



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA



RICARDO FERNANDES

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ETANOL EMPREGANDO MILHO COMO  
MATÉRIA-PRIMA

Uberlândia, MG

2019

RICARDO FERNANDES

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ETANOL EMPREGANDO MILHO COMO  
MATÉRIA-PRIMA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade  
Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção  
do grau de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro

Uberlândia, MG

2019

RICARDO FERNANDES

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ETANOL EMPREGANDO MILHO COMO  
MATÉRIA-PRIMA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade  
Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção  
do grau de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro

Uberlândia, MG, 26 de setembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Doutoranda Carla Cristina de Sousa

Universidade Federal de Uberlândia

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros

Universidade Federal de Uberlândia

---

Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro

Universidade Federal de Uberlândia

Dedico esta monografia aos meus pais, irmãos e amigos que me acompanharam durante toda a realização dessa graduação.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à minha mãe, Maria, e ao meu pai, João, que em toda sua simplicidade e dificuldades, me ajudaram na realização desse objetivo acadêmico.

Aos meus irmãos, por tudo apoio, amor e compreensão.

Ao meu orientador, Dr. Eloízio Júlio Ribeiro, pela atenção, fomento, e disposição para correção e auxílio na elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos: Bruna, Jaqueline, Marcella, Larissa, Marina, Stefânie e Kindlly pela amizade, companheirismo e apoio durante a graduação.

Aos amigos de longa jornada: Alanderson, Diego, Amanda e Kele, que mesmo distantes estiveram presentes e atuantes fornecendo atenção, afeto e motivação essencial para vencer os obstáculos durante o processo.

Agradeço, por fim, a todos que fizeram parte dessa jornada, mesmo que indiretamente, proporcionando ajuda e incentivo na realização dessa formação.

## RESUMO

A produção de etanol no Brasil a partir do grão de milho se consolidou como uma realidade viável, competitiva e lucrativa para a indústria do álcool na última década. Isso se faz porque o milho soluciona os problemas resultantes: do período ocioso da entressafra da cana-de-açúcar; da validade de utilização da cana como matéria-prima; da logística dispendiosa do armazenamento dos grãos de milho na agricultura; e ainda, agrega valor ao grão de milho que no passado apresentava instabilidade nos preços de suas sacas. A rentabilidade gerada pelo uso do milho como matéria-prima na indústria de etanol se deve ao fato de que sua produção além de obter o etanol como produto principal, gera também outros subprodutos como o óleo, o xarope de milho e os DDGs (Dried Distillers Grains), sigla em inglês para grãos secos de destilaria, que vem sendo largamente utilizado na alimentação de animais em substituição parcial do milho. Em comparação com a produção de etanol utilizando a cana-de-açúcar como matéria-prima, o processamento do grão de milho necessita de etapas adicionais para converter a matéria-prima amilácea presente no milho em açúcar. Antes de ser processado na indústria, o milho precisa ser transportado, limpo, seco e armazenado. Subsequentemente o milho é moído por moagem via seca ou via úmida, de acordo com o objetivo final de cada subproduto requerido e os valores agregados de cada planta de produção. Essas etapas iniciais adicionadas das etapas de cozimento, liquefação e sacarificação são realizadas para que o amido seja quebrado em açúcares fermentescíveis e possam ser convertidos em etanol na etapa de fermentação da mesma forma que a produção por cana-de-açúcar, tendo duração total entre 40 e 70 horas. No processamento do etanol de milho o produto de fundo das torres de destilação pode gerar o xarope de milho, DDG, ou DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis). No Brasil, a flexibilização de indústrias de cana-de-açúcar com milho é mais comum no estado do Mato Grosso, maior produtor de milho do país. A utilização do milho como matéria-prima na indústria do etanol é uma alternativa viável devido às projeções de mercado para o consumo de etanol em 2026. Sendo assim, este trabalho estuda as etapas do processo de produção do etanol empregando milho como matéria-prima.

Palavras-chave: Etanol; Milho; Amido; Grão.

## ABSTRACT

The production of ethanol in Brazil from corn grain has been consolidated as a viable, competitive and profitable reality for the ethanol industry in the last decade. This is because corn solves the problems resulting from: the idle period between harvests of sugarcane; the validity of the use of sugarcane as raw material; the expensive logistics of storing corn grains in agriculture; and it adds value to corn grain, which in the past had instability in the prices of their bags. The profitability generated by the use of corn as raw material in the ethanol industry is due to the fact that its production not only obtains ethanol as the main product, but also generates other by-products such as oil, corn syrup and DDGs (Dried Distillers Grains), which is being widely used in the feeding of animals in partial replacement of corn. Compared to ethanol production using sugarcane as raw material, the processing of corn grain requires additional steps to convert the starchy material present in corn into sugar. Before being processed in the industry, corn needs to be transported, cleaned, dried and stored. Subsequently the corn is ground by dry or wet milling, according to the final purpose of the products and aggregated values of each production plant. These initial steps added to the cooking, liquefaction and saccharification steps are performed so that the starch is broken into fermentable sugars and can be converted into ethanol in fermentation in the same way as sugarcane production, with a total duration between 40 and 70 hours. In the processing of corn ethanol, the bottom product of distillation towers can generate corn syrup, DDG, or DDGS (dry distillery grains with solubles). In Brazil, the flexibilization of sugarcane and corn industries is more common in the state of Mato Grosso, the largest producer of corn in the country. The use of corn as raw material in the ethanol industry is a viable alternative due to market projections for ethanol consumption in 2026. Therefore, this work studies the stages of the ethanol production process using corn as raw material.

Keywords: Ethanol; Corn; Starch; Grain.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Etapas de Produção de etanol de milho por via úmida .....	<b>16</b>
<b>Figura 2</b> – Etapas de Produção de etanol de milho por via seca .....	<b>17</b>
<b>Figura 3</b> – Composição básica do grão de milho .....	<b>18</b>
<b>Figura 4</b> – Estrutura química da amilose .....	<b>20</b>
<b>Figura 5</b> – Estrutura química da amilopectina .....	<b>21</b>
<b>Figura 6</b> – Fluxograma de degradação do amido .....	<b>22</b>
<b>Figura 7</b> – Etapas de exposição do amido em açúcares .....	<b>25</b>
<b>Figura 8</b> – Reações do processo de fermentação .....	<b>26</b>



## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> – Porcentagem de composição dos integrantes do milho em matéria seca .....	<b>15</b>
<b>Tabela 2</b> – Composição dos amidos de diversas fontes .....	<b>20</b>
<b>Tabela 3</b> – Características das enzimas utilizadas na hidrolise do amido de milho .....	<b>23</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ATP – Adenosina Trifosfato.

CSL – Corn Steep Liquor (Licor de maceração do milho).

DDG - Dried Distillers Grains (Grãos secos de destilaria).

DDGS – Dried Distillers Grains with Solubles (Grãos secos de destilaria com solúveis).

D-Glicose – Isómero Dextrogiro-Glicose.

GMS – Glucoamilase, ou, amiloglucosidase.

Meg – Monoetilenoglicol.

## SUMÁRIO

### 1 - INTRODUÇÃO

1.1- Justificativas .....	12
1.2 – Objetivos .....	14

### 2 – PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

2.1 – A chegada do milho .....	15
2.2 – A moagem do milho .....	16
2.3 – As etapas de exposição do açúcares .....	19
2.3.1 – O amido .....	19
2.3.2 – Cozimento do amido .....	21
2.3.3 – As enzimas de hidrólise do amido .....	22
2.3.4 – Liquefação .....	23
2.3.5 – Sacarificação .....	24

### 3 – FERMENTAÇÃO .....

26

### 4 – O ETANOL E OS SUBPRODUTOS .....

27

### 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....

28

### 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....

30

## 1 – INTRODUÇÃO

### 1.1- Justificativas

O uso de combustíveis de origem fóssil e renovável é imprescindível para o modelo de sociedade que se instaurou desde a segunda metade do século XX. A demanda de combustíveis em sua totalidade na produção diária de empresas, famílias e até mesmo do estado vem crescendo significativamente até os dias atuais, sendo fundamental para o funcionamento diário da vida humana contemporânea.

Para expandir e difundir o uso do etanol no Brasil foi criado em 1975 o Proálcool, sigla para Programa Nacional do Álcool, que tinha como objetivo principal; minimizar o consumo dos combustíveis de Petróleo no Brasil. No entanto, nesse período houveram elevados índices na produção interna de petróleo e internacionalmente os preços do petróleo estavam sendo reduzidos, nestas condições de mercado o etanol perdeu a competitividade para a gasolina.<sup>1</sup>

As políticas que incentivaram a substituição da gasolina pelo etanol também pretendiam diminuir a poluição atmosférica pelo uso de combustíveis ecologicamente corretos. O etanol é um álcool de cadeia curta ( $C_2H_5OH$ ) que pode ser produzido a partir da cana-de-açúcar, beterraba, milho e outras matrizes agrícolas, fontes de biomassa. Nas culturas de cana-de-açúcar, milho e beterraba o gás carbônico atmosférico é reduzido durante o período de fotossíntese dos plantios cultivados.

Em 2002 os preços internacionais do petróleo tiveram alta e o etanol pode então retornar à um mercado novamente competitivo. Comparativamente, em nenhum país no mundo se produz etanol com a mesma eficiência da produzida no Brasil, mas mesmo assim a produção de etanol utilizando a cana-de-açúcar como matéria-prima mostra vantagens e desvantagens.<sup>2,3</sup>

No ano de 2016 a quantidade de carros presentes na frota automotiva brasileira era de 34,3 milhões, sendo 28% flex. Estima-se que a quantidade de carros em 2026 pode chegar a 44,6 milhões de carros, com 32% deles sendo flex. O aumento esperado na produtividade automobilística brasileira impulsiona o mercado do etanol para garantir o fornecimento do combustível e também para geração de energia limpa.<sup>4</sup>

O estado do Mato Grosso é o maior produtor de milho do Brasil, sendo que 15% dessa produção atende o mercado interno e os 85% restantes são destinados às exportações, aquisições públicas e estoque. Devido a esse excesso de produção, ausência de um transporte eficiente e barato para escoamento interestadual que o mercado de investimentos encontra no milho uma alternativa de agregação de valor. <sup>5</sup>

No cerrado do Estado do Mato Grosso encontram-se usinas operando com modelos de negócios diferentes em sua cadeia produtiva. Usinas que operam apenas com o milho como matéria-prima são nomeadas de modelo de negócios focado; as que dividem a matéria-prima com a pecuária, geralmente quando o investidor são pequenos produtores, tem o nome de usina sinérgica; a usina que opera na produção de etanol com cana-de-açúcar e o milho resolvendo problemas da entressafra da cana que tem período marcado durante o ano é chamada de usina flex e por fim; a usina que opera tanto com a cana-de-açúcar, milho e atividade pecuária é considerada uma usina completa.<sup>5</sup>

A agregação de valor do milho ocorre devido ao aparecimento de novos coprodutos após à industrialização. A produção de etanol a partir do milho gera o DDG, Distillers Dry Grains, em português, grãos secos de destilaria, também conhecido como farelo de milho, que nos Estados Unidos já é utilizado na alimentação animal e no Brasil está começando a ser vendido para substituição da alimentação vigente. Além do DDG, a produção de etanol de milho também gera o óleo de milho que é vendido às refinarias.<sup>5</sup>

A industrialização do grão de milho beneficia também produtores florestais de eucalipto, planta que é utilizada como fornecimento de biomassa nas usinas que processam o etanol de milho. Em comparação com a cana-de-açúcar o milho produz 400 litros de etanol/tonelada, enquanto a cana produz apenas de 89,5 litros/tonelada. A relação vantajosa do uso da cana-de-açúcar está no plantio; são 7000 litros de etanol/ha plantado em oposição à 2240 litros/ha de milho plantado.<sup>6,7</sup>

Ainda que seja vantajoso e lucrativo produzir etanol a partir da cana-de-açúcar, nos períodos de entressafra da cana, o pátio industrial fica inoperante podendo ser flexibilizado com uso do milho como matéria-prima para geração de etanol. A estimativa realizada para 10 milhões de toneladas de milho exportado foi de R\$ 2,7 bilhões de faturamento; com a industrialização do milho o valor da venda do etanol e coprodutos agregados chegaria a 12,7 bilhões de faturamento.<sup>4</sup>

Os processos de produção de etanol pela cana-de-açúcar e grão de milho são bastante similares entre si, tendo sua principal diferença nas etapas iniciais. Dessa forma o termo Usinas Flex se origina da palavra Flexibilização que permite alternar entre as duas matérias-primas. Na região centro-sul a safra de cana-de-açúcar ocorre de maio a novembro, ficando a fábrica de etanol parada ou em manutenção durante o período restante de meses.<sup>8</sup>

Portanto a utilização do grão de milho como fonte de matéria-prima na produção de etanol aumenta o valor agregado ao cereal por produzir coprodutos que são vendidos após a

industrialização do milho e também solucionam os problemas de ociosidade nas plantas de produção de etanol por cana-de-açúcar, aproveitando a disponibilidade de operação da planta de produção.

## **1.2 - Objetivos**

### **1.2.1 – Objetivo Geral**

Estudar o processo produtivo de obtenção de etanol utilizando o grão de milho como matéria-prima.

### **1.2.2 – Objetivos Específicos**

- Compreender as etapas necessárias para adaptação de uma planta de etanol à partir da cana-de-açúcar utilizando milho como matéria-prima;
- Estudar as enzimas do processo de exposição do amido em açúcares fermentescíveis;
- Apresentar e analisar os estágios da produção de etanol de milho por via seca e seus subprodutos;

## 2 – PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

### 2.1 – A chegada do milho na planta

O milho é uma planta originada no México que pertence à família das gramíneas. Sua cultura de safra é anual e intolerante ao frio; em zonas temperadas é plantado nas estações de primavera, havendo necessidade de ser rotacionado com uma cultura fixadora de nitrogênio, geralmente soja ou trigo. É largamente cultivado em todos continentes estando presente como principal alimento para nutrição humana e animal. A composição em matéria seca de todos nutrientes e componentes do milho estão presentes na Tabela 1.<sup>1</sup>

**Tabela 1** - Porcentagem de composição dos integrantes do milho em matéria seca.

<b>Componentes presentes no Milho</b>	<b>% Peso</b>
Amido	70-75
Proteína	10
Gérmen	4-5
Fibra	3-4
Cinzas	2

FONTE: Adaptado de BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO  
ECONÔMICO E SOCIAL (BRASIL) e CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS  
ESTRATÉGICOS (2008) <sup>1</sup>

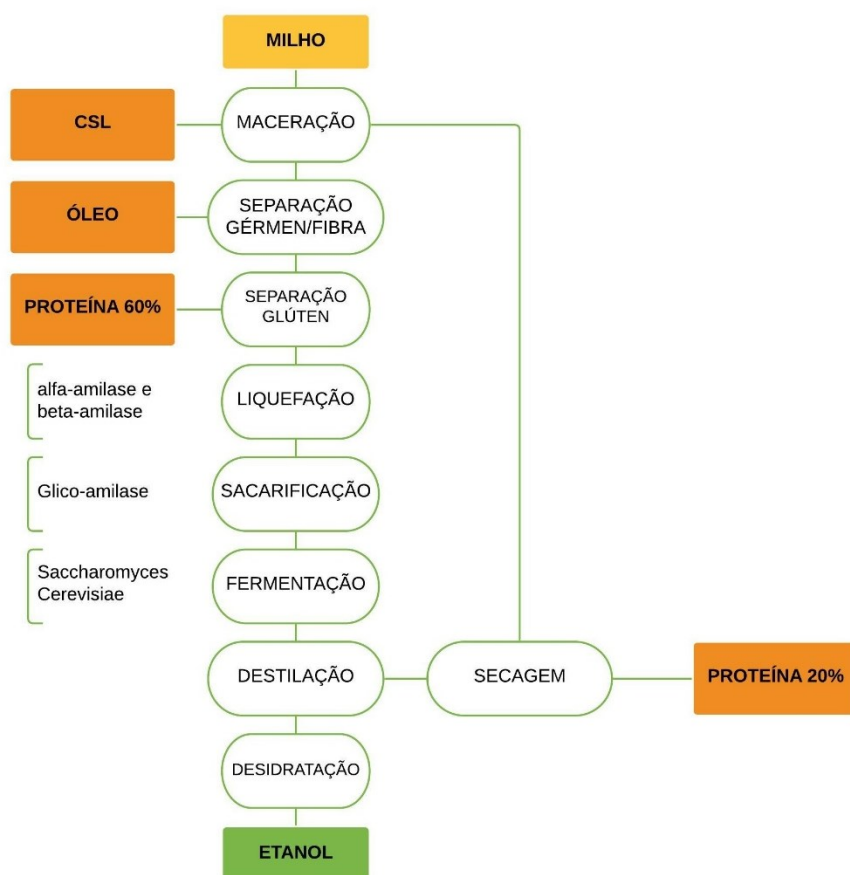
Antes de o milho seguir para a fermentação, o material é recebido nas plantas de produção por transporte rodoviário; caminhões, ou ferroviários; trem. Em seguida o milho é limpo e armazenado, sendo imediatamente realizados testes de qualidades da matéria-prima para evitar a contaminação por falta de sanitização ou variação de massa dos grãos. Posteriormente o milho é estocado nos silos onde será enviado ao processo.<sup>9</sup>

A etapa de limpeza é imprescindível para assegurar a qualidade do material que será armazenado até que seja necessário no processo. Visando garantir maior estabilidade na limpeza dos grãos, o material é normalmente seco após passar pela limpeza. A secagem diminui as influências físicas, químicas e biológicas no material armazenado, controlando sua temperatura, umidade e aeração. A eficiência da aeração e/ou secagem dos grãos depende da uniformidade de suas massas que estão diretamente interligadas com a etapa de limpeza anterior. Caso o material passe por uma limpeza incompleta, os grãos estarão suscetíveis à ação de microrganismos, insetos e animais depredadores.<sup>10</sup>

Após serem armazenados nos silos, o milho antes de seguir para o processo, é enviado ao “scalpers”, equipamento que limpa o material retirando a sujeira restante. Em seguida, o milho atravessa um campo magnético com imãs para retiradas de materiais metálicos que podem chegar a danificar o moinho. Sucessivamente o milho segue aos moinhos para que seja obtido a farinha de moagem, que será futuramente utilizada no processo.<sup>10</sup>

## 2.2 – A moagem do milho

O etanol de milho pode ser produzido por dois processos distintos, sendo um deles a partir de moagem via úmida e o outro a partir de moagem via seca. No processo por via úmida, Figura 1, várias frações do grão de milho são separadas, favorecendo a recuperação de subprodutos como: amido modificado, dextrinas, xarope de glucose, CSL, óleo refinado, fibra e glúten. Na moagem via seca, Figura 2, os subprodutos são: o óleo refinado e os DDGS (cereais, farinha de milho, fubá e farelo) que são utilizados como suplemento proteico alimentar de animais, agregando valor à industrialização do milho.<sup>1,11</sup>



**Figura 1** -Etapas de Produção de etanol de milho por via úmida.



FONTE: Adaptado de BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BRASIL) e CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS (2008); MACHADO e ABREU (2006) <sup>1,9</sup>



**Figura 2** - Etapas de Produção de etanol de milho por via seca.

FONTE: Adaptado de: BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BRASIL) e CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, 2008; MACHADO e ABREU, 2006 <sup>1,9</sup>

O processo por via úmida apresenta como etapa adicional anterior à moagem, a maceração dos grãos, onde uma solução de dióxido de enxofre é adicionada à matéria-prima para promover uma melhor separação do amido e das proteínas do milho. No processamento via seca, o grão é moído em pó sem adição de soluções aquosas fracionando o milho em pericarpo, gérmen e endosperma, Figura 3, ou em outras palavras: casca, óleo e amido.<sup>11</sup>



**Figura 3** - Composição básica do grão de milho.

FONTE: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDUSTRIAS DO MILHO apud STRAZZI (2015) <sup>12</sup>

Atualmente o processo por via úmida vem sendo substituído pelo processo de via seca devido aos grandes custos de produção do etanol por via úmida. As etapas abordadas nesse trabalho são as etapas presentes no processamento por via seca. <sup>1</sup>

Para que seja obtida melhor eficiência no processo, é necessário que as partículas moídas de farinha de milho configurem distribuição de tamanho uniforme, a fim de que a conversão do etanol seja maior. Quando as partículas tem tamanho muito pequeno propiciam a melhor liquefação e cozimento do amido, porém podem complicar a separação de DDGS. Por outro lado, quando as partículas são muito grandes o rendimento da produção de etanol é diminuído, no entanto facilita a separação dessas grandes partículas nas centrífugas, promovendo uma corrente de reciclo com menor teor de sólidos suspensos e otimizando as etapas de cozimento e liquefação, a discutir posteriormente.<sup>10</sup>

No cenário de adaptação de uma indústria de etanol de cana-de-açúcar para uma usina flex, cana-de-açúcar e milho, são fundamentais projetar a planta de produção para que receba uma nova unidade de recebimento do milho, de moagem e de cozimento. Como a produção do etanol de milho apresenta cogeração de subprodutos como o DDGS e óleo, já discutidos anteriormente, a planta flex também terá necessidade de uma unidade de separação com centrífugas, misturadores flutuantes e secadores para promover a separação dos subprodutos.<sup>13</sup>

## 2.3 – As etapas de exposição dos açúcares

De acordo com a Tabela 1, o milho pode conter em sua composição uma faixa de porcentagem de 70 à 75 da massa do grão. Os processos descritos previamente exploram o tratamento físico do milho para exposição do amido nas etapas subsequentes à moagem via seca e que antecedem a fermentação, denominadas; cozimento, liquefação e sacarificação.

### 2.3.1 – O amido

O amido, cuja composição molecular é  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , é um importante polímero natural presente nas plantas. O amido tem a função de reservar energia para os processos metabólicos dos organismos e de garantir o fornecimento de carboidratos para a planta em caso de ausência de alimento.<sup>14</sup>

Na natureza, o amido é o segundo polissacarídeo mais abundante, ficando atrás da celulose, que é um importante constituinte da parede celular dos vegetais. O amido é encontrado em alimentos como batatas, batatas doces, mandioca; também chamados de tubérculos e raízes, e ainda pode estar presente no endosperma de cereais como arroz, cevada, milho, trigo e sorgo.<sup>15, 16</sup>

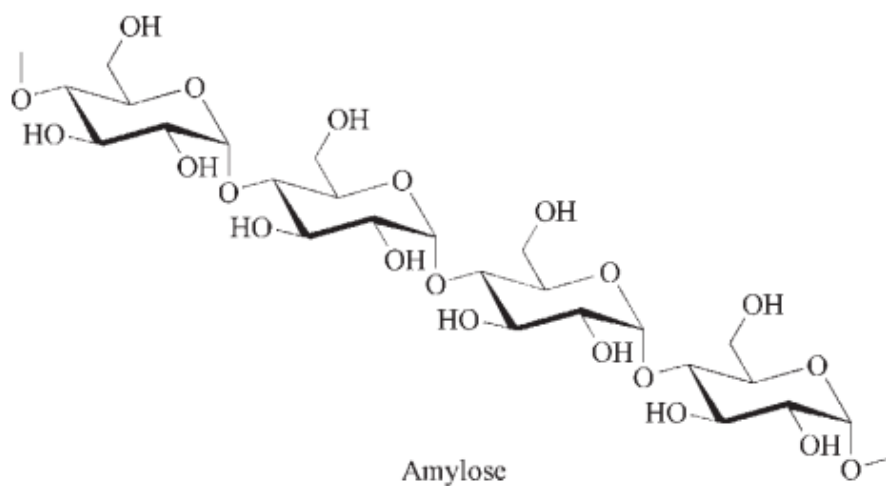
O amido é composto pela associação de várias moléculas de glicose em ligações alfa. Os polissacarídeos formados nessas associações são a amilose, Figura 4, e a amilopectina, Figura 5. A amilose é um polímero linear com moléculas de glicose realizando ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas. No entanto, a amilopectina é um polímero altamente ramificado podendo apresentar ligações  $\alpha$ -1,4 e ligações  $\alpha$ -1,6-glicosídicas nas ramificações.<sup>17</sup>

A amilopectina é o componente de maior porcentagem presente no amido, cerca de 73 a 86%, e a amilose, outro constituinte do amido, apresenta cerca de 14 a 27% de sua composição. A Tabela 2 apresenta a variação de composição da amilose e amilopectina em algumas das diversas fontes supracitadas anteriormente.<sup>1414</sup>

**Tabela 2** – Composição dos amidos de diversas fontes.

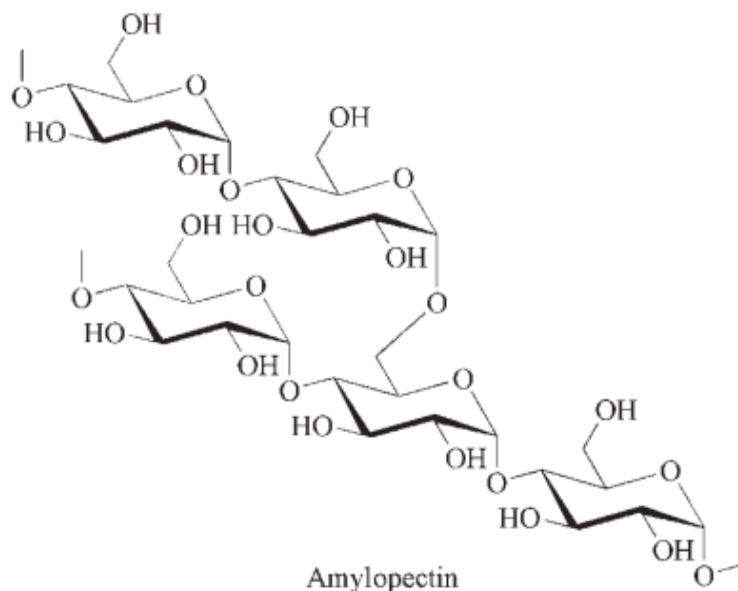
Produto natural	% de amilose (a)	% de amilopectina (b)	(a) : (b)
Amido de milho	24 - 27	70	1 : 2,8
Amido de arroz	15 – 18,5	79	1 : 4,6
Amido de trigo	20 – 25	80	1 : 3,4
Amido de mandioca	16,7 - 20	80	1 : 4,4
Amido de batata-inglesa	22 - 25	75	1 : 3,1

FONTE: SCIPIONI (2011) <sup>18</sup>



**Figura 4** - Estrutura química da amilose.

FONTE: AEHLE (2007) <sup>14</sup>



**Figura 5** - Estrutura química da amilopectina.

FONTE: AEHLE (2007) <sup>14</sup>

A amilose é um importante composto químico na composição do amido, sua cadeia linear permite maior resistência ao grânulo, propiciando maior estruturação da molécula de amido. <sup>19</sup>

Por conter ramificações em sua cadeia carbônica, a amilopectina apresenta como importante propriedade química, uma viscosidade característica baixa (120 a 190 mL/g). <sup>20</sup>

### 2.3.2 – Cozimento do amido

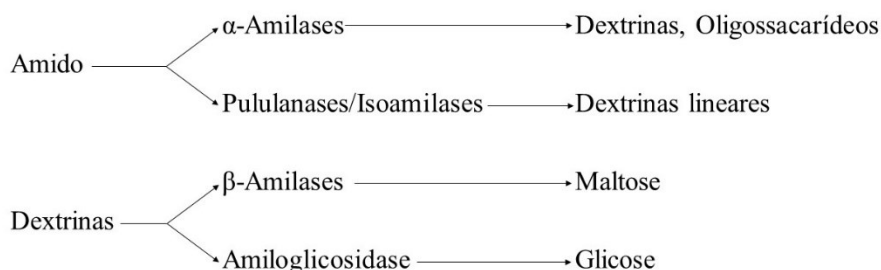
Para que o amido se desprenda das células vegetais do milho e seja gelatinizado, após a moagem, o milho moído é cozido à temperaturas iniciais, intermediárias e finais de respectivamente: 62, 66 e 70 °C. O cozimento é uma etapa fundamental para que a catálise enzimática ocorra nas etapas posteriores de liquefação e sacarificação. <sup>18</sup>

Nas unidades de processo, geralmente o milho é cozido por vapor sob pressão em processo contínuo. Nesse caso a pressão é fundamental para diminuir o tempo e temperatura de cozimento. Devido ao grande gasto energético no cozimento, o ideal é que essa etapa seja feita com menor proporção de água possível. Entretanto, antes de ser fermentado, o caldo de milho precisa ser adicionado de água para ajuste de concentração de substrato. <sup>9</sup>

No cozimento geralmente é corrigido o pH da mistura com ácido sulfúrico ou ácido clorídrico para se obter um ambiente propício para ação da  $\alpha$ -amilase na etapa de liquefação. A gelatinização é a ação forçada desejada de ruptura da conformação da molécula de amido para facilitar a catálise enzimática.<sup>20, 21</sup>

### 2.3.3 – As enzimas de hidrólise do amido

A hidrólise dos amidos pode ser realizada pela ação de cinco tipos de enzimas: amilases (endoamilases e exoamilases), isomerases, ciclodextrinas, desramificadoras e glicosiltransferases. O fluxograma apresentado na Figura 6 demonstra as rotas de degradação do amido em glicose. A rota industrial mais comum, que também será abordada neste trabalho, é a rota de catalise enzimática com  $\alpha$ -amilase, seguida da catálise com amiloglicosidase, também conhecida como glucoamilase (GMS).<sup>22</sup>



**Figura 6** - Fluxograma de degradação do amido.

FONTE: Adaptado de AEHLE, 2007<sup>14</sup>

Comercialmente a  $\alpha$ -amilase é produzida por meio de microrganismos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus licheniformis*. A  $\alpha$ -amilase age na cadeia amilolítica quebrando aleatoriamente apenas as ligações do tipo  $\alpha$ -1,4 glicosídicas sem catalisar as ligações  $\alpha$ -1,6. A ação da  $\alpha$ -amilase gera como produto 70 a 90% de maltose, oligossacarídeos e dextrinas, assim como baixa fração de D-glicose.<sup>23, 24</sup>

As GMSs, são enzimas produzidas pelos organismos *Aspergillus niger*, *Rhizopus delemar* e *Rhizopus oryzae*. As GMSs atuam externamente na molécula, quebrando ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 glicosídicas. Após ação da  $\alpha$ -amilase na degradação do amido, a GMS catalisa as moléculas de oligossacarídeos e dextrinas degradando-as em glicose.<sup>14, 23, 25</sup>

A  $\alpha$ -amilase promove uma ação endoenzimática na estrutura do amido, liberando produtos com mais sítios ativos que servirão de substrato para serem catalisados pela ação da GMS. Essa sinergia entre as duas enzimas garante maior conversão do amido de milho em glicose. A GMS, atuando sozinha na molécula, não produz o mesmo número de sítios de substratos ativos que a  $\alpha$ -amilase.<sup>26</sup>

A atividade enzimática da  $\alpha$ -amilase é dependente do tipo de microrganismo fonte da enzima. Geralmente a temperatura ótima da enzima varia de 50 a 90 °C e o pH ótimo entre 4,5 e 7,0 (Maldonado e Lopez 1995). Para a GMS, a temperatura ótima de atividade enzimática é aproximadamente 50 °C à 60 °C, podendo perder atividade caso ocorra aumento de temperatura, e inativando-se completamente à temperaturas maiores que 65 °C. Sua faixa ótima de pH é entre 4,0 e 5,0.<sup>22, 23, 25</sup>

A Tabela 3, apresenta os valores de pH ótimo e temperaturas ótimas para a  $\alpha$ -amilase, para diferentes microrganismos, e também valores para a GMS.

**Tabela 3** - Características das enzimas utilizadas na hidrólise do amido de milho.

Tipo	Nome comum	Microrganismos produtores	Substrato	Ótimo	
				pH	°C
Endo-amilase	Amilase bacteriana ( $\alpha$ -amilase)	<i>B. subtilis</i>	$\alpha$ -1,4-glicosil	6,0	65-70
		<i>B. licheniformis</i>	$\alpha$ -1,4-glicosil	5,0-7,0	90
		<i>A. oryzae</i>	$\alpha$ -1,4-glicosil	4,5	50-60
Exo-amilase	Amiloglucosidase	<i>niger</i>	$\alpha$ -1,4-glicosil $\alpha$ -1,6-glicosil	4,0-5,0	60

FONTE: Adaptado de MALDONADO E LOPEZ, 1995<sup>22</sup>

As enzimas isoamilases e pululanases, pertencentes a classe de enzimas desramificadoras, podem ser empregadas na catalise das ligações  $\alpha$ -1,6, como a própria classe define, nas ramificações da molécula de amilopectina. A  $\beta$ -amilase é uma enzima que atua nas extremidades das moléculas de amilose e amilopectina, sendo capaz de hidrolisar apenas os pontos de ramificação da amilopectina.<sup>18, 27</sup>

#### 2.3.4 – Liquefação

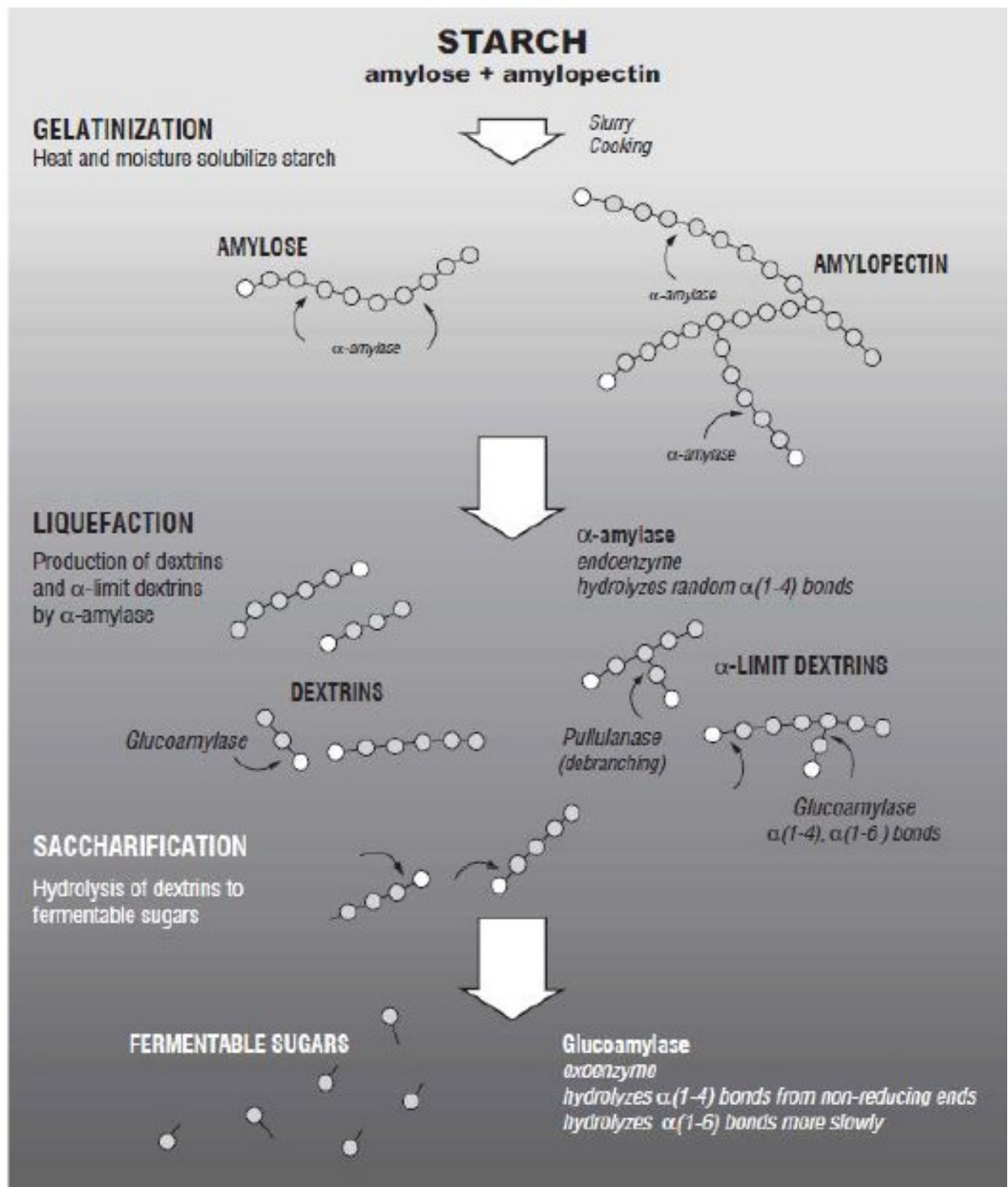
O material gelatinizado, pré-cozido, segue então para a etapa de liquefação onde, por ação da  $\alpha$ -amilase, discutida anteriormente, produz as dextrinas e oligossacarídeos. De acordo com a Tabela 3, supracitada anteriormente, a origem da enzima definirá as condições de processo que serão empregadas no reator de liquefação.

### **2.3.5 – Sacarificação**

A solução liquefeita de açúcares menores, oligossacarídeos e dextrinas, após a etapa anterior é resfriada para que seja sacarificada na presença da enzima GMS. A etapa de sacarificação pode ser desempenhada juntamente com a etapa de fermentação nas dornas de fermentação. À medida que a GMS degrada as dextrinas produzindo glicose a levedura consome a mesma como substrato na etapa de fermentação. A sacarificação simultânea com a fermentação reduz os gastos operações unitárias adicionais e também reduz o tempo de produção do etanol. Esse processo pode ser feito simultaneamente devido ao fato dos açúcares serem rapidamente liberados no início do processo de sacarificação mas perderem velocidade ao longo do tempo.<sup>10, 18, 28</sup>

A Figura 7 apresenta, resumidamente, o escopo das rotas de degradação do amido em glicose.





**Figura 7** - Etapas de exposição do amido em açúcares.

FONTE: NOVOZYMES (2010) apud GRIPPA (2012) <sup>10</sup>

### 3 – FERMENTAÇÃO

Fermentação é o nome dado ao processo bioquímico de oxidação incompleta dos açúcares, produzindo substâncias orgânicas oxidáveis. No processo de produção de etanol, a fermentação ocorre pela ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* que contém, em sua estrutura, as enzimas do processo. Após a ação da GMS, as enzimas da levedura por meio de sucessivas reações convertem a glicose e frutose em piruvato, que ao passo que é produzido, é degradado pela enzima piruvato descarboxilase gerando acetaldeído e desprendendo CO<sub>2</sub>. Por fim, a enzima desidrogenase alcóolica reduz o acetaldeído à etanol. <sup>29, 30</sup>

As reações ocorridas durante a fermentação podem ser resumidas em: fosforilação da glicose e frutose, que consumindo duas moléculas de ATP, forma-se frutose 1,6-difosfato; conversão em piruvato, que produz quatro moléculas de ATP; descarboxilação do piruvato e redução de acetaldeído em etanol <sup>31</sup>. A fermentação alcoólica é um processo que envolve doze reações, Figura 8, podendo ser esquematizada, simplificada, como a seguinte reação:

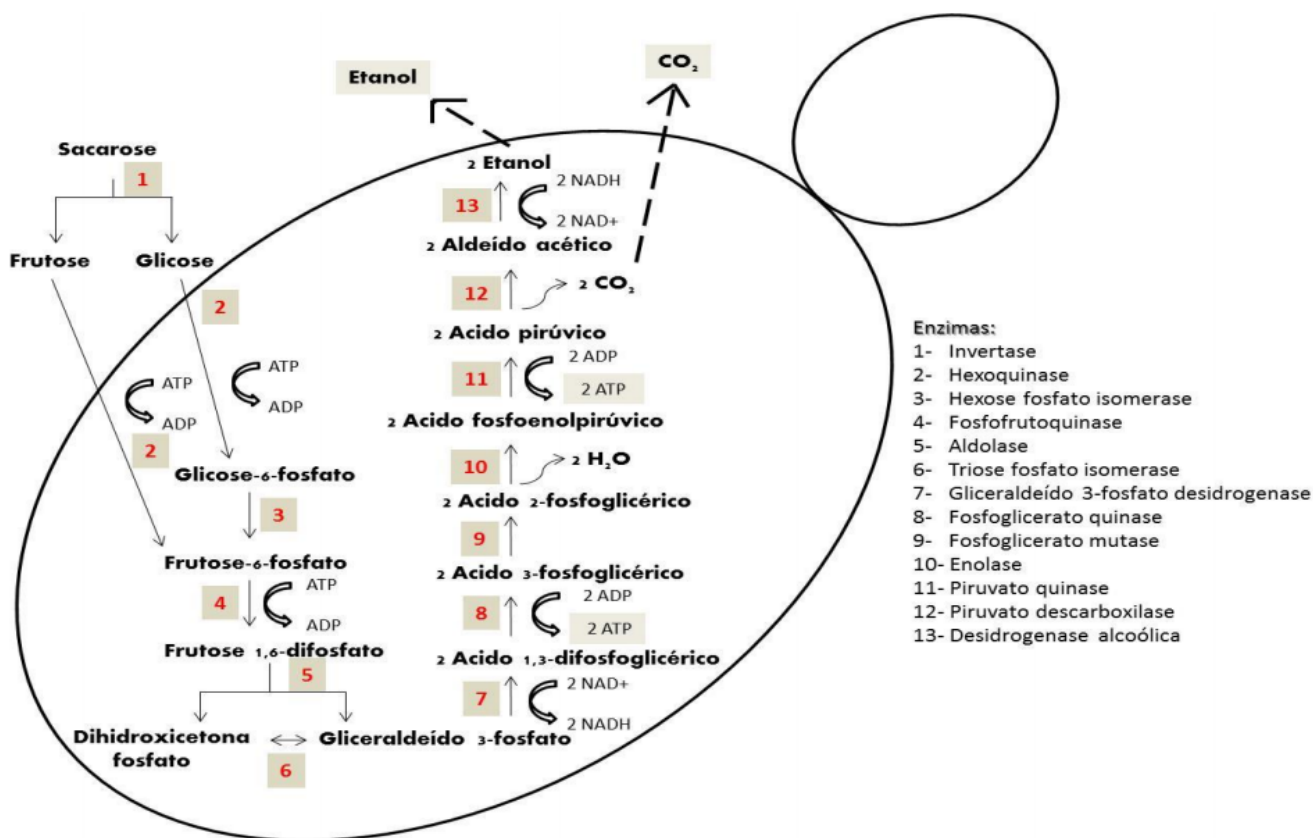
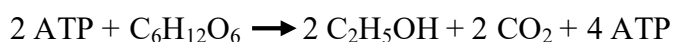


Figura 8 - Reações do processo de fermentação

FONTE: COSTA, 2017 <sup>32</sup>

O processo de fermentação pode ser realizado de diversas formas: batelada, batelada alimentada, semicontínuo ou contínuo. No processo de fermentação por batelada todo material à ser fermentado é inserido na dorna juntamente com o inóculo de levedura e no fim é retirado como mosto fermentado, diferentemente da batelada alimentada onde as correntes de açúcares e/ou levedura podem ser adicionadas às dornas gradativamente. A fermentação semicontinua é quando a vazão de entrada na dorna é menor que na vazão de saída, e, fermentação contínua é quando não há diferença na vazão de entrada e saída. <sup>33</sup>

A fermentação dos açúcares ocorre em três etapas essenciais: pré-fermentação; no início do processo fermentativo em que a levedura é ambientada ao meio, a fermentação; a etapa em que ocorre a produção de etanol e dióxido de carbono, e por fim, a pós-fermentação; onde atividade celular decai, sendo comprovada pela redução da produção dos gases de dióxido de carbono, indicando o fim da fermentação. <sup>31, 34, 35</sup>

O indicativo de alta eficiência na conversão dos açúcares em etanol é a baixa taxa de morte celular das células de leveduras durante a fermentação. No entanto, o etanol produzido na fermentação pode chegar a intoxicar a célula da *Saccharomyces cerevisiae* e assim inibir o crescimento da célula e ocasionar pressão osmótica. <sup>36</sup>

A duração total da etapa de fermentação é cerca de 40 a 70 horas quando as etapas de sacarificação e fermentação são realizadas simultaneamente. A faixa de temperatura comumente utilizada é a de 30 a 35 ° C. As propriedades controladas para que a fermentação seja eficaz são a composição química do meio (qualidade substrato e ausência de contaminantes), tolerância do microrganismo à inativação e propriedades do processo (aeração, pH e temperatura).<sup>10, 13</sup>

#### **4 – O ETANOL E OS SUBPRODUTOS**

Após a etapa de fermentação, o produto segue para as colunas de destilação, nesse ponto o processo produtivo de etanol de milho é bastante semelhante ao processo de produção de etanol pela cana-de-açúcar.

O material de fundo dos destiladores é enviado às centrífugas que separam as partes sólidas da solução no objetivo de serem enviadas aos secadores obtendo um produto final de

14 a 10% de umidade pronto para comercialização, o DDG, que é bastante utilizado como ração animal devido ao seu grande teor proteico.<sup>10</sup>

Nos centrifugadores, a parte líquida recuperada é concentrada em evaporadores para produção do xarope de milho, 50% de umidade. De acordo com a necessidade do processo, o xarope de milho pode ser reciclado à etapa de liquefação para obter melhor recuperação dos açúcares ou é enviada aos secadores para produzir o DDGS, um produto proteico com maior enriquecimento de açúcares e proteínas.<sup>10</sup>

Na destilação o produto de topo é o etanol hidratado, ou também, etanol anidro. O etanol hidratado pode ser armazenado ou desidratado. Por ser uma mistura azeotrópica a destilação não separa o álcool da água. A solução recorrente em nosso país é a desidratação por cicloexano que forma uma mistura azeotrópica ternária com ponto de ebulição inferior ao etanol anidro. A etapa de desidratação ocorre com cicloexano despejado no topo da coluna e o etanol hidratado sendo retirado no fundo. A recuperação do etanol hidratado gera um produto de fundo com composição 99,7 GL e uma mistura ternária de topo que é direcionada para uma coluna de recuperação do cicloexano. Além da desidratação por cicloexano, também é possível desidratar o álcool com adsorção em peneiras moleculares, processo que vem crescendo no Brasil apesar do custo, devido a separação eficaz dos contaminantes, e destilação extrativa com MEG (Monoetilenoglicol), sendo ambas de elevado custo e baixo gasto energético.<sup>1</sup>

A produção de etanol de milho é finalizada com o armazenamento de toda cadeia produtiva de interesse comercial. O etanol de milho é armazenado em tanques, os DDG e DDGS em silos e o óleo refinado pode ser armazenado em vasos ou tanques de armazenamento.<sup>10</sup>

## **5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O uso do milho como matéria-prima na produção de etanol no Brasil já é considerado uma realidade do setor de produção de combustíveis do país. Com diversos modelos de processamento do milho em várias regiões do território nacional, a industrialização do milho é um investimento promissor que retorna alto valor agregado e rentabilidade pela comercialização do etanol e seus subprodutos.

Devido às projeções de mercado, estima-se que o consumo de etanol, atrelado ao aumento esperado de aproximadamente 4 milhões e 600 automóveis flex até 2026, venha ser

aumentado significativamente. E de acordo com o Instituto Mato-Grossense de Economia Aplicada (IMEA), o estado está se preparando para avançar no sentido desse cenário de mercado e continuar investindo no milho como matéria-prima para produção de etanol.

Apesar da alta produtividade do etanol pela cana-de-açúcar a ociosidade estabelecida no período de entressafra, que pode chegar à 7 meses, é uma grande desvantagem de retorno lucrativo do pátio operacional de produção de etanol, quando não é flexibilizado com o milho. O maior desafio ainda encontrado nas unidades de produção de etanol que processam a cana-de-açúcar e não estão situadas em regiões próximas ao plantio de milho; é a dificuldade de se obter o fornecimento do milho, uma vez que os custos de escoamento diminuem o lucro relacionado a industrialização.

Não obstante disso, em termos de industrialização, o milho retorna uma lucratividade estimada de 10 bilhões superior à sua simples exportação. Um investimento nessa magnitude impulsiona não somente o setor de indústrias de combustíveis, mas também setores como o plantio de eucalipto para cogeração de energia na planta, o mercado de trabalho com o surgimento de novos empregos e o mercado agrícola pelo aumento na demanda de matéria-prima. Comprovando que apesar dos desafios o milho é uma alternativa viável para produção de etanol no Brasil

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BRASIL). CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. 1 ed. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2008. 314 p. ISBN 9788587545244
2. LEITE, Rogério Cezar de Cerqueira; LEAL, Manoel Régis L. V. O biocombustível no Brasil. **Revista Novos Estudos - CEBRAP**, São Paulo, v. 2, ed. 78, 2007. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-33002007000200003>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-33002007000200003&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-33002007000200003&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 12 set. 2019.
3. PUPULIN, Cejane. **Retrospectiva Canal: Cenários da produção de etanol de milho no Brasil: Etanol de milho**. Disponível em: <http://www.canalbioenergia.com.br/etanol-de-cana-e-de-milho-diferencas-importantes-mas-convergencia-parece-ser-uma-tendencia/>. Acesso em: 12 set. 2019
4. MARINHO, Ana Flávia. **Etanol de milho: vantagens e desvantagens**. Disponível em: <http://www.canalbioenergia.com.br/aproveitamento-maximo-do-milho/>. Acesso em: 12 set. 2019
5. OZAKI, PAULO MORAES. **Clusters de etanol de milho**. Disponível em: <http://www.imea.com.br/imea-site/view/uploads/estudos-customizados/AnaliseClusterEtanolMilho.pdf>. Acesso em : 12 set. 2019.
6. SALOMÃO, Raphael. **Estudo defende viabilidade do etanol de milho em Mato Grosso**. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2017/09/estudo-defende-viabilidade-do-etanol-de-milho-em-mato-grosso.html>. Acesso em: 12 set. 2019.
7. DALL'AGNOL, Amélio. **ETANOL DE MILHO NO BRASIL?**. Disponível em: <http://www.unica.com.br/convidados/12655382920334804993/etanol-de-milho-no-brasil/>. Acesso em: 21 nov. 2018.

8. PELLEGRINI, Luiz Felipe. **Análise e otimização termo-econômica-ambiental aplicada à produção combinada de açúcar, álcool e eletricidade**. Orientador: Prof. Dr. Silvio de Oliveira Jr. 2009. 349 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3150/tde-14052009-180026/publico/Tese\\_Final\\_Revisada\\_Luiz\\_F\\_Pellegrini.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3150/tde-14052009-180026/publico/Tese_Final_Revisada_Luiz_F_Pellegrini.pdf). Acesso em: 12 set. 2019.
9. MACHADO, Cristina Maria Monteiro; ABREU, Frederique Rosa e. Produção de álcool combustível a partir de carboidratos. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, ano 15, n. 3, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/63360/1/Paginas-de-pol-agr-03-20062-p.-64-78.pdf>. Acesso em: 12 set. 2019.
10. GRIPPA, Mario José Cacho. **PLANTA FLEX NO MATO GROSSO**. Orientador: Prof. Dr. João Padilha Júnior. 2012. 63 p. Trabalho de Conclusão Curso (Pós-Graduação MBA - Gestão do Agronegócio) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/44422/R%20-%20E%20-%20MARIO%20JOSE%20CACHO%20GRIPPA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 set. 2019.
11. CASTELLUCCI, Ana Carolina Leme; d'ARCE, Marisa Aparecida Bismara Regitano-; SPOTO, Maria Helena Fillet. Processamento e industrialização do milho para alimentação humana, **Visão Agrícola: Milho**. Brasil amplia cultivo para atender demanda crescente, Piracicaba/SP, ano 2015, n. 13, p. 176, 9 jul. 2015. Disponível em: [http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Industrializacao-artigo2.pdf](http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Industrializacao-artigo2.pdf). Acesso em: 12 set. 2019.
12. STRAZZI, Sueli. Derivados do milho são usados em mais de 150 diferentes produtos industriais. **Visão Agrícola: Milho**. Brasil amplia cultivo para atender demanda crescente, Piracicaba/SP, ano 2015, n. 13, p. 176, 9 jul. 2015. Disponível em: [https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Industrializacao-artigo4.pdf](https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Industrializacao-artigo4.pdf). Acesso em: 12 set. 2019.
13. MASIERO, Sara Scmazzon. **Microusinas de Etanol de Batata-Doce: Viabilidade Econômica e Técnica**. Orientador: Prof. Dr. Jorge Otávio Trierweiler. 2012. 141 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2012. Disponível em:

- <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/75879/000883649.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 set. 2019
14. AEHLE, Wolfgang. **Enzymes in Industry: Production and Applications**. 3ed. ed. rev. Países Baixos: WILEY-VCH, 2007. 517 p. ISBN 978-3-527-31689-2.
  15. REGULY, Júlio Carlos. **Biotecnologia dos processos fermentativos: Matérias-primas Agrícolas, processos e produtos**. Pelotas: Universitária/UFPEL, 1996. 1v. 330p.
  16. CARGILL AGRÍCOLA S.A. O AMIDO E SUAS PROPRIEDADES PARA O SETOR ALIMENTÍCIO. **FOOD INGREDIENTS BRASIL: O ingrediente indispensável de seu negócio**, São Paulo/SP, ano 2015, v. XVII, n. 13, p. 83, 2015. Disponível em: <http://revista-fi.com.br/revista/77/mobile/index.htm#p=4>. Acesso em: 12 set. 2019.
  17. SILVA, Roberto Marques; FERREIRA, Gustavo Fattori; SHIRAI, Mariane Ayumi; HAAS, Ângela; SCHERER, Melian Luiza; FRANCO, Célia Maria Landi; DEMIATE, Ivo Mottin. Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.28, n.1, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612008000100011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000100011). Acesso em: 12 set. 2019.
  18. SCIPIONI, Gustavo Callegari. **Otimização do processo de sacarificação do amido de batata (*Solanum Tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas**. Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lisiane de Marsillac Terra. 2011. 95 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/7954/SCIPIONI%2C%20GUSTAVO%20CALLEGARI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 set. 2019.
  19. CAI, Canhui; ZHAO, Lingxiao; HUANG, Jun; CHEN, Yifang; WEI, Cunxu. Morphology, structure and gelatinization properties of heterogeneous starch granules from high-amylose maize. **Carbohydrate Polymers**. v. 102, p. 606-614, Fev/2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.010>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713012241>. Acesso em: 12 set. 2019.
  20. CEREDA, Marney Pascoli; VILPOUX, Olivier Francois. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. V.1, 711p.



21. GOULD, Barry J. *Enzyme Biotechnology*. Chichester, A. Wiseman Ed. Ellis Horwood Ltda. Publ. 1975.
22. MALDONADO, Horácio Guzmán; LOPEZ, Octavio Paredes. Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.5, p.373-403, 1995. DOI <https://doi.org/10.1080/10408399509527706>.
23. BON, Elba P. S.; FERRARA, Maria Antonieta; CORVO, Maria Luisa. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. Rio de Janeiro, Ed. Interciência, 2008.
24. APAR, Dilek Kiliç.; ÖZBEK, Belma. Alfa-Amylase inactivation during corn starch hydrolysis process. **Process Biochemistry**, V 39, n. 12, p. 1877-1892, 2004. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2003.09.014>
25. GUPTA, Rani; MOHAPATRA, Harapriya; GOSWAMI, Vineet Kumar; CHAUHAN, Bhavna. Microbial  $\alpha$ -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, V. 38, no. 11, pp. 599-1616, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0). Acesso em: 12 set. 2019
26. ROBERTSON, George H.; et al. Native or raw starch digestion: a key step in energy efficient biorefining of grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 353-365, jan, 2006.
27. CINELLI, Bernardo Alves. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial**. Orientadores: Denise Maria Guimarães Freire e Leda dos Reis Castilho. 2012. 200 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://portal.peq.coppe.ufrj.br/index.php/producao-academica/dissertacoes-de-mestrado/2012-1/53-producao-de-etanol-a-partir-da-fermentacao-simultanea-a-hidrolise-do-amido-granular-de-residuo-agroindustrial/file>. Acesso em: 12 set. 2019.
28. MANOCHIO, Carolina. **Produção de bioetanol de cana-de-açúcar, milho e beterraba: uma comparação dos indicadores tecnológicos, ambientais e econômicos**. Orientadora: Renata Piacentini Rodriguez. 2014. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de

- Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2014. Disponível em: [https://www.unifal-mg.edu.br/engenhariaquimica/system/files/imce/TCC\\_2014\\_1/Carolina%20Manochio.pdf](https://www.unifal-mg.edu.br/engenhariaquimica/system/files/imce/TCC_2014_1/Carolina%20Manochio.pdf). Acesso em: 12 set. 2019.
29. MISSAWA, Silvia Kazue. **Modificação de linhagens industriais de *Saccharomyces cerevisiae* para o aumento da produtividade de álcool e flocculação condicional**. Orientadores: Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira e Dr. Anderson Ferreira da Cunha. 2009. 150 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009. Disponível em: [http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/316777/1/Missawa\\_SilviaKazue\\_D.pdf](http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/316777/1/Missawa_SilviaKazue_D.pdf). Acesso em: 12 set. 2019.
30. RODRIGUES, Kaio C.S.; SONEGO, Jorge L.S.; CRUZ, Antônio J.G.; BERNARDO, André.; BALDINO, Alberto C. Modeling and simulation of continuous extractive fermentation with CO<sub>2</sub> stripping for bioethanol production. **Chemical Engineering Research and Design**, V 132, p. 77-78, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2017.12.024>
31. LIMA, Urgel de Almeida; AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHIMIDELL, Willibaldo. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. v.3. Ed. Edgar Blucher, Rio de Janeiro, 2001. ISBN 9788521202806
32. COSTA, Marcelo Augusto de Souza. **Efeito do sistema de fermentação, da adição de etanol ao tratamento ácido e da contaminação por *Lactobacillus sp* na produção de etanol**. Orientadora: Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini. 2017. 105 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/9342/DissMASC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 set. 2019.
33. COSTA, Aline C.; ATALA, Daniel, I.P.; MAUGERI, Francisco.; MACIEL, Rubens. Factorial design and simulation for the optimization and determination of control structures for an extractive alcoholic fermentation. **Process Biochemistry**. Vol 37, n. 2, p 125-137, 2001. DOI [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00188-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00188-1)
34. MARQUES, Sidnei José Pereira; CUNHA, Magda Turini da. **Produção de Álcool Combustível utilizando milho**. UNOPAR, 2008.

35. WANG, Chunxiao; MAS, Albert; ESTEVE-ZARZOSO, Braulio. Interaction between *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. **International Journal of Food Microbiology**. v. 206, p. 67–74. 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25956738>. Acesso em: 12 set 2019.
36. YU, K.O.; JUNG, J.; RAMZI, A.B.; CHOE, S.H.; KIM, S.W.; PARK, C.; HAN, S.O. Increased ethanol production from glycerol by *Saccharomyces cerevisiae* strains with enhanced stress tolerance from the overexpression of SAGA complex components. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 51, p. 237–243. 2012. DOI 10.1016/j.enzmictec.2012.07.003