



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

SIDNEY GONÇALVES MENDES

O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ENDÓGENA

Assis

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

MENDES, Sidney Gonçalves

O processo de fermentação endógena/Sidney G... Mendes.
Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis,
2014.

55 p.

Orientador: Prof. Dr. Idécio Nogueira da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. *Saccharomyces cerevisiae*. 2. fermentação alcoólica e
endógena

CDD:660

Biblioteca da FEMA

O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ENDÓGENA

Sidney Gonçalves Mendes

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação
em Química Industrial

Orientador: Prof.Dr.Idécio Nogueira da Silva

Analisador: Prof.Ms. Elaine Amorin Soares Menegon

Assis – SP

2014

SIDNEY GONÇALVES MENDES

O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ENDÓGENA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Idécio Nogueira
Área de concentração: Química

Assis
2014

DEDICATÓRIA

A Deus, sem Ele não somos nada, pois são os pilares que nos sustentam. E, por todas as oportunidades que me deram. Muito obrigado!

A minha mãe, Ana Rosa, *in memoriam*, pelo exemplo de vida; a meu pai, Lázaro, pelos seus ensinamentos;

A minha esposa, Hanahy, que sempre me incentivou na busca dos meus sonhos e sempre entendeu meus momentos de recuo para os estudos, com muito carinho e dedicação.

Aos meus filhos: Caio e Lais, por serem a alegria constante de minha vida, pelo amor incondicional, pelo sorriso e o privilégio de ter sido escolhido como pai de vocês!

Sidney

AGRADECIMENTOS

Agradeço, também, a todos meus professores, que influenciaram na minha formação e ajudaram muito, doando todo seu saber e me educando para ser cidadão melhor.

Em especial, ao Professor, Mestre, Doutor, Idécio Nogueira, meu orientador, pela dedicação e paciência, sempre esteve disponível para tirar minhas dúvidas o que foram contribuições essenciais;

A todos que me apoiaram sempre, e que não foram citados, o meu carinho e respeito.

Conviver com pessoas que nos estimulam e nos ajudam a concretizar nossos sonhos é de extrema importância, porque somos seres humanos e precisamos de cooperação e companheirismo.

Grato,

Sidney

“ De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro”.

Fernando Sabino

RESUMO

A produção de etanol é uma das mais importantes atividades dentro da agroindústria, não só pelo valor de produção e dos inúmeros usos e aplicações de seu produto principal. A produção mundial de etanol obteve uma elevação nos últimos anos devido as suas novas e múltiplas aplicações, nos diversos ramos da indústria. Com a necessidade de produzir cada vez mais com o menor custo, busca-se retirar a maior quantidade de álcool possível do processo de fermentação. Muitos fatores afetam o rendimento da fermentação, os quais foram e continuarão a ser estudados com o objetivo de aperfeiçoar o rendimento do processo. Muitas destas pesquisas já orientaram novos procedimentos na condução de processo fermentativo em escala industrial com finalidade de aumentar o rendimento da fermentação alcoólica. A produção de etanol se dá através da fermentação e utiliza-se da espécie de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Neste processo, a levedura se multiplica, mas para que a fermentação seja eficiente o ideal é trabalhar com um volume aproximado de 12% nas dornas, sendo que o excedente é descartado. O presente trabalho teve por finalidade demonstrar diferentes processos de fermentação e dentre eles a fermentação endógena. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, submetida ao stress fermentativo é capaz de produzir um maior teor alcoólico, através do acúmulo dos carboidratos de reserva trealose e glicogênio. Este trabalho comprovou que, a fermentação endógena foi possível obter um ganho médio de aproximadamente 150 litros de álcool por tonelada de levedura seca, Na realização deste estudo adicionou o fermento excedente do processo de fermentação convencional para dornas de fermentação endógena. Em seguida realizou-se análise do teor alcoólico. A etapa seguinte foi o aquecimento do fermento com vapor até uma temperatura de 40°C depois de 10:00 horas e realizou análise de teor, mantendo uma temperatura no interior da dorna de 40°C . Após 12:00 horas realizou-se análise. Neste estudo o valor médio de acréscimo no teor alcoólico foi de 3.10 °GL. Durante a realização do segundo estudo adicionou a levedura excedente do processo de fermentação convencional nas dornas de fermentação endógena realizou análises de teor alcoólico, em seguida aqueceu o fermento com vapor até a temperatura de 36°C. Após período de 10:00 horas realizou análise de teor alcoólico. Mantendo uma temperatura de 36°C após 20:00 horas realizou-se análise de teor alcoólico, com este estudo o ganho médio foi de 2.36 °GL no teor . Importante neste processo é o controle de temperatura desta forma torna-se necessário a otimização das etapas do processo.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*; fermentação alcoólica e endógena

ABSTRACT

Ethanol production is one of the most important activities within the agricultural industry, not only for the amount of production and the many uses and applications of its flagship product. World production of ethanol obtained an increase in recent years due to their new and multiple applications in different branches of industry. With the need to produce ever more at the lowest cost, to withdraw 'il get the largest possible amount of alcohol in the fermentation process. Many factors affect the fermentation efficiency, which were and continue to be studied in order to improve the efficiency of the process. Many of these research has guided new procedures in conducting fermentation process on an industrial scale with the purpose of increasing the yield of alcoholic fermentation. The production of ethanol is through fermentation and is used the species *Saccharomyces cerevisiae*. In this process, the yeast multiplies but to be effective the fermentation is ideal to work with a volume of approximately 12% in vats, and the surplus is discarded. This study aimed to demonstrate different processes of fermentation and among them the endogenous fermentation. The yeast *Saccharomyces cerevisiae*, subjected to fermentation stress can produce a higher alcohol content, through the accumulation of reserve carbohydrates trehalose and glycogen. This work demonstrated that the endogenous fermentation was possible to obtain an average gain of about 150 liters of ethanol per ton of dry yeast, In this study added the excess yeast conventional fermentation vats for endogenous fermentation. Then held analyze the alcohol content. The next step was the yeast heat steam to a temperature of 40 ° C after 10:00 and content analysis performed by maintaining a temperature inside the vat 40 ° C. After 12:00 pm was held analysis. In this study, the average increase in alcohol content was 3.10 °GL. During the second study added the yeast over the conventional fermentation process in endogenous fermentation vats made alcohol content analysis, then heated baking with steam until the temperature of 36°C. After 10:00 hours period conducted analysis of alcohol content. Maintaining a temperature of 36°C after 20:00 was held analysis of alcohol content, with this study the average gain was 2.36 °GL the content. Important in this process is the temperature control in this manner it becomes necessary to optimize the process steps.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; alcoholic fermentation and endogenous

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Testes para aumentar teor alcóolico.....	44
Tabela 2	- Testes para aumentar teor alcóolico.....	44

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Estrutura Química da Lecitina – fosfolípidios.....	18
Figura 2	- Estrutura Química do Ergosterol.....	18
Figura 3	- Trealose.....	30
Figura 4	- Glicogênio.....	33
Figura 5	- Processo de destilação.....	37
Figura 6	- Dornas de fermentação convencional e endógena	41
Figura 7	- Centrifuga de Fermento.....	42
Figura 8	- Levedo Centrifugado.....	43

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	9
2.	A CANA DE AÇUCAR NO MERCADO CONTEMPORÂNEO	11
3.	HISTÓRIA DA FERMENTAÇÃO.....	12
3.1	LEVEDURAS.....	14
3.1.1	Composição química da célula de levedura	17
4	A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	20
4.1	PROCESSO EM BATELADA.....	20
4.2	PROCESSO EM BATELADA ALIMENTADA.....	21
4.3	PROCESSO CONTÍNUO.....	23
4.4	RECIRCULAÇÃO DE LEVEDURAS.....	24
4.5	TRATAMENTOS FINAIS.....	26
5	FERMENTAÇÃO ENDÓGENA.....	28
5.1	CARBOIDRATOS DE RESERVA	30
5.1.1	Trealose.....	30
5.1.1.1	Funções da Trealose.....	31
5.1.1.2	Glicogênio.....	32
6	APLICAÇÃO DA QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO.....	34
6.1	AULA PRÁTICA – PREPARANDO ÁLCOOL ETÍLICO.....	36
7	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
7.1	MATERIAIS.....	39
7.1.1	Micro-organismos.....	39
7.1.2	Equipamentos.....	39
7.2	MÉTODOS.....	39
7.2.1	Fermentação endógena.....	39
7.2.2	Determinação do teor alcóolico.....	40
8	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
9	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar evoluiu de forma lenta e espontânea durante a Antiguidade, sendo intensificada a partir dos desbravamentos árabes e egípcios do século VII, intensificando-se a partir da evolução de técnicas de processamento do açúcar pelos italianos no século XII, época em que o resultado extraído do processamento da cana-de-açúcar tinha como destino apenas o agrado às elites e fins farmacêuticos (LEÃO, 2002).

O comércio da cana-de-açúcar passou a ser registrado a partir do século XVI, quando foi transformado em um produto estratégico da monarquia portuguesa para colonizar as novas terras do Ocidente¹, ao mesmo tempo em que buscava estabelecer um empreendimento altamente lucrativo, juntamente com a exploração da mão-de-obra escrava africana, inicia a formação do maior empreendimento agroindustrial daquele tempo (LEÃO, 2002).

Hoje, o setor de açúcar e álcool movimenta 6% do PIB, e segundo projeções da indústria sucroalcooleira, crescerá 50%, tendo em vista as demandas internacionais e o crescimento da tecnologia de motores de combustível flexíveis (PASIN; NEVES, 2010).

A sazonalidade do setor sucroalcooleiro mostra-se como ponto positivo. Na região Sudeste, a safra se estende de maio a novembro, período seco, ou seja, aquele onde ocorre a diminuição de oferta de energia gerada pelas usinas hidrelétricas (PASIN; NEVES, 2010).

Em termos mundiais, o setor sucroalcooleiro se faz presente em um grande número de países, embora seja mais explorado em nações situadas nas regiões de clima tropical, este trabalho tratará especificamente da produção brasileira (MANNARELLI FILHO; NEY, 2002).

¹ A partir das grandes navegações espanholas e portuguesas no século XV.

Verifica-se que o setor sulcroalcooleiro utiliza-se de leveduras, do gênero *Saccharomyces*, predominantemente a espécie *Saccharomyces cerevisiae* e suas diversas linhagens de grande adaptação às condições industriais (MANNARELLI FILHO; NEY, 2002).

O setor sulcroalcooleiro é um grande gerador econômico, por conta da produção de álcool que hoje ultrapassa a 12 milhões de litros e este processo deriva-se do processo de fermentação (MANNARELLI FILHO; NEY, 2002).

As fermentações de teor alcoólico elevado podem ser conseguidas através da utilização de mostos mais concentrados em açúcares, no entanto teores alcoólicos elevados causam estresse às leveduras. Uma das respostas das linhagens de *Sacchormyces cerevisiae* ao estresse fermentativo é o acúmulo do carboidrato de reserva trealose e glicogênio (MANNARELLI FILHO; NEY, 2002).

A fermentação endógena é um processo pelo qual a levedura mobiliza os seus carboidratos de reserva (trealose e glicogênio) para a formação de álcool, como fonte alternativa para aquisição de energia para o seu crescimento e desenvolvimento (MANNARELLI FILHO; NEY, 2002).

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a eficiência da técnica de fermentação endógena utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* submetida ao estresse fermentativo.

2 A CANA DE AÇÚCAR NO MERCADO CONTEMPORÂNEO

A cana-de-açúcar era conhecida, apreciada e largamente utilizada pelas civilizações mais antigas. Alguns historiadores consideram que sua origem é das planícies ao longo do Rio Ganges, na Índia; outros afirmam que a planta tenha origem na Melanésia, na Nova Guiné, onde foram encontradas espécies primitivas e batizadas com o nome de *otahete* (LEÃO, 2002).

A cultura da cana-de-açúcar desde sua colonização é de extrema importância para a economia brasileira, apresenta-se como um produto renovável, que produz o açúcar, álcool anidro (aditivo para a gasolina), álcool hidratado, além de possibilitar a geração de energia elétrica através da queima do bagaço e a produção de plástico biodegradável a partir do açúcar, o PHB - polihidroxitirato (SOARES, 2008).

O setor sucroalcooleiro brasileiro tem 437 unidades produtoras, sendo 168 produtoras de álcool, 16 de açúcar e 253 de açúcar e álcool. Na safra 2010/2011 foram produzidos 27,6 bilhões de litros de álcool, 8 bilhões de litros de anidro e 19,6 de hidratado, aumento de 7% em relação a safra 2009/2010 na qual foram produzidos 25,8 bilhões de litros. Em 2011 até o mês de maio, exportou 397 milhões de litros de álcool, volume 12,5% inferior ao mesmo período de 2010. Na safra 2013/2014 foram produzidas 624 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. (ÚNICA, *et al.*, 2014).

Em 2010, exportou 1,9 bilhão de litros de álcool, volume 42,4% inferior ao de 2009. As receitas obtidas com as exportações de álcool em 2010 foram de US\$ 1 bilhão (redução de 24% em relação a 2009) de acordo com o Ministério Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior-MDIC. Este setor faz do Brasil o maior produtor mundial de cana e açúcar, e o principal país do mundo a implantar, em larga escala, um combustível renovável alternativo ao petróleo (SANTOS, 2011).

3 HISTÓRIA DA FERMENTAÇÃO

Não se tem uma data exata que indica o início do uso da levedura para a produção de bebidas alcólicas, utilizando como substrato os cereais e frutas, entretanto, sabe-se que há 4.000 (quatro mil) anos os egípcios já fabricavam os pães e as bebidas utilizando esta técnica (AMORIM, 1977).

Há registros que comprovam o uso de alimentos fermentados pelos sumérios, egípcios antigos, assírios e babilônios. Foram encontradas descrições chinesas do ano 1000 a.C. sobre misso² feito com molho de soja. O valor medicinal de produtos fermentados é conhecido há muito tempo. Os chineses usavam coalho de feijão-soja mofado para curar infecções de pele há 3.000 anos. Os índios da América Central tratavam feridas infetadas com fungos (OLIVEIRA, 2007).

O cientista francês Louis Pasteur, descobriu durante um de seus estudos sobre os problemas dos cervejeiros e vinicultores da França, um tipo de levedura que produzia vinho bom, mas um segundo tipo tornava-o azedo. Esta descoberta conduziu à teoria da origem de doenças. (OLIVEIRA, 2007).

Após esta descoberta, Pasteur verificou que a fermentação alcoólica estava sempre associada ao crescimento de leveduras, mas que se estas fossem expostas a quantidades importantes de oxigênio produziram, em vez de álcool e dióxido de carbono, água e dióxido de carbono. Destas observações, concluiu que a fermentação era o mecanismo utilizado pelos seres vivos para produzir energia na ausência de oxigênio (OLIVEIRA, 2007).

Verifica-se que somente no século XIX, compreendeu-se a verdadeira causa de fermentação (OLIVEIRA, 2007).

² O *misoshirué* um dos pratos mais básicos da culinária japonesa, e curiosamente um dos que possui mais variações. No Brasil há famílias que ainda fazem pastas de miso caseiras, mas a maior parte das pessoas consome pastas fabricadas. No país vende-se pasta de miso de fabricação nacional e importada do Japão.

Em 1897, o químico alemão, *Buchner* demonstrou que a fermentação era apenas uma sequência de reações químicas, podendo ocorrer fora de células vivas. Foi este estudo que revelou as enzimas e permitiu a compreensão do metabolismo celular em toda a sua globalidade (OLIVEIRA, 2007);

Em 1930 os bioquímicos alemães, *Embden e Meyerhof* descobriram a totalidade das etapas deste processo, pelo que essa sequência também é conhecida por cadeia de *Embden-Meyerhof*. (OLIVEIRA, 2007).

Verifica-se, então que a química das fermentações é uma ciência nova que ainda está em suas fases mais iniciais. É a base de processos industriais que convertem matérias-primas como grãos, açúcares, e subprodutos industriais em muitos produtos sintéticos diferente (OLIVEIRA, 2007).

Sendo assim, hoje se denomina fermentação o processo de obtenção de energia utilizado por algumas bactérias e outros organismos, devido a quebra da glicose ou outros substratos como o amido em piruvato, posteriormente sendo transformado em outros produtos, tais como: o álcool etílico e lactato, definindo fermentação alcoólica e láctica. Esta fermentação pode ser: butírica, oxálica, acética (CASADEI, 2012).

Este tipo de obtenção de energia não necessita do oxigênio como acceptor final de elétrons. Por isso, é chamada de fermentação anaeróbica. Porém, ela é dezoito vezes menos eficiente em termos de energia, gerando apenas dois ATPs por molécula de glicose (CASADEI, 2012).

No passado, as bactérias eram utilizadas somente para a fermentação de bolos e pães, hoje, porém, o processo fermentativo vai além dos pães e bolos, atingindo a escala industrial, tanto para a produção de bebidas fermentadas, quanto vários tipos de alimento, e principalmente para a fabricação do etanol de cana-de-açúcar (CASADEI, 2012).

3.1 LEVEDURAS

Há 150 anos foi descoberto o gênero *Saccharomyces*³, e desde essa época passou por várias mudanças. Tem-se em 1912, a primeira publicação sobre taxonomia de leveduras publicada por Guilliermond. O gênero *Saccharomyces* compreendia 46 espécies divididas em 06 grupos separados de acordo com a atividade fermentativa sobre os açúcares. Outras divisões ocorreram e novas espécies foram descritas resultando em 41 espécies dentro do gênero *Saccharomyces* no ano de 1970 (GUIMARÃES, 2005).

O agente microbiano mais conhecido nos processos fermentativos no setor sucroalcooleiro são as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. (GUIMARÃES, 2005).

A *Saccharomyces cerevisiae*, possui um largo espectro de utilização, sendo empregados na produção de pães, bebidas alcoólicas, entre outros. Sua biomassa pode ser recuperada como subproduto de fermentação e transformada em levedura seca, que se constitui em matéria-prima para a fabricação de ração animal ou suplemento vitamínico para o homem (PATARO *et al*,1998).

Observa-se que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na atualidade é responsável pela produção dos principais produtos de fermentação, que representam 60 milhões de toneladas de cerveja, 30 milhões de toneladas de vinho, 800.000 toneladas de proteína microbiana (SCP – *single cell protein*) e 600.000 toneladas de fermento de pão (PATARO *et al*,1998).

As leveduras são os micro-organismos mais importantes na obtenção do álcool por via fermentativa. Fazem parte do grupo de ascomicetos denominados fungos superiores e são unicelulares, eucarióticos, heterotróficos. Em geral, são maiores que as bactérias, possuem quase sempre formas arredondadas,

³ É um micro-organismo aeróbio facultativo, isto é, que tem a habilidade de se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose

ovais ou elípticas; porém variam consideravelmente no que se refere a suas dimensões, com limites desde um a cinco um de largura e cinco a doze um de comprimento (PELCZAR et al, 1980).

Leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* são utilizadas em vários processos, como a produção de fermento de pão, extrato de levedura, cerveja, aditivos alimentícios (vitaminas, proteínas, enzimas), proteínas heterólogas (vacinas e outros componentes terapêuticos), e produtos de interesse farmacêutico através da manipulação de novas vias metabólicas e do aumento da produção com a engenharia genética, uma vez que o genoma de leveduras já foi inteiramente sequenciado (BADOTTI et al, 2008).

Define-se leveduras como os micro-organismos mais importantes na obtenção do álcool por via fermentativa, as bactérias, entre as quais a *Zymomonas mobilis*, são tidas como capazes de produzir etanol, mas as leveduras ainda são os agentes largamente usados (LEITE, 2013).

Verifica-se que, os produtos da biotecnologia, a partir de leveduras afetam as indústrias de alimentos, bebidas, biocombustíveis, produtos químicos, enzimas industriais, produtos farmacêuticos, produtos agrícolas e o meio ambiente, assim sua importância industrial vem se estendendo além da fermentação tradicional (LEITE, 2013).

Os critérios tecnológicos que fazem com que uma levedura seja utilizada comercialmente na fermentação alcoólica são o alto rendimento e a elevada produtividade, ou seja, rápida conversão de açúcar em álcool, com baixa produção de componentes secundários (LEITE, 2013).

As leveduras constituem um grupo de micro-organismos eucariotos unicelulares, que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou por cissiparidade. São largamente encontradas na natureza, sendo comuns: no solo, na superfície de órgãos dos vegetais, principalmente em flores e frutos, no trato intestinal de animais, em líquidos açucarados, entre outros. Podem ser parasitas, simbiotes, sendo, em sua grande parte, saprófitos (LEITE, 2013).

As células de leveduras podem ser esféricas, ovais ou elípticas podendo ainda apresentar-se bastante alargadas, porém, a forma da levedura não é indício para identificação de espécies e nem a variedade de formas em um mesmo cultivo pode ser considerada contaminação do mesmo. As leveduras não possuem flagelo e, em consequência disso, são imóveis. Suas dimensões variam consideravelmente em função da espécie, nutrição e idade entre outros fatores (SILVA FILHO, 2003).

Existem vários formatos para uma célula de levedura, tais como: esféricas, ovóides ou cilíndricas. Observa-se que, cada espécie de levedura tem uma forma característica, mas, mesmo em culturas selecionadas (puras), se encontram variações de tamanho e de forma das células individuais dependendo da idade e do ambiente (SALVATO, 2010).

Geralmente o tamanho da célula de levedura varia bastante de 1 a 5 μ m de diâmetro a 5 a 15 μ m de comprimento. Para o seu crescimento, a temperatura ideal pode variar entre 28 e 30°C e seu desenvolvimento é favorecido em meio ácido. São classificadas como facultativas, tendo a habilidade de se ajustar metabolicamente em condições de aerobiose como em condições de anaerobiose (CARVALHO, 2001)

Quanto à composição química das leveduras, elas apresentam de 68% a 83% de água além de substâncias nitrogenadas, carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais entre outros. Assim como qualquer forma de vida, as leveduras necessitam de fatores físicos e químicos importantes indispensáveis para seu crescimento e reprodução. Alguns elementos são basicamente necessários, como água, fontes de carbono e nitrogênio, oxigênio e minerais (VIEIRA, 2011).

A levedura mãe produz uma célula filha a cada 30 minutos e cerca de 24 gerações de células filhas durante todo o seu ciclo vital (VIEIRA, 2011).

A quantidade de levedura na dorna de fermentação para a produção de álcool gira em torno de 12% (VIEIRA, 2011).

O rendimento fermentativo vai diminuir. Devido que a levedura está consumindo açúcar para se multiplicar ao invés de consumir açúcares para a produção de etanol (VIEIRA, 2011).

Nas unidades que secam fermento, este excedente seguramente vai para a produção de levedura seca o qual é amplamente utilizada como complemento da ração animal. As usinas que não tem esta opção, o excedente vai direto para os aparelhos de destilação (VIEIRA, 2011).

3.1.1 Composição química da célula de levedura

A composição química é amplamente afetada em função da linhagem, fase de crescimento e condições físicas e químicas do meio de cultivo, mas podem ser resumidas como tendo alto teor de proteína, alto conteúdo de ácidos nucleicos, baixo conteúdo de lipídeos, alto conteúdo de cinzas, conteúdo moderado de carboidratos e alto conteúdo de vitaminas. (VIEIRA, 2011).

A *Saccharomyces cerevisiae*, apresenta cerca de 35% de matéria seca, da qual 10% é representada pela trealose, 12% pelo glicogênio, 8% por glucana e 6% por manana (VIEIRA, 2011).

Os lipídeos não excedem 7% da matéria seca, sendo representados principalmente por glicerídeos de ácidos graxos, fosfolipídios (lecitina e cefalina) e esteróis (ergosterol) (VIEIRA, 2011).

As figuras 1 e 2 mostram as estruturas químicas do fosfolipídeo lecitina e do esteroide ergosterol, respectivamente.

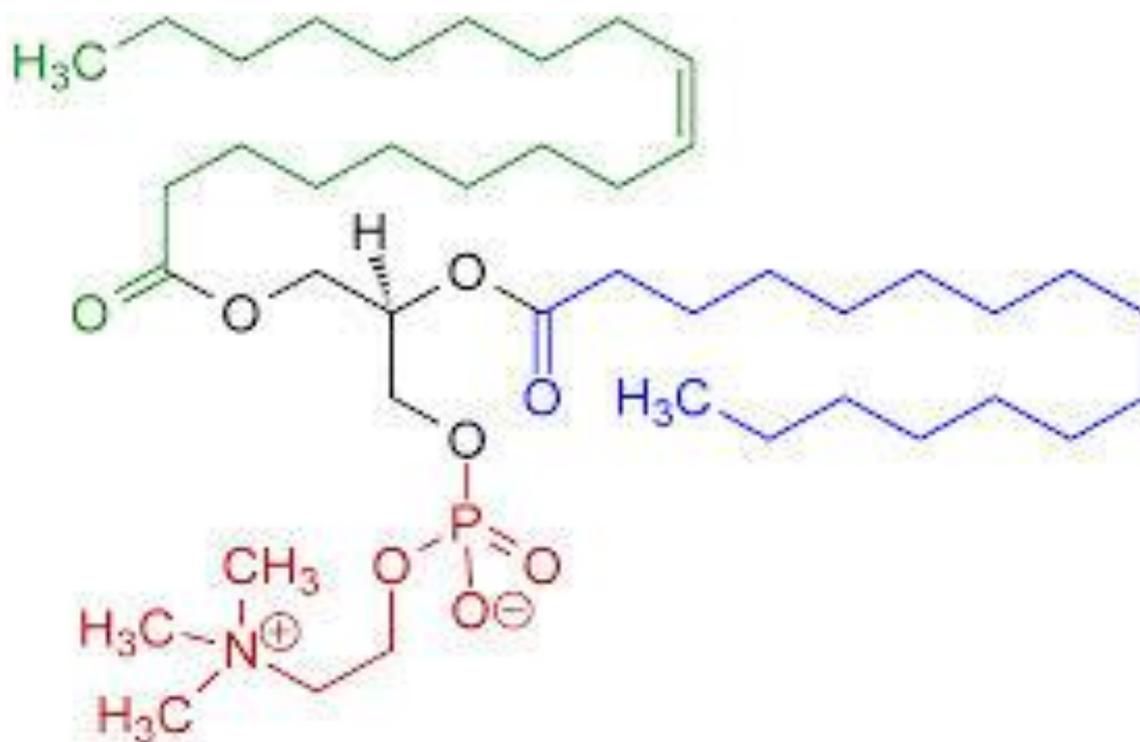
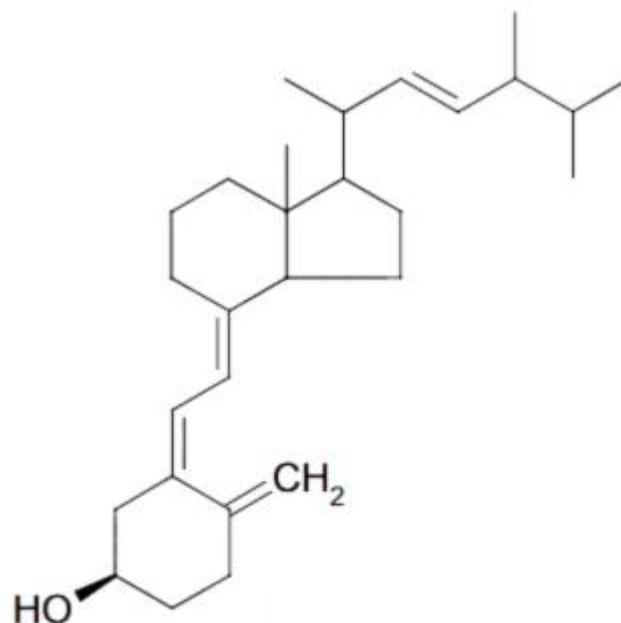


Figura 1 – Estrutura Química da Lecitina – fosfolipídios

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Lecitina>



VITAMINA D₂ ou ERGOCALCIFEROL

Figura 2 – Estrutura Química do Ergosterol

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ergocalciferol>

As cinzas representam de 1,9 a 19% do peso seco da levedura dependendo da linhagem e do meio de crescimento, sendo o fósforo e o potássio, seus maiores componentes (VIEIRA, 2011).

4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Existem diversas formas de se realizar o processo de fermentação. O reator biológico pode ser operado de forma descontínua, semicontínua, descontínua alimentada ou contínua, todos podendo trabalhar com ou sem recirculação do fermento (SCHIMIDELL e FACCIOTTI, 2001).

Verifica-se que os processos fermentativos na produção industrial de etanol em grande escala, são divididos em: batelada e contínuos, onde batelada na produção de etanol se refere à batelada alimentada (DUARTE, LOURENÇO e RIVEIRO, 2006).

Em nível industrial, os biorreatores, também nominados de dornas, são reatores de aço do tipo tanque agitado, normalmente fechadas e mantidas a uma temperatura entre 33 e 35°C até o final do processo, quando a concentração de etanol se situa entre 7 e 12° GL. Observa-se que nas dornas fechadas é usual a presença de um sistema de lavagem do gás de saída para recuperação do etanol evaporado, resultando em perdas que correspondem 1,5% de todo etanol gerado (DUARTE, LOURENÇO e RIVEIRO, 2006).

4.1 PROCESSO EM BATELADA

Esse processo também é conhecido como processo descontínuo cuja descrição típica pode ser enunciada da seguinte forma: prepara-se um meio de cultura adequado à nutrição e ao desenvolvimento do micro-organismo e também ao acúmulo do produto desejado; coloca-se este meio de cultura em um biorreator; adiciona-se o micro-organismo responsável pelo processo biológico e se aguarda que o processo ocorra. Após um determinado tempo de fermentação, retira-se o caldo fermentado do reator e executam-se as

operações unitárias necessárias para a recuperação do produto (SCHIMIDELL & FACCIOTTI, 2001).

Tratando-se do processo de manutenção e assepsia, observa-se que é descontínuo, considerado o mais seguro, visto que, ao final de cada batelada, o reator pode ser esterilizado juntamente com um novo meio de cultura, recebendo um novo inóculo sendo submetido a todos os controles necessários para assegurar a presença única do micro-organismo responsável pelo processo (SCHIMIDELL & FACCIOTTI, 2001).

Este processo oferece menor risco de contaminação, pois existe uma grande flexibilidade de operação pela possibilidade de utilização dos fermentadores para a fabricação de diferentes produtos e por permitir uma melhor condição de controle com relação à estabilidade genética do micro-organismo (CARVALHO & SATO, 2001).

Observa-se que a fermentação em batelada pode levar a baixos rendimentos e produtividades quando o substrato adicionado de uma só vez, no início da fermentação, exerce efeitos de inibição, repressão ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam (CARVALHO e SATO, 2001).

Tal processo é utilizado como base para as comparações de eficiências atingidas com relação aos outros processos, mas a sua baixa eficiência estimula o surgimento de formas alternativas. A condução da fermentação alcoólica por processo batelada praticamente só ocorre em escala de laboratório e em pequenas destilarias de aguardente (SCHIMIDELL & FACCIOTTI, 2001).

4.2 PROCESSO EM BATELADA ALIMENTADA

Este processo é considerado eficiente e versátil. Observa-se que a utilização deste processos, especialmente naqueles com altas densidades

celulares, a produtividade é alta devido ao grande número de células viáveis no meio em fermentação. A batelada alimentada permite o controle da concentração de açúcar, minimizando os efeitos de inibição pelo substrato e permitindo a sua adição em momentos propícios durante a fermentação (VIEGAS, 2003).

O processo batelada alimentada, recebe também o nome de *Melle-Boinot*, apesar de antigo, é muito conveniente e satisfatório quanto à operação e eficiência de conversão de açúcares a álcool (ZARPELON & ANDRIETTA, 1992).

Durante este processo, verifica-se que o substrato é alimentado sob condições controladas até atingir o volume do biorreator, possibilitando a vazão de alimentação constante ou variável com o tempo e a adição de mosto de forma contínua ou intermitente, resultante da flexibilidade de utilização de diferentes vazões de enchimento dos reatores com meio nutriente (CARVALHO & SATO, 2001).

Neste processo, ainda é possível controlar a concentração de substrato no fermentador, de modo que, o metabolismo microbiano seja deslocado para uma determinada via metabólica, levando ao acúmulo de um produto específico (CARVALHO & SATO, 2001).

No processo de batelada alimentada, verifica-se a possibilidade que se trabalhe com altas concentrações de substrato tendo-se um acréscimo em produtividade do etanol e uma diminuição do volume do reator e da quantidade de vinhaça produzida (COUTINHO FILHO, 2007).

Acredita-se que no Brasil 70% das destilarias instaladas ainda utilizem o processo do tipo batelada alimentada (ANDRIETTA, STECKELBERG & ANDRIETTA, 2006).

4.3 PROCESSO CONTÍNUO

O processo contínuo caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua do meio de cultura a uma determinada vazão, sendo o volume de reação mantido constante pela retirada contínua do caldo de fermentação (FACCIOTTI, 2001).

É importante manter o cultivo contínuo sob regime estacionário, isto é, quando as propriedades do meio permanecem constantes com o tempo em cada ponto (MENEZES, 1980).

Divide-se o processo contínuo de fermentação alcoólica em três etapas, são elas: unidade de tratamento ácido, fermentadores e unidade de separação de células (centrífugas) (MENEZES, 1980).

Acredita-se que o processo contínuo poderá ser mais vantajoso que o de batelada ou batelada alimentada, pois inclui otimização das condições de processo para uma maior produtividade (FACCIOTTI, 2001).

Sua maior desvantagem é que as fermentações contínuas são mais suscetíveis à contaminação bacteriana por longos prazos de exposição (FACCIOTTI, 2001).

Observa-se neste processo que a fermentação contínua requer maior conhecimento do comportamento do micro-organismo em relação ao meio ambiente onde ele atua. Fatores como pH, temperatura, concentração de sacarose e álcool, concentração de biomassa, viabilidade celular, dentre outros, influenciam na produtividade do sistema, requerendo assim, maior controle sobre o processo (ATALA *et al.*, 2000).

Nota-se que os vários processos para fermentação contínua têm sido utilizados, entretanto, alguns não obtiveram sucesso. Os principais processos

podem ser divididos em dois grupos: fermentação em dorna única e fermentação em cascata (ATALA *et al.*, 2000).

Sabe-se que a escolha entre processo contínuo ou em batelada para produção de etanol por fermentação gera muita discussão. Tradicionalmente as destilarias e usinas brasileiras usam o sistema descontínuo ou de batelada alimentada, processo que começa a enfrentar concorrência do modelo contínuo, porém a polêmica entre processos concorrentes sempre existiu na área industrial das usinas. No Brasil, o sistema de batelada é considerado mais confiável por muitos engenheiros, por apresentar sistema de assepsia mais fácil (ALCOOLBRÁS, 2006).

O sistema em batelada alimentada apresenta maior rendimento, maior teor alcoólico no final da fermentação, maior flexibilidade e é menos sujeito à contaminações. O sistema contínuo apresenta menor custo de instalação, automatização mais fácil e menor volume de equipamentos, tais como dornas e trocadores de calor (AMORIM, 2005).

4.4 RECIRCULAÇÃO DE LEVEDURAS

No processo industrial, após o término da fermentação alcoólica, as leveduras são separadas do produto ou resíduo produzido, são utilizadas novamente no processo, garantindo menor custo para reposição de fermento e melhores condições de operação, tendo em vista que, os micro-organismos reciclados não necessitam consumir substrato para fase de crescimento e já estão adaptados ao meio. As células devem ser separadas do produto produzido também a fim de evitar a contaminação deste (LIMA, 2004).

Vislumbrando um aumento da concentração celular no interior do reator, utilizam-se reatores contínuos com reciclo de células, método usual em

diversas fermentações, tais como: a fermentação alcoólica e tratamento de resíduos (LIMA, 2004).

No processo de reciclo a vazão da saída do reator passa por um separador, e uma bomba, geralmente centrífuga, para o reenvio de células para o reator. No processo de separação das células, usam-se centrífugas, filtros e decantadores (COUTINHO FILHO, 2007).

Nos processos convencionais usados por praticamente todas as cerca de 400 usinas brasileiras, o processo de separação do mosto fermentado utilizado é a centrífuga, onde ocorre a separação das leveduras e do etanol. O vinho gerado é encaminhado para as colunas de destilação, o passo final do processo de produção do etanol, enquanto o fermento centrifugado, contendo as células de leveduras, passa por um tratamento severo antes de retornar ao processo fermentativo, que consiste em diluição com água e adição de ácido sulfúrico até, normalmente, $\text{pH} = 2,5$, ou mais baixo ($\text{pH} = 2$) no caso de haver infecção bacteriana. Esta suspensão de fermento diluído e acidificado, conhecido na prática com o nome pé-de-cuba, permanece em agitação de uma a três horas, antes de retornar à dorna de fermentação (FURTADO & SCANDIFFIO, 2006).

Sabe-se que a utilização deste tratamento do ácido é uma prática comum para o controle de bactérias contaminantes contidas no leite de leveduras. Observa-se a redução de 44,3% da microbiota contaminante, em função do vigor e tempo desse tratamento. Entretanto, o tratamento ácido da levedura, quando floculada indesejavelmente pela ação de bactérias, induz a dispersão do fermento e das bactérias, mas não a sua total eliminação (PACHECO, 2010).

A corrente reenviada por reciclo contém concentração celular maior que a da saída do reator e possibilita o processamento de uma maior quantidade de material e maiores taxas de diluição do que a utilizada em um reator sem reciclo (PACHECO, 2010).

Verifica-se que, ao aumentar a taxa de reciclo celular, a taxa de crescimento celular, se torna maior que a taxa de diluição, causando a diminuição dos efeitos de perturbações e, conseqüentemente aumentando a estabilidade do processo, com isso, se economiza o substrato, pois as células que entram no processo em uma alimentação nova consomem substrato para crescer, e as células que voltam ao processo pela corrente de reciclo já se encontram aptas à fermentação e adaptadas ao meio (PACHECO, 2010).

É imprescindível que haja limites para a razão de reciclo utilizada em processos aeróbios, pois, à medida que a fração de células recuperada aumenta, a concentração de células no meio cresce até se tornar impossível o suprimento de oxigênio a estas. Isto não se aplica ao processo anaeróbio, em que não há esta limitação, mas há outras limitações como as associadas ao suprimento dos nutrientes (PACHECO, 2010).

4.5 TRATAMENTOS FINAIS

Finalizada a fermentação, ficam nas dornas, o vinho, mistura hidroalcoólica, contendo além dos componentes principais o etanol e a água outras substâncias como dióxido de carbono que se encontra dissolvido em pequenas quantidades, células de leveduras, micro-organismos, sais minerais, açúcares não fermentados, partículas sólidas em suspensão provenientes da matéria-prima, óleo fúsel, aldeídos, ésteres e ácidos orgânicos (PACHECO, 2010).

Neste processo, as leveduras são separadas por centrifugação e da mistura líquida restante separa-se o etanol pelo processo de destilação retificação, o qual decompõe essa solução múltipla em seus constituintes, recolhendo-se o álcool como o principal. Isso se consegue selecionando as condições de temperatura e pressão ótimas de maneira tal que uma fase líquida e uma fase vapor coexistam e se obtenha uma diferença de concentração relativa das substâncias a serem separadas nessas duas fases. Quando as duas fases

estão em estado de equilíbrio físico ocorrerá diferença relativa máxima da concentração nessas fases (PACHECO, 2010).

Sendo a massa seca do creme de levedura 30% do peso da massa úmida (ROCHA *et al*,2007).

O álcool hidratado obtido apresenta uma concentração alcoólica de 96 a 97,2% em volume. Quando se deseja obter álcool absoluto é preciso desidratar o álcool, pois o processo de destilação fracionada não consegue separar o álcool da água em uma concentração alcoólica de 97,2%, quando se forma uma mistura azeotrópica, isto é, uma mistura que apresenta ponto de ebulição fixo, assim, como vapor com a mesma composição que o líquido com o qual está em equilíbrio. A desidratação do álcool pode ser feita por processos químicos ou físicos, utilizando substâncias desidratantes ou promovendo-se o deslocamento do ponto azeotrópico (PACHECO, 2010).

5 FERMENTAÇÃO ENDÓGENA

A fermentação endógena por *Saccharomyces cerevisiae*, é o processo metabólico de conversão de carboidratos de reserva em etanol, na ausência de substratos exógenos (FERREIRA, AMORIM; BASSO & 1999).

A fermentação endógena é tida como um processo pelo qual a levedura mobiliza os seus carboidratos de reserva, trealose e glicogênio, para a formação de álcool, como fonte alternativa para aquisição de energia ao seu crescimento e desenvolvimento (FERREIRA; AMORIM; BASSO, 1999).

A trealose e o glicogênio já foram considerados apenas substâncias de reserva energética para a levedura, porém, atualmente vários autores, sugerem que a trealose tem a função de proteger a célula de levedura quando esta se encontra em uma situação de estresse, tais como: altas temperaturas, choque osmótico, efeitos tóxicos do etanol e desidratação. Quanto ao glicogênio, é considerado o principal carboidrato de reserva em leveduras (ALCARDE & BASSO, 1997).

É importante lembrar que um composto para ser considerado de reserva deve ser acumulado em condições nas quais as fontes externas de nutrientes sejam abundantes para serem utilizadas em períodos desfavoráveis (ALCARDE & BASSO, 1997).

As leveduras desviam glicose para a síntese de aminoácidos e proteínas reduzindo o acúmulo de trealose, pois tem maior disponibilidade de nitrogênio. O acúmulo de trealose ocorre com estímulo de um agente estressante, dependendo do tempo de exposição (ALCARDE & BASSO, 1997).

O tratamento térmico, ou seja, a mudança da temperatura do meio de 23-30°C para 36-45°C, estimula o acúmulo de trealose endógena em leveduras. As células de levedura acumulam rapidamente trealose quando mudadas de 27°C

para 40°C. Foi constatado que o aumento da temperatura proporcionou a elevação de seis vezes a atividade da enzima responsável pela biossíntese da trealose, a trealose-6-fosfato-sintetase (ALCARDE & BASSO, 1997).

Para se obter uma cultura de levedura desidratada ativa, deve-se incubar previamente a cultura sob uma temperatura tal que se obtenha um acúmulo de trealose, o que confere às células uma alta resistência à desidratação. Observa-se uma correlação entre a quantidade de trealose presente em células de *Saccharomyces cerevisiae* e sua habilidade em tolerar a desidratação (ALCARDE & BASSO, 1997).

Existem muitas pesquisas com o objetivo de orientar novos procedimentos na condução do processo fermentativo em escala industrial, com subsequente aumento do rendimento da fermentação alcoólica, porém uma quantidade significativa de açúcar ainda não é transformada em etanol, sendo em parte utilizada para a multiplicação do fermento na dorna, bem como a formação dos carboidratos de reserva, produtos secundários como glicerol, succinato, acetato, lactato, acetona, butanodiol e álcoois superiores (FERREIRA, AMORIM & BASSO, 1999).

Tem-se registrado na História, que a primeira evidência da fermentação endógena em leveduras foi divulgada em 1961 por BRADY. Constatou-se uma pequena queda nas reservas de carboidratos acompanhada por formação de etanol e CO₂, quando as células eram mantidas em anaerobiose (FERREIRA; AMORIM; BASSO, 1999).

Verifica-se que, em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, as reservas de carboidratos são degradadas e transformadas em álcool por processo fermentativo durante a ausência de nutrientes, sob aerobiose ou anaerobiose em condições de pH baixo (2,50 - 3,50) ou de temperatura alta (35 - 45°C). Maiores teores alcoólicos do meio parecem acelerar a mobilização das reservas, mas o rendimento em etanol, depende muito das condições fisiológicas nas quais a levedura inicia o processo. Entretanto, faz-se

necessária a busca de mecanismos que façam com que o glicogênio seja totalmente mobilizado para aumentar o rendimento em álcool (FERREIRA; AMORIM & BASSO, 1999).

5.1 CARBOIDRATOS DE RESERVA

5.1.1 Trealose

Acredita-se que que, os carboidratos de reserva da levedura, chegam a representar até 30% da matéria seca do fermento e seus teores sofrem alterações consideráveis durante a fermentação; deste modo torna-se importante buscar a correlação do acúmulo e mobilização de tais reservas com o rendimento fermentativo (FERREIRA, AMORIM & BASSO, 1999).

Define-se a trealose, Fig. 3- (1- α -D- glicopiranosil, α -D-glicopiranosídeo) como um dissacarídeo não redutor constituído por dois resíduos de D-glicose, unidos por ligação α -1,1 (SANTOS, 2011).

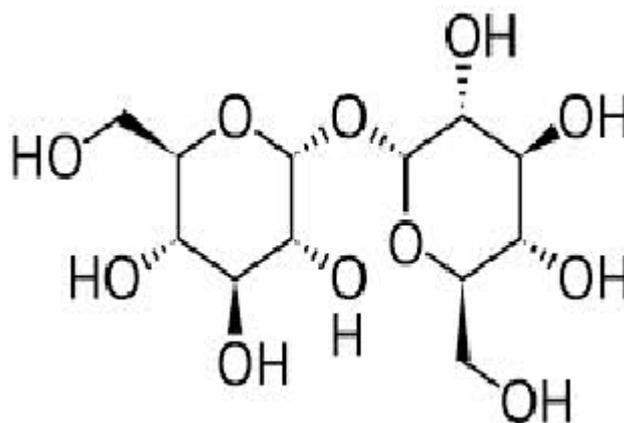


Figura 3 – Trealose

Fonte: http://www.uems.br/porta/biblioteca/repositorio/2012-06-18_17-25-44.pdf

Em 1832, a trealose foi descoberta por Wiggers, caracterizada como uma espécie de fungos que atacam cereais. Tempos depois, este açúcar foi

encontrado em casulos de besouros *Larinus*, utilizado na época para fins medicinais, recebendo o nome de *Trehala*, evoluindo para o nome trealose (SANTOS, 2011).

A trealose, após ter sido isolada em fungo, foi identificada em algumas espécies de pteridófitos, dentre elas *Selaginella lepidophilla*, conhecida como planta da ressurreição, pois produz grandes quantidades de trealose, permanecendo viva mesmo sob longo período de dessecação, voltando á suas atividades após a reidratação (OLIVEIRA, 1998).

A trealose tem ampla distribuição na natureza, é encontrado em organismos como bactérias, fungos, algas, plantas e invertebrados como insetos onde a trealose constitui o principal açúcar da hemolinfa e nematóides, (SANTOS, 2011).

A *Saccharomyces cerevisiae* presente nos ascósporos, é o único açúcar presente no citoplasma. Em algumas espécies de nematodas e leveduras de panificação são capazes de sobreviver a completa dessecação, resistindo a longos períodos de aparente dormência, retornando á plena atividade quando a água torna-se disponível no meio (SANTOS, 2011).

5.1.1.1 Funções da Trealose

A trealose é o dissacarídeo mais amplamente distribuído em fungos. É muito comum em ambos os estágios vegetativo e reprodutivo. Na estrutura vegetativa é encontrado juntamente com o glicogênio. Isto também é atribuída para as estruturas reprodutivas, mas neste caso a trealose esta presente em maiores quantidades do que outro carboidrato de reserva (SANTOS, 2011)

Este dissacarídeo é um agente natural de proteção em células de leveduras, fungos, bactérias, insetos e plantas, tendo sido indicada como componente essencial para a manutenção da viabilidade celular sob condições de estresse (SANTOS, 2011).

A trealose tem como função manter a viabilidade celular durante o período de armazenamento de leveduras de panificação e auxiliam na sobrevivência de células de levedura, por períodos prolongados de tempo, principalmente ao nível de trealose (ALCARDE & BASSO, 1997)

A trealose interage com os grupos polares das cadeias fosfolipídicas existentes na membrana, substituindo a água que está ligada às cabeças polares dos fosfolipídios quando em condições favoráveis e se perdendo no processo de estresse (ALCARDE & BASSO, 1997).

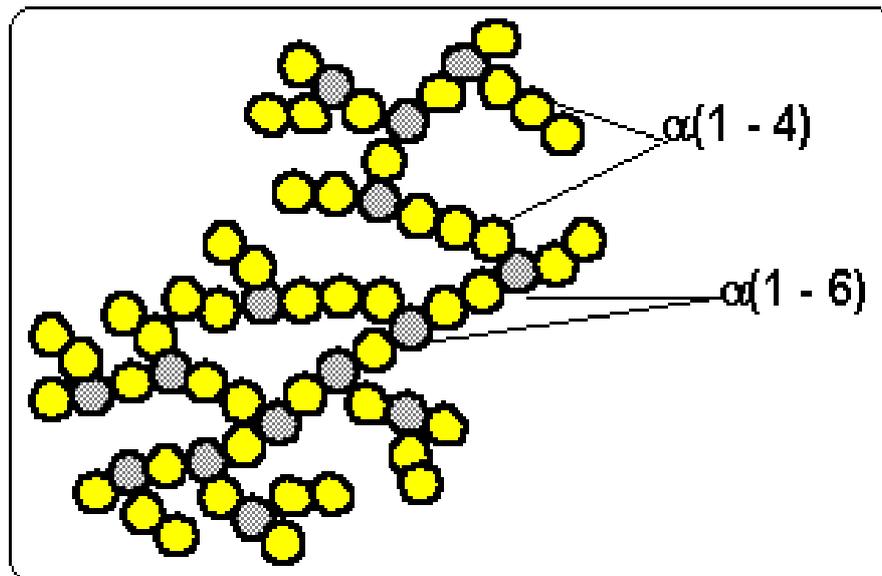
Com a ligação da trealose à membrana não há alteração do espaçamento entre os fosfolipídios, evitando assim as separações laterais dos componentes da membrana. Com a substituição das moléculas de água pela trealose não há passagem da fase fluida para a fase gel da membrana, mantendo-se a integridade e a fluidez da membrana, e assim, a viabilidade celular. (ALCARDE & BASSO, 1997).

5.1.1.2 Glicogênio

O modelo físico-químico do glicogênio proposto por French (1964) consiste numa molécula com forma esférica, capaz de conter em sua superfície, uma enorme quantidade de cadeias A e B, cujo massa molecular é em torno de 2×10^6 g·mol⁻¹ na forma anidra e 4×10^6 g·mol⁻¹ quando hidratado (VIEIRA, 2011).

Existem dois tipos de glicogênio. O primeiro está presente no material solúvel da célula, enquanto o segundo está fisicamente acoplado a uma membrana de glucana, sendo insolúvel (VIEIRA, 2011).

A figura 4 mostra a estrutura do glicogênio.



GLICOGÊNIO

Figura 4 – Glicogênio

Fonte: http://www.uems.br/portal/biblioteca/repositorio/2012-06-18_17-25-44.pdf

O método de extração de carboidratos de leveduras por processo de fracionamento, leva à distinção de uma fração de glicogênio alcali e outra ácida solúvel. Entretanto, os dois tipos de glicogênio (solúvel e insolúvel) são quimicamente iguais, sendo a fração ácida solúvel apenas um artefato da extração alcalina, desaparecendo quando se utiliza álcali forte para a extração (VIEIRA, 2011).

6 APLICAÇÃO DA QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO

Os Parâmetros Curriculares Nacionais no que se refere ao Ensino Médio e a Química tem como objetivo promover o conhecimento químico incorporando novas abordagens, objetivando a formação de futuros cientistas, de cidadãos mais conscientes como também desenvolver conhecimentos aplicáveis ao sistema produtivo, industrial e agrícola (BRASIL, 2002).

O ensino de Química no ensino médio ajudará o aluno a se inserir na sociedade atual e no mercado de trabalho, ao professor boa cabe ajuda-lo nesta inserção. Os currículos rezam que o ensino faça referência à vida do aluno, para que o mesmo possa assimilá-lo com mais facilidade, porém, considerando que o processo ensino-aprendizagem acontece mediante reflexões, o ponto de partida para ensinar uma disciplina acontece por meio de fundamentação teórica, como também do saber pedagógico do professor e sua capacidade em conduzir sua aula (MAIA, 2005).

Segundo González *et al* (1999) uma das formas de ensinar é a investigação, onde o aluno participa e o professor avalia o processo ensino- aprendizagem, visando verificar a evolução do aluno. Neste modelo, ao invés do professor ser um mero transmissor do conhecimento, ele irá criar situações que estimulem o aprendizado e pensamento crítico do aluno. Desta forma, o professor identifica as dificuldades discentes e procura novas formas para solucioná-las, programando o currículo educativo de acordo com as necessidades dos alunos, juntamente com os pensamentos dos professores.

A contextualização no ensino vem sendo defendida por diversos educadores, pesquisadores e grupos ligados ao Ensino de Química como um meio de possibilitar ao aluno uma educação para a cidadania concomitante à aprendizagem significativa de conteúdos. Assim a contextualização se apresenta como um modo de ensinar conceitos das ciências ligados à vivência

dos alunos, ou seja, ela apresenta-se como recurso pedagógico ou como princípio norteador do processo de ensino (LIMA, 1996).

Tendo em vista essas preocupações, pretende-se tratar em sala de aula, sistematicamente:

- A) Promover o entendimento para o aluno do processo de produção de álcool no Brasil;
- B) Demonstrar na prática como obter álcool comum a partir do caldo de cana.
- C) Entender o processo de fermentação:
- D) Compreender os processos fermentativos que ocorrem na produção de alguns alimentos, bebidas e medicamentos;
- E) Conhecer a história de alguns processos de fermentação e suas utilizações;
- F) Explicar o processo de expansão de gases ocorrido com o produto da fermentação;
- G) Mostrar a reação que ocorre com os açúcares para formação dos produtos de fermentação.

A contextualização como princípio norteador caracteriza-se pelas relações estabelecidas entre o que o aluno sabe sobre o contexto a ser estudado e os conteúdos específicos que servem de explicações e entendimento desse contexto, utilizando-se da estratégia de conhecer as ideias prévias do aluno sobre o contexto e os conteúdos em estudo, característica do construtivismo (NUNES, 2010).

6.1 AULA PRÁTICA – PREPARANDO ÁLCOOL ETÍLICO

Objetivos

- Obter o álcool comum a partir do caldo de cana
- Efetuar uma fermentação alcoólica

Material utilizado

- Erlenmeyer de 125 cm³
- Tubo de ensaio (16 x 100) mm
- Rolha de cortiça perfurada
- Tubo de vidro recurvado em U
- Espátula
- Suporte com garra (2)
- Balão de destilação
- Condensador
- Termômetro de 10° C a 100° C
- Bico de Bunsen
- Tela de amianto
- Tripé funil de vidro
- Papel de filtro
- Vidro de relógio
- Alonga ou tubo de vidro recurvado
- Fósforos de segurança

Reagentes

- Caldo de cana
- Levedo
- Água de cal ou de barita

Procedimento

Coloque no erlenmeyer cerca de 50 mL de caldo de cana e adicione l vedo numa quantidade equivalente   ponta da espátula. Tampe o erlenmeyer com a rolha e monte o sistema.

Deixe fermentar de 3 a 7 dias em lugar relativamente aquecido e que forneça a temperatura necessária para que se processe a fermenta o.

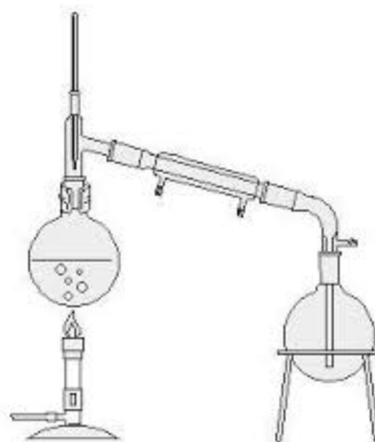


Figura 5 - Processo de destila o

Fonte: http://www.uems.br/portal/biblioteca/repositorio/2012-06-18_17-25-44.pdf

Obtido o precipitado, indicativo de que ocorreu a fermenta o do melaço, retire a rolha do erlenmeyer e filtre o material fermentado, passando-o posteriormente para o balão de destila o. Essa opera o visa eliminar a forma o muito intensa de espuma durante a destila o.

Monte a aparelhagem, conforme figura 5, colocando o term metro defronte   saída lateral do balão. A primeira fra o a destilar cont m o etanol cont m o etanol.

Observe a temperatura do início e ao decorrer da destila o. Coloque os primeiros mililitros destilados em um vidro de relógio e aproxime o palito de fósforo aceso, a fim de efetuar o teste de inflamabilidade do  lcool.

Sugestão

Para obter uma quantidade considerável de álcool etílico, será interessante reunir o material fermentado obtido pelos diversos grupos de alunos e realizar uma única destilação.

Perguntas e exercícios

- Por que é necessário adicionar o levedo ao caldo de cana?
- Qual foi a temperatura de início da destilação?
- Como se comporta a temperatura durante a destilação?
- Escreva a equação da combustão do álcool etílico.

7 MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 MATERIAIS

- Pipeta Volumétrica de 25 mL
- Balão de 50 ml

7.1.1 – Micro-organismos

Foram utilizadas no experimento as linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, PE-2 e FT 858. As duas linhagens foram isoladas no processo fermentativo industrial.

7.1.2 Equipamentos

- Microdestilador de álcool marca TECNAL Modelo TE.012;
- Densímetro digital Marca Anton Paar, modelo DMA 4500;
-

7.2 Métodos

7.2.1 Fermentação endógena

Adicionando o excedente da levedura da fermentação convencional para os tanques da fermentação endógena faz – se o acompanhamento analítico do teor alcoólico no horário que enche as dornas e também nos intervalos de 10 horas, 12 horas e 20 horas coleta amostra e proceder conforme descrito nos itens 7.2.2.

Foram determinadas em cada tempo dentro do intervalo de 0, 10, 12 e 20 horas as variáveis etanol.

7.2.2 - Determinação do teor alcóolico

O etanol foi determinado com a destilação prévia de 25 mL da amostra no microdestilador marca TECNAL Modelo TE.012. Com o destilado obtido foi feita a leitura do grau alcóolico no densímetro digital Anton Paar, modelo DMA 4500 após a introdução do destilado .

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização dos carboidratos de reserva pela levedura para produzir álcool e energia necessária para a sua sobrevivência constitui um processo denominado fermentação endógena. No decorrer da qual ocorre o aumento do teor alcoólico na suspensão até o final da fermentação. (BASSO; AMORIM; BERNARDINO, 1992).

As dornas de fermentação trabalham com uma concentração de fermento entre 10 a 12% (BASSO; AMORIM; BERNARDINO, 1992). Com a multiplicação do fermento este volume vai aumentando e conseqüentemente faz-se a retirada deste fermento com a finalidade de deixar uma concentração das dornas de no máximo 12%.

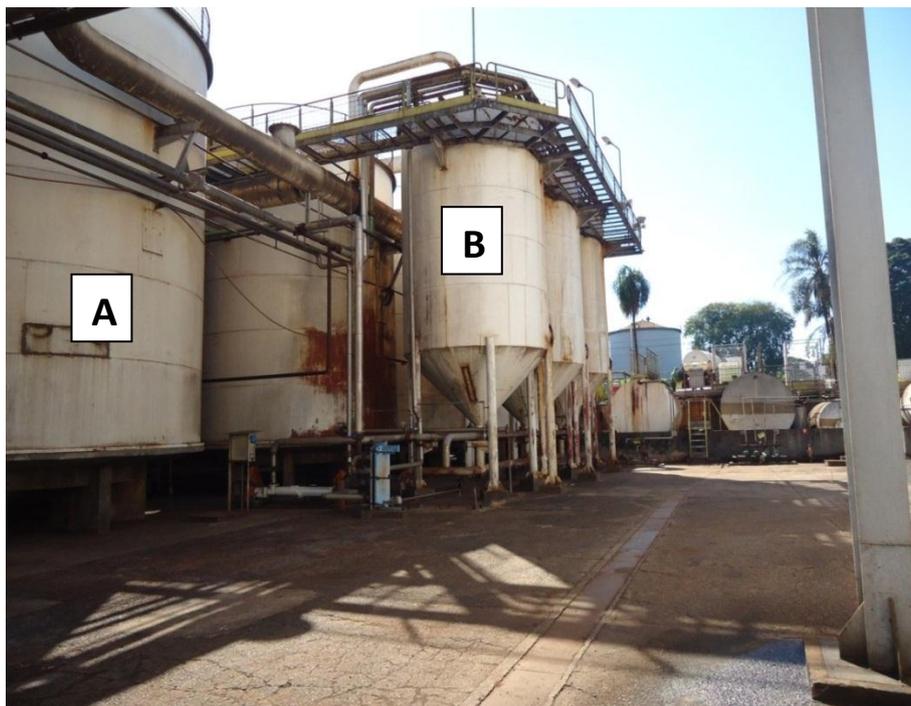


Figura 6- Dornas A: fermentação convencional – Dorna B: Fermentação endógena

Na figura anteriormente demonstrada têm-se as dornas convencionais e dornas para a realização da fermentação endógena.

O volume de fermento o qual é retirado a sobra, este vai ser o fermento utilizado na fermentação endógena. Foi adicionada a levedura com uma concentração de 60% nas dornas de fermentação endógena com uma temperatura de 35 a 40° C. Deixou-se a fermentação em condições de *stress* forçando a levedura liberar as reservas de açúcar e com isso aumentar o teor alcóolico (BASSO; AMORIM; BERNARDINO, 1992).



Figura 7 – Centrifuga de fermento - Levedo centrifugado

Quando se trabalha com as dornas de fermentação endógena com volume de 270 m³, obtêm-se um ganho de 8 m³ de álcool a cada 15 horas.



Figura 8 - Levedo centrifugado

A figura 10 mostra o levedo centrifugado retirado da centrifuga de fermento com 60% de concentração.

ANÁLISES	DORNA 1	DORNA 2	DORNA 3	Tempo de Fermentação Endógena	Linhagem
Teor alcoólico inicial (GL)	7.44	6.28	8	Inicial	40% P.E 2 60% FT 858
Teor alcoólico Intermediário	8.75	7.97	9.38	10:00 horas de fermentação endógena	40% P.E 2 60% FT 858
Teor Alcoólico Final	9.77	11.16	10.05	12:00 horas de fermentação endógena	40% P.E 2 60% FT 858
Resultado = Final – inicial	2.33	4.44	2.55	Média de teor	= 3.10

Tabela 1 – Testes para aumentar teor alcoólico

A tabela 1 mostra os resultados do estudo realizados com a fermentação endógena para aumentar o teor alcoólico com tempo de 12 horas adicionando uma temperatura de média de 40°C.

ANÁLISES	DORNA 1	DORNA 2	DORNA 3	Tempo de Fermentação Endógena	Linhagem
Teor alcoólico inicial (GL)	7.71	8.00	6.71	Inicial	40% P.E 2 60% FT 858
Teor alcoólico Intermediário	9.16	9.16	7.71	10:00 horas de fermentação endógena	40% P.E 2 60% FT 858
Teor Alcoólico Final	9.89	9.74	9.89	20:00 horas de fermentação endógena	40% P.E 2 60% FT 858
Resultado Final – inicial	2.18	1.74	3.18	Média de teor	= 2.36

Tabela 2 – Testes para aumentar teor alcoólico

A tabela 2 mostra os resultados do estudo realizado com a fermentação endógena para aumentar o teor alcoólico com tempo de 20 horas, adicionando uma temperatura de média de 36°C.

Calculo :

Para calcular o volume de matéria seca do de levedura utiliza – se a seguinte formula :

$$\text{Matéria seca} = \frac{\text{Volume m}^3 \times \% \text{ de fermento} \times \% \text{ de massa seca} \times \text{Densidade}}$$

Exemplo :

$$\text{Matéria seca} = \frac{270 \times 60\% \times 30\% \times 1,071}$$

Calculo Volume de Álcool:

$$\text{Volume de álcool} = (\text{volume real dornas} \times (\text{teor alcoólico} \setminus 100))$$

Durante a fermentação endógena das reservas de carboidrato da levedura (trealose e glicogênio) são mobilizadas para produzir álcool até quando for esgotada a trealose.

Durante a fermentação endógena das reservas de carboidrato da levedura (trealose e glicogênio) são mobilizadas para produzir álcool até quando for esgotada a trealose ou a viabilidade for comprometida.

A cinética de mobilização das mesmas foi diferente entre as duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 e FT 858)

CONCLUSÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de etanol do mundo, sendo o maior exportador, considerado um líder internacional na utilização do etanol como combustível. As destilarias buscam cada vez mais melhorar a eficiência da fermentação. A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a fermentação endógena se mostra uma alternativa. O diferencial deste processo é o fato de utilizar fermento “células de levedura” que seria descartado junto com o vinho para ser destilado. Porém, antes de realizar o descarte coloca-se este fermento em dornas de fermentação endógena. Em condições de stress faz-se utilização dos carboidratos de reserva pela levedura para produzir álcool e energia necessária para a sua sobrevivência. Ocorrendo o aumento do teor alcoólico na suspensão até o final da fermentação. Os resultados alcançados com a fermentação endógena durante os testes foram em média 150 litros por toneladas de levedura seca. Foram utilizadas as linhagens PE-02 e FT 858. Com os valores obtidos de 150 litros por toneladas de levedura as destilarias aumentam o rendimento de fermentação e a produção de etanol com a fermentação endógena. Apesar dos resultados positivos é importante ressaltar que durante os estudos o ideal é trabalhar com temperatura de 35°C a 40°C. Mostrou-se maior vantagem realizar a endógena por um período de 15:00 horas ao invés de 20:00 horas.

REFERÊNCIAS

ALCARDE A.R.; BASSO L.C. Efeito da trealose na manutenção da viabilidade de células de leveduras desidratadas por liofilização. **Scientia Agricola**, 1997.

ALCOOLBRÁS. **Revista Alcoolbrás**. Edição nº 101. Abril 2006

AMARAL, F. S. **Influência conjunta do pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) -Universidade Federal de Uberlândia, 95 p.,2009.5.

AMORIM, H. V. **Fermentação Alcoólica: Ciência e Tecnologia**. Piracicaba. São Paulo, 2005. Fermentec.

AMORIM, H.V.; ZAGO, E.A.; OLIVEIRA, A.J. **Novos métodos para o controle da fermentação alcoólica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1982.

AMORIM, Henrique V. Programa Nacional de Melhoramento da Cana de Açúcar. **Introdução a Bioquímica da Fermentação Alcoólica**, Coordenadoria Regional Sul. Araras,1977.

ANDRIETTA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S. **Bioetanol Brasil, 30 anos na vanguarda**. **MultiCiência**, Universidade de Campinas, 2006

ATALA, D. I. P.; COSTA, A. C.; MACIEL FILHO, R. e MAUGERI FILHO, F.; Fermentação Alcoólica com alta densidade celular: Modelagem cinética e convalidação parâmetros; **Livro de Resumos do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2000

BRASIL, MEC. **As Novas Diretrizes Curriculares que Mudam o Ensino Médio Brasileiro**, Brasília, 2002.

BASSO, L.C.; AMORIM, H.V.; BERNARDINO, C.D. Fermentação da trealose e do glicogênio endógenos. **Relatório anual de pesquisas em fermentação alcoólica**, n.13, p. 1-16, 1992

CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. **Fermentação Descontínua Alimentada**. In: Schmidell, Willibaldo et al.(Coord.). *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgar Blücher, p. 205-222 (*Biotecnologia Industrial*; v.2), 2001.

CASADEI, Maria Estela. **Processos Fermentativos a Partir da Cana-de-açúcar**. Araçatuba, 2012. Disponível em: <http://www.fatecaracatuba.edu.br/suporte/upload/Biblioteca/BIO%2017711207150%20Autor%20Maria%20Estela%20Casadei.pdf>. Acesso em: 20/02/2014.

COUTINHO FILHO, U. **Engenharia Bioquímica**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2007. Apostila.

DUARTE, J. C.; LOURENÇO, V.; RIVEIRO, B. Instituto Nacional de Engenharia, **Tecnologia e Inovação**, Portugal, 2006.

FACCIOTTI, M. C. R. **Fermentação Contínua**. In: Schmidell et al.(Coord.). *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgar Blücher, 223-246, 2001.

FERREIRA, R. M. **Modelagem e simulação de biorreatores tipo torre operando com leveduras auto-imobilizáveis para produção de etanol**. (Dissertação Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Engenharia Química, 2003

FERREIRA, L.V.; AMORIM, H.V.; BASSO, L.C. **Fermentação de trealose e glicogênio endógenos em *Saccharomyces cerevisiae***. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* vol.19, n.1, Campinas, Jan./Apr., 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611999000100008. Acesso em 20/05/2014.

FURTADO, T. A.; SCANDIFFIO, M. G. **Alcool no Brasil -Uma longa história**. *Scientific American Brasil*, p. 66-71, Outubro, 2006.

GONÇALVES, F. P. et al. Como é ser professor de química: histórias que nos revelam. In: **IV Encontro Ibero-Americano de Coletivos Escolares e Redes de Professores que fazem Investigação na sua Escola**, 2005. UNIVATES,

Lageado-RS. Disponível em
<http://ensino.univates.br/~4iberoamericano/trabalhos/trabalho086.pdf> Acesso
em 10 ago. 2014.

GONZÁLEZ, J.F.; ESCARTÍN, N.E.; GARCÍA, J.F.R.; JIMENÉZ, T.M. ¿**Cómo hacer unidades didácticas inovadoras?** Sevilla: Díada Editora. Colección Investigación y Enseñanza, 1999.

GUIMARÃES, T.M. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinho.** 2005. 117f. Tese (Mestrado). Universidade Federal do Paraná.

LEÃO, R. M. **Álcool: energia verde.** São Paulo: Iqual, 2002.

LEITE, Jorge Luis Lessa . **Fermentação Alcoólica no Setor Sucrialcooleiro.** Araçatuba-SP. 2013. Disponível em:
<http://www.fatecaracatuba.edu.br/suporte/upload/Biblioteca/BIO%2017711307184%20Autor%20Jorge%20Luis%20Lessa%20Leite.pdf> . Acesso em 02 de abril de 2014.

MAIA, Daltamir J. et al. Um experimento para introduzir conceitos de equilíbrio químico e acidez no Ensino Médio. **Química nova na escola**, N° 26, 2005. p.44-46.

MANNARELLI FILHO, T; NEY, A. K. **A evolução da indústria sucrialcooleira na região oeste do estado de São Paulo.** Biblioteca Virtual UDOP, 2002. Disponível em:
<http://www.udop.com.br/ebiblio/pagina/arquivos/13_01_03_teucle_alan.zip>. Acesso em: 20AGO. 2014.

MENEZES, T. J. B. **Etanol, o combustível do Brasil.** São Paulo: Editora Agrônômica Ceres Ltda., p. 141 –178, 1980.

NUNES, A. S. ; Adorni, D.S . O ensino de química nas escolas da rede pública de ensino fundamental e médio do município de Itapetinga-BA: **O olhar dos alunos.In: Encontro Dialógico Transdisciplinar.** Enditrans, Vitória da Conquista, BA. -Educação e conhecimento científico, 2010.

OLIVEIRA, M. **Fermentação.** Trabalho de Química sobre Fermentação. 19 de outubro de 2007. Disponível em:

<http://julia3mcesb.blogspot.com.br/2007/10/fermentao-na-histria.html>. Acesso em 20/09/2014.

PACHECO, Thályta Fraga. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente.** Uberlândia –MG, 2010. Disponível em: http://www.bdtd.ufu.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=2851. Acesso em

PASIN, R.; NEVES, M. **Fusões, aquisições e internacionalização da agroindústria sucro-alcooleira.** III Pensaconference, Ribeirão Preto, 2010. Disponível em www.pensaconference.org/arquivos_2012/54.pdf) Rapport Annuel (2006/2007 e 2007/2008) – Cristal Union. Acesso em 20/04/2014.

PATARO, C. et al. **Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 23, n.217, p. 19-24, 1998.

PELCZAR, M., REID, R.; CHAN, E. C. S.; **Microbiologia.** v.1, São Paulo, McGraw,1980

Rocha, Ana P.T., Odelsia L.S., Alsina, Vimário S. Silva & Flavio L.H.da Silva **Cinética de produção de levedura seca em Leito de jorro.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v.12,n.1,p.81-86,2008
Disponível em: <http://scielo.br/pdf/rbea/v12n1/v12n01a12.pdf>.
Acesso em 24/11/2014.

SALVATO, F. **Fermentação de mosto industrial por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* com transportador de sacarose e sobreexpressão de invertase interna: estudo comparativo com linhagens com alta e baixa atividade de invertase externa.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SANTOS, Ane Francielly da Silva. **Quantificação dos níveis de carboidrato de reserva e concentração de etanol em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*,** 2011. Disponível em: http://www.uems.br/porta/biblioteca/repositorio/2012-06-18_17-25-44.pdf. Acesso em 20/02/2014.

SILVA FILHO, E. A. **Caracterização genética de populações de leveduras de destilarias de álcool combustível para otimização do processo de**

fermentação. 2003, 107 p. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos). Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SCHMIDELL, W., FACCIOTTI, M. C. R. **Biorreatores e Processos Fermentativos**. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgar Blücher, Biotecnologia Industrial; v.2, 2001.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2001.

SOARES, L.H.B. **Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil**. Embrapa, Rio de Janeiro, 2009. 14p. (Circular Técnica, 27). Embrapa, Rio de Janeiro, 2009. 14p. (Circular Técnica, 27)

UNICA, ALCOPAR, BIOSUL, SIAMIG, SINDALCOOL, SIFAEG, SINDAAF, SUDES e MAPA. **Safra 2013/2014 - dados consolidados (finais) para a região Centro-Sul; dados preliminares para a região Norte-Nordeste (referente à posição de 30 de abril de 2014)**. Disponível em: <http://www.unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4&acao=visualizar&idTabela=1599&safra=2013%2F2014&estado=RS%2CSC%2CPR%2CSP%2CRJ%2CMG%2CES%2CMS%2CMT%2CGO%2CDF%2CBA%2CSE%2CAL%2CPE%2CPB%2CRN%2CCE%2CPI%2CMA%2CTO%2CPA%2CAP%2CRO%2CAM%2CAC%2CRR>. Acesso em 20/06/2014.

VIEGAS, M.C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características floculantes**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, 2003

VIEIRA, Érica Nascif Rufino. **Influência do tipo de mosto e do gênero de levedura na formação de aminas bioativas e carbamato de etila em destilados alcoólicos**. VIÇOSA, MINAS GERAIS – BRASIL, 2011. Disponível em: http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde_arquivos/38/TDE-2011-11-04T074628Z-3244/Publico/texto%20completo.pdf. Acesso em 20/05/2014.

ZARPELLON, F.; ANDRIETTA, S. R. **Fermentação Contínua para Produção de Álcool**. STAB Açúcar e Álcool e Subprodutos, p. 23-28, 1992.