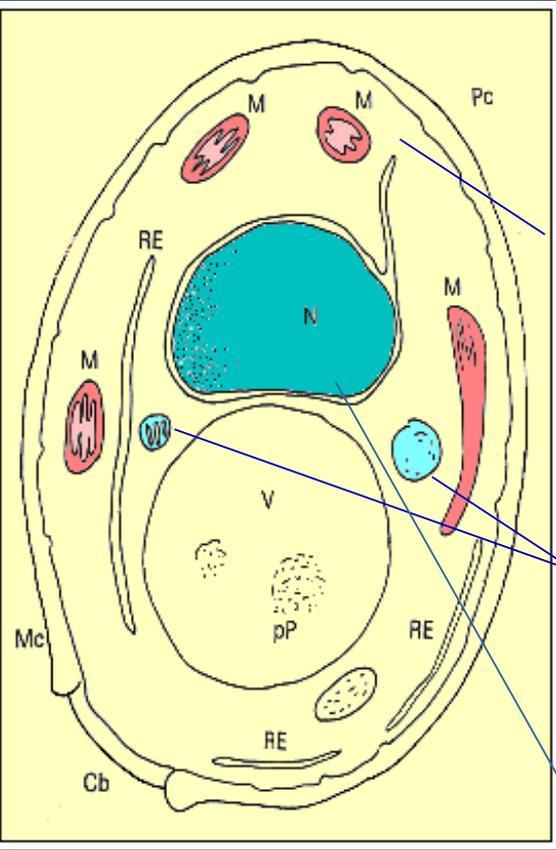
(3) Retículo Endoplasmático

- Ligada à síntese de proteínas.

(4) Vacúolo

- Armazenador temporário: enzimas





(5) Mitocôndria

- é conversão da energia aeróbica (ATP); síntese de proteínas e RNA.

(6) A célula contém reserva de nutrientes.

- Glicogênio, lipídeos,...

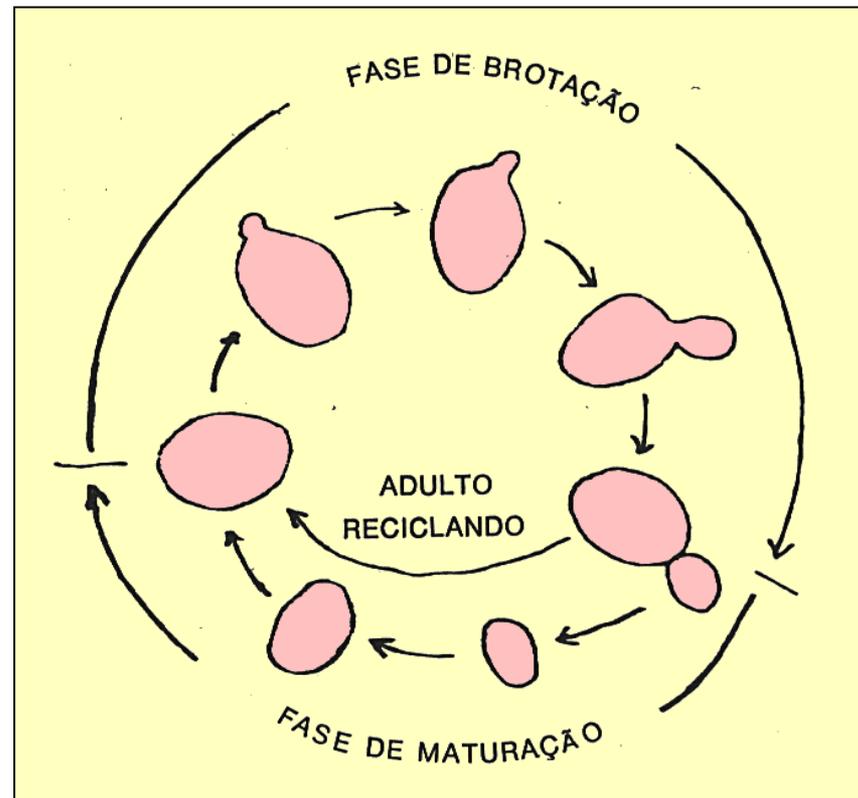
(7) Núcleo

REPRODUÇÃO EM LEVEDURAS

- (a) brotamento ou gemulação (multiplicação vegetativa) - assexuado -
- (b) esporulação (formação de “ascos”) - sexuais sob estresse -

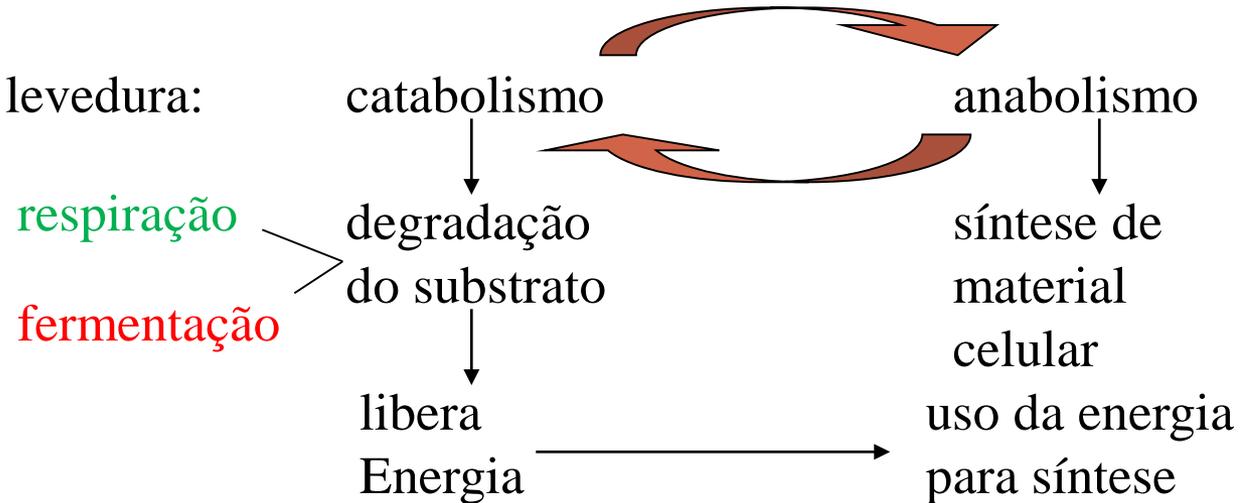
(a) brotamento

Ciclo vegetativo de leveduras alcoólicas.



FISIOLOGIA E E METABOLISMO DAS LEVEDURAS

- Metabolismo de levedura:



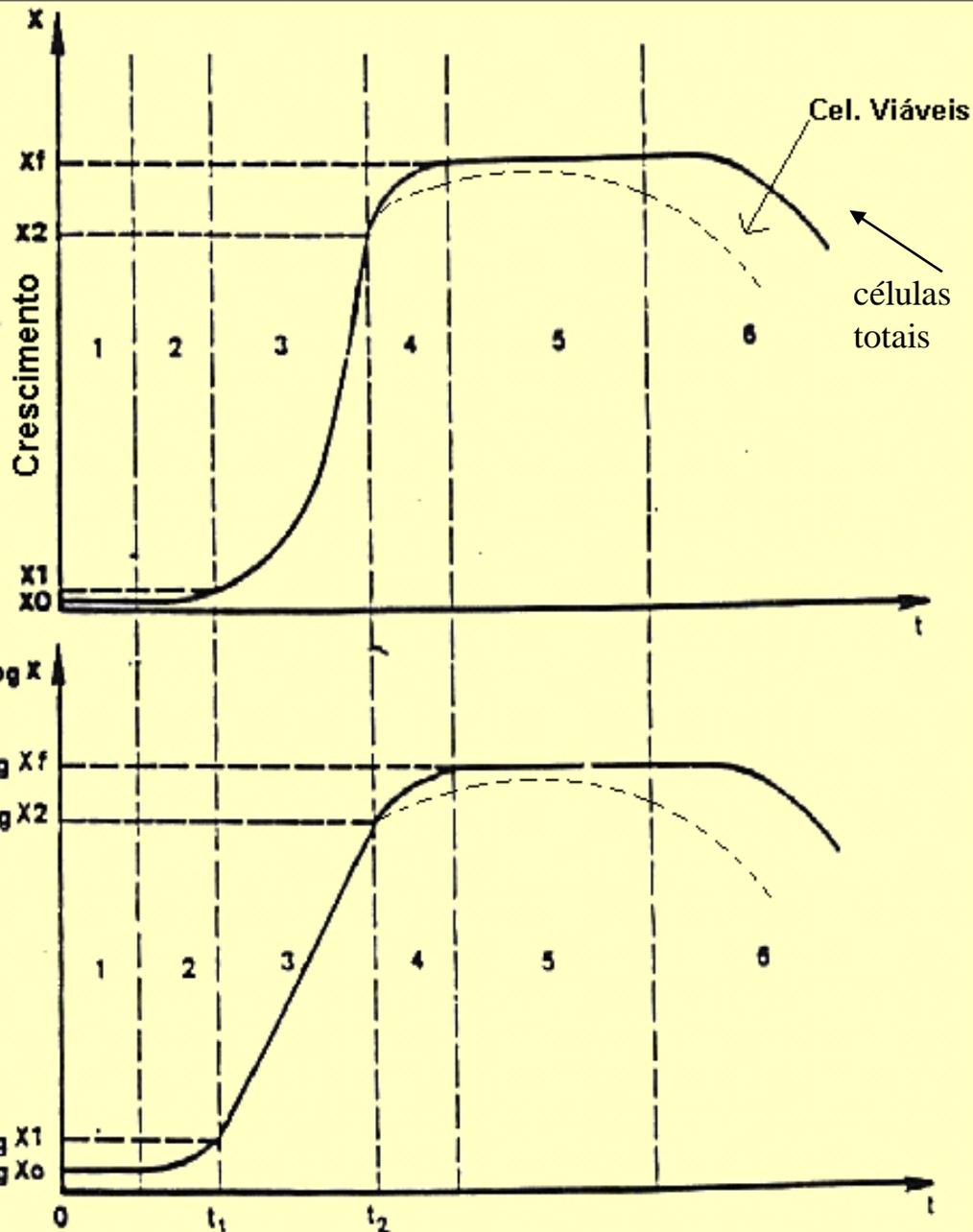
- (1) Respiração → oxidação biológica de substratos orgânicos sob sistemas multienzimáticos que catalisam a oxidação → transporte de elétrons na cadeia respiratória onde há ativação do oxigênio (acceptor e-) e formação de água.
- (2) Fermentação → reações em que compostos orgânicos atuam como substratos e como agentes de oxidação, em uma seqüência ordenada de reações enzimáticas.

CINÉTICA MICROBIANA

Desenvolvimento ou crescimento
→ referente a aumento populacional (multiplicação celular)

Fases de crescimento das leveduras em fermentação

- 1 - Lag-fase
- 2 - Fase de aceleração do crescimento
- 3 - Fase exponencial de crescimento
- 4 - Fase de desaceleração do crescimento
- 5 - Fase estacionária
- 6 - Fase de declínio



(1) **Fase “Lag”** → adaptação, reconstituição enzimática, degradação macromolecular, etc.



função:

- ✓ linhagem de levedura;
- ✓ idade do cultivo antes da transferência do meio;
- ✓ composição dos meios de cultivo anterior e novo.

(2) **Fase de Aceleração** → aumento gradual da velocidade de multiplicação celular.

- Ocorre diferentes capacidades individuais dos microrganismos ao meio e distintas velocidades individuais

(3) **Fase Exponencial** → aumento exponencial do número de células, cada célula se divide a intervalos constantes de tempo.

Caracteriza-se por :

- aumento exponencial do n° de células da população
- intenso metabolismo e estabiliza o tempo de geração das leveduras
- grande quantidade de produtos de excreção, metabólitos intermediários, temperatura e outros fatores alteram rapidamente a composição
- duração é controlada → composição e estado físico do meio dependendo do n° de células por unidade de volume e a acumulação de metabólitos e produtos finais (inibidores);
- quantidade de inóculo não influencia o tempo de geração na fase exponencial, mas atrasa por prolongar a fase de multiplicação.

(4) **Fase Estacionária** - caracteriza-se

- ✓ n° de células na cultura permanece quase constante por um período de tempo
- ✓ há um baixo consumo de energia
- ✓ ocorre a manutenção da viabilidade até esgotamento das reservas.

Dentre os fatores decisivos tem-se:

- depleção de nutrientes do meio;
- acúmulo de produtos finais tóxicos.

(5) **Fase Declínio** –

- ✓ o número de células que morrem excede o número de células novas, que será função dos fatores:
 - ✓ composição do meio (esgotamento de nutrientes, acúmulo de produtos finais, etc);
 - ✓ condições físicas e químicas do meio (pH, temperatura, etc.)

Leveduras com alto desempenho fermentativo

□ Suportar os estresses da fermentação Industrial com reciclo de células.

- ❖ Altas temperaturas;
- ❖ Elevados teores alcoólicos;
- ❖ Paradas (falta de açúcar);
- ❖ Agentes tóxicos (sulfito, alumínio, etc);
- ❖ Pressão osmótica;
- ❖ Contaminação bacteriana.

□ Sustentar alta viabilidade celular durante reciclos e apresentar boa eficiência em etanol.

PREPARO DO FERMENTO

(1) Fermento Prensado

(2) Fermento selecionado

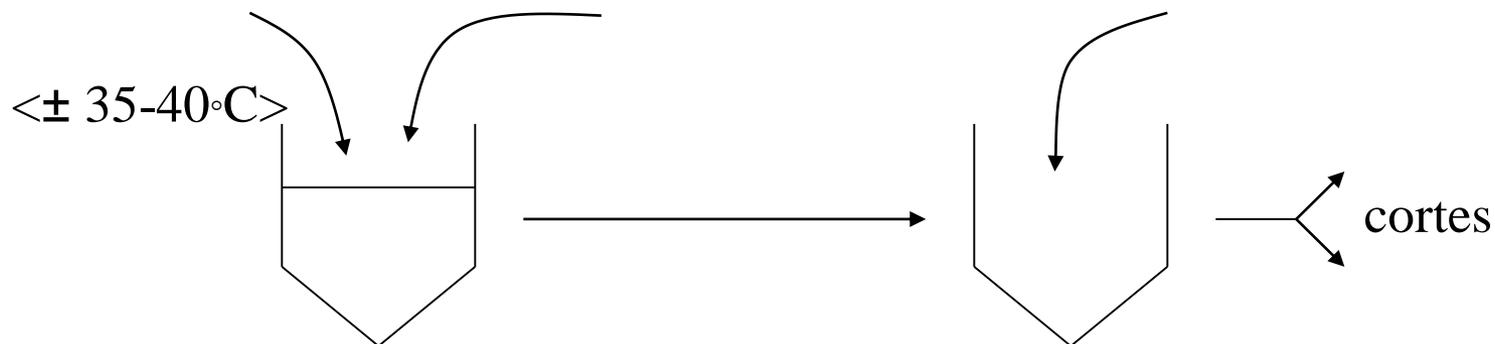
(1) Fermento Prensado

Esquema:

20 kg fermento prensado
(suspenso em
água morna)

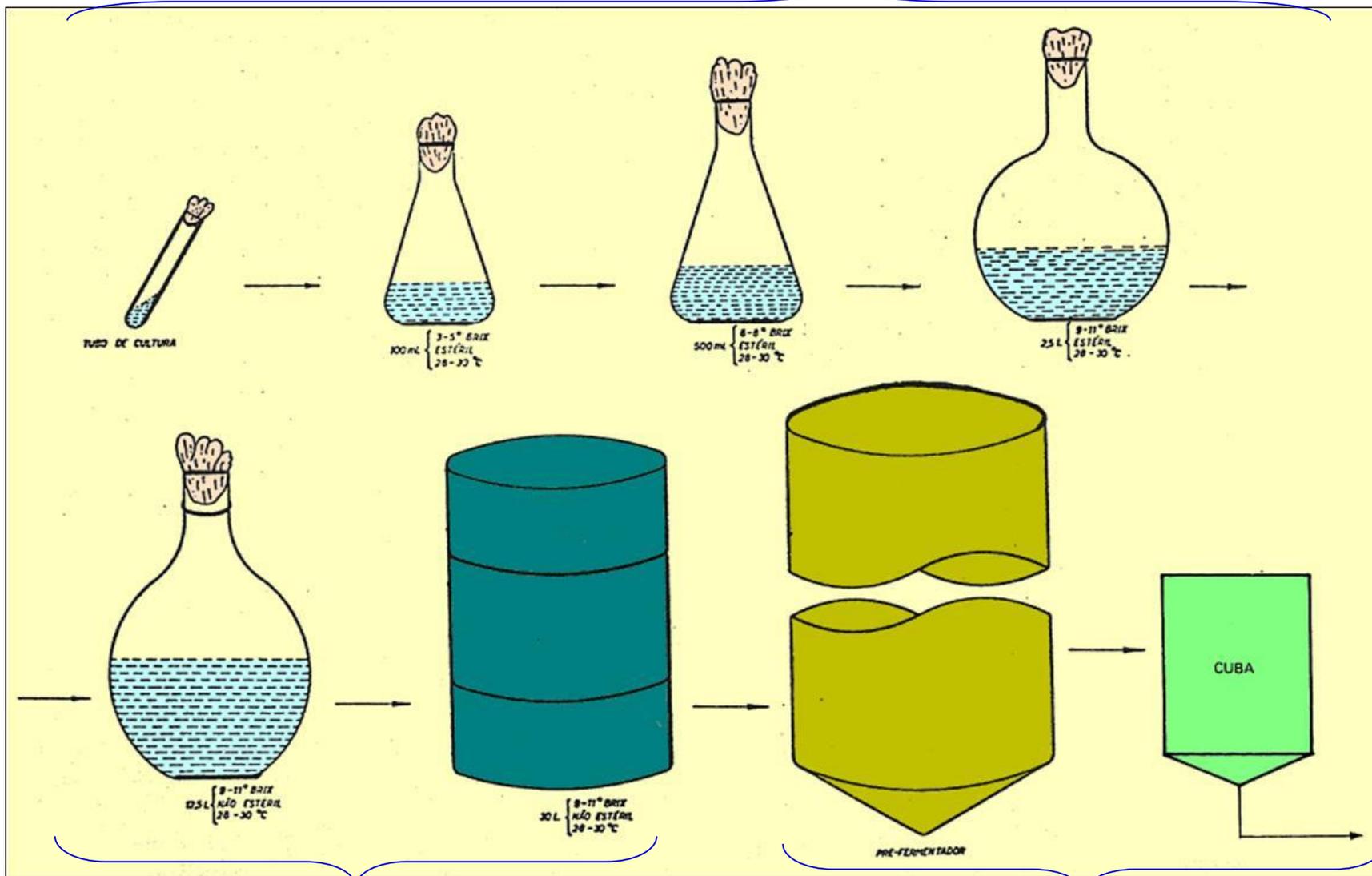
1000L de mosto
(30°C)
Brix - 50% v.i

filete contínuo
(1000L mosto)



(2) Fermento Selecionado

1ª Fase - Laboratório



2ª Fase - Multiplicação celular

3ª Fase - Fermentação Alcoólica

C. FASES DA FERMENTAÇÃO

Preliminar ou Pré: Fase lag

- pequena elevação de temperatura
- multiplicação fermento (dreno de energia)
- pouco etanol

Principal ou Tumultuosa: Fase log →

- maior t°C
- produção de etanol
- maior espumas - meio anaeróbico
- atenuação do Brix - maior acidez

Função

desprendimento de CO₂
temperatura
produção de etanol
consumo de açúcares

Complementar ou pós-fermentação: Fase estacionária

- a tranqüilidade na superfície do vinho
- tendência de igualdade das temperaturas de fermentação e ambiente
- acentuado aumento da acidez