



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL
Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira



JOSE LUCAS DA SILVA RODRIGUES BATISTA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO NA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA**

João Pessoa/PB

2021

Jose Lucas da Silva Rodrigues Batista

**EFEITO DA ADIÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO NA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA**

Trabalho de Conclusão do Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do grau de Tecnólogo em Produção Sucroalcooleira.

Orientador(a): Prof Dr. Kelson Carvalho Lopes

João Pessoa/PB

2021

ESPAÇO RESERVADO PARA A FICHA CATALOGRÁFICA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO NA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA**

Jose Lucas da Silva Rodrigues Batista

TCC aprovado em **09 / 12 / 21** como requisito para a conclusão do curso de
Tecnologia em Produção Sucoalcooleira da Universidade Federal da Paraíba.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr Kelson Carvalho Lopes - (UFPB –Orientador)



Profª. Drª. Márcia Helena Pontieri - (UFPB – Membro interno)



Prof. Drª. Marcia Aparecida Cezar - (UFPB – Membro interno)

João Pessoa, 09 de dezembro de 2021.

DEDICATÓRIA

Quero dedicar em primeiro lugar à Deus por esta conquista, não seria possível chegar até aqui sem Ele, agradecer aos meus pais Aurení Rodrigues e Antônio Félix, por todos os ensinamentos, e motivação diária, a minha esposa Valéria por sempre estar ao meu lado me apoiando, as minhas tias Andréa Félix e Maria José, que sempre me incentivaram e apoiaram para que hoje estivesse aqui e ao professor orientador e amigo Kelson, obrigado!

AGRADECIMENTOS

Sou grato primeiramente a Deus, por esta oportunidade, por mim dar sabedoria, discernimento, dentre tantas dificuldades enfrentadas por todo percurso até aqui, consegui finalizar mais uma etapa em minha vida.

Agradecimento aos meus pais Aurení Rodrigues e Antônio Félix, que sempre estiveram ao meu lado, acreditando no meu potencial, fazendo com o que eu nunca parasse pela metade, sempre aconselhando, dando todo o suporte que precisei, e hoje se tornou realidade um sonho que venho buscando há anos. Minhas tias, Andréa Félix e Maria José, que estiveram sempre ao meu lado, grato por todos os ensinamentos e conselhos que levarei pra todo sempre, minha esposa Valéria que esteve presente ao meu lado me apoiando sempre que precisei. Sem vocês eu não teria chegado até aqui, obrigado de todo coração, amo todos!

Ao professor Kelson Carvalho, por estar presente em toda trajetória do curso, que sempre nos ajudou a fazer dele uma experiência incrível, apesar de todas as dificuldades, chegamos até aqui, e sua ajuda e orientação foi extremamente indispensável na elaboração desse trabalho.

A todos os professores do Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira que engrandeceram com seus conhecimentos repassados e tiveram participação em cada palavra escrita nesse trabalho.

“Conquistas sem riscos são sonhos sem méritos. Ninguém é digno dos sonhos se não usar as derrotas para cultivá-las.

Augusto Cury

RESUMO

A cachaça está presente desde o início da colonização do Brasil, não se sabe ao certo onde teve sua primeira destilação, no entanto surgiu em nossos territórios por volta do ano de 1516 e 1532, originando o primeiro destilado da América latina. Para se manter no mercado, a cachaça passou por diversas transformações, implementações e aprimoramentos para conquistar cada vez mais mercados com produtos de boa qualidade. Para alcançar esses resultados, cada vez mais competitivos o produtor deve estar atento ao processo de fermentação, o qual pode ser melhorado através da adição de nutrientes ao caldo. O nitrogênio é um elemento essencial para multiplicação e crescimento das leveduras, como constituinte de várias substâncias orgânicas, como aminoácidos, proteínas, enzimas e outras. A adição de nutrientes em processos fermentativos, afetam os parâmetros cinéticos que definem as taxas de reprodução celular. O fósforo é essencial para o metabolismo energético e na síntese de ácidos nucleicos, sua função está na participação da produção de ATP, tanto na cadeia respiratória quanto na conversão de açúcar em álcool. Focado nesse produto desenvolveu-se um estudo com objetivo de avaliar o comportamento da fermentação alcoólica para produção de cachaça, empregando doses de nitrogênio (P. inferior = 5 g; P. central = 15 g; P. superior = 25 g) e fósforo nas quantidades (P. inferior = 12,5 g; P. central = 37,5 g; P. superior = 62,5 g) em dez fermentações alcoólicas simultâneas a uma temperatura controlada de 34 °C, sendo utilizada 7g da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em cada uma destas dornas. Foram realizados os experimentos em dornas de vidros de volume de 8 litros previamente esterilizadas. Ao longo do tempo eram retiradas amostras do vinho e verificado o consumo de substrato (brix), condutividade, pH do vinho e teor alcoólico, sendo possível gerar a partir do planejamento inicial destas 10 fermentações, as superfícies de resposta das fermentações do brix 6 ao 15, e suas respectivas curvas de contorno. A superfície de resposta, quando da fermentação alcoólica a Brix 6, demonstrou a importância dos pontos superiores (P. superior = 25,0) do planejamento tanto do nitrogênio quanto do fósforo para a produção dos maiores teores alcoólicos, o mesmo comportamento foi visto nas superfícies de resposta quando das fermentações a brix 9 e 12. Considerando apenas a superfície de resposta da fermentação com o brix 15, pensaríamos que os PONTOS (P. inferior = 5,0; P. central = 15,0; P. superior = 25,0) para o nitrogênio não teriam relevância para uma maior produção do teor alcoólico, o que as superfícies anteriores nos mostram que não é o caso, o que parece ter acontecido foi que todas as 25 g do nitrogênio, foram consumidas pelas leveduras nas fermentações de brix 6, 9 e 12, restando ainda na fermentação a brix 15, quantidades de fósforo a serem consumidas pelas leveduras, provavelmente pela maior quantidade utilizada desse nutriente. O presente trabalho, mostrou a importância dos nutrientes nitrogênio e fósforo para uma maior produção do teor alcoólico pelas leveduras. Mostrou também que a Dorna 8 (N= 15 g e F= 72,9 g), do início da fermentação alcoólica com brix 6 até a fermentação com brix 15, a temperatura controlada a 34 °C, foi a relação entre nitrogênio e fósforo que produziu os maiores teores alcoólicos

Palavras-chave: Cana de açúcar. Curvas de Contorno. Superfícies de Resposta. *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

A cachaça está presente desde o início da colonização do Brasil, não se sabe ao certo onde teve sua primeira destilação, no entanto surgiu em nossos territórios por volta do ano de 1516 e 1532, originando o primeiro destilado da América latina. Para se manter no mercado, a cachaça passou por diversas transformações, implementações e aprimoramentos para conquistar cada vez mais mercados com produtos de boa qualidade. Para alcançar esses resultados, cada vez mais competitivos o produtor deve estar atento ao processo de fermentação, o qual pode ser melhorado através da adição de nutrientes ao caldo. O nitrogênio é um elemento essencial para multiplicação e crescimento das leveduras, como constituinte de várias substâncias orgânicas, como aminoácidos, proteínas, enzimas e outras. A adição de nutrientes em processos fermentativos, afetam os parâmetros cinéticos que definem as taxas de reprodução celular. O fósforo é essencial para o metabolismo energético e na síntese de ácidos nucleicos, sua função está na participação da produção de ATP, tanto na cadeia respiratória quanto na conversão de açúcar em álcool. Focado nesse produto desenvolveu-se um estudo com objetivo de avaliar o comportamento da fermentação alcoólica para produção de cachaça, empregando doses de nitrogênio (P. inferior = 5 g; P. central = 15 g; P. superior = 25 g) e fósforo nas quantidades (P. inferior = 12,5 g; P. central = 37,5 g; P. superior = 62,5 g) em dez fermentações alcoólicas simultâneas a uma temperatura controlada de 34 °C, sendo utilizada 7g da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em cada uma destas dornas. Foram realizados os experimentos em dornas de vidros de volume de 8 litros previamente esterilizadas. Ao longo do tempo eram retiradas amostras do vinho e verificado o consumo de substrato (brix), condutividade, pH do vinho e teor alcoólico, sendo possível gerar a partir do planejamento inicial destas 10 fermentações, as superfícies de resposta das fermentações do brix 6 ao 15, e suas respectivas curvas de contorno. A superfície de resposta, quando da fermentação alcoólica a Brix 6, demonstrou a importância dos pontos superiores (P. superior = 25,0) do planejamento tanto do nitrogênio quanto do fósforo para a produção dos maiores teores alcoólicos, o mesmo comportamento foi visto nas superfícies de resposta quando das fermentações a brix 9 e 12. Considerando apenas a superfície de resposta da fermentação com o brix 15, pensaríamos que os PONTOS (P. inferior = 5,0; P. central = 15,0; P. superior = 25,0) para o nitrogênio não teriam relevância para uma maior produção do teor alcoólico, o que as superfícies anteriores nos mostram que não é o caso, o que parece ter acontecido foi que todas as 25 g do nitrogênio, foram consumidas pelas leveduras nas fermentações de brix 6, 9 e 12, restando ainda na fermentação a brix 15, quantidades de fósforo a serem consumidas pelas leveduras, provavelmente pela maior quantidade utilizada desse nutriente. O presente trabalho, mostrou a importância dos nutrientes nitrogênio e fósforo para uma maior produção do teor alcoólico pelas leveduras. Mostrou também que a Dorna 8 (N= 15 g e F= 72,9 g), do início da fermentação alcoólica com brix 6 até a fermentação com brix 15, a temperatura controlada a 34 °C, foi a relação entre nitrogênio e fósforo que produziu os maiores teores alcoólicos

Palavras-chave: Cana de açúcar. Curvas de Contorno. Superfícies de Resposta. *Saccharomyces cerevisiae*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Processo de produção da cachaça	16
Figura 2 - Reações que ocorrem no processo de fabricação da cachaça que influenciam no sabor e odor do produto	18
Figura 3- Tipos de Superfície de resposta	20
Figura 4- Caldo de cana-de-açúcar e distribuição nas dornas utilizadas.	22
Figura 5- Nutrientes utilizados no processo de fermentação.....	23
Figura 6- Procedimentos para preparação do pe de cuba da fermentação alcoólica do brix 6 ao 15.....	25
Figura 7- Acondicionamento das quantidades pesadas em garrafas plásticas de 2 litros.....	26
Figura 8- Fermentação alcoólica com temperatura controlada a 34°C	27
Figura 9- Medição da Condutividade, °Brix e o teor alcoólico em G.L	28
Figura 10- Pontos Inferior, Central, Superior e Axiais das Superfícies de Resposta e Curvas de contorno	34
Figura 11 --Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 6.	38
Figura 12- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 6	39
Figura 13-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 9.	40
Figura 14- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 9.	40
Figura 15-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 12	41
Figura 16- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 12.	41
Figura 17-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 15.	42
Figura 18- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 15.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade dos nutrientes em cada uma das dornas	24
Tabela 2 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 6 da fermentação alcoólica. As dornas foram classificadas em ordem decrescente de acordo com o teor alcoólico (G.L)	29
Tabela 3 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 9 da fermentação alcoólica	30
Tabela 4 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 12 da fermentação alcoólica	31
Tabela 5 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 15 da fermentação alcoólica	32
Tabela 6 -Resultados da menor soma de acordo com a classificação decrescente do teor alcoólico (G.L) do BRIX 6 ao 15	33
Tabela 7 – Quantidade dos nutrientes em cada uma das dornas	34
Tabela 8 -Resultados de Densidade, peso e volume, obtidos no processo fermentativo	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	14
2.1.1 Objetivo geral	14
2.1.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Denominação e potencialidade da cachaça.....	15
3.2 Processos de fabricação da cachaça	15
3.2.1 Fermentação alcoólica	17
3.3 Importância dos Nutrientes Nitrogênio e Fósforo para a Fermentação Alcoólica ..	19
3.4 O que são experimentos de superfície de resposta, experimentos centrais compostos?	20
3.4.1 O que é um experimento de superfície de resposta?	20
3.4.2 Experimentos centrais compostos	20
3.4.2.1 O que é um experimento central composto.....	20
3.4.2.2 Blocos ortogonais	21
3.4.2.3 Rotacionalidade	21
3.4.3 O que é um experimento centralizado na face?	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Cana-de-açúcar e Nutrientes	22
4.2 Fermentação Alcoólica	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 6.....	29
5.2 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 9.....	30
5.3 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 12.....	31
5.4 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 15.....	32
5.5 Classificação decrescente do teor alcoólico (G.L) do BRIX 6 ao 15	33
5.6 Densidade, peso e volume, obtidos no processo fermentativo.....	36
5.7 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno	38
5.7.1 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno (BRIX 6, 9 e 12)	38

5.7.2 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno (BRIX 15)	42
6 CONCLUSÕES	44
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	45
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1 INTRODUÇÃO

Falar da cachaça não é simplesmente descrever sobre qualquer bebida, mas sim descrever um produto que nasceu com as cores da bandeira do nosso país, produto que está difundido não só no Brasil, mas no mundo. A bebida carrega consigo fatos históricos que só ela presenciou, talvez seja por isso que é considerada um produto autêntico e genuinamente brasileiro. Esse título não foi conquistado por acaso, mas simplesmente por sua história que está presente desde os primórdios da colonização do Brasil. De modo geral podemos afirmar que desde o início do século XVII a bebida já era fabricada, uma aguardente de caldo de cana (CASCUDO, 2006).

Quando surgiu nos engenhos brasileiros a bebida era tida como um produto secundário e de baixo valor agregado. Sua produção era absorvida por classes sociais com poder aquisitivo mais baixo e com isso o seu volume de produção era reduzido. - (SOUZA, 2004).

Não se sabe ao certo onde deu início sua primeira destilação, no entanto, pode-se afirmar que surgiu em nosso território por volta do ano de 1516 e 1532 originando o primeiro destilado da América Latina (IBRAC, 2018).

A cada dia mais, a cachaça vem ganhando o seu espaço e se tornando um produto apreciado e cobiçado por muitos admiradores, com o tempo e evoluções tecnológicas a cachaça acabou ganhando cor, sabor e variações que há tempos atrás não se imaginaria, isso fez com que a nossa bebida galgasse outros horizontes, novos países e culturas diferentes. No entanto, nunca vai perder a sua essência e originalidade, pois cachaça com este nome e matéria prima só vai existir no Brasil. ***Desta forma Cachaça é a denominação típica e exclusiva da Aguardente de Cana produzida no Brasil com graduação alcoólica que varia entre 38-48 % e 20 °C*** (BRASIL, 2005).

2 OBJETIVO

2.1.1 *Objetivo geral*

Observar o comportamento da fermentação alcoólica para fabricação da cachaça em diferentes quantidades dos nutrientes Nitrogênio e Fósforo.

2.1.2 *Objetivos específicos*

- Realizar a etapa de fermentação alcoólica, variando as doses de nitrogênio e fósforo, totalizando 10 fermentações simultâneas.
- Analisar o comportamento da fermentação e realizar as leituras de brix, condutividade, pH e teor alcoólico;
- Gerar as superfícies de resposta das fermentações do brix 6 até o brix 15;
- Gerar as curvas de contorno das fermentações do brix 6 até o brix 15;
- Determinar com base nos resultados, entre estas 10 fermentações simultâneas, qual a melhor relação entre as quantidades de nitrogênio e fósforo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Denominação e potencialidade da cachaça

A cana-de-açúcar é uma planta herbácea, pertence à família das gramíneas mais precisamente da espécie *Saccharum officinarum* L., tem suas adaptações em climas tropicais e subtropical. (ALBUQUERQUE, 2012).

Os primeiros contatos com a cana-de-açúcar foram na Nova Guiné e disseminada na Índia (HISTÓRIA DA CANA, 2006). O cultivo desta cultura agrícola no Brasil foi responsável por desenvolver a economia brasileira nos dois primeiros séculos, fazendo com que sua colonização desenvolvesse de forma mais significativa. (MOKFA, 2015)

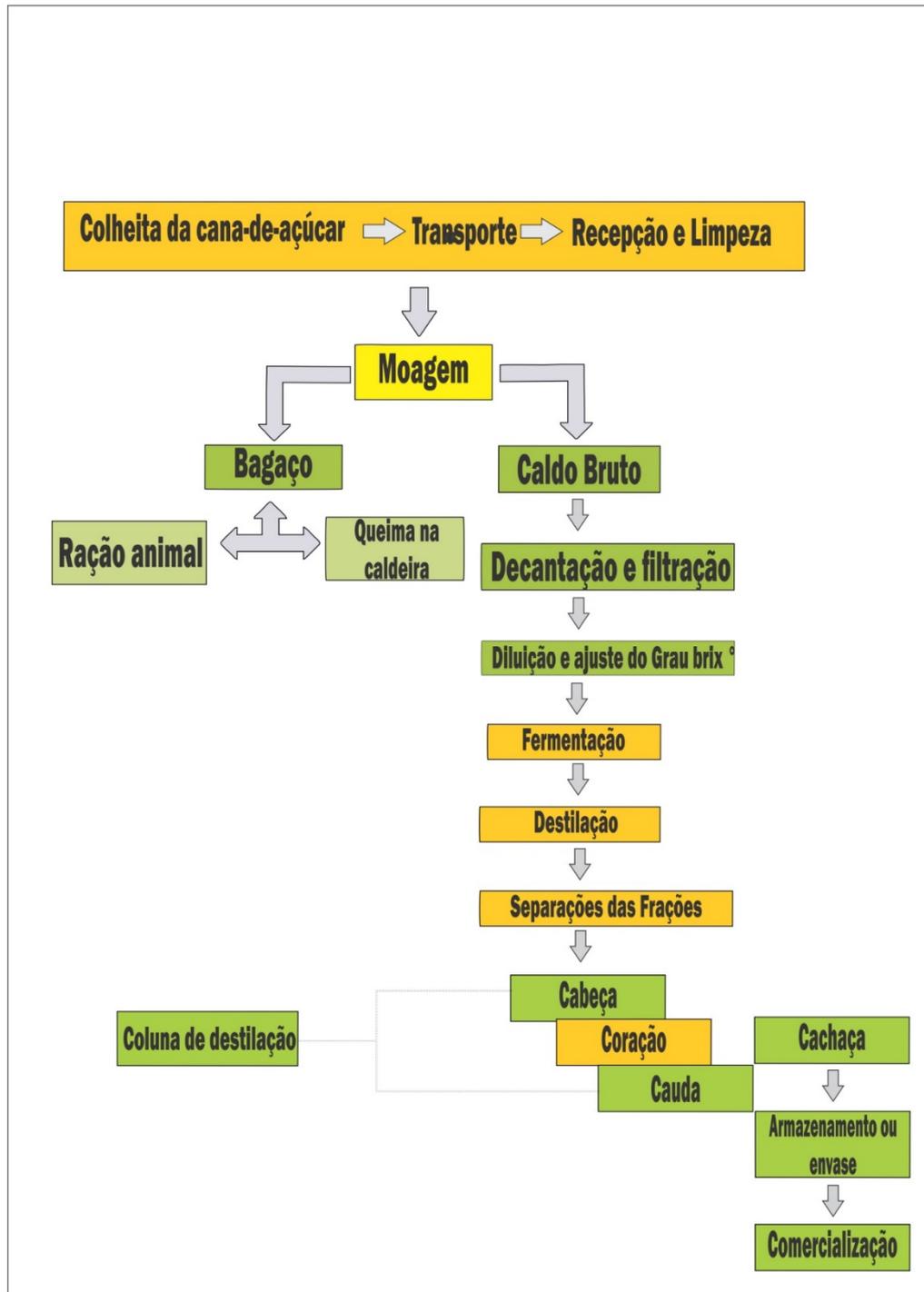
Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, ficando estabelecido sua graduação alcoólica de 38% a 48% a 20 °C obtido pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar (BRASIL, 2005).

A cachaça produzida em alambique de cobre oferece um sabor mais suave, isto é decorrente do material em que a bebida foi destilada, realçando o sabor e odor que só esses materiais oferecem ao destilado (LIMA et al., 2006).

3.2 Processos de fabricação da cachaça

Na Figura 1 observa-se o processo envolvido no processamento da matéria prima, que vai da colheita da cana-de-açúcar, extração do caldo, fermentação alcoólica até a destilação e a obtenção do produto final.

Figura 1- Processo de produção da cachaça



Fonte: Do autor (2021)

3.2.1 Fermentação alcoólica

A fermentação é definida bioquimicamente, como um processo de transformação de compostos orgânicos complexos em meio facultativo de oxigênio em substâncias simples formando álcoois e ácidos orgânicos. (BASTOS, 2010).

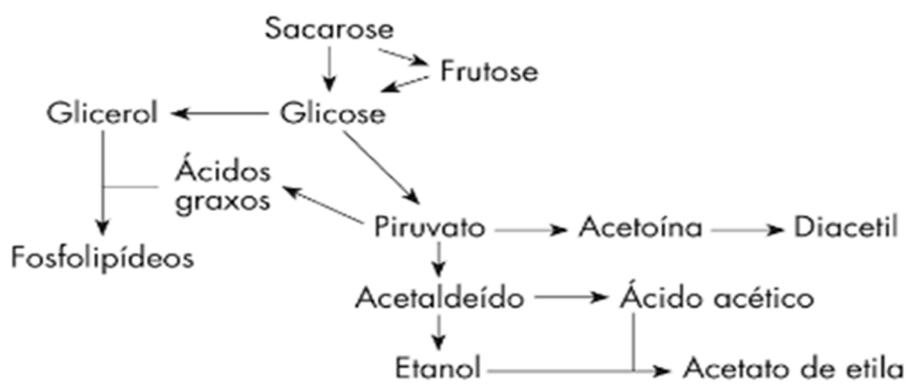
Segundo Silva (2016) para iniciar a fermentação são necessários microrganismos que consigam transformar esses açúcares em álcool, podendo ser obtidos naturalmente, denominados de fermento caipira, que vem com a cana-de-açúcar presentes nos colmos e bainhas da planta. Outro tipo de fermento é o misto realizado de uma combinação do fermento de panificação com o caipira. Um dos mais utilizado é o fermento selecionado amplamente utilizado e difundido pelos principais produtores de cachaça, ele é o mais indicado para processo por estabelecer maiores rendimentos e qualidade à bebida em relação aos outros.

As leveduras são responsáveis pela obtenção do álcool, muitas vezes esse processo é conduzido com leveduras selvagens, ocasionando oscilação na bebida por falta de padronização. (GONÇALVES, 2015).

O metabolismo das leveduras é responsável por produzir compostos secundários, dando a bebida aroma e sabor, em quantidades menores e são fatores que agregam valor ao produto. (PEREIRA, 2015). A seleção de leveduras é uns dos principais fatores que afeta a produção de cachaça. Esses microrganismos são responsáveis por fornecer ao produto características sensoriais únicos e exclusivos

Na Figura 2 observam-se os compostos formados através das reações de oxidação das leveduras no mosto.

Figura 2 - Reações que ocorrem no processo de fabricação da cachaça que influenciam no sabor e odor do produto



Fonte: Alcarde (1997)

Para a fermentação iniciar de forma homogênea e correta, é preciso ter nas dornas de fermentação uma certa quantidade de inóculo denominado de pé-de-cuba. É adicionado previamente nas dornas de fermentação cerca de 20 a 30 % de fermento ao volume total do mosto a ser fermentado. Com as leveduras previamente na dorna, é adicionado o caldo de cana diluído e ajustado para uma faixa de 14 a 16 ° brix. Recomenda-se que essas transferências do caldo para a dorna sejam feitas de forma lenta e por um certo período de tempo que varia de seis a oito horas, diminuindo assim o estresse nas leveduras e reduzindo a produção de compostos não desejáveis.

A fermentação leva em torno de 24 h para consumir todos os açúcares que estão presentes no caldo no momento da fermentação. Ressaltando que esse tempo pode variar de acordo com a elaboração da fermentação e cuidados tomados em relação a temperatura, pH, concentração do pé de cuba e concentrações de açúcares. As principais indicações que a fermentação está no final são: diminuição de gás carbônico, redução gradativa da temperatura e diminuição do percentual dos teores de açúcar chegando a zero (CECATO-ANTONINI, 2010).

O mosto após ser fermentado é denominado de vinho. Nesta etapa é realizado a decantação das leveduras que se depositam no fundo das dornas. O vinho sem leveduras é enviado para as panelas do alambique e o fermento é regenerado. Esse processo é denominado de batelada onde se repete a cada ciclo dando continuidade no processo (SILVA, 2016).

3.3 Importância dos Nutrientes Nitrogênio e Fósforo para a Fermentação Alcoólica

Um elemento importante para a qualidade do produto final é o nitrogênio amoniacal. Na ausência deste, a levedura irá metabolizar outros compostos, como os aminoácidos, cujo desdobramento resultam substâncias indesejáveis, verificando um sensível aumento no teor de álcoois superiores (NOGUEIRA & VENTURINI FILHO, 2005). O fósforo, na forma de P_2O_5 , é de extrema importância para que ocorra a formação de álcool durante a fermentação. Além de favorecer a ação das leveduras, o fósforo também aumenta o rendimento alcoólico da fermentação. (SANTOS, 2008, p. 12)

Devido à importância dos sais minerais no processo fermentativo, alguns autores descreveram as funções de alguns elementos minerais Santos (2008), p. 13. Nitrogênio é um elemento essencial para os organismos vivos, pois é um componente para a síntese de proteínas e ácidos nucléicos. As leveduras utilizam uma ampla variedade de compostos nitrogenados, porém nem todas as fontes propiciam crescimento igualmente eficiente. Fósforo é essencial para o metabolismo energético e na síntese de ácidos nucléicos. Tem importância na transformação do açúcar em álcool e na produção de ATP, tanto na glicólise como na cadeia respiratória. (AMORIM, 1977; SUOM ALAINE & OURA, 1971 apud VASCONCELOS, 1987)

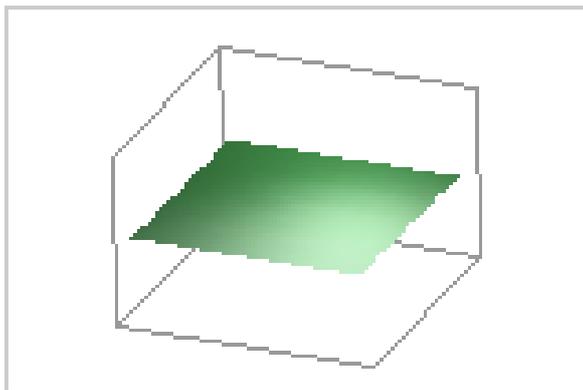
Muito se discute em relação a necessidade ou não de suplementação de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, alguns pesquisadores concluem que a adição é benéfica, enquanto outros questionam o assunto. (MARTINS, 2009, p. 20). O fósforo, por exemplo, apresenta grande importância na fermentação, pois representa fonte de energia para o metabolismo celular. Entretanto, foi verificado que o fósforo acelera a formação de álcoois superiores, principalmente devido ao efeito sinérgico, quando combinado ao nitrogênio (SILVA et al., 2006).

3.4 O que são experimentos de superfície de resposta, experimentos centrais compostos?

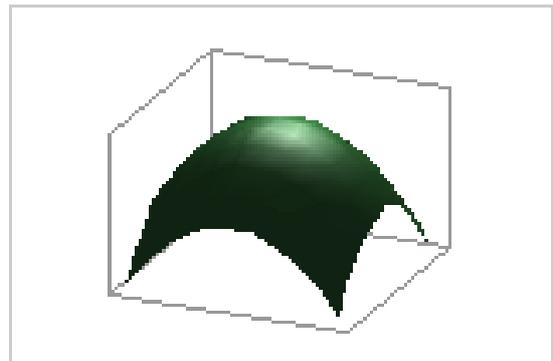
3.4.1 O que é um experimento de superfície de resposta?

Um experimento de resposta de superfície é um conjunto de técnicas avançadas de planejamento de experimentos (DOE) que ajudam a entender e otimizar melhor a resposta. A metodologia do experimento de superfície de resposta é usada, frequentemente, para refinar modelos após a determinação dos fatores importantes por meio de filtragem de experimentos ou experimentos fatoriais, especialmente quando existe suspeita de curvatura na superfície de resposta. (MINITAB, 2021)

Figura 3- Tipos de **Superfície de resposta**



Superfície de resposta sem curvatura



Superfície de resposta com curvatura

Fonte: MINITAB (2021)

3.4.2 Experimentos centrais compostos

Os experimentos centrais compostos podem ajustar um modelo quadrático completo. Eles são frequentemente usados quando o plano do experimento pede uma experimentação sequencial porque esses experimentos podem incluir informações a partir de um experimento fatorial corretamente planejado.

3.4.2.1 O que é um experimento central composto

Um experimento central composto é o experimento de superfície de resposta mais comumente utilizado. Experimentos centrais compostos são experimentos fatoriais completos ou fracionados com pontos centrais, ampliados com um grupo de pontos axiais (também chamados pontos estrela) que permitem estimar curvas.

3.4.2.2 Blocos ortogonais

Experimentos compostos centrais são frequentemente criados com um ou mais blocos. Experimentos de blocos ortogonais podem criar blocos ortogonais que permitem estimar termos do modelo e efeitos de bloco independentemente e minimizar a variação nos coeficientes de regressão.

3.4.2.3 Rotacionalidade

Experimentos rotativos fornecem variância de predição constante em todos os pontos equidistantes do centro do experimento.

3.4.3 O que é um experimento centralizado na face?

Experimentos centralizados na face são um tipo de experimento central composto com alfa igual a 1. Nesse experimento, os pontos axiais estão no centro de cada face do espaço fatorial, de forma que os níveis são = +1. Essa variedade de experimento requer 3 níveis para cada fator. Aumentar um experimento fatorial ou de resolução V existente com pontos axiais pertinentes também pode produzir este experimento. (MINITAB, 2021)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido nos laboratórios de Tecnologia Sucroalcooleira e de Operações Unitárias, situados no Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR), no qual faz parte da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Foram reproduzidas as etapas de operações unitárias, que são empregadas no processo de produção da cachaça. No decorrer das etapas foram realizadas as análises de pH, condutividade, teor alcoólico, monitoramento da temperatura das dornas e verificado o índice de sólidos solúveis (Brix).

4.1 Cana-de-açúcar e Nutrientes

Foi utilizado o caldo obtido da variedade RB 92579 de cana-de-açúcar, que se encontrava congelado, e posteriormente

A matéria prima (caldo de cana) foi novamente peneirada para retirada de sujidades do processo de moagem industrial

Foram utilizados cerca de 70 litros de caldo de cana para as fermentações realizadas simultaneamente em 10 dornas com 8 litros de capacidade, a temperatura controlada de 34 °C. **Figura 4**

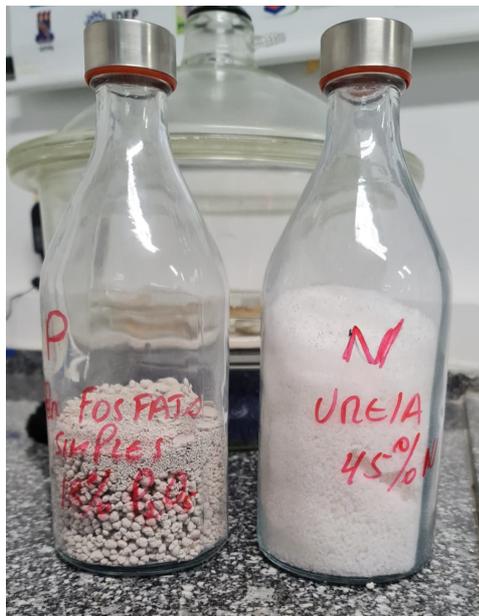
Figura 4- Caldo de cana-de-açúcar e distribuição nas dornas utilizadas.



Fonte: Do autor (2021)

O nitrogênio utilizado foi proveniente da **ureia (45% N)** e o fósforo proveniente do superfosfato simples (**18% P_2O_5**), triturados para diminuir sua granulometria, diluídos em 700 ml de H_2O para melhor aproveitamento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* selecionada, própria para a fermentação alcoólica (Figura 7).

Figura 5- Nutrientes utilizados no processo de fermentação.



(A) Nutrientes



(B) superfosfato simples 18% P_2O_5 Triturado

Fonte: Do autor (2021)

4.2 Fermentação Alcoólica

No primeiro dia da fermentação, foram pesadas quantidades diferentes dos nutrientes para cada dorna utilizada, as quantidades de nitrogênio e fósforo foram apresentadas na Tabela 1

Tabela 1 – Quantidade dos nutrientes em cada uma das dornas

Dorna	NITROGÊNIO (g) ¹	FOSFORO (g) ²	45% P ₂ O ₅ (g) ³
1	5,0	5,0	12,5
2	5,0	25,0	62,5
3	25,0	5,0	12,5
4	25,0	25,0	62,5
5	0,9 ⁴	15,0	37,5
6	29,1	15,0	37,5
7	15,0	0,9	2,1
8	15,0	29,1	72,9
9 (C)	15,0	15,0	37,5
10 (C)	15,0	15,0	37,5

Fonte: Do autor (2021)

Cabe esclarecer que a coluna (45% P₂O₅) na Tabela 1, representa o peso em gramas do superfosfato simples caso o mesmo tivesse 45% de fósforo em sua composição e não 18%, o intuito na criação de mais esta coluna, foi deixar o superfosfato simples com a mesma porcentagem do nutriente fósforo que a ureia (45%N), não fazendo com que a diferença de porcentagens, fosse mais um fator a influir no trabalho.

Na Figura 6, mostramos a rotina utilizada durante os quatro dias de fermentação.

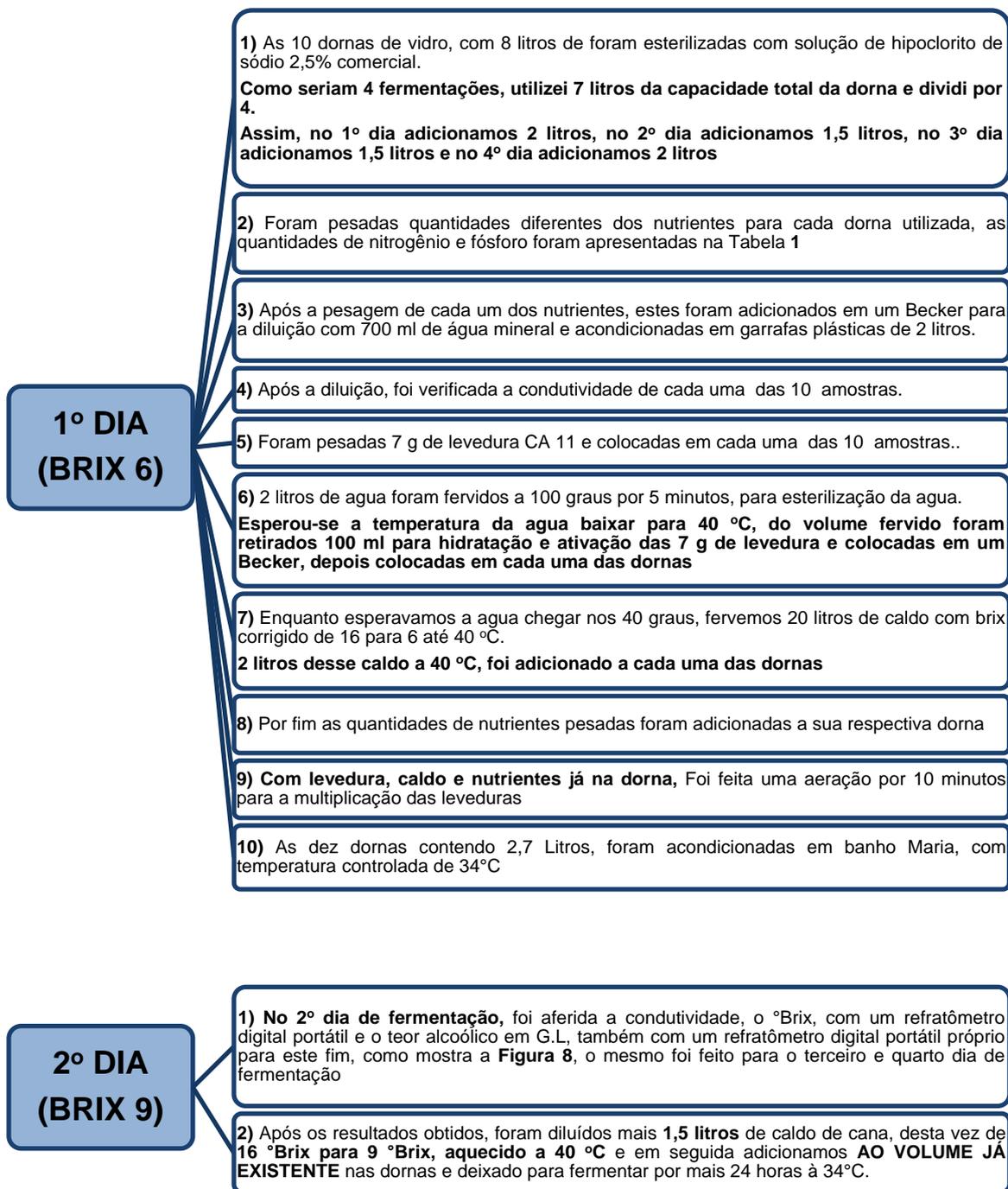
¹ Ponto inferior = 5,0; Ponto central = 15,0; Ponto superior = 25,0

² Ponto inferior = 5,0; Ponto central = 15,0; Ponto superior = 25,0

³ Esta coluna representa o equivalente a 45% P₂O₅, que é a porcentagem de nitrogênio na ureia e foi a quantidade de fosfato pesada e utilizada no trabalho.

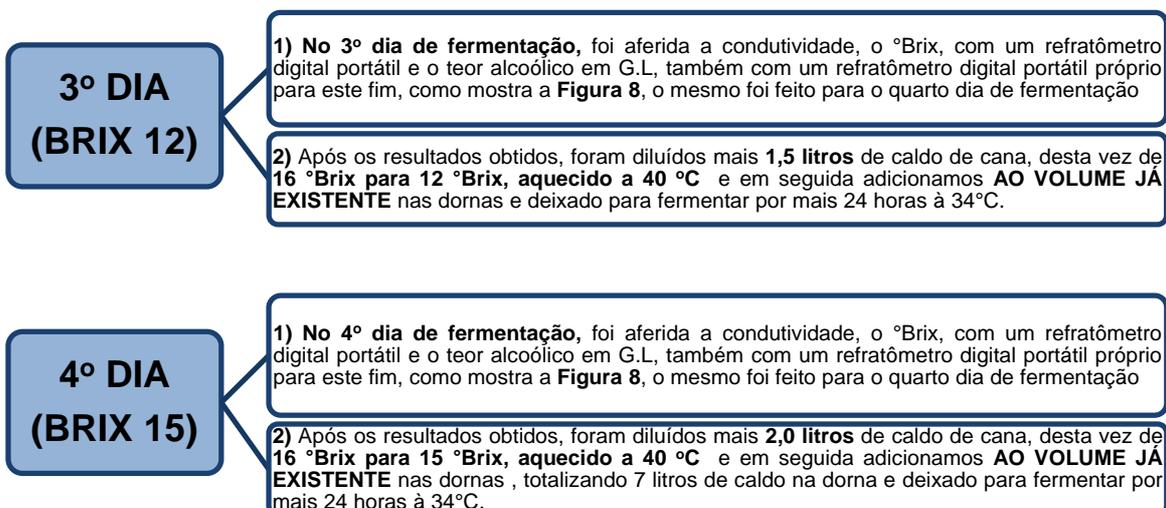
⁴ Em azul temos os pontos axiais

Figura 6- Procedimentos para preparação do pé de cuba da fermentação alcoólica do brix 6 ao 15.



Continua ...

Continuação da Figura 6 ...



Fonte: Do autor (2021)

Fermentação concluída após as 24 horas, os resultados obtidos na fermentação são apresentados nas **Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, e Tabela 5**

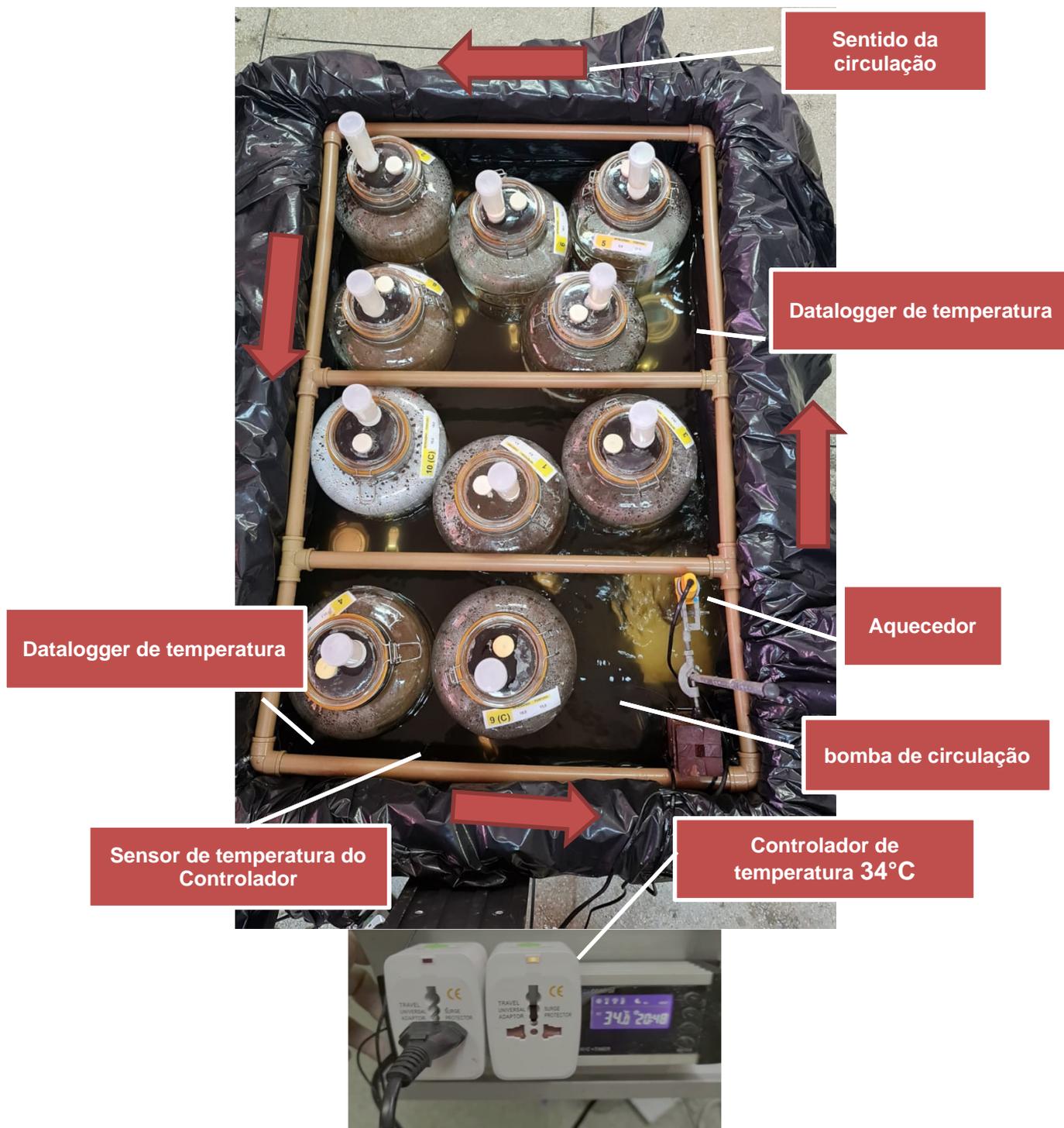
Por fim, pesamos o peso bruto da dorna com o mosto fermentado, e em seguida a dorna vazia para obter o volume do caldo, bem como o valor do pé de cuba final e os demais resultados. **Tabela 8**

Figura 7- Acondicionamento das quantidades pesadas em garrafas plásticas de 2 litros



Fonte: Do autor (2021)

Figura 8- Fermentação alcoólica com temperatura controlada a 34°C



Fonte: Do autor (2021)

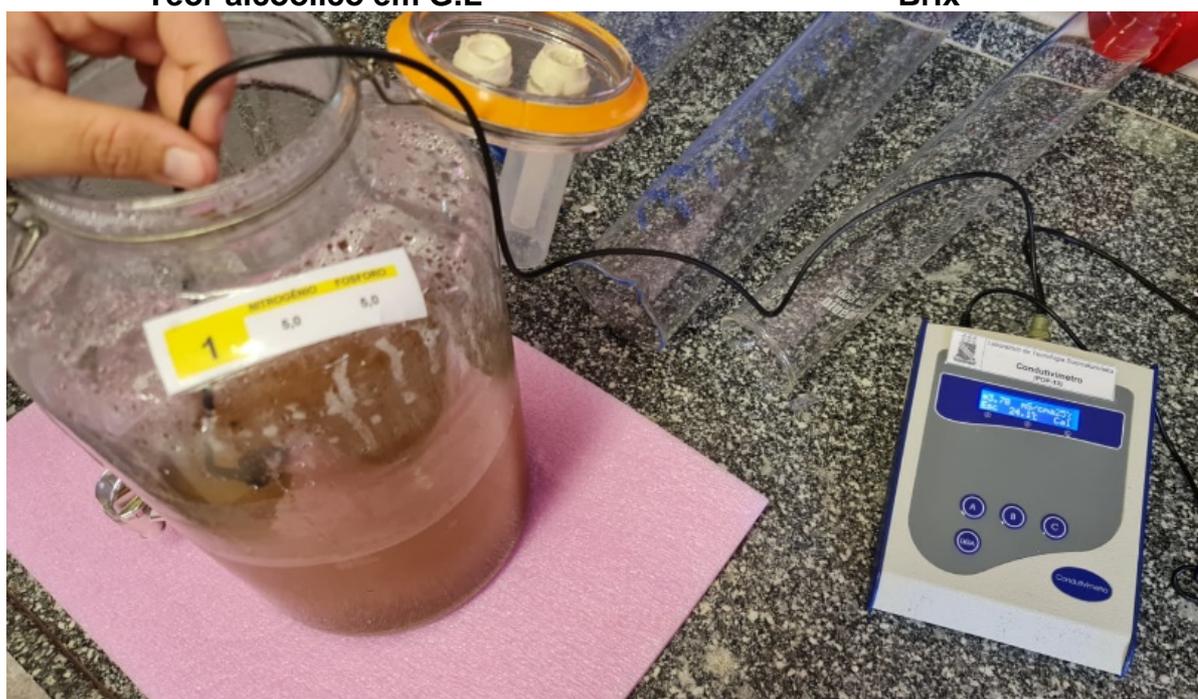
Figura 9- Medição da Condutividade, °Brix e o teor alcoólico em G.L



Teor alcoólico em G.L



°Brix



Condutividade

Fonte: Do autor (2021)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 6

Tabela 2 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 6 da fermentação alcoólica. As dornas foram classificadas em ordem decrescente de acordo com o teor alcoólico (G.L)

BRIX 6										
DORNA	Condutividade (μS) INICIAL (antes da dorna)	Condutividade (μS) INICIAL BRIX 6	Condutividade (μS) FINAL BRIX 6 (24h DEPOIS)⁵	Variação Condutividade	pH	BRIX INICIAL (°BRIX)	BRIX FINAL (24h) (°BRIX)	Variação BRIX	Teor Alcoólico G.L.	Classificação
8	12,23	5,22	6,45	1,23	---	6	4,50	-1,50	14,00	1
4	10,93	4,76	5,80	1,04	---	6	4,40	-1,60	12,00	2
6	8,38	4,01	5,01	1,00	---	6	3,50	-2,50	10,00	3
9 (C)	8,19	3,71	5,08	1,37	---	6	3,00	-3,00	10,00	3
10 (C)	8,72	3,88	4,95	1,07	---	6	3,10	-2,90	10,00	3
2	9,85	4,91	5,82	0,91	---	6	3,30	-2,70	9,00	4
3	4,03	2,91	3,64	0,73	---	6	2,90	-3,10	9,00	4
5	8,22	4,05	4,96	0,91	---	6	2,70	-3,30	8,00	5
1	3,87	3,09	3,78	0,69	---	6	2,30	-3,70	7,00	6
7	6,33	1,84	2,31	0,47	---	6	2,40	-3,60	7,00	6

Fonte: Do autor (2021)

⁵ Estes dados, serão utilizados como a condutividade INICIAL, na fermentação do dia seguinte

5.2 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 9

Tabela 3 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 9 da fermentação alcoólica

BRIX 9									
DORNA	Condutividade (μS) INICIAL BRIX 9	Condutividade (μS) FINAL BRIX 9 (24h DEPOIS)	Variação Condutividade	pH	BRIX INICIAL (°BRIX)	BRIX FINAL (24h) (°BRIX)	Variação BRIX	Teor Alcoólico G.L.	Classificação
8	6,45	4,23 ⁶	-2,22	3,78	9	6,80	-2,20	16,00	1
4	5,80	3,90	-1,90	3,94	9	5,70	-3,30	15,00	2
6	5,01	3,61	-1,40	3,71	9	6,30	-2,70	15,00	2
3	3,64	2,86	-0,78	3,88	9	4,80	-4,20	14,00	3
9 (C)	5,08	3,53	-1,55	3,88	9	5,20	-3,80	14,00	3
10 (C)	4,95	3,48	-1,47	3,76	9	4,90	-4,10	14,00	3
2	5,82	3,86	-1,96	3,52	9	5,50	-3,50	13,00	4
5	4,96	3,50	-1,46	3,70	9	4,80	-4,20	13,00	4
1	3,78	2,64	-1,14	3,86	9	4,00	-5,00	12,00	5
7	2,31	2,02	-0,29	4,05	9	4,10	-4,90	12,00	5

Fonte: Do autor (2021)

⁶ Estes dados, serão utilizados como a condutividade INICIAL, na fermentação do dia seguinte

5.3 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 12

Tabela 4 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 12 da fermentação alcoólica

BRIX 12									
DORNA	Condutividade (μS) INICIAL BRIX 12	Condutividade (μS) FINAL BRIX 12 (24h DEPOIS)⁷	Variação Condutividade	pH	BRIX INICIAL (°BRIX)	BRIX FINAL (24h) (°BRIX)	Variação BRIX	Teor Alcoólico G.L.	Classificação
8	4,23	4,02	-0,21	3,93	12	5,90	-6,10	13,00	1
3	2,86	3,13	0,27	4,05	12	3,60	-8,40	12,00	2
4	3,90	3,91	0,01	4,02	12	4,80	-7,20	12,00	2
6	3,61	3,64	0,03	4,01	12	4,00	-8,00	12,00	2
9 (C)	3,53	3,40	-0,13	3,85	12	4,10	-7,90	12,00	2
2	3,86	3,61	-0,25	4,10	12	3,90	-8,10	11,00	3
5	3,50	3,29	-0,21	4,01	12	3,90	-8,10	11,00	3
10 (C)	3,48	3,61	0,13	3,99	12	3,90	-8,10	11,00	3
1	2,64	2,87	0,23	3,99	12	3,40	-8,60	10,00	4
7	2,02	2,41	0,39	4,25	12	3,40	-8,60	9,00	5

Fonte: Do autor (2021)

⁷ Estes dados, serão utilizados como a condutividade INICIAL, na fermentação do dia seguinte

5.4 pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 15

Tabela 5 -Resultados de pH, brix, condutividade e G.L. para o BRIX 15 da fermentação alcoólica

BRIX 15									
DORNA	Condutividade (μS) INICIAL BRIX 15	Condutividade (μS) FINAL BRIX 15 (24h DEPOIS)	Variação Condutividade	pH	BRIX INICIAL (°BRIX)	BRIX FINAL (24h) (°BRIX)	Variação BRIX	Teor Alcoólico G.L.	Classificação
8	4,02	3,50	-0,52	3,66	15	5,30	-9,70	16,00	1
2	3,61	3,34	-0,27	3,68	15	6,10	-8,90	15,00	2
5	3,29	3,12	-0,17	3,74	15	5,30	-9,70	15,00	2
4	3,91	3,75	-0,16	3,98	15	5,60	-9,40	14,00	3
6	3,64	3,49	-0,15	3,98	15	6,10	-8,90	14,00	3
1	2,87	2,64	-0,23	4,07	15	5,50	-9,50	13,00	4
3	3,13	3,03	-0,10	4,04	15	4,50	-10,50	13,00	4
9 (C)	3,40	3,41	0,01	3,79	15	4,60	-10,40	13,00	4
10 (C)	3,61	3,25	-0,36	3,85	15	4,60	-10,40	13,00	4
7	2,41	2,53	0,12	4,06	15	4,60	-10,40	12,00	5

Fonte: Do autor (2021)

5.5 Classificação decrescente do teor alcoólico (G.L) do BRIX 6 ao 15

As dornas que produziram as maiores quantidades de teor alcoólico, são mostradas na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4 e Tabela 5 e agrupadas na Tabela 6

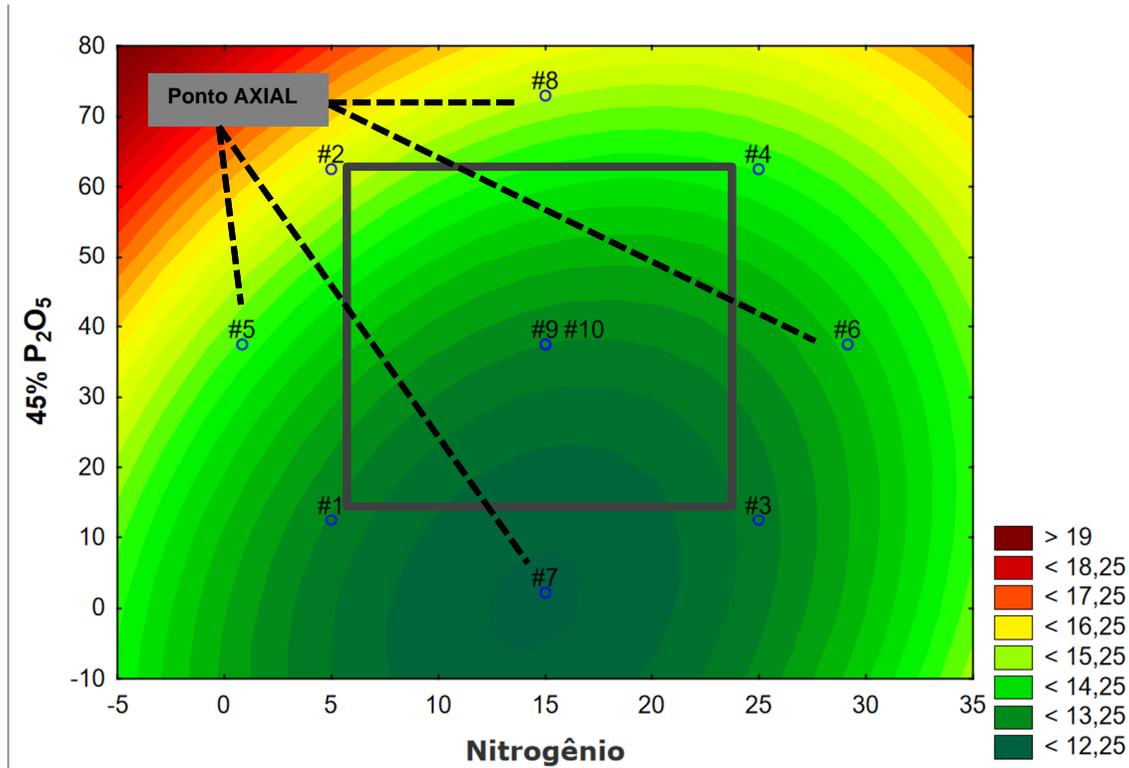
Tabela 6 -Resultados da menor soma de acordo com a classificação decrescente do teor alcoólico (G.L) do BRIX 6 ao 15

SOMA ⁸	BRIX 6			BRIX 9			BRIX 12			BRIX 15		
	DORNA	Teor Alcoólico G.L.	Classificação	DORNA	Teor Alcoólico G.L.	Classificação	DORNA	Teor Alcoólico G.L.	Classificação	DORNA	Teor Alcoólico G.L.	Classificação
4	8	14,00	1	8	16,00	1	8	13,00	1	8	16,00	1
9	4	12,00	2	4	15,00	2	4	12,00	2	4	14,00	3
10	6	10,00	3	6	15,00	2	6	12,00	2	6	14,00	3
12	9 (C)	10,00	3	9 (C)	14,00	3	9 (C)	12,00	2	9 (C)	13,00	4
13	2	9,00	4	2	13,00	4	2	11,00	3	2	15,00	2
13	3	9,00	4	3	14,00	3	3	12,00	2	3	13,00	4
13	10 (C)	10,00	3	10 (C)	14,00	3	10 (C)	11,00	3	10 (C)	13,00	4
14	5	8,00	5	5	13,00	4	5	11,00	3	5	15,00	2
19	1	7,00	6	1	12,00	5	1	10,00	4	1	13,00	4
21	7	7,00	6	7	12,00	5	7	9,00	5	7	12,00	5

Fonte: Do autor (2021)

⁸ O menor somatório indica aquela dorna que sempre esteve entre as primeiras colocadas (maiores teores alcoólicos)

Figura 10- Pontos Inferior, Central, Superior e Axiais das Superfícies de Resposta e Curvas de contorno



Fonte: Do autor (2021)

Tabela 7 – Quantidade dos nutrientes em cada uma das dornas

Dorna	NITROGÊNIO (g) ⁹	FÓSFORO (g) ¹⁰	45% P ₂ O ₅ (g) ¹¹
#1	5,0	5,0	12,5
#2	5,0	25,0	62,5
#3	25,0	5,0	12,5
#4	25,0	25,0	62,5
#5	0,9	15,0	37,5
#6	29,1	15,0	37,5
#7	15,0	0,9	2,1
#8	15,0	29,1	72,9
#9 (C)	15,0	15,0	37,5
#10 (C)	15,0	15,0	37,5

Fonte: Do autor (2021)

⁹ Ponto inferior = 5,0; Ponto central = 15,0; Ponto superior = 25,0

¹⁰ Ponto inferior = 5,0; Ponto central = 15,0; Ponto superior = 25,0

¹¹ Esta coluna representa o equivalente a 45% P₂O₅, que é a porcentagem de nitrogênio na ureia e foi a quantidade de fosfato pesada e utilizada no trabalho.

A Tabela 7, aqui presente, nos lembra qual foi a quantidade de nitrogênio e fósforo utilizados em cada dorna, assim da **Tabela 6**, para o início da fermentação, onde começamos com um **BRIX 6**, as dornas que geraram os maiores valores de teor alcoólico foram a **DORNA 8 (N= 15 g e F= 72,9 g)** e a **DORNA 4 (N= 25 g e F= 62,5 g)**.

No segundo dia da fermentação com o **BRIX 9**, da **Tabela 6**, olhando para o para o **BRIX 9**, as dornas que geraram os maiores valores de teor alcoólico foram a **DORNA 8 (N= 15 g e F= 72,9 g)**, **DORNA 4 (N= 25 g e F= 62,5 g)** e a **DORNA 6 (N= 29,1 g e F= 37,5 g)**.

No terceiro dia da fermentação com o **BRIX 12**, da **Tabela 6**, olhando para o para o **BRIX 12**, as dornas que geraram os maiores valores de teor alcoólico foram a **DORNA 8 (N= 15 g e F= 72,9 g)**, **DORNA 4 (N= 25 g e F= 62,5 g)**, **DORNA 6 (N= 29,1 g e F= 37,5 g)**, **DORNA 9(C) (N= 15 g e F= 37,5 g)** e a **DORNA 3 (N= 25 g e F= 12,5 g)**

No quarto dia da fermentação com o **BRIX 15**, da **Tabela 6**, olhando para o para o **BRIX 15**, as dornas que geraram os maiores valores de teor alcoólico foram a **DORNA 8 (N= 15 g e F= 72,9 g)**, **DORNA 2 (N= 5 g e F= 62,5 g)** e a **DORNA 5 (N= 0,9 g e F= 37,5 g)**

5.6 Densidade, peso e volume, obtidos no processo fermentativo

Tabela 8 -Resultados de Densidade, peso e volume, obtidos no processo fermentativo

DORNA	Densidade DO CALDO	Peso DORNA DE VIDRO (Kg)	Peso DORNA DE VIDRO + CALDO (Kg)	PESO GARRAFA DE PLÁSTICO (g)	PESO GARRAFA DE PLÁSTICO + CALDO (Kg)	VOLUME (ml) LEVEDURA	VOLUME (ml) VINHO FERMENTADO BRIX 15	PESO(g)	Varição (%)
1	0,995	2,720	10,755	50	1,035	1040	7104	1035	16,9
8	0,985	2,785	10,830	50	1,100	1032	7000	1017	14,8
2	0,995	2,835	11,090	50	1,090	1010	7260	1005	13,5
7	0,995	2,450	10,820	50	1,040	990	7160	985	11,2
5	1,010	2,770	10,840	50	1,020	970	7120	980	10,6
4	1,000	2,810	10,750	50	0,955	930	7100	930	5,0
6	0,990	2,770	10,785	50	0,985	910	7160	901	1,7
9 (C)	0,995	2,760	10,800	50	0,960	900	7200	896	1,1
10 (C)	0,990	2,840	10,965	50	1,015	900	7220	891	0,6
3	0,995	2,820	10,820	50	0,940	890	7200	886	0,0

Fonte: Do autor (2021)

O intuito dos resultados apresentados na Tabela 8 era de mostrar uma relação das dornas que produziram um maior teor alcoólico com uma maior multiplicação/crescimento das leveduras, o que não foi possível demonstrar

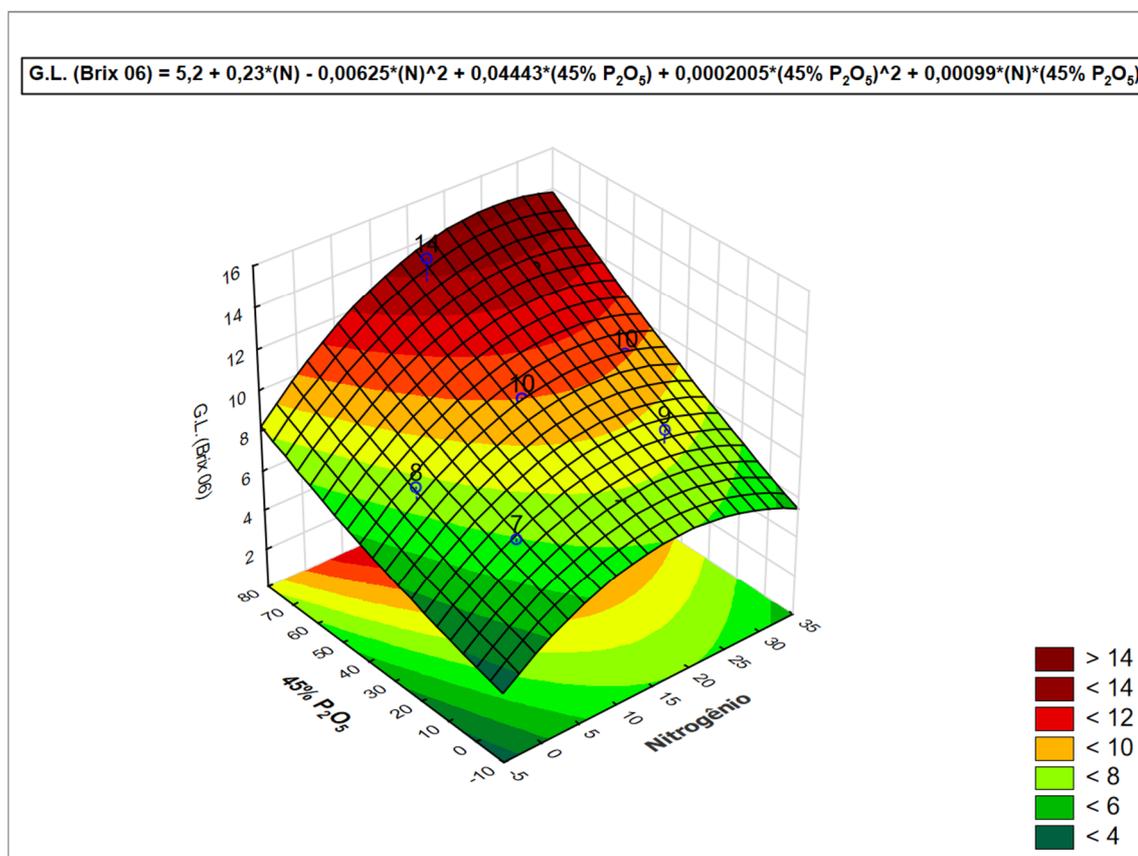
5.7 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno

5.7.1 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno (BRIX 6, 9 e 12)

Os dados usados para gerar as superfícies de resposta, Figura 11, Figura 13, Figura 16 e Figura 18, em função do teor alcoólico gerado por cada dorna é apresentado na Tabela 2.

Na Figura 11 observamos a superfície de resposta **gerados através do experimento central composto com pontos centrais, ampliados com um grupo de pontos axiais (também chamados pontos estrela)**, e na Figura 12, a curva de contorno em função do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a **BRIX 6**. Podemos observar a importância do ponto superior do fósforo e do ponto central para o nitrogênio, para a produção dos maiores teores alcoólicos, o mesmo comportamento ocorreu para as fermentações de brix 9 e 12

Figura 11 --Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 6.

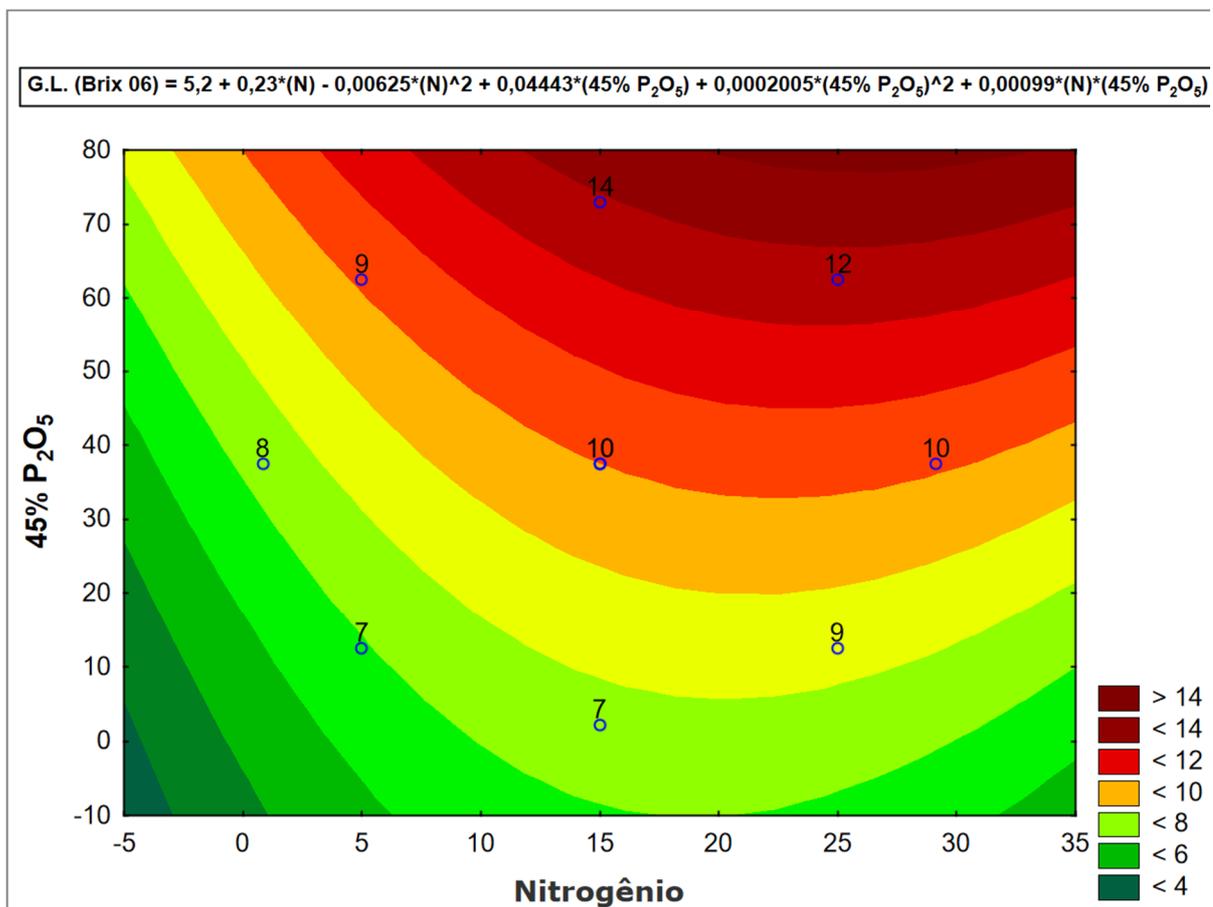


Fonte: Do autor (2021)

A superfície de resposta mostrada na Figura 11, foi ajustada através de um polinômio de 2º grau.

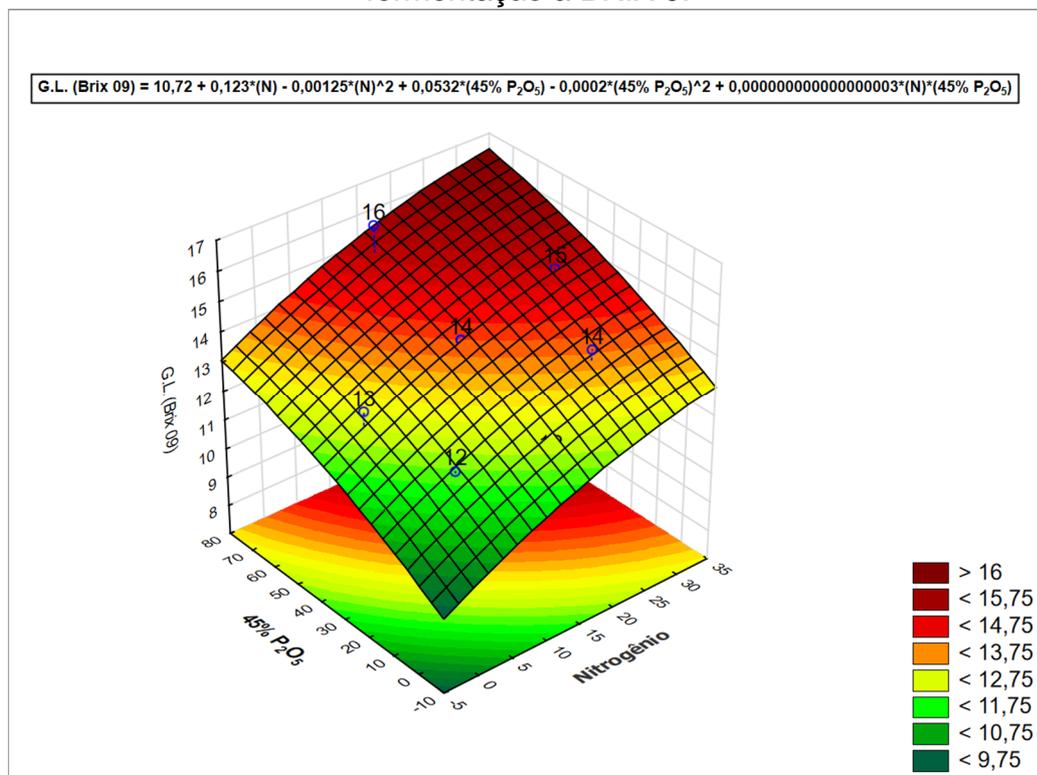
A equação desse polinômio nos permite encontrar os valores de °GL para quaisquer valores de nitrogênio e fósforo, dentro dos valores utilizados no planejamento na Tabela 1

Figura 12- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 6



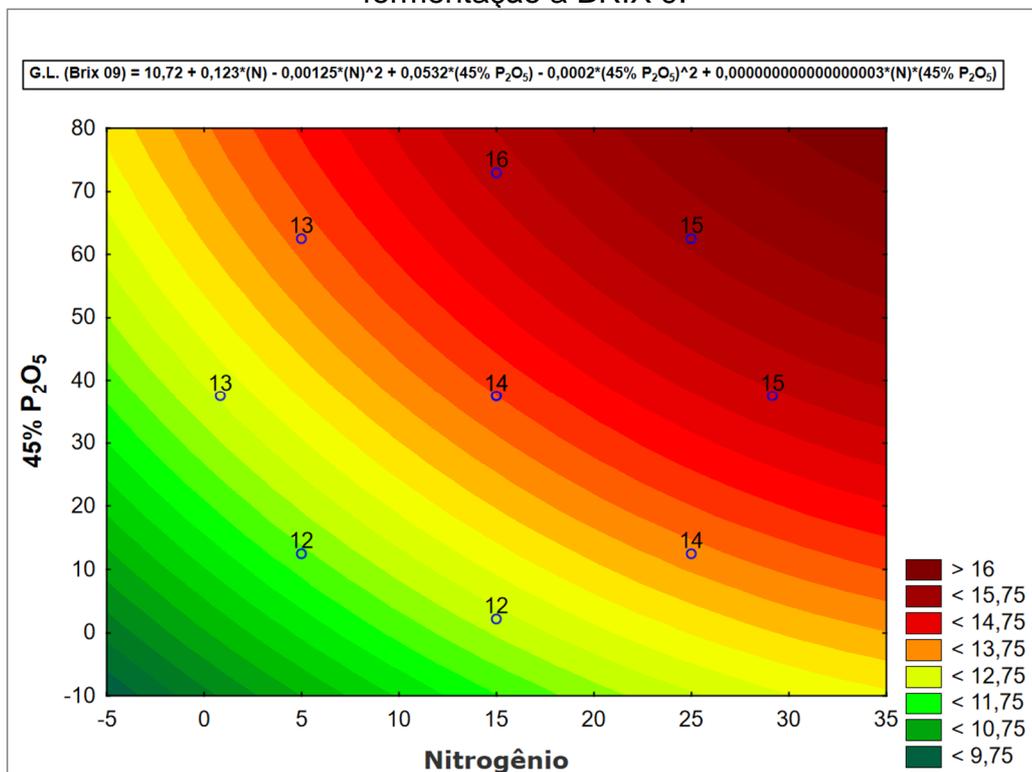
Fonte: Do autor (2021)

Figura 13-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 9.



Fonte: Do autor (2021)

Figura 14- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 9.



Fonte: Do autor (2021)

Figura 15-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 12

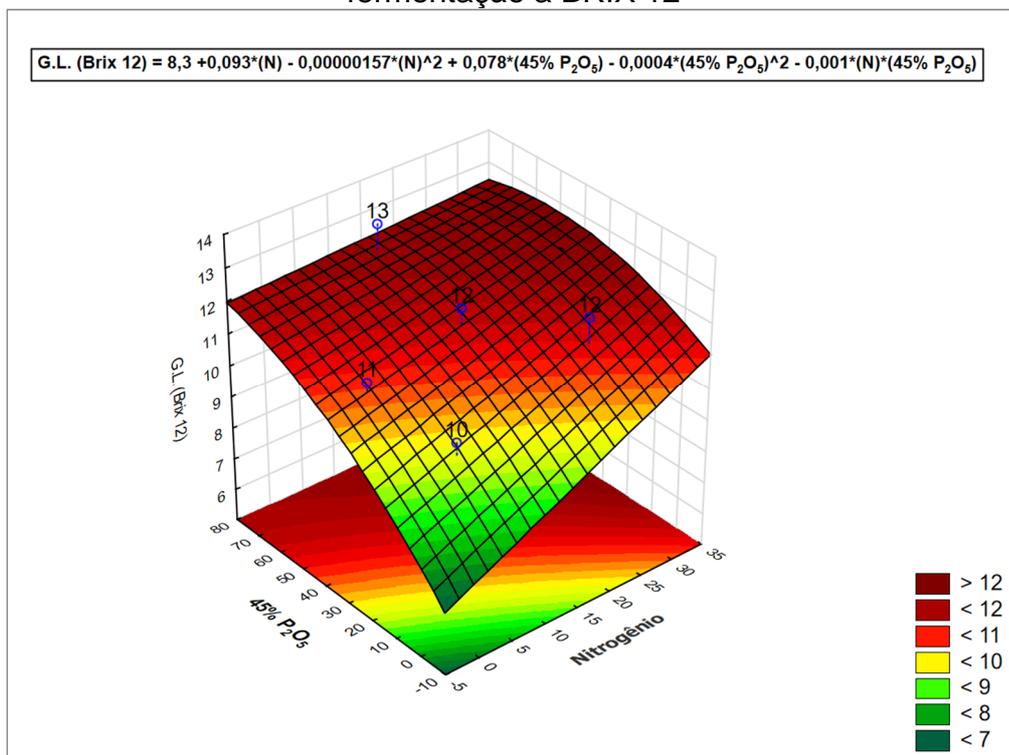
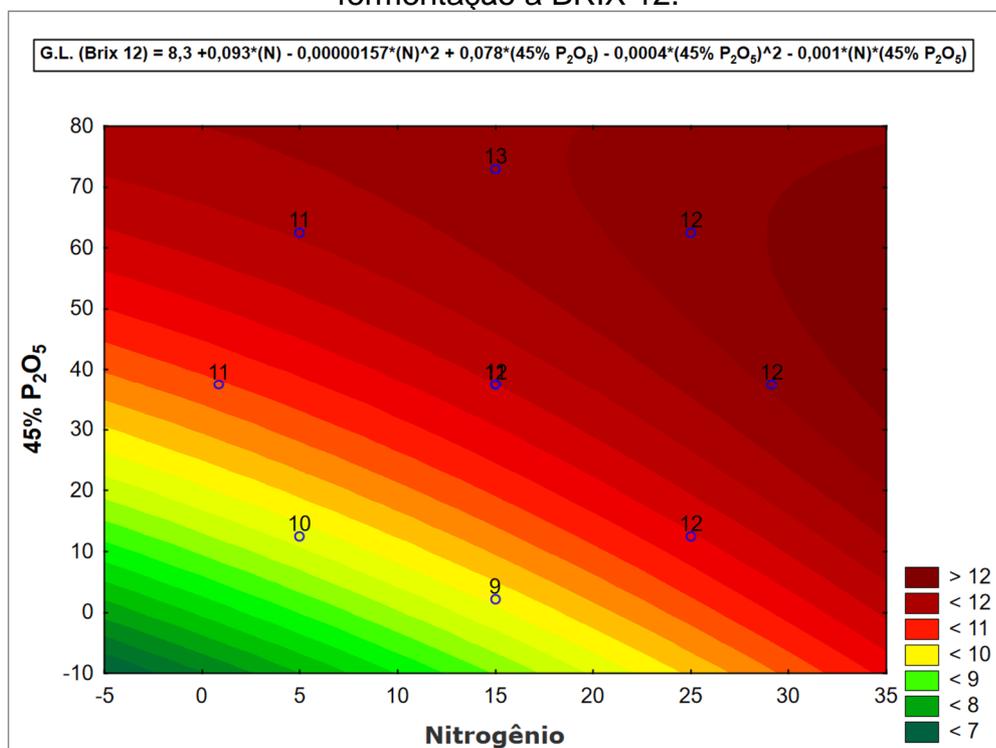


Figura 16- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 12.

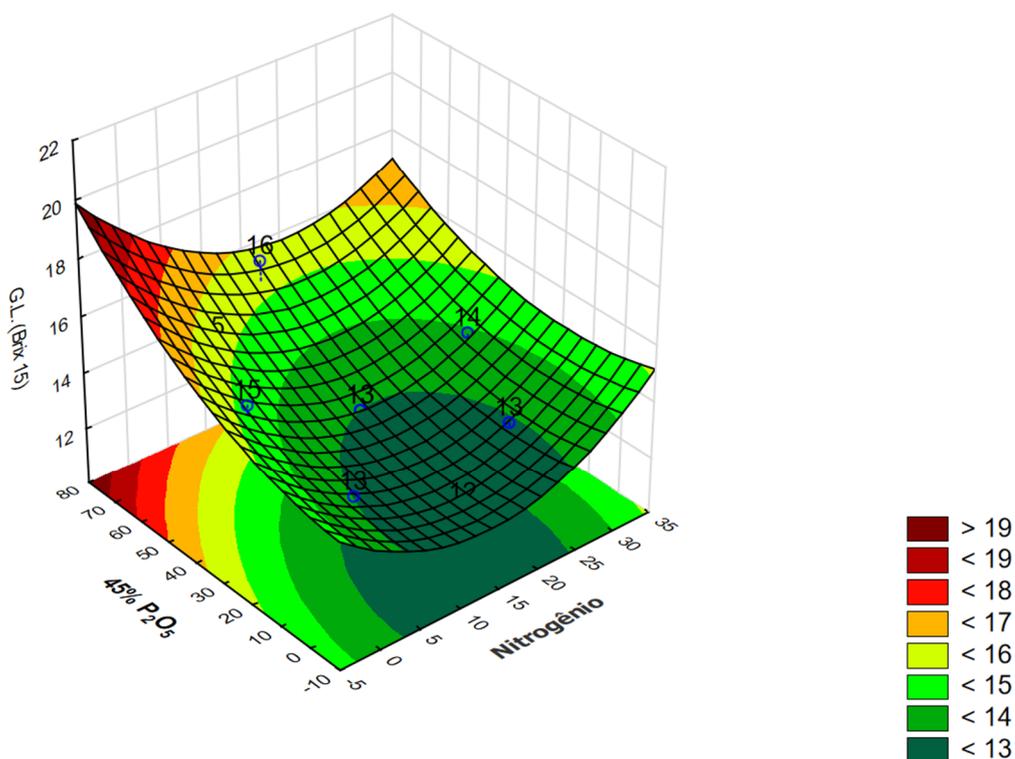


5.7.2 Superfícies de Resposta e Curvas de contorno (BRIX 15)

Na Figura 17 observamos a superfície de resposta, e na Figura 18, a curva de contorno em função do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a **BRIX 15**. Se observássemos apenas a superfície de resposta da fermentação com o brix 15, pensaríamos que os **PONTOS** (Ponto inferior = 5,0; Ponto central = 15,0; Ponto superior = 25,0) para o nitrogênio não teriam relevância para uma maior produção do teor alcoólico, o que as superfícies anteriores nos mostram que não é o caso, o que parece ter acontecido foi que todas as 25 g do nitrogênio, foram consumidas pelas leveduras nas fermentações de brix 6, 9 e 12, restando ainda na fermentação a brix 15, quantidades de fósforo a serem consumidas pelas leveduras, provavelmente pela maior quantidade utilizada desse nutriente

Figura 17-- Superfície de resposta do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 15.

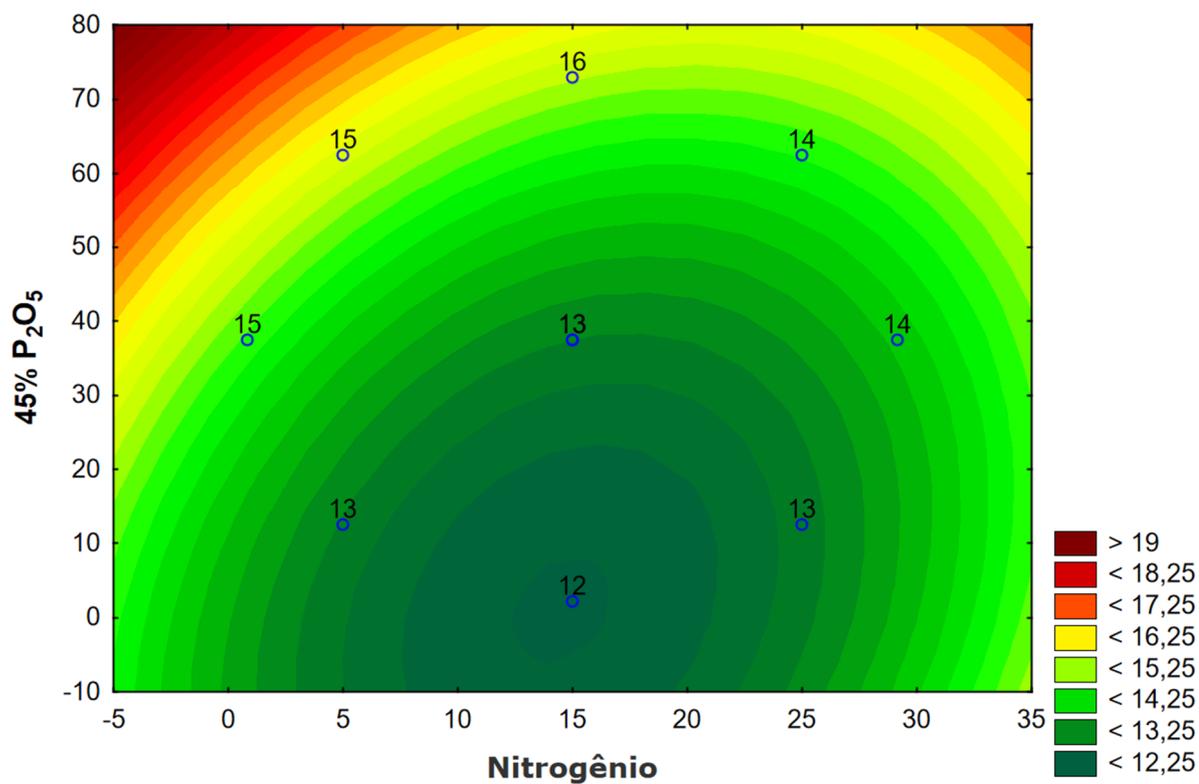
$$\text{G.L. (Brix 15)} = 13,52 - 0,18*(N) + 0,00625*(N)^2 + 0,0133*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5) + 0,00060*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5)^2 - 0,001*(N)*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5)$$



Fonte: Do autor (2021)

Figura 18- Curvas de contorno do teor alcoólico G.L, obtido a partir da fermentação a BRIX 15.

$$\text{G.L. (Brix 15)} = 13,52 - 0,18*(N) + 0,00625*(N)^2 + 0,0133*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5) + 0,00060*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5)^2 - 0,001*(N)*(45\% \text{ P}_2\text{O}_5)$$



Fonte: Do autor (2021)

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho, mostrou a importância dos nutrientes nitrogênio e fósforo para uma maior produção do teor alcoólico pelas leveduras.

Mostrou também que a **DORNA 8 (N= 15 g e F= 72,9 g)**, do início da fermentação alcoólica com brix 6 até a fermentação com brix 15, a temperatura controlada a 34 °C, foi a relação entre nitrogênio e fósforo que produziu os maiores teores alcoólicos

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Destilar o vinho fermentado produzido em cada dorna para determinar a acidez da cachaça e relacionar essa acidez com os nutrientes.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, W.G. **CONSUMO HÍDRICO E COEFICIENTE DE CULTIVO DUAL DA CANA-DE-AÇÚCAR CULTIVADA SOB DIFERENTES LÂMINAS DE IRRIGAÇÃO** (Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Meteorologia da Universidade Federal de Campina Grande) CAMPINA GRANDE - PB, 2012.

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

AMORIM, H.V. **Introdução à bioquímica da fermentação alcoólica**. Araras. Planalsucar. 1977.

BASTOS R.G. **TECNOLOGIAS DAS FERMENTAÇÕES FUNDAMENTOS DE BIOPROCESSOS**, São Carlos, p. 13-14, 2010.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. Instrução Normativa nº. 13, de 29 de junho de 2005. Brasília, 2005a. Disponível em <<http://imanet.ima.mg.gov.br/nova/gec/Legistacao/mapa/IN13.pdf>>. Acesso em: 2 de janeiro. 2019.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. Instrução Normativa nº. 13, de 29 de junho de 2005. Brasília, 2005a. Disponível em <<http://imanet.ima.mg.gov.br/nova/gec/Legistacao/mapa/IN13.pdf>>. Acesso em: 2 de janeiro. 2019.

CASCUDO, C. **PRELÚDIO DA CACHAÇA**. Rio de Janeiro, v. 1, 2006.

CECATO-ANTONINI., S.R. **MICROBIOLOGIA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA A IMPORTÂNCIA DO MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO EM DESTILARIAS**, São Carlos, p. 14, 2010.

GONÇALVES, C.M.; **USO DE LEVEDURA SELECIONADA EM ESCALA PILOTO PARA A PRODUÇÃO DE CACHAÇA DE ALAMBIQUE**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2015.

HISTÓRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR. São Paulo, 2006. Disponível em: http://www.siamig1.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=16&Itemid=61. Acesso em: 22/03/2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA (IBRAC). **UM POUCO DE HISTÓRIA**: 2011. Brasília, 2011. Disponível em: < <http://www.ibrac.net/index.php/ig-cachaca/historia-da-cachaca> >. Acesso em: 27 de dezembro. 2018.

LIMA, A. de J.B.; CARDOSO, M.G.; GUERREIRO, M. C. PIMENTEL, F. A. **QUIM. NOVA** 2006, 29, 207.

MARTINS, C. A. P.: **Avaliação do efeito do inóculo e do perfil de alimentação do mosto na produção em escala piloto e industrial de etanol.** São Carlos: UFSCar, 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

MINITAB, **O QUE SÃO EXPERIMENTOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA, EXPERIMENTOS CENTRAIS COMPOSTOS E EXPERIMENTOS BOX-BEHNKEN?** 2021. Disponível em: < <https://support.minitab.com/pt-br/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/doe/supporting-topics/response-surface-designs/response-surface-central-composite-and-box-behnken-designs/>>. Acesso em: 02 de dezembro de 2021.

MOKFA, A. PFULLER, E. E; **ELABORAÇÃO DE AÇÚCAR MASCAVO ECOLÓGICO NA AGROINDÚSTRIA FAMILIAR E CO AÇÚCAR EM PAIM FILHO.** RAMVI, Getúlio Vargas, v. 02, n. 04, jul./dez. 2015.

NOQUEIRA, A.M.P et al. **AGUARDENTE DE CANA** (Monografia apresentada a Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista) BOTUCATU, 2005.

PEREIRA, A.F. et al. **ADIÇÃO DE FONTES DE NITROGÊNIO E DE DUAS LINHAGENS DE LEVEDURAS NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA PRODUÇÃO DE CACHAÇA.** Revista de engenharia química, V.1, 2015.

SANTOS, A. M. dos.: **Estudo da influência da complementação de nutrientes no mosto sobre o processo de fermentação alcoólica em batelada.** 77 f. - Trabalho de conclusão de curso (dissertação) – Universidade federal de Alagoas, Maceió, 2008.

SILVA, A. P. **COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE AGUARDENTE REDESTILADA EM FUNÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO DO FLEGMA** (Dissertação apresentada para obtenção do título mestre em ciência de alimentos - Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo) Piracicaba- SP, 2016.

SILVA, J. A., SILVA, F. L. H., ALVES, R. R. N.; SANTANA, D. P. **Influencia das Variáveis Nitrogênio, Fósforo e °Brix na Produção dos Metabólitos Secundários Contaminantes Totais da Fermentação Alcoólica.** Quim. Nova, v. 29, n°4, p.695 698, 2006.

SOUZA, R.L. **CACHAÇA, VINHO, CERVEJA DA COLÔNIA DO SÉCULO XX.** Estudo históricos, Rio de Janeiro p. 56-58, 2004.

SUOM ALAINE, H.; OURA, E. **Yeast nutrition and solute uptake.** In: **The yeasts**, 2:3 - 60, ed. A.A. Rose e J.S. Harrison. Academic press, London and New York, 1971.

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