

Análise estatística paramétrica de fatores de operação no processo de fermentação para obtenção de cachaça

RESUMO

A produção da cachaça é tradicional entre pequenos produtores rurais no município de Santo Antônio da Patrulha-RS. Neste trabalho foram testadas as diferentes condições de °Brix e concentrações de nutrientes e seu efeito no tempo de fermentação e rendimento de etanol no processo de fermentação do caldo de cana-de-açúcar, simulando-se as condições usadas pelos produtores. Para observação do efeito de 08 fatores, foram realizados 16 experimentos previstos dentro de um planejamento estatístico. Os resultados indicaram que o aumento na concentração de sulfato de manganês e na quantidade de fubá de milho adicionados, além do aumento da concentração de sulfato de zinco em efeito interativo com o aumento do °Brix ocasionaram aumento no tempo de fermentação. Já o rendimento de etanol foi aumentado pela diminuição no °Brix e pelo aumento da quantidade de superfosfato triplo adicionado em efeito interativo com aumento no °Brix. As variações das quantidades de sulfato de amônio, sulfato de cobre e farelo de arroz não influenciaram significativamente no processo. Os melhores parâmetros determinados, nas condições locais, para obtenção dos menores tempos de fermentação e maiores rendimentos de etanol foram: 14°Brix, 0,5 g/L de superfosfato tripo, 0,5 g/L de sulfato de zinco, 0,2 g/L de sulfato de manganês, 5 g/L de fubá de milho. Também é indicado a manutenção de 0,5 g/L de sulfato de amônio e 5 g/L de farelo de arroz.

PALAVRAS-CHAVE: Cachaça. Fermentação. Nutrientes. Planejamento Estatístico.

Toni Jefferson Lopestonijl@unochapeco.edu.br

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Carlos Roberto de Menezes Peixotocarlos.carlosp@gmail.com

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Adriano da Silvaadrianosilva@furq.br

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Fernanda Arnhold Pagnussattnandapagnu@terra.com.br

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Ronan Ribeiro da Costa Juniorronan_junior@hotmail.com

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Romulo Gomes Guimarãesromulogomesguimaraes@yahoo.com.br

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Bruno Trevizan dos Santosbruno_t_santos@hotmail.com

Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

INTRODUÇÃO

Em Santo Antônio da Patrulha-RS a cana-de-açúcar é uma cultura tradicional, tendo sido trazida pelos colonizadores açorianos já no século XVIII. A produção da cachaça é feita por um grande número de pequenos agricultores. Estes produtores têm um grande conhecimento empírico, e produzem a cachaça usando tecnologias locais tradicionais. Uma delas é para a preparação do fermento e do pé-de-cuba, que são preparados a partir de leveduras selvagens ou fermentos comerciais, usando-se misturas como fubá de milho e farelo de arroz. Entretanto, estes produtores carecem de conhecimento teórico mais aprofundado, e com isso não entendem o real motivo de uso de certas técnicas e não são capazes de controlar de maneira adequada determinados parâmetros que poderiam melhorar a eficiência do processo de fermentação. Entre estes podem ser citados a quantidade correta de fubá de milho ou farelo de arroz a ser adicionado e até o teor de açúcar do caldo de cana. A Universidade Federal do Rio Grande vem trabalhando com alguns destes produtores em programa de extensão (SILVA et al., 2012), e um dos objetivos é a orientação para uso de práticas corretas e mais eficientes para a produção da cachaça. Um dos projetos envolve o estudo dos parâmetros envolvidos na fermentação e a adição de nutrientes e teste de sua eficiência nas condições locais.

Na fermentação do caldo da cana-de-açúcar ocorre a transformação da sacarose em etanol, catalisada por enzimas produzidas por leveduras que promovem a quebra da molécula de sacarose em glicose e frutose e posterior transformação em etanol e gás carbônico (CRISPIM; CONTESSI; VIEIRA, 2000; LIMA, 1975).

A ação das leveduras, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a mais usada, é influenciada por condições como a concentração de sacarose. Normalmente trabalha-se com o teor de sólidos solúveis totais, em graus Brix (°Brix), que equivale à quantidade de gramas de sólidos dissolvidos em 100g de solução. A maior parte dos sólidos solúveis, acima de 80% dependendo do caldo, é sacarose, portanto o °Brix é usado como uma medida aproximada do teor de açúcar. Para uma fermentação eficiente usa-se mosto diluído para teores entre 14 e 16°Brix, sendo que valores mais altos podem acarretar fermentações mais lentas e frequentemente incompletas por causar estresse osmótico para a levedura (PATARO et al., 2002; LIMA et al., 2001). Já com valores mais baixos são favorecidas as contaminações, em virtude do baixo teor alcoólico do meio em fermentação, além da necessidade de um maior volume de dornas e de depósitos, e maior consumo de água e de vapor.

No seu metabolismo, a *S. cerevisiae* necessita de macro e micronutrientes para seu crescimento e produção de etanol. Alguns destes nutrientes são encontrados no mosto, mas existem estudos que sugerem a adição dos mesmos para que atinjam a concentração ideal. Entretanto, a adição em quantidades excessivas pode ser prejudicial à levedura por causar estresse osmótico (AQUARONE et al., 2001; VENTURINI FILHO e NOGUEIRA, 2013). Um destes nutrientes é o nitrogênio amoniacal, sendo que em sua ausência o crescimento da levedura é prejudicado e a mesma irá metabolizar outros compostos, como os aminoácidos, podendo causar aumento na produção de substâncias, como álcoois superiores. O fósforo, na forma de fosfato (PO_4^{3-}), também é de extrema importância para que ocorra a formação de etanol durante a fermentação.

Vitaminas do complexo B, como vitaminas B1, B6 e ácido pantotênico, também são importantes para o metabolismo das leveduras, e podem ser encontradas em farelo de arroz. Alguns íons metálicos são importantes como micronutrientes, pois participam como cofatores em enzimas responsáveis pelo crescimento da levedura e atividade fermentativa (LIMA et al., 2001). Entre os íons metálicos, o Zn^{2+} , Cu^{2+} e Mn^{2+} são interessantes devido ao efeito positivo na atividade respiratória e na taxa de crescimento da levedura *S. cerevisiae* (STEHLIK-TOMAS et al., 2004). A adição de fubá ao mosto, bastante usada por produtores (LOPES, 2007), também tem sido estudada, sendo encontrados benefícios ao processo fermentativo, como auxílio na decantação das células ao final da fermentação (MUTTON E MUTTON, 2005), e adsorção pelo amido de metabólitos secundários da própria fermentação alcoólica, cuja presença no mosto afeta a via glicolítica (MAIA, 1992). Já Cleto (1997) não percebeu alterações significativas na viabilidade celular, entretanto observou um menor teor de acidez no mosto suplementado com fubá, resultando também numa cachaça com menor acidez total.

A adição de nutrientes tem sido relatada em diferentes trabalhos, entretanto as quantidades sugeridas para se obter os melhores benefícios apresentam variações em diferentes estudos (SANTOS, 2008; MALTA, 2006; STUPIELLO e HORII, 1981; HONIG, 1969; DELGADO e CÉSAR, 1984).

O planejamento experimental fatorial é uma ferramenta utilizada em muitos processos de análise, formulações de novos sistemas de operações e aprimoramento de sistemas de operações usuais. O planejamento experimental fatorial permite estudar a relação e os efeitos entre uma ou mais respostas (variáveis de saída) e um conjunto de fatores (variáveis de entrada), obtendo como uma das vantagens a redução do número de ensaios. Silva et al. (2008) estudaram a influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °Brix no rendimento e produtividade da fermentação alcoólica, através da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta.

Com isso, este trabalho teve como objetivos testar a influência do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e a adição de nutrientes (08 fatores ao total) no tempo de fermentação e no rendimento de etanol para a fermentação do caldo de cana-de-açúcar nas condições usadas pelos produtores locais, e posteriormente repassar as informações aos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

REAGENTES

Foram usados os reagentes sulfato de zinco heptahidratado P.A. (Alphatec), sulfato de cobre pentahidratado P.A. (Alphatec), sulfato de manganês monohidratado (Synth). Também foram usados superfosfato triplo granulado (Yara Brasil Fertilizantes S.A.) e sulfato de amônio (Fertilizantes Heringer S.A.) e o fermento biológico prensado resfriado (Fleischmann). Fubá de milho e farelo de arroz foram adquiridos no comércio local. O caldo de cana-de-açúcar foi fornecido por produtores rurais do município de Santo Antônio da Patrulha - RS.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para os testes de fermentação em batelada, inicialmente, em 10 g do fermento foi adicionado aproximadamente 5 mL do caldo de cana-de-açúcar diluído a 7°Brix, deixando-se a mistura em banho-maria a 30°C por alguns minutos até ser observado crescimento do fermento. Posteriormente, foram adicionados 50 mL de caldo de cana-de-açúcar diluídos a 10°Brix e também deixada mistura em banho-maria a 30°C até ser observado início da fermentação pelo borbulhamento de gás carbônico. Finalmente, foram adicionados 500 mL de caldo de cana diluídos no °Brix desejado e contendo os nutrientes nas concentrações previstas dentro do planejamento estatístico. O mosto em fermentação foi mantido em banho-maria a 30°C, e a variação do °Brix foi acompanhado usando-se refratômetro portátil (modelo Q667A1, Quimis) para detectar o final e determinar o tempo da fermentação.

Posteriormente, o mosto foi destilado e, através da pesagem do produto final e determinação de sua densidade, foi determinada a quantidade de etanol obtida (BRASIL, 2014) e calculado o rendimento da reação.

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

No processo de obtenção de cachaça foi avaliada a influência das seguintes variáveis: A) °Brix do mosto, B) Sulfato de amônio (g/L), C) Superfosfato triplo (g/L), D) Sulfato de zinco (g/L), E) Sulfato de cobre (g/L), F) Sulfato de manganês (g/L), G) Fubá de milho (g/L) e H) Farelo de arroz (g/L) com seus respectivos níveis de variação mostrados na Tabela 1. Foi adotado um planejamento experimental fatorial fracionário 2_{IV}^{8-4} .

Depois de realizada a escolha dos fatores e seus níveis, foram realizados os experimentos para verificar a influência destes no tempo de fermentação (tF) e rendimento de etanol (%). A Tabela 2 apresenta a matriz do planejamento fatorial fracionário 2_{IV}^{8-4} . Posteriormente, utilizou-se o software Statistica v. 8.0 para realizar a análise dos valores experimentais obtidos.

Tabela 1– Fatores e níveis estudados na fermentação do caldo de cana-de-açúcar para produção de cachaça

Fatores	-1	+1
°Brix Mosto	14	18
(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/L)	0,5	1,5
Superfosfato triplo (g/L)	0,5	1,5
ZnSO ₄ .7H ₂ O(g/L)	0,2	0,7
CuSO ₄ .5H ₂ O(g/L)	0,2	0,7
MnSO ₄ .H ₂ O(g/L)	0,2	0,7
Fubá de Milho (g/L)	5,0	10
Farelo de Arroz (g/L)	1,0	5,0

Fonte: Universidade Federal de Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha-RS, Brasil

Tabela 2– Matriz do planejamento fatorial fracionário 2_{IV}^{8-4}

Ensaio	A	B	C	D	E	F	G	H	tF (h)	REt (%)
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	14	54,69
2	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	25	31,02
3	-1	+1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	23	38,90
4	+1	+1	-1	-1	+1	-1	-1	+1	16	31,45
5	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	22	41,4
6	+1	-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	22	38,21
7	-1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	23	24,00
8	+1	+1	+1	-1	-1	+1	-1	-1	14	38,19
9	-1	-1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	14	77,78
10	+1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	24	18,80
11	-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	+1	14	62,27
12	+1	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	16	40,30
13	-1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	18	33,84
14	+1	-1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	16	48,99
15	-1	+1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	12	59,34
16	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	22	36,55

A) °Brix do Mosto, B) Sulfato de Amônio (g/L), C) Superfosfato triplo (g/L), D) Sulfato de zinco (g/L), E) Sulfato de cobre (g/L), F) Sulfato de manganês (g/L), G) Fubá de milho (g/L) e H) Farelo de arroz (g/L); tF=Tempo de fermentação; REt=Rendimento de etanol.

RESULTADOS

Na Tabela 2 também estão apresentados os tempos de fermentação (tF) e os rendimentos de etanol (REt) obtidos em cada um dos experimentos. Foram observados tempos de fermentação entre 14 e 25 horas, e rendimentos de etanol entre 31 e 77% nas condições usadas. Nas seções seguintes estão descritas as influências das diferentes variáveis nos parâmetros observados.

ESTUDO DO MODELO, EFEITOS E CURVAS DE NÍVEL GERADAS EM RELAÇÃO À RESPOSTA TEMPO DE FERMENTAÇÃO

A escolha do modelo a ser utilizado para a resposta foi feita a partir da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de determinação (R^2) de cada modelo testado, onde se gerou a Tabela 3 para fazer a comparação.

Tabela 3– Comparação entre modelos empíricos gerados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{8-4}_{IV} em relação à resposta tempo de fermentação (tF)

Modelo empírico	R ²	F calculado	F tabelado*
Equação de termos lineares somente com efeitos principais	0,6628	1,72	3,726
Equação de termos lineares com efeitos principais e secundários	0,9957	84,56	5,936

* Teste de Fisher para o nível de 5% de probabilidade.

Através da Tabela 3 pode-se observar que o melhor modelo a ser utilizado para a resposta tempo de fermentação foi obtido através da equação de termos lineares com efeitos principais e secundários. A escolha deste modelo ocorre por apresentar melhor coeficiente de determinação e o F calculado para os resíduos em relação à regressão ser 14,24 vezes superior ao valor da distribuição F tabelado.

Com o modelo empírico realizou-se a análise dos efeitos em relação à resposta do experimento (Tabela 4). Analisando-se a Tabela 4 observou-se que em média, os efeitos principais e interações foram significativos, como é confirmado pelos índices estatísticos apresentados. Dos efeitos principais, o superfosfato triplo não foi significativo, apresentando um efeito menor, com valor de 0,375. Os fatores (6) Sulfato de manganês e (7) Fubá de milho se destacaram entre os fatores significativos, apresentando os maiores efeitos 3,625 e 3,875, respectivamente.

Em relação à análise do sinal algébrico dos efeitos encontrados, estes estão de acordo com o conhecimento que se tem dos fenômenos envolvidos. No que diz respeito ao °Brix do mosto que apresentou um efeito positivo, um aumento deste contribui para um maior tempo de fermentação (tF), uma relação diretamente proporcional com a resposta.

A partir da regressão, os coeficientes do modelo foram calculados para o tempo de fermentação, sendo representado pela Equação 1.

$$tF = 18,437 + 0,937 A - 0,937 B - 1,437 C + 0,937 D + 1,812 E + 1,937 F + 0,562 G + 1,562 H - 1,062 I + 0,687 J - 1,437 L \quad (1)$$

Onde: t= Tempo de Fermentação; A = °Brix do mosto; B = Sulfato de Amônio; C= Sulfato de Zinco; D = Sulfato de Cobre; E= Sulfato de Manganês; F= Fubá de milho; G = Farelo de arroz; H = Interação entre °Brix do Mosto e Sulfato de Zinco; I = Interação entre Sulfato de Amônio com Sulfato de Manganês; J = Interação entre Sulfato de Zinco e Sulfato de Manganês e L = Interação entre Sulfato de Zinco e Fubá de milho.

A análise de variância (ANOVA) do modelo proposto na Equação 1 está mostrada na Tabela 5. Foi possível verificar que a soma quadrática dos resíduos foi pequena frente à soma quadrática da regressão, indicando que o modelo foi bom.

Tabela 4– Cálculos dos efeitos dos diferentes parâmetros no tempo de fermentação e respectivos índices estatísticos

	Efeito	Desvio Padrão	Teste t de Student	Nível p	-95% Limite de Confiança	+95% Limite de Confiança
Média/Interações	18,438	0,140	131,928	0,000	18,049	18,826
(1)°Brix do mosto	1,875	0,280	6,708	0,003	1,099	2,651
(2) Sulfato Amônio	-1,875	0,280	-6,708	0,003	-2,651	-1,099
(4) Sulfato de Zn	-2,875	0,280	-10,286	0,001	-3,651	-2,099
(5) Sulfato de Cu	1,875	0,280	6,708	0,003	1,099	2,651
(6) Sulfato de Mn	3,625	0,280	12,969	0,000	2,849	4,401
(7) Fubá de milho	3,875	0,280	13,864	0,000	3,099	4,651
(8) Farelo de Arroz	1,125	0,280	4,025	0,016	0,349	1,901
Efeitos 1 e 4	3,125	0,280	11,180	0,000	2,349	3,901
Efeitos 2 e 6	-2,125	0,280	-7,603	0,002	-2,901	-1,349
Efeitos 4 e 6	1,375	0,280	4,919	0,008	0,599	2,151
Efeitos 4 e 7	-2,875	0,280	-10,286	0,001	-3,651	-2,099

Tabela 5– Análise de variância (ANOVA) do modelo

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade (v)	Média quadrática	F v1v2 calculado	F v1v2 tabelado
Regressão	290,687	11(v1)	26,4261		
Resíduos	1,25	4(v2)	0,3125	84,5636	5,936
Total	291,937	15			

A análise estatística através do valor da distribuição F para os resíduos em relação à regressão apresentou um valor de F calculado 14,24 superior ao valor de F tabelado. Assim sendo, a regressão foi significativa e o modelo pode ser usado para fins de predição. Todos os índices estatísticos mostraram que o modelo ajustado descreveu bem os resultados experimentais, sendo possível construir as superfícies de resposta e definir as regiões de interesse para o tempo ideal de fermentação.

As curvas de nível geradas para o modelo (Equação 1) são mostradas nas Figuras 1 e 2.

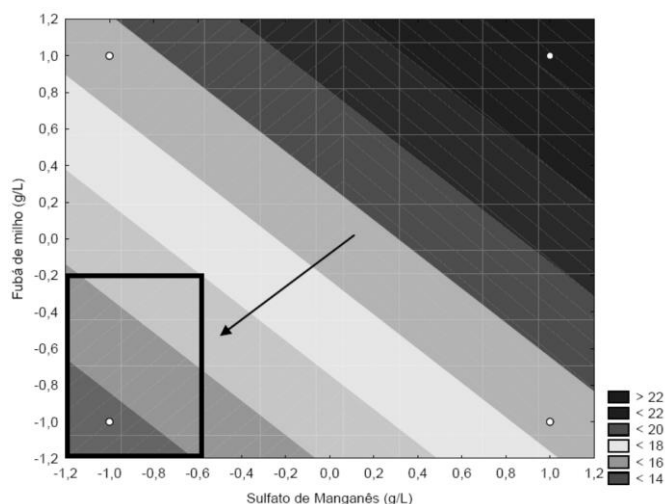


Figura 1 – Curvas de nível para os fatores codificados fubá de milho e sulfato de manganês em relação à resposta tempo de fermentação

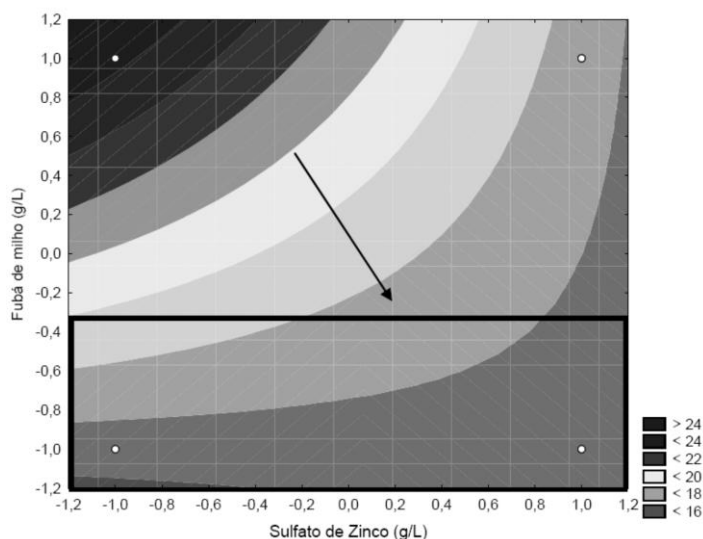


Figura 2– Curvas de nível para os fatores codificados fubá de milho e sulfato de zinco em relação à resposta tempo de fermentação

A avaliação das curvas de nível produzidas pelo modelo (Figuras 1 e 2) nos mostra que nas regiões de fubá de milho de 4,5 a 6,5g/L (níveis -1,2 a -0,4), sulfato de manganês de 0,15 a 0,30 g/L (níveis -1,2 a -0,6) e sulfato de zinco de 0,15 a 0,75 g/L (níveis -1,2 a +1,2) foram obtidos os menores tempos de fermentação.

ESTUDO DO MODELO, EFEITOS E CURVAS DE NÍVEL GERADAS EM RELAÇÃO À RESPOSTA RENDIMENTO DE ETANOL

A escolha do modelo a ser utilizado para a resposta foi feita a partir da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de determinação (R^2) de cada modelo testado, onde se gerou a Tabela 6 para fazer a comparação.

Tabela 6– Comparação entre modelos empíricos gerados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{3-4} em relação à resposta rendimento de etanol (%)

Modelo empírico	R ²	F calculado	F tabelado*
Equação de termos lineares somente com efeitos principais	0,4971	0,8649	3,726
Equação de termos lineares com efeitos principais e secundários	0,8773	3,576	4,735

* Teste de Fisher para o nível de 5% de probabilidade.

Através da Tabela 6 pode-se observar que o melhor modelo a ser utilizado para a resposta tempo de fermentação foi obtido através da equação de termos lineares com efeitos principais e secundários. A escolha deste modelo ocorreu por este apresentar melhor coeficiente de determinação e o F calculado para os resíduos em relação à regressão é próximo ao valor obtido para o F tabelado.

Com o modelo empírico, realizou-se a análise dos efeitos em relação à resposta do experimento, que é visualizada na Tabela 7.

Tabela 7– Cálculos dos efeitos dos diferentes parâmetros no rendimento de etanol e respectivos índices estatísticos

	Efeito	Desvio Padrão	Teste t de Student	Nível p	-95% Limite de Confiança	+95% Limite de Confiança
Média/Interações	42,233	2,294	18,409	0,000	36,336	48,130
(1)°Brix do mosto	-13,589	4,588	-2,962	0,031	-25,383	-1,794
(3)Superfosfato triplo	-4,336	4,588	-0,945	0,388	-16,131	7,458
(6)Sulfato de Mn	-9,224	4,588	-2,010	0,101	-21,018	2,571
(7)Fubá de milho	-4,316	4,588	-0,941	0,390	-16,111	7,478
(8)Farelo de Arroz	3,899	4,588	0,850	0,434	-7,896	15,693
Efeitos 1 e 3	14,429	4,588	3,145	0,026	2,634	26,223
Efeitos 1 e 7	6,479	4,588	1,412	0,217	-5,316	18,273
Efeitos 3 e 6	4,084	4,588	0,890	0,414	-7,711	15,878
Efeitos 3 e 7	-9,514	4,588	-2,074	0,093	-21,308	2,281
Efeitos 3 e 8	-8,559	4,588	-1,865	0,121	-20,353	3,236

Analisando-se a Tabela 7, observou-se que a média, juntamente com o efeito principal (1) °Brix do mosto e a interação entre os fatores (1) °Brix do mosto e (3) Superfosfato triplo foram significativos, como é confirmado pelos índices estatísticos apresentados.

A partir da regressão, os coeficientes do modelo foram calculados para o rendimento de etanol, sendo representado pela Equação 2.

$$\%Etanol = 42,233 - 6,794 A - 2,168 B - 4,611 C - 2,158 D + 1,949 E + 7,214 F + 3,239 G + 2,041 H - 4,756 I - 4,279 J \quad (2)$$

Onde: %Etanol= Rendimento de etanol; A = °Brix do Mosto; B = Superfosfato triplo; C= Sulfato de Manganês; D = Fubá de Milho; E= Farelo de arroz; F= Interação entre °Brix do Mosto e Superfosfato triplo; G = Interação entre °Brix do

Mosto e Fubá de milho; H = Interação entre Superfosfato triplo e Sulfato de Manganês; I = Interação entre Superfosfato triplo e Fubá de milho; J = Interação entre Superfosfato triplo e Farelo de arroz.

A análise de variância (ANOVA) do modelo proposto na Equação 2 é mostrada na Tabela 8. A soma quadrática dos resíduos é grande frente à soma quadrática da regressão, indicando que o modelo é indicado para prever o perfil do comportamento da resposta frente aos fatores estudados.

Tabela 8– Análise de variância (ANOVA) do modelo

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade (v)	Média quadrática	F v1v2 calculado	F v1v2 tabelado
Regressão	3011,8748	10(v1)	301,1874		
Resíduos	421,0399	5(v2)	84,2079	3,576	4,735
Total	3432,9147	15			

A análise estatística através do valor da distribuição F para os resíduos em relação à regressão apresentou um valor de F calculado de 75% do valor de F tabelado. Assim sendo, a regressão não foi significativa e o modelo pode ser usado para fins de predição de perfil.

As curvas de nível geradas para o modelo (Equação 2) são mostradas na Figura 3.

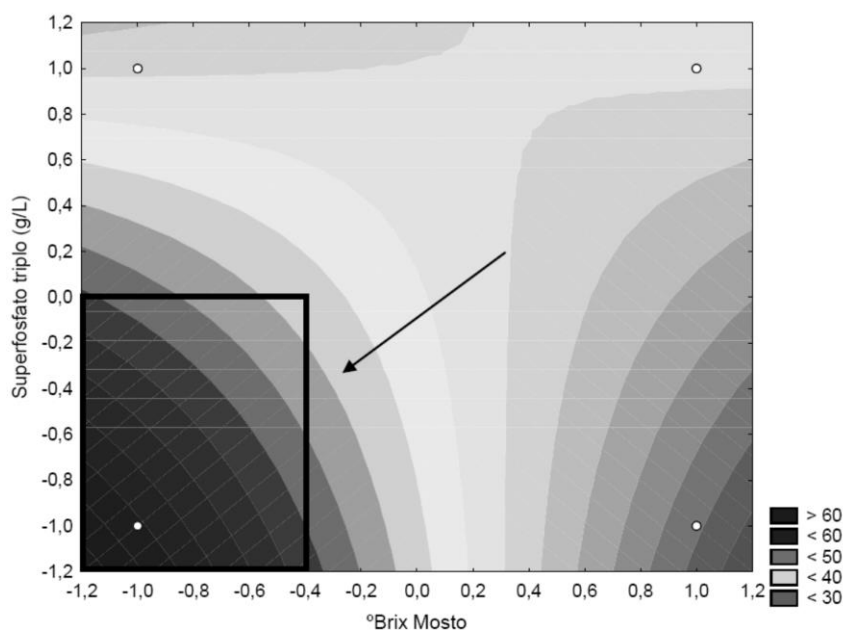


Figura 3 – Curvas de nível para os fatores codificados °Brix do mosto e Superfosfato triplo em relação à resposta rendimento de etanol(%)

A avaliação das curvas de nível produzidas pelo modelo (Figuras 3) mostra que a região de °Brix do mosto de 13,6 a 15,2 g/L (níveis -1,2 a -0,4) e Superfosfato triplo de 0,4 a 1,0 g/L (níveis -1,2 a 0) fornecem uma resposta máxima para o rendimento de etanol (%).

DISCUSSÃO

Os resultados indicaram que o aumento na concentração de sulfato de manganês ocasionou um aumento significativo no tempo de fermentação. Isso é causado pelo maior estresse osmótico causado à levedura, portanto, este nutriente deve ser adicionado em seus níveis mais baixos. Todescato et al. (2011) observaram que a adição de 0,15 g/L de $MnSO_4 \cdot H_2O$ em fermentação alcoólica de suco de uva-Japão auxiliou no desenvolvimento celular. Já Cancelier et al. (2013), também em suco de uva-Japão, observaram diminuição no rendimento de etanol com concentrações de sulfato de manganês acima de 1 g/L, o que também é explicado pelo estresse osmótico, entretanto, até 0,054 g/L, a adição deste nutriente foi benéfica.

O aumento na quantidade de fubá de milho adicionada, também causou aumento no tempo de fermentação, sendo ideal sua adição em concentrações menores considerando-se este aspecto. Entretanto, maiores estudos são necessários para identificar, nas condições locais, sua influência na adsorção e precipitação da levedura para reutilização do fermento no pé de cuba (MUTTON E MUTTON, 2005), além de sua influência na adsorção de outras moléculas e propriedades organolépticas da cachaça. Domínguez, Nelson e Maia (1997) não observaram influência significativa no rendimento de etanol da fermentação, e observaram diminuição no teor de ésteres na cachaça com a adição de fubá.

O aumento do °Brix do mosto causa diminuição no rendimento de etanol devido ao estresse osmótico causado na levedura, como observado em outros estudos (LIMA, 1975). Portanto, o uso deste fator em seu nível mais baixo é aconselhado.

A variação da concentração do superfosfato triplo não apresenta um efeito significativo no rendimento da fermentação, entretanto, em sua interação com o °Brix foi observado que o aumento nas duas concentrações causa diminuição no rendimento, provavelmente devido ao grande aumento no estresse osmótico. Por isso, a adição do superfosfato deve ser feita em níveis inferiores. Silva et al. (2008) observaram que havia um aumento da produtividade (rendimento relacionado ao tempo de fermentação) com o aumento na quantidade de fósforo até o nível estudado, e sugeriu-se uso do nutriente em quantidade equivalente a aproximadamente 1 g/L de superfosfato triplo.

As variáveis sulfato de amônio e sulfato de cobre nos níveis estudados pouco afetaram a variável tempo de fermentação e não foram significativas no rendimento de etanol. Como a levedura necessita de nitrogênio para seu metabolismo, provavelmente a adição de sulfato de amônio em seu nível mínimo estudado já foi suficiente, não sendo indicado a sua retirada total. Silva et al. (2008) encontraram 2,8 g/L como a concentração indicada de sulfato de amônio, e diminuição na produtividade da fermentação em maiores ou menores concentrações. Já o sulfato de cobre, por apresentar um custo mais elevado, e segundo a literatura (LIMA et al., 2001), necessidades de concentrações pequenas para o metabolismo da levedura, indica-se retirá-lo da formulação.

O fator Farelo de arroz também não apresentou efeito significativo, e apresentou efeito positivo nas duas variáveis de resposta avaliadas, ou seja, o aumento de sua quantidade adicionada na fermentação causa pequeno aumento no tempo de fermentação, mas também pequeno aumento no rendimento de

etanol. Um aumento bastante significativo no rendimento de etanol com adição de farelo de arroz havia sido observado no trabalho de Domínguez, Nelson e Maia (1997), que também detectaram diminuição na acidez na cachaça obtida, além de menores teores de aldeídos, ésteres e álcoois superiores. Os autores atribuíram esses efeitos à presença de ácidos graxos insaturados, magnésio, vitaminas e proteínas. Além disso, o farelo de arroz é um resíduo da agroindústria, sendo indicado manter sua adição no processo de fermentação no nível +1, de 5 g/L.

Portanto, definindo as condições operacionais para obtenção de um tempo de fermentação reduzido e um alto rendimento de etanol através da observação das curvas de níveis (Figuras 1, 2 e 3), a indicação é utilizar um mosto contendo 14°Brix, 0,5 g/L de superfosfato triplo, 0,5 g/L de sulfato de zinco, 0,2 g/L de sulfato de manganês, 5 g/L de fubá de milho. Também é indicado a manutenção de 0,5 g/L de sulfato de amônio e 5 g/L de farelo de arroz.

CONCLUSÕES

Os resultados indicaram que o planejamento experimental pode ser usado para indicar quais fatores influenciam o tempo de fermentação e o rendimento de etanol no processo de fermentação. Também pode ser usado para prever o tempo de fermentação em diferentes condições, considerando-se as variáveis usadas.

Nas condições usadas no experimento foi observado que o °Brix e os teores superfosfato triplo, sulfato de zinco, sulfato de manganês e fubá de milho podem ser controlados para se obter um menor tempo de fermentação e um melhor rendimento em etanol. Já os teores de sulfato de amônio, sulfato de cobre e farelo de arroz testados não influenciaram significativamente.

Análise estatística paramétrica de fatores de operação no processo de fermentação para obtenção de cachaça

ABSTRACT

Brazilian sugar cane spirit (cachaça) production is traditional among rural producers in Santo Antônio da Patrulha-RS-Brazil. In this work, in similar conditions used by the producers, the effect of different °Brix and nutrients concentration on sugar cane juice fermentation time and ethanol yield was tested. Sixteen experiments were executed, predicted in a statistical planning, in order to identify the effect of eight factors. The results indicate that the increase on manganese sulfate concentration and cornmeal amount, and also the zinc sulfate concentration increase in interaction effect with higher °Brix, cause increase in fermentation time. It was also observed that the ethanol yield was higher at lower °Brix and at higher triple superphosphate amount in interaction effect with higher °Brix. Ammonium sulfate and copper sulfate concentrations, and also rice bran amount had no significant influence on the process. The best parameters determined, at local conditions, to obtain the lowest fermentation time and higher ethanol yield are the following: 14°Brix, triple superphosphate 0.5 g/L, zinc sulfate 0.5 g/L, manganese sulfate 0.2 g/L, cornmeal 5 g/L. It is also indicated the maintenance of ammonium sulfate 0.5 g/L and rice bran 5 g/L.

KEYWORDS: Cachaça. Fermentation. Nutrients. Statistical planning.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao MEC pelo auxílio dentro dos editais PROEXT 2013 e PROEXT 2014, e R. R. C. J. pelas Bolsas Extensão concedidas dentro dos mesmos editais. R. G. G. e B. T. S. agradecem à FURG pelas Bolsas Permanência. Os autores também agradecem aos produtores rurais e à EMATER-RS/ASCAR do município pelo fornecimento e transporte do caldo de cana-de-açúcar para os experimentos.

REFERÊNCIAS

AMORIM, H.V. Nutrição mineral da levedura, aspectos teóricos e práticos. In: Semana de Fermentação Alcoólica “Jaime Rocha de Almeida”, 4., Piracicaba-SP, Anais, p. 144–148, 1985.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos. São Paulo-SP: Edgard Blucher, 2001, V4.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), Manual operacional de bebidas e vinagres. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/animal/laboratorios/publicacoes>>. Acesso em 09 set. 2014.

CANCELIER, A.; CAPELETTO, C.; PEREIRA, B. A.; TODESCATO, D.; COSTELLI, M. C.; SILVA, A.; LOPES, T. J. Influência de parâmetros de processo na obtenção de bebida fermento-destilada de uva-japão (*Hoveniadelphus Thunberg*), Brazilian Journal of Food Technology, v. 16, n. 1, p. 59-67, 2013.

CLETO, F.V.G. Influência da adição de ácido sulfúrico e fubá de milho no processo fermentativo, rendimento e composição da aguardente de cana. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 1997.

CRISPIM, J. E.; CONTESSI, A. Z.; VIEIRA, S. A. Manual da Produção de Aguardente de Qualidade. Guaíba-RS: Livraria e Editora Agropecuária, 2000.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. Determinação de fosfatos em caldo e mosto de cana-de-açúcar, STAB - Açúcar e Álcool e Subprodutos, v.2, n.4, p. 42–45, 1984.

DOMÍNGUEZ, V.E.L.; NELSON, D. L.; MAIA, A.B.R.A. Influência do fubá e do farelo de arroz sobre a formação de produtos secundários da fermentação alcoólica, STAB - Açúcar e Álcool e Subprodutos, v. 15, n. 3, p. 6-8, 1997

HONIG, P. Principios de tecnologia azucarera. México: Continental, 1969, V1.

LIMA, U.A. AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos. São Paulo-SP: Edgard Blucher, 2001, V3.

LIMA, U. A. Tecnologia das fermentações. São Paulo-SP: Edgard Blucher, 1975. V1.

LOPES, R. L. T. Dossiê Técnico, Processamento de Cachaça de Alambique, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, CETEC, 2007, Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MTc4>>. Acesso em: 06 set. 2014.

MALTA, H. L. Estudos de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2006.

MAIA, A.B.R.A. Fermentação alcoólica de *Saccharomyces cerevisiae*: desenvolvimento de um novo sistema e novas concepções sobre a formulação de meios. 210 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1992.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Aguardente. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Org.). Bebidas alcoólicas. São Paulo-SP: Edgard Blucher, 2005, p. 485-524.

PATARO, C.; GOMES, F.C.O.; ARAÚJO, R.A.C.; ROSA, C.A.; SCHWAN, R.F.; CAMPOS, C.R.; CLARET, A.S.; CASTRO, H.A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique, Informe Agropecuário, EPAMIG, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.

SANTOS, A. M. Estudo da Influência da Complementação de Nutrientes no Mosto Sobre o Processo de Fermentação Alcoólica em Batelada. 77f. Dissertação (Mestrado), - Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, 2008.

SILVA, J. A.; DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, F. L. H.; MADRUGA, M. S.; SANTANA, D. P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica, Química Nova, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008.

SILVA, C. N.; SILVA, A.; VALENTE, A. L. S.; PEIXOTO, C. R. M.; GONCALVES, F. F.; KOKUBUN, F.; SCHMIDT, F. H.; GARDA-BUFFON, J.; BÜHLER, J.; SCHMIDT, L.; SILVA, L.S.; ROJAHN, L. A.; KURZ, M. H. S.; BADEJO, M. S.; FERREIRA, P. O.; ROJAHN, P. R.; SCHNEIDER, S. E.; MARTINS, V. G. Agricultura familiar em Santo Antônio da Patrulha-RS: organização e auxílio técnico à produção de derivados de

cana-de-açúcar. In: 11^o Mostra da Produção Universitária da FURG-XV, Seminário de Extensão, Rio Grande-RS, Anais da MPU,2012, V11.

STEHLIK-TOMAS, V.; ZETIC, V. G.; STANZER, D.; GRBA, S.; VAHCIC, N. Zn, Cu and Mn Enrichment in *S. Cerevisiae*. Food Technology. Biotechnology, v. 42, n. 2, p.115–120, 2004.

STUPIELLO, J.P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. Saccharum, v.4, n. 17, p. 43–46, 1981.

TODESCATO, D.; CATARINA, L. S.; FORTES, L. D.; LOPES, T. J.; SILVA, A.; COSTELLI, M. C.; CANCELIER, A. Influência da adição de nutrientes na cinética de fermentação de suco de uva-Japão por *Saccharomyces* sp. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, v. 2, n. 1, p. 23-26, 2011.

VASCONCELOS, J. N. Influência da complementação de nutrientes nitrogenados e fosfatados sobre o processo de fermentação alcoólica industrial, Brasil Açucareiro, v.4, 5 e 6, n.105, p. 41–48, 1987.

VENTURINI FILHO, W. G.; NOGUEIRA, A. M. P. Aguardentes e Cachaça, Botucatu, 2013. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Horticultura/aguardentes-e-cachaca-2013.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2014.

Recebido: 05 nov. 2015.

Aprovado: 19 fev. 2016.

DOI: 10.14685/rebrapa.v7n1.3443

Como citar:

LOPES, T. J. et al. Análise estatística paramétrica de fatores de operação no processo de fermentação para obtenção de cachaça. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 7, n.1, p. 1-16, jan./abr. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>>

Correspondência:

Toni Jefferson Lopes

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Campus Santo Antônio da Patrulha, Rua Barão do Cai, 125, Cidade Alta, Santo Antônio da Patrulha, Rio Grande do Sul, Brasil

Direito autorial: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

