



LIA AZEVEDO DE OLIVEIRA

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DE PARÂMETROS
QUE AFETAM A CONTAMINAÇÃO DA
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE
ETANOL**

LAVRAS – MG

2022

LIA AZEVEDO DE OLIVEIRA

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DE PARÂMETROS QUE AFETAM A CONTAMINAÇÃO DA
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Programa de Graduação em
Engenharia Química, para a obtenção do título
de Bacharel.

Prof. Dra. Isabele Cristina Bicalho
Orientadora

LAVRAS – MG
2022

Dedico este trabalho aos meus pais que me ensinaram valores imprescindíveis para construção de uma vida. A todo apoio e amor que enriqueceram os meus dias e me fortaleceram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a quem socorro para suportar os obstáculos e conseguir seguir com força e coragem, por me dar sabedoria e iluminar minha caminhada.

Agradeço aos meus pais, Cristina e Henrique, que me inspiram a viver. Por serem exemplos de sabedoria e de verdade. A vocês, todo meu amor e gratidão.

Ao meu irmão, André, a quem me deu e dá motivos para sorrir, por me ensinar a amar, dividir e lutar pelos meus sonhos.

A minha orientadora Isabele, exemplo de profissional que levarei por toda a vida, por ser sempre solícita e por ter me acompanhado durante a elaboração deste trabalho.

Por fim, quero agradecer a todos os meus amigos, com quem dividi todas minhas alegrias durante a graduação. Especialmente a Daniela, Gabriela, Thamara, Nicole, Isabela, Cristiano, Antonio, Virginia, Beatriz e Danilo. Percorrer esta jornada ao lado de vocês fez com que tudo ficasse mais fácil.

Por um mundo onde sejamos socialmente iguais, humanamente diferentes e totalmente livres.

(Rosa Luxemburgo)

RESUMO

A busca por energias renováveis e menos agressivas ao meio ambiente transformou o etanol em uma grande aposta econômica. O biocombustível é uma alternativa sustentável ao uso de combustíveis fósseis, já que sua queima e processamento poluem menos o meio ambiente. A produção de etanol é considerada limpa devido ao uso da cana de açúcar como matéria prima, que passa por diversos processos físico-químicos até a obtenção do açúcar e álcool.

O biocombustível é um produto do processo fermentativo, onde o açúcar da cana de açúcar é metabolizado pela ação de leveduras transformando-o em moléculas de etanol. Por utilizar seres vivos, o processo bioquímico é sensível a variações do meio e necessita ser acompanhado minuciosamente a fim de manter um ambiente apropriado para seu desenvolvimento. Desta forma, qualquer alteração de parâmetros no meio fermentativo necessita ser analisado, como por exemplo, a formação de ácido láctico por bactérias contaminantes, que desequilibram o meio e afetam a produção de etanol.

Visto isto, o trabalho tem como finalidade a realização de um estudo estatístico que busca compreender como a influência de parâmetros de processo afetam a contaminação da produção do etanol na usina Benálcool. As análises foram realizadas através do *software* Statistica® usando resultados obtidos na própria usina, como Brix do Mosto, Temperatura das Dornas e Grau alcoólico na Dorna Final.

Palavras-chave: Contaminação. Ácido Láctico. Correlação estatística.

ABSTRACT

The search for renewable energies that are less harmful to the environment has turned ethanol into a great economic bet. Biofuel is a sustainable alternative to the use of fossil fuels, as its burning and processing pollute the environment less. Ethanol production is considered clean due to the use of sugarcane as a raw material, which undergoes several physical-chemical processes to obtain sugar and alcohol.

Biofuel is a product of the fermentation process of the raw material, where the sugar from the sugar cane is metabolized by the action of yeasts, transforming it into ethanol molecules. Because it uses living beings, the biochemical process is sensitive to variations in the environment and needs to be closely monitored in order to maintain an appropriate environment for its development. In this way, any alteration of fermentation parameters needs to be analyzed, such as the formation of lactic acid by contaminating bacteria, which unbalance the medium and affect the production of ethanol.

Given this, the work aims to carry out a statistical study that seeks to understand how the influence of process parameters affect the contamination of ethanol production at the Benálcool unit. The analyzes were performed using Turkey's Correlation, presenting results such as Must Brix, Vessel Temperature and Alcohol Degree in the Final Vessel.

Keywords: Contamination. Lactic acid. Statistical correlation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol	13
Figura 2 Modo de condução da fermentação tipo contínuo.....	15
Figura 3 Modo de condução da fermentação tipo batelada	17
Figura 4 Rota do metabolismo para produção de Etanol e Ácido Lático	20
Figura 5 Página inicial do software Pi OsiSoft	25
Figura 6 Ferramenta Calculated Data.....	26
Figura 7 Adequação da variável Brix do Mosto.....	27
Figura 8 Fluxograma de processo e pontos de coleta das amostras.....	28
Figura 9 Boxplot do Balanço de Ácido Lático com presença de outliers.....	30
Figura 10 Boxplot do Balanço de Ácido Lático sem presença de outliers	30
Figura 11 Comportamento do parâmetro ART/MS	34
Figura 12 Comportamento do parâmetro pH na Cuba.....	35
Figura 13 Comportamento do parâmetro Acidez do Fermento.....	36
Figura 14 Comportamento parâmetro Temperatura da Dorna Primária A.....	37
Figura 15 Comportamento parâmetro Temperatura da Dorna Secundária B	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Variáveis em Anexo	43
Tabela 2 Análises estatísticas dos parâmetros de processo	31
Tabela 3 Resultados obtidos para a regressão múltipla dos dados	32
Tabela 4 Adequação dos parâmetros ao ajuste de modelo linear	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Processo de produção do Etanol.....	12
2.2	Processo de fermentação	13
2.2.1	Modos de condução da fermentação	15
2.2.2	Preparo do mosto.....	17
2.2.3	Tratamento do fermento	18
2.3	Contaminação da fermentação	18
2.3.1	Ácido Lático.....	19
2.3.2	Assepsia.....	20
2.4	Principais parâmetros de processo fermentativo	21
2.4.1	Balço de Ácido Lático	21
2.4.2	Concentração da levedura	22
2.4.3	Brix do Mosto e Açúcares Redutores Totais por Massa Seca de Fermento... ..	22
2.4.4	Acidez do meio.....	22
2.4.5	Concentração residual de cloro	23
2.4.6	Temperatura	24
2.4.7	Grau alcoólico	24
3	METODOLOGIA	25
3.1	Coleta de dados do processo	25
3.2	Análise estatística.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5	CONCLUSÃO.....	39
6	REFERENCIAS	40
	ANEXOS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A cana de açúcar é explorada no Brasil desde o seu descobrimento, e de acordo com registros, o primeiro engenho de açúcar foi implantado na Capitania de São Vicente, onde se iniciou a produção de álcool. Com o passar do tempo, episódios como a Primeira e a Segunda Guerra Mundial impulsionaram a produção do etanol e uma nova fase de fabricação do álcool se iniciou com a Crise Internacional do Petróleo em 1974, onde o mesmo alcançou a máxima importância histórica até então. Todavia, devido a oscilação do mercado externo da gasolina, o etanol passou por crises até a implantação dos motores tipo *Flex Fuel* em 2005, o que consolidou a produção do combustível.

O incentivo da criação e modernização das destilarias nacionais levou o Brasil em 2020 a atingir liderança em produção de cana-de-açúcar e exportação de açúcar, se situando na segunda posição como o maior produtor mundial de etanol. Condições possibilitadas pela alta qualidade do solo no país, além de condições climáticas favoráveis, que impactaram em uma maior produtividade de cana por hectare.

Além disso, a busca por energias renováveis e menos agressivas ao meio ambiente transformou o etanol em uma grande aposta econômica. O biocombustível é uma alternativa sustentável aos combustíveis fósseis, já que sua queima e processamento poluem menos o meio ambiente. Os danos das emissões de carbono liberadas pela queima do etanol são reparados logo na primeira etapa de produção, o plantio da cana-de-açúcar, período em que o gás é absorvido pelas plantas através da fotossíntese.

A obtenção do etanol é complexa e envolve várias etapas industriais para que ocorra a transformação da matéria prima no produto final. Dentre essas etapas, destacam-se a destilação e a fermentação, sendo esta última a etapa inicial para a obtenção do álcool. Nesta primeira fase, o açúcar presente na cana é consumido pela ação das leveduras e para que o processo seja promissor, a solução açucarada deverá estar isenta de sujidades. Além disso, parâmetros como a concentração de açúcar, temperatura, pH e acidez influenciam na qualidade do produto obtido.

Os microorganismos responsáveis pela fermentação, as leveduras, são sensíveis a variações do meio e podem responder negativamente a mudanças no ambiente. Além disso, problemas como contaminação podem ser gerados a partir do desequilíbrio do meio, sendo em sua maioria causada por bactérias que se multiplicam em condições de estresse, como altas temperaturas, acidez, nutrientes, entre outros parâmetros em estados inadequados.

Assim, para um bom desempenho da fermentação etanólica, é indispensável o monitoramento das condições físico-químicas do meio fermentativo, paralelamente ao controle de contaminações microbianas no processo, que podem levar a floculação do sistema e possível perda da produção.

Visto a dimensão do mercado produtor de etanol e a as questões que interferem no processo produtivo da fermentação, o trabalho em questão tem como finalidade a realização de um estudo estatístico buscando compreender a influência de parâmetros como quantidade de ácido láctico, acidez, temperatura e qualidade de água na contaminação do processo fermentativo da unidade Benálcool, usina localizada em Bento de Abreu no estado de São Paulo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A grandeza do setor sucroalcooleiro no Brasil pode ser medida pelos dados da Conab onde o país produziu cerca de 32,8 milhões de m³ de etanol total, sendo 22,6 milhões de m³ de etanol hidratado e 10,2 milhões de m³ de etanol anidro. E segundo o jornal da cana, a produção acumulada de açúcar na safra 2020/2021 atingiu a marca de 38,09 milhões de toneladas, com elevação de 44,16% em relação ao ciclo 2019/2020. Visto isto, o Brasil é considerado o maior produtor de cana-de-açúcar, segundo maior produtor de etanol, atrás apenas dos EUA, e líder em produção e exportação de açúcar (CONAB,2020).

O uso do etanol como combustível representa grande vantagem competitiva do Brasil em relação a outros países, sendo comercializado como uma fonte energética mais limpa e renovável. Em adição a isso, o biocombustível atrai importantes recursos financeiros, gerando empregos e desenvolvendo o país, o qual o torna referência na produção e comercialização de energia sustentável (RAIZEN, 2012).

O mercado do etanol é ainda impulsionado pelo auxílio de políticas que buscam a redução do consumo de combustíveis provenientes de recursos fósseis, além da comercialização de outros produtos, como o açúcar, bioenergia e álcool químicos ao serem negociados por créditos de carbono. Este mercado é caracterizado pela venda dos créditos de carbono entre um país que os detém, ao ter reduzido sua emissão de dióxido de carbono, e um país que precisa diminuir suas emissões, mas não atingiu suas metas.

Além de seu emprego como combustível, o crescimento da produção de álcool no país segue em desenvolvimento devido a seu uso em indústrias farmacêuticas, alimentícia e cosmética (LEHNINGER, 1984). Assim, com o aumento na produtividade, a obtenção de tecnologias que possibilitem melhorias de processo e redução de custos é almejada em toda a cadeia produtiva, desde o desenvolvimento da matéria prima até a obtenção do produto final (GOMES, 2006).

2.1. Processo de produção do Etanol

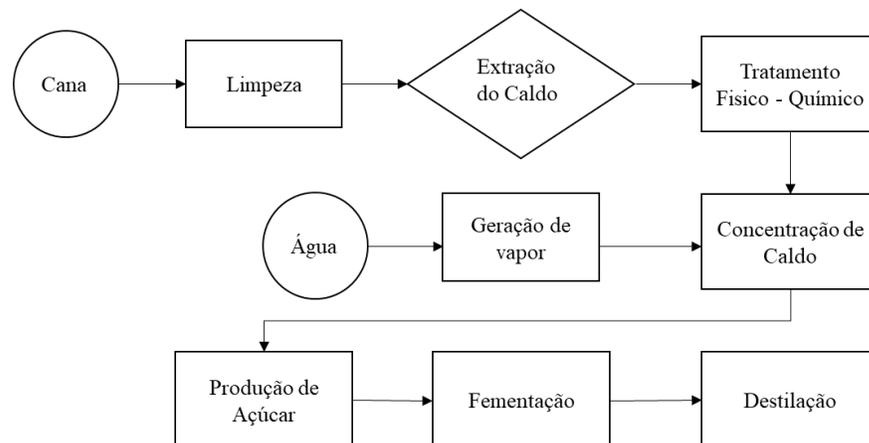
O processamento da cana de açúcar desde sua chegada na indústria até a obtenção de produtos finais envolve uma gama de processos. A princípio, o caldo da cana é extraído por rolos trituradores denominados por moendas, onde o resíduo sólido, o bagaço, é queimado em caldeiras abastecendo o consumo energético da própria unidade e a tornando autossuficiente.

O caldo é então destinado a tratamentos físico-químicos com objetivo de eliminar as impurezas presentes no mesmo e já limpo, é levado a equipamentos denominados evaporadores, os quais concentram o açúcar do caldo através da eliminação da água. Este procedimento utiliza o vapor gerado nas caldeiras para aquecimento.

O caldo concentrado, nomeado de xarope, parte para a fábrica de açúcar onde é convertido em grãos por meio de nucleação e crescimento cristalino com a adição de núcleos de açúcar em cozedores a vácuo. Este processo gera o açúcar e um subproduto denominado Mel Final, um licor contendo sacarose, que será utilizado na formação do Mosto, substrato consumido pela levedura na etapa de fermentação.

O fluxograma simplificado do processo de produção de açúcar e etanol é exibido na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol



Fonte: Adaptado de Gurgel, 2012

2.2. Processo da fermentação

A fermentação é definida como um processo bioquímico de conversão de compostos orgânicos complexos tais como carboidratos, em moléculas mais simples, como alcoóis e ácidos orgânicos. Tal reação ocorre em meio anaeróbico, ou seja, sem a presença de oxigênio, citando como exemplo a fermentação alcoólica, que é o processo de conversão anaeróbia da glicose em etanol. (REINALDO GASPAR, 2001)

As leveduras são os agentes biológicos ativos responsáveis pela fermentação. Estes microrganismos são classificados como fungos unicelulares pertencentes a um grupo abrangente de organismos eucarióticos, podendo apresentar-se na forma de duas

espécies principais: *Saccharomyces Cerevisae* e *Saccharomyces Pombe*. A escolha da linhagem correta é fundamental para o processo das reações fermentativas, sendo *S. cerevisae* a espécie comumente utilizada para a produção do álcool.

Segundo Borzani (2001), estes organismos devem possuir certas características para que consigam se adaptar ao ambiente fermentativo, devendo ser espécies altamente produtivas, fornecendo alto rendimento de etanol, tolerância a certas concentrações de álcool e se adaptando a valores restritos de pH, além de possuírem tolerância a variações de temperatura e contaminação.

O objetivo primordial da levedura ao metabolizar o açúcar é a geração de uma molécula de energia, denominada adenosina trifosfato (ATP), que é utilizada na realização de funções fisiológicas da própria levedura, como absorção, excreção e outros mecanismos necessários à manutenção da vida ou multiplicação da espécie. Sendo o álcool um subproduto gerado a partir de reações do próprio metabolismo da levedura (BORZAN, 2001).

Resumidamente a fermentação pode ser compreendida pela transformação da molécula de glicose em duas moléculas de etanol, Equação 1, todavia, sabe-se que a via que o organismo emprega para a transformação de glicose em álcool envolve cerca de 12 reações ordenadas catalisadas por enzimas específicas. Essas estão confinadas no citoplasma celular, sendo portanto a região em que a fermentação é processada (LIMA et al., 2001).



Glicose → Etanol + Gás carbônico + Energia

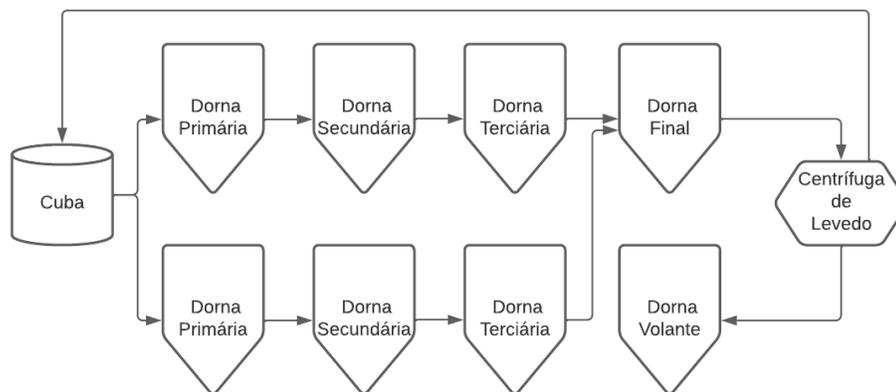
O processo fermentativo apresenta baixo rendimento energético no qual o etanol permanece com a maior parte da energia contida na molécula de glicose, energia esta que estará armazenada e será utilizada quando o etanol queimar como combustível (LEHNINGER, 1984).

2.2.1 Modos de condução da Fermentação

Industrialmente o processo de fermentação pode ser conduzido de forma contínua ou em batelada. Ambos os modos de alimentação ocorrem em biorreatores denominados dornas de fermentação, que são reatores de aço do tipo tanque com recirculação, normalmente fechadas e mantidas em operação entre 33 e 35°C, com concentração de etanol de 7 a 12° GL (DUARTE et al., 2006).

A fermentação contínua foi proposta pelo Centro de Tecnologia Canavieira, CTC, nos anos 80 e se baseia na alimentação contínua de todo o mosto, líquido açucarado que pode ser fermentado, para uma ou mais dornas que se mantêm permanentemente cheias durante o processo enquanto os produtos da reação também vão sendo removidos continuamente (LEHNINGER, 1984). Este modo de condução da fermentação é observado na Figura 2 a seguir.

Figura 2. Modo de condução da fermentação tipo contínuo



Fonte: Autor próprio

A solução parcialmente fermentada na primeira dorna segue por transbordamento para uma segunda dorna também mantida cheia, e, em seguida, para uma terceira ou quarta, em série, até que a quantidade inicial de açúcar tenha sido totalmente consumida.

Da última dorna, a solução fermentada contendo levedura, denominada vinho levedurado, segue para a centrifugação onde ocorre a separação do vinho e do fermento. Após este processo o fermento segue para tanques denominados de cubas onde é submetido a tratamento químico, sendo posteriormente direcionado a primeira dorna,

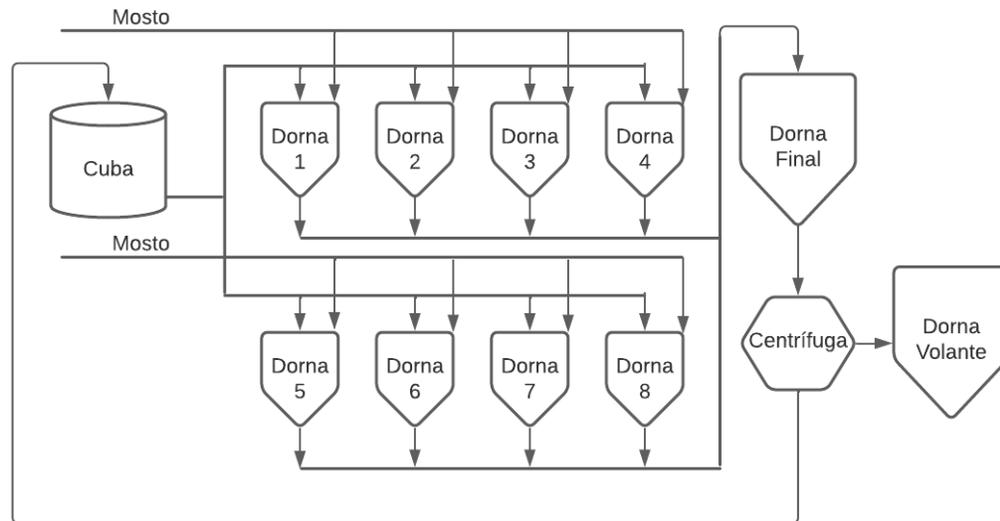
dando início a um novo ciclo da fermentação. A solução separada na centrífuga é direcionada para a dorna volante, sendo posteriormente destilada.

A etapa de fermentação pode ser dividida em três fases principais: preliminar, tumultuosa e final. A primeira etapa, denominada preliminar, ocasiona ligeira elevação da temperatura e a multiplicação da levedura, sendo que o açúcar consumido pela levedura nesta fase destina-se à formação de novas células de fermento. Já a fase tumultuosa inicia-se quando há desprendimento de gás carbônico decorrente de intensa atividade fermentativa. Esta fase é caracterizada pela elevação da temperatura, pela elevação do teor alcoólico e pela efervescência do mosto em agitação. A fermentação entra na fase final quando o aspecto do vinho se torna mais calmo, diminuindo as espumas que irão desaparecer até o final desta etapa. Nesta fase, a temperatura diminui e o consumo de açúcar atinge o limite máximo (LEHNINGER, 1984).

Esse tipo de processo, contínuo, requer maior monitoramento da fermentação, já que fatores como pH, temperatura, concentração de sacarose e álcool, concentração de biomassa, viabilidade celular (quantidade de células vivas com base em uma amostra total de célula), dentre outros, influenciam diretamente na produtividade do sistema como um todo, exigindo maior controle do mesmo (ATALA et al., 2000).

Já na forma de condução do tipo batelada, a produção é dada em um número maior de dornas porém de menor capacidade, onde cada qual recebe o inóculo pré-tratado e o mosto até que se complete o volume de trabalho desejado. Após a conversão do substrato em etanol, o vinho levedurado é destinado a dorna final onde fica armazenado até que seja encaminhado para as centrífugas de levedo, onde ocorrerá a separação do vinho e do leite de levedura. Este modo de condução da fermentação é observado na Figura 3 abaixo.

Figura 3. Modo de condução da fermentação tipo batelada



Fonte: Autor Próprio

Este modelo de produção conduz a um produto com maior grau de pureza devido ao menor risco de contaminação, já que a fermentação em cada dorna é independente das demais. Todavia, devido a existência dos tempos improdutivos de processo, como tempo de enchimento, tempo de descarga e tempo de limpeza, este processo apresenta menor rendimento quando comparado ao sistema contínuo.

2.2.2 Preparo do Mosto

O mosto, que será submetido à fermentação alcoólica, é a solução açucarada composta por hexoses (glicose, frutose, sacarose, maltose ou galactose) e outros tipos de carboidratos, amidos e nutrientes presentes no melaço e no caldo de cana-de-açúcar. Por serem reactantes primários do processo fermentativo, a concentração de açúcares na solução precisa ser monitorada rigorosamente, já que deve atender às exigências nutricionais da levedura, buscando condições ótimas para favorecer uma fermentação alcoólica rápida e regular (LEHNINGER, 1984).

A concentração de açúcares no mosto afeta o crescimento das leveduras, e, conseqüentemente, a produção de etanol. Altas quantidades de açúcar podem provocar estresse osmótico inibindo o metabolismo da levedura, enquanto que baixas quantidades,

contribuem para o desenvolvimento e metabolismo do microrganismo, diminuindo o rendimento da fermentação (VASCONCELLOS, 2010).

Além da quantidade de açúcar a ser submetida ao processo, a qualidade do substrato afeta diretamente a condução da fermentação. Em um cenário ideal, o mosto deve ser isento de impurezas e microorganismos contaminantes, o que comumente não ocorre nas indústrias brasileiras, já que não ocorre o processo de esterilização, de modo que sempre existem populações microbianas naturais que competem com a levedura pelo substrato (LEHNINGER, 1984).

2.2.3 Tratamento do fermento

Após a centrifugação, independentemente das formas de condução da fermentação, o creme de levedura é enviado para as cubas, onde será diluído e tratado severamente. Esta etapa corresponde à adição de agentes químicos no material antes de retornar para o processo. Inicialmente o pH do meio deve ser corrigido com adição de ácido sulfúrico até que se atinja um valor de 2,5 ou menos, dosagem dependente do nível da contaminação bacteriana. Além do ácido, na cuba, é comumente adicionado produtos dispersantes, antibióticos e até nutrientes para se obter uma levedura com alto grau de viabilidade celular (FURTADO et al., 2006).

2.3 Contaminação da fermentação

Todos os processos fermentativos estão sujeitos a problemas de infecção por contaminação bacteriológica. Este tipo de infecção se dá através de bactérias contaminantes provenientes da cana que se aderem às superfícies dos equipamentos através de estruturas específicas, se multiplicando e formando um material denso chamado de biofilme (RAIZEN, 2012).

Em um ambiente com um processo de assepsia deficiente, ocorre a geração da contaminação bacteriana, sendo a maior causadora da diminuição do rendimento na produção de etanol. O açúcar que seria metabolizado pelas leveduras é degradado por bactérias, sendo desviado da produção de álcool para a conversão de produtos secundários, os quais são inibitórios para o crescimento e metabolismo das leveduras (NARENDRANATH, 2003).

Dentre os produtos secundários resultantes da ação bacteriana encontram-se o ácido acético, o ácido lático, o ácido butílico, o ácido propiônico e ácidos graxos de

cadeia longa, que se originam da matéria prima e passam para o destilado. Estas substâncias podem ser originadas por microrganismos comumente encontrados no caldo de cana, como *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Clostridium*, *Leuconostoc*. (ANDRIETA et al., 2006).

Estes microrganismos são unicelulares com tamanho muito menor do que as leveduras. Apresentam-se na forma de cocos ou bacilos de tamanho entre 1 μm de largura e 5 μm de comprimento. Esses formatos podem formar arranjos que qualificam as bactérias em diferentes grupos por exemplo *streptococcus* e *staphylococcus*. (ANDRIETA et al., 2006).

Um agravante que pode levar a prejuízos ainda maiores dentro de uma indústria de fermentação, é que essas bactérias, além de consumirem o substrato, podem utilizar o etanol como fonte de carbono, desdobrando-o em ácido acético e produzindo um efeito tóxico, que afeta o metabolismo das leveduras.

Os danos causados pela contaminação do sistema englobam desde perdas industriais até irregularidades em equipamentos. A degradação de sacarose e a formação de ácidos orgânicos provocam perda de açúcar e intoxicação das leveduras, além disto, a infecção pode causar a formação de goma, entupimento de tubulações, centrífugas, trocadores de calor, além de floculação do fermento, inibindo o crescimento celular (CHIEPPE JÚNIOR, 2012).

A contaminação pode ser ocasionada antes de adentrar a indústria, como em operações de colheita ou armazenamento da matéria prima, e em ambientes industriais onde há carência de higienização dos equipamentos que ficam em contato com o caldo. Tal qual o caldo de cana, as bactérias contaminantes percorrem as várias etapas do processo, podendo aumentar significativamente até chegar na fermentação, segmento onde se tem o maior controle.

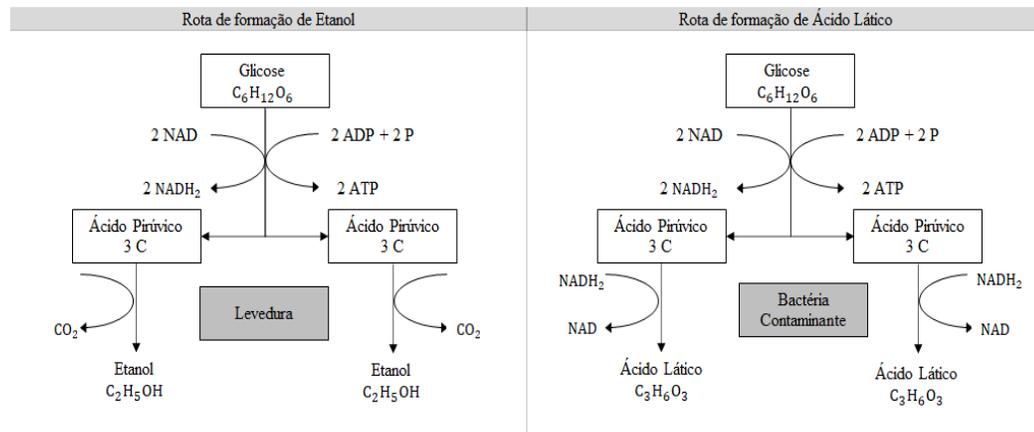
2.3.1 Acido Láctico

Um dos principais produtos do metabolismo das bactérias contaminantes é o ácido láctico, componente relacionado a grandes perdas na fermentação alcoólica. Essa substância age como inibidor e afeta diretamente a taxa de crescimento específico da levedura e indiretamente a taxa específica de produção de álcool (LIMA et al., 2001).

Em uma fermentação controlada, o ácido pirúvico é consumido pela levedura produzindo etanol e gás carbônico, em contrapartida, em um processo onde há

contaminantes, o ácido pirúvico é utilizado pela bactéria produzindo o ácido láctico, como apresentado na Figura 4. Visto isto, a produção desta substância aumenta à medida que a contaminação bacteriana na fermentação alcoólica se propaga e seu monitoramento pode servir como um parâmetro preciso para detectar a extensão dessa contaminação, já que expressa a atividade metabólica desses microrganismos (BORZAN, 2001).

Figura 4. Rota do metabolismo para produção de Etanol e Ácido Láctico



Fonte: Adaptado de Fermentec, 2020

Diversos autores verificaram a influência dos ácidos acético e láctico na inibição do crescimento celular e queda da viabilidade de *S. cerevisiae*. Em números, a contaminação a níveis de 10^6 ou 10^7 células de bactérias/mL de mosto já provoca queda significativa no rendimento fermentativo, uma vez que o ácido láctico é o produto final e não pode ser convertido em álcool (ALCADRDE et al., 2007).

Esta contaminação pode ser favorecida por dois fatores principais, o pH do meio e a temperatura do processo. O pH relativamente baixo dos caldos das moendas provoca o aumento de espécies acidófilas como *Leuconostoc* e *Lactobacillus*. E as elevadas temperaturas associadas ao pH favorecem alguns microrganismos termófilos esporulados (CHERUBIN, 2003).

2.3.2 Assepsia

Com objetivo de diminuir a taxa de contaminação do processo, a indústria de etanol busca meios para controlar bactérias contaminantes, podendo citar ações como limpeza e desinfecção rigorosas de equipamentos, decapagem de levedura, ajuste de pH

do mosto e uso de antibióticos durante a fermentação. Todavia, mesmo com os procedimentos de limpeza, as bactérias podem aparecer em quaisquer das etapas do processo devendo ser controladas o mais rápido possível (NARENDRANATH, 2003).

Um dos meios para controle da contaminação é a utilização de antisépticos como dióxido de cloro e ácido sulfúrico que criam um ambiente desfavorável a outros microrganismos, mas não às leveduras, que tem seu desenvolvimento minimamente prejudicado (VASCONCELLOS, 2010). Além do uso destes químicos, a esterilização de equipamentos é uma ação que diminui a propagação dessas bactérias.

Esta última estratégia para higienização pode ser realizada através da aplicação de produtos químicos que agem na limpeza do equipamento eliminando os microrganismos ou danificando irreversivelmente sua capacidade reprodutiva (BORZAN, 2001). Dentre os produtos utilizados nas indústrias de fermentação alcoólica, o composto denominado flegmaça é o mais utilizado para este fim. Esta solução é gerada na coluna de destilação sendo composta por água e traços de álcool, o que lhe dá grande potencial antisséptico. Deste modo, a flegmaça é aplicada na limpeza das dornas, assim como na remoção de bactérias nos trocadores de calor (MELLO, 2012).

2.4 Parâmetros de processo fermentativo

Os principais parâmetros que influenciam a contaminação do processo fermentativo são comentados a seguir.

2.4.1 Balanço de Ácido Lático

O parâmetro responsável para monitoramento da produção de ácido lático no processo de fermentação é o balanço de ácido lático. O mesmo permite avaliar a extensão da contaminação, uma vez que expressa a atividade metabólica das bactérias. O balanço de ácido lático revela o quanto do componente foi produzido nas dornas de fermentação. Tal parâmetro contabiliza a diferença entre a concentração do ácido na entrada (Dorna Primária) e saída do sistema (Dorna Final). Seu cálculo é mostrado na Equação 2.

$$\text{Balanço de Ácido Lático} = \text{Concentração de Ácido Lático no Vinho Levedurado} - \text{Concentração de Ácido Lático no Mosto} \quad (2)$$

O parâmetro Balanço de Ácido Lático contabiliza apenas o ácido que é formado durante o processo fermentativo nas Dornas de Fermentação e em um processo ideal este

valor não ultrapassa os 500 mg/L de concentração.

2.4.2 Concentração da Levedura

Um dos parâmetros que pode afetar a contaminação é a porcentagem de levedura separada através da etapa de centrifugação. Esta etapa tem como finalidade separar as leveduras do vinho levedurado, solução que contém álcool e leveduras. O vinho levedurado alimenta as centrífugas, que devido à suas altas rotações permitem separar as leveduras do vinho que será destinado a destilação. Nessa mesma etapa, também ocorre a separação das bactérias contaminantes proveniente das Dornas, já que há uma diferença de densidade entre leveduras e bactérias, sendo as bactérias eliminadas junto ao vinho.

2.4.3 Brix do Mosto e Açúcares Redutores Totais por Massa Seca de Fermento

Sabe-se que há dois principais parâmetros de processo que se relacionam com a quantidade de substrato que alimenta a fermentação, o Brix (quantidade de sólidos solúveis em uma solução açucarada) e o ART (açúcares redutores totais). O primeiro, o Brix do Mosto, contabiliza a quantidade de sacarose, glicose e frutose que alimentam as dornas de fermentação. Sua concentração não deve ultrapassar o valor de 23° Brix.

O segundo parâmetro, Açúcares Redutores Totais por Massa Seca de Fermento, ART/MS, é um dos meios utilizados nas usinas sucroalcoleiras para verificar a quantidade de glicose e frutose, que a levedura é capaz de consumir e metabolizar (massa seca de fermento).

2.4.4 Acidez no meio

A acidez do meio em que as células de levedura se encontram é muito importante para controlar a contaminação e evitar o fenômeno da floculação. Os resíduos de aminoácidos da superfície da bactéria contaminante *Lactobacillus fermentum* e resíduos de carboidratos das leveduras são os prováveis responsáveis pelo desenvolvimento da floculação. Este fenômeno é o produto da ligação entre os grupos carboxila das células

adjacentes através dos íons de cálcio, que induz a uma “ligação” conformacional, formando a adesão entre as leveduras e bactérias. (ALCADRDE et al., 2007)

Valores de pH do meio acima de 3,0 contribuem para que estas ligações ocorram, enquanto níveis inferiores de pH fazem com que o excesso de íons H^+ dispute com as ligações dos íons Ca^{++} diminuindo a floculação. É por esse motivo as indústrias fazem uso da metodologia de reciclo de células com a adição de ácido sulfúrico no tratamento do fermento, mantendo o pH com baixos valores ocasionando o rompimento dessas pontes de ligação dos íons Ca^{++} (ALCADRDE et al., 2007).

O pH na Cuba, por exemplo, deve ser mantido na faixa de 2 a 2,5 atuando na formação de um meio que desestabiliza os microrganismos contaminantes além da quebra das ligações moleculares do cálcio presentes nas paredes celulares da leveduras e bactérias.

A acidez do mosto, quando em valores elevados, indica uma possível contaminação do mel proveniente da fabricação de açúcar, onde a acidez é um parâmetro relacionado a inversão de sacarose por bactérias contaminantes. Diferentemente da acidez no fermento, em que valores elevados para este parâmetro pode se relacionar diretamente com a viabilidade do fermento. Em altas concentrações, o íon dissociado do Ácido Láctico, o Lactato, tende a entrar em equilíbrio osmótico com a célula de levedura, diminuindo a viabilidade da mesma.

2.4.5 Residual de Cloro

A utilização de água no processo fermentativo é dada em duas etapas principais. A primeira compreende o tratamento do fermento na cuba, onde é adicionada água da Estação de Tratamento de Água, ETA, até atingir uma concentração de 30% de fermento. E em um segundo momento, utiliza-se água na diluição do mosto que será utilizado como substrato. O mel final, componente do mosto, chega a fermentação com um Brix de aproximadamente 60%, e é diluído em água tratada pela ETA até obter uma concentração de sólidos de 14 a 23%.

Visto essas aplicações, a concentração residual de cloro é um parâmetro de suma importância para eliminação da contaminação, já que a concentração residual de cloro confere a impossibilidade da entrada de microrganismos contaminantes através da água. Neste caso, a água utilizada deve apresentar uma concentração ideal de cloro residual de 0,05% em volume.

2.4.6 Temperatura

Este parâmetro é uma das condições de processo que mais afetam a atividade de microrganismos, influenciando no crescimento, metabolismo, capacidade fermentativa e viabilidade celular em leveduras. (BATISTA, 2001)

As leveduras e as bactérias constituem um grupo de microrganismos mesófilos que apresentam uma temperatura ideal de crescimento em média de 20 a 45°C. Essa temperatura abrange tanto o crescimento das bactérias contaminantes quanto o desenvolvimento de leveduras. Todavia, nas Dornas de fermentação a temperatura ideal para produção de etanol não excede os 33°C. A medida que a temperatura se eleva, aumenta a velocidade das reações do meio, seja de fermentação ou infecção. acarretando em um maior metabolismo das bactérias contaminantes, devido a este microorganismo apresentar organização celular mais simples, afetando negativamente a viabilidade das leveduras.

2.4.7 Grau alcoólico

O Grau Alcoólico na Dorna Final contabiliza a quantidade de etanol presente no final da fermentação. Em processos que visam maiores concentrações de etanol, o grau alcoólico na última dorna pode chegar até 12° GL, todavia, em elevadas concentrações, o etanol pode ser acumulado no interior das células de levedura, ocasionando a redução da viabilidade da mesma. Neste sentido, é importante que este parâmetro seja monitorado, não devendo apresentar valores superiores a 10° GL.

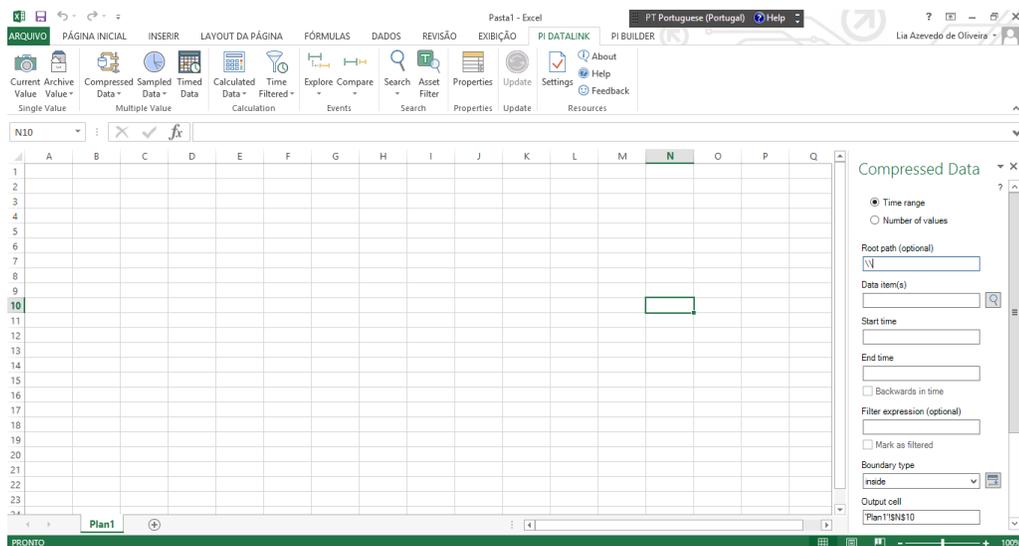
3 METODOLOGIA

Neste trabalho, parâmetros de processo da etapa de fermentação alcoólica na produção de etanol da usina Benálcool, localizada em Bento de Abreu no estado de São Paulo foram obtidos e analisados a fim de se buscar compreender a origem da contaminação bacteriana no sistema.

3.1 Coleta de dados do processo

Os parâmetros do processo foram medidos por meio de sensores ou obtidos indiretamente através de análises laboratoriais permitindo a aquisição de dados para análise e quantificação de suas influências sobre a contaminação do processo fermentativo. Tais dados foram coletados e arquivados através do uso do *software* PiSystem, cuja imagem do painel é mostrada na Figura 5. Este *software* de gestão de indicadores da OSIsoft recebe dados em tempo real de ativos, incluindo dispositivos legados, proprietários, remotos, móveis e IIot, armazenando-os e permitindo acessar o histórico dos dados requeridos.

Figura 5. Página inicial do software Pi OsiSoft



Fonte: Autor Próprio

As amostras dos parâmetros selecionados possuem diferentes frequências de medições, ou seja, algumas eram analisadas de hora em hora, outras de 4 em 4 horas e

assim por seguinte. Desta forma, foi realizado um ajuste na amostragem para que todos os parâmetros contassem com um valor de medição a cada 24 horas.

Para esta adequação utilizou-se uma ferramenta do *software* que padroniza a frequência em que os parâmetros podem ser obtidos. Para enquadrar as amostras de forma que a frequência de medição dos valores fosse mostrada a cada 24 horas, foi usada a ferramenta denominada “*Calculated Data*”. Nesta ferramenta foram inseridas informações como o nome do parâmetro, o tempo em que as medições se iniciaram (início da safra) e terminaram (final da safra), o intervalo de tempo das medições (padroniza a frequência em que são medidas as amostras) e o modo de cálculo, sendo escolhido a média ponderada para as análises estatísticas. Essas entradas são exibidas na Figura 6.

Figura 6. Ferramenta Calculated Data

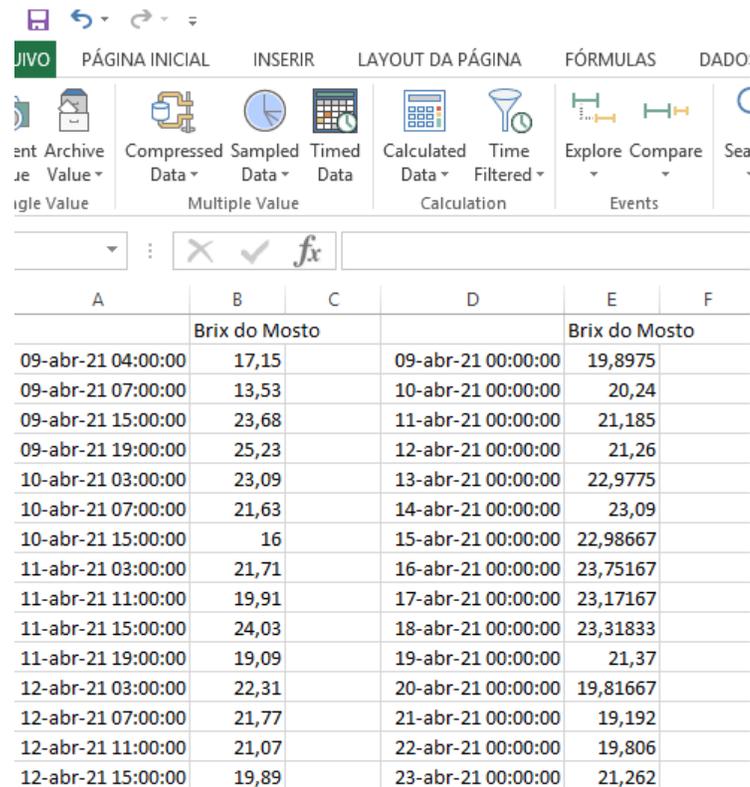
The image shows a software interface titled "Calculated Data" with a dropdown arrow. It contains several input fields and a dropdown menu:

- Data item(s)**: A text input field containing the path "\\RZPIOSI01V\0021_BXMOSF" and a search icon.
- Start time**: A date input field containing "09/04/2021".
- End time**: A date input field containing "01/11/2021".
- Time interval (optional)**: A text input field containing "1d".
- Filter expression (optional)**: An empty text input field.
- Conversion factor**: A text input field containing "1" and a calendar icon.
- Calculation mode**: A dropdown menu with "average (time-weighted)" selected and a refresh icon.

Fonte: Autor próprio

Segue na Figura 7 um exemplo da utilização desta ferramenta para as análises de Brix do Mosto.

Figura 7. Adequação da variável Brix do Mosto



The screenshot shows the JIVO software interface with a data table. The table has columns A through F. Column B is labeled 'Brix do Mosto' and contains numerical values. Column D is labeled 'Brix do Mosto' and contains date-time strings. The data is as follows:

A	B	C	D	E	F
	Brix do Mosto			Brix do Mosto	
09-abr-21 04:00:00	17,15		09-abr-21 00:00:00	19,8975	
09-abr-21 07:00:00	13,53		10-abr-21 00:00:00	20,24	
09-abr-21 15:00:00	23,68		11-abr-21 00:00:00	21,185	
09-abr-21 19:00:00	25,23		12-abr-21 00:00:00	21,26	
10-abr-21 03:00:00	23,09		13-abr-21 00:00:00	22,9775	
10-abr-21 07:00:00	21,63		14-abr-21 00:00:00	23,09	
10-abr-21 15:00:00	16		15-abr-21 00:00:00	22,98667	
11-abr-21 03:00:00	21,71		16-abr-21 00:00:00	23,75167	
11-abr-21 11:00:00	19,91		17-abr-21 00:00:00	23,17167	
11-abr-21 15:00:00	24,03		18-abr-21 00:00:00	23,31833	
11-abr-21 19:00:00	19,09		19-abr-21 00:00:00	21,37	
12-abr-21 03:00:00	22,31		20-abr-21 00:00:00	19,81667	
12-abr-21 07:00:00	21,77		21-abr-21 00:00:00	19,192	
12-abr-21 11:00:00	21,07		22-abr-21 00:00:00	19,806	
12-abr-21 15:00:00	19,89		23-abr-21 00:00:00	21,262	

Fonte: Autor próprio

Deste modo, definiu-se as datas para a amostragem, sendo escolhida a Safra 21'22 iniciada no dia 09/04/2021 e com término no dia 31/10/2021. Neste período contabilizou-se 162 dias de amostragem para quinze parâmetros, totalizando em 2.430 dados.

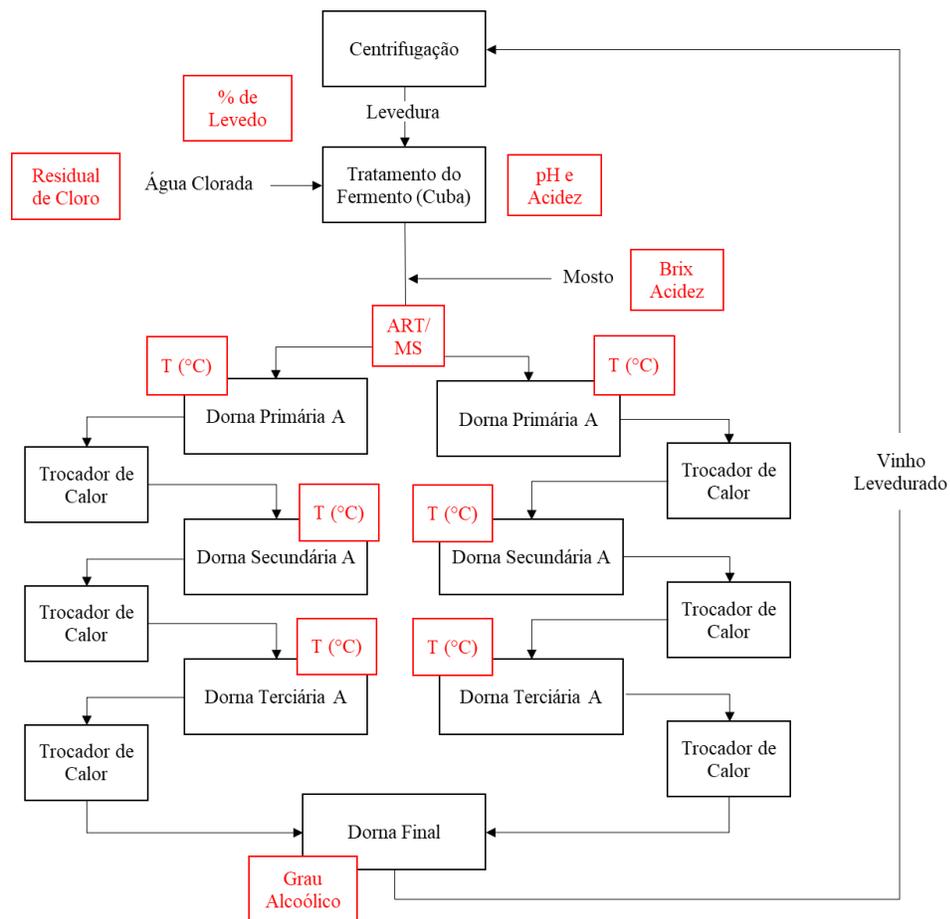
Após este passo, foi realizada a exclusão de medidas que possuíam erros de leitura pela instrumentação como falhas na medição (parada do processo ou manutenção) ou medição não disponível.

Deste modo, foram selecionados quatorze, 14, parâmetros independentes que influenciam na produção do Ácido Lático da fermentação sendo: 1. Concentração de Levedo na saída da Centrífuga 2. Concentração Residual de Cloro da água na fermentação, 3. pH na Cuba, 4. Acidez do Fermento, 5. Brix do Mosto, 6. Acidez do

Mosto, 7. ART/MS de Fermento, 8. Temperatura na Dorna Primária A, 9. Temperatura na Dorna Secundária A, 10. Temperatura na Dorna Terciária A, 11. Temperatura na Dorna Primária B, 12. Temperatura na Dorna Secundária B, 13. Temperatura na Dorna Terciária B e 14. Grau Alcolóico na Dorna Final.

Na Figura 8 são exibidos em vermelho os parâmetros que serão analisados e os respectivos locais onde são coletados.

Figura 8. Fluxograma de processo de fermentação e pontos de coleta das amostras



Fonte: Autor próprio

Após essa amostragem os dados foram analisados por meio de técnicas estatísticas através do uso do *software* Statistica®. O conjunto de dados analisados podem ser visualizados na Tabela 1 do Apêndice A.

3.2 Análise estatística

O Statistica é um *software* que possui um conjunto de ferramentas para análises estatísticas. O software também possui ferramentas de gestão e visualização de bases de dados. As suas capacidades de análise cobrem milhares de algoritmos, funções, testes e métodos que vão desde a simples tabela à avançada modelagem não-linear, passando por modelos lineares generalizados às séries de métodos temporais. Este *software* foi selecionado para fazer as análises estatísticas do presente trabalho.

A significância estatística de um resultado é uma medida estimada do grau em que este resultado é verdadeiro. O nível desta análise é mensurado através de um índice, nível- p , que demonstra a confiabilidade das respostas, sendo que o valor do mesmo representa o inverso da confiabilidade de um resultado. Quanto maior o grau do nível- p , menos se pode acreditar que as variáveis na amostra e um indicador são confiáveis.

Visto isto, foi definido um valor para nível- p de 0,05, indicando que há 5% de probabilidade de que a relação entre as variáveis, encontrada na amostra, seja um erro.

A análise estatística escolhida para tratamento dos dados foi a regressão linear. Esta análise é utilizada para prever o valor de uma variável dependente, y , cujo comportamento será explicado pela variável x , chamada de variável independente. O modelo de regressão linear simples pode ser descrito como na Equação 3 a seguir.

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \epsilon_i \quad (3)$$

onde:

i - Indica cada um dos pares de valores (x_i, y_i)

x_i - Indica o i -ésimo valor da variável independente x ;

β_0 - Corresponde à interseção da reta de regressão com o eixo das ordenadas;

β_1 - Corresponde a inclinação da reta de regressão;

ϵ_i - Indica o desvio do valor observado y_i em relação ao valor previsto pela reta de regressão no ponto x_i .

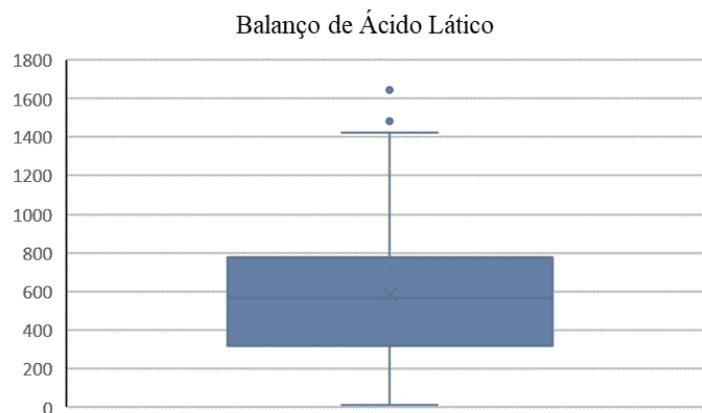
Para análise de adequação dos parâmetros ao modelo linear espera-se que o valor da constante de ajuste linear, R^2 seja próximo a 1. Isto significa que a variância das variáveis independentes esteja relacionada com a variável dependente.

Foi utilizado um gráfico do tipo boxplot para verificação e eliminação de pontos fora da normalidade. O Boxplot é um modelo gráfico que utiliza as referências de valores mínimos e máximos, primeiro e terceiro quartil, mediana e outros valores da base de

dados para estudar as medidas estatísticas da amostra, como propriedades de localização, variabilidade, média, e outliers.

O gráfico apresenta duas principais estruturas, o corpo e sua extensão. O corpo é formado por uma linha central, sendo a mediana, e seus extremos, representados pelo terceiro quartil, limite superior, e primeiro quartil, limite inferior. Já a extensão superior compreende pontos superiores ao terceiro quartil até o limite superior, e a extensão inferior compreende pontos inferiores ao primeiro quartil até o limite inferior. O gráfico do tipo boxplot para o parâmetro Balanço de Ácido Lático é apresentado na Figura 9.

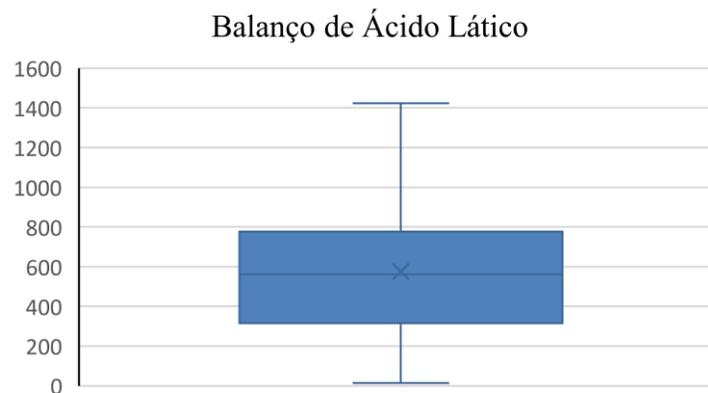
Figura 9. Boxplot do Balanço de Ácido Lático com presença de outliers



Fonte: Autor próprio

Os dois pontos na figura correspondem aos outliers e são eliminados para realização da análise estatística como exibido na Figura 10.

Figura 10. Boxplot do Balanço de Ácido Lático sem presença de outliers



Fonte: Autor próprio

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido a grande quantidade de amostras a serem analisadas decidiu-se exibir inicialmente as descrições estatísticas básicas dos 14 parâmetros a fim de caracterizá-las com maior facilidade. Valores de média, mínimos, máximos e desvio padrão são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Análises estatísticas básicas dos parâmetros selecionados

Parâmetros	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Limites
Balanço de Ácido Lático (mg/L)	575,54	13,17	1423,59	323,94	<500
Concentração de levedo (%)	75,15	13,33	89,60	7,87	60 a 80
Concentração residual de cloro (ppm)	0,45	0,02	3,07	0,52	0,05
pH na Cuba	2,66	1,54	4,96	0,68	2 a 2,5
Acidez do Fermento (g/L)	2,72	0,52	3,93	0,63	1 a 4
Brix Do Mosto (%)	23,62	16,51	28,60	1,95	23
Acidez do Mosto	1,07	0,00	1,97	0,27	< 1,5
ART/MS	0,30	0,15	0,40	0,04	0,3 a 0,4
Temperatura Dorna Primária A (°C)	33,93	19,34	38,09	1,72	33
Temperatura Dorna Secundária A(°C)	33,15	17,97	38,86	2,97	33
Temperatura Dorna Terciária A(°C)	31,76	10,91	37,86	3,61	33
Temperatura Dorna Primária B (°C)	34,09	28,33	37,95	1,35	33
Temperatura Dorna Secundária B (°C)	33,34	20,28	41,69	3,29	33
Temperatura Dorna Terciária B (°C)	33,06	20,69	38,12	4,39	33
Grau Alcoólico (%)	8,73	4,82	10,41	0,93	10

Os parâmetros de processo que possuem valor médio fora do limite estabelecido estão em coloração avermelhada. Visto isto, é observado a partir da Tabela 2 que o valor médio do Balanço de Ácido Lático é de 575 mg/L o que ultrapassa o valor limite de concentração, 500 mg/L, que caracteriza o sistema como contaminado. Além disto,

parâmetros de pH na Cuba e Temperatura da Dorna Primária B apresentam valores médios ligeiramente acima dos limites operacionais estabelecidos.

Também é notado que o desvio padrão do Balanço de Ácido Lático é que apresenta valor mais elevado, sendo o motivo principal de estudo deste trabalho, que associado a regressão linear, avaliará o quanto este parâmetro é impactado pelo desvio dos outros parâmetros independentes citados anteriormente.

O conjunto de dados amostrados foi inserido ao *software Statistica* para se realizar a análise de regressão múltipla obtendo-se os resultados exibidos na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3. Resultados obtidos para a regressão múltipla dos dados.

Parâmetros	B	Std. Err. of B	t (147)	p-value
Concentração de levedo	0,018	0,079	0,231	0,818
Concentração residual de cloro	0,012	0,070	0,168	0,867
pH na cuba	0,447	0,091	4,929	0,000
Acidez do Fermento	0,473	0,102	4,634	0,000
Brix Do Mosto	0,106	0,109	0,975	0,331
Acidez Mosto	0,034	0,076	0,448	0,655
ART/MS	-0,342	0,096	-3,555	0,001
Temperatura Dorna Primária A	0,488	0,169	2,889	0,004
Temperatura Dorna Secundária A	-0,032	0,148	-0,213	0,831
Temperatura Dorna Terciária A	0,072	0,148	0,484	0,629
Temperatura Dorna Primária B	-0,211	0,171	-1,239	0,217
Temperatura Dorna Secundária B	0,207	0,099	2,077	0,040
Temperatura Dorna Terciária	0,016	0,086	0,186	0,853
Grau Alcoólico	-0,155	0,111	-1,395	0,165

A Tabela 3 apresenta em sua primeira coluna (*B*) os valores dos estimadores de mínimos quadrados, ou seja, os parâmetros de regressão, com os respectivos desvios padrão calculados apresentados na segunda coluna. A terceira coluna (*t* (147)) representa o valor da divisão da primeira pela segunda coluna, ou seja, a divisão dos parâmetros de regressão pelos seus respectivos desvios padrão, e desta forma mostra quantas vezes o parâmetro é maior ou menor que o seu desvio padrão. Logicamente, se o parâmetro for menor do que o seu desvio padrão, significa que ele flutua mais do que a incerteza da medida, e portanto, não é significativo. Isto também pode ser constatado através da

quarta coluna, que mostra os valores de p . Quanto maior for o valor de t maior a sua probabilidade de estar dentro do nível de significância adotado, ou de ter o valor de p menor do que 0,05. Assim os parâmetros aparentemente significativos correspondem a ART/MS, pH na cuba, Acidez do Fermento e Temperaturas na Dorna Primária A e na Dorna Secundária B.

Além das análises dos valores de p encontrou-se as medidas de regressão R e R^2 para avaliação da adequação ao modelo linear para todas as variáveis. Estas medidas são exibidas na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4. Adequação dos parâmetros ao ajuste de modelo linear.

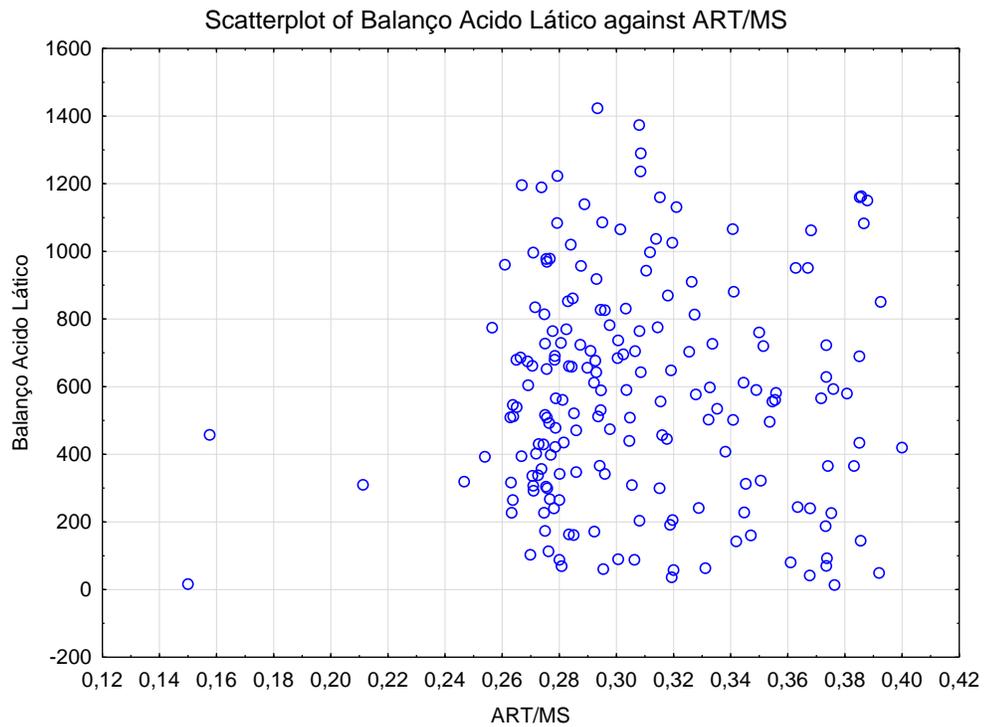
R	R²
0,539	0,290

Ao observar o valor de $R^2 = 0,29$ pode-se dizer que 29% da variabilidade da resposta (balanço de ácido lático) pode ser explicada pela influência das quatorze variáveis independentes analisadas. Desta forma o resultado da regressão múltipla indica que as variáveis independentes escolhidas não podem explicar a variação da variável resposta Ácido Lático, ou seja, outros parâmetros não analisados devem estar influenciando o processo.

Para ficar mais claro esse não ajuste ao modelo, são exibidas separadamente as distribuições de cada variável em relação ao Ácido Lático.

As Figuras 11 a 17 evidenciam que os parâmetros não se ajustam ao modelo linear proposto pelo *software*.

Figura 11. Comportamento do parâmetro ART/MS



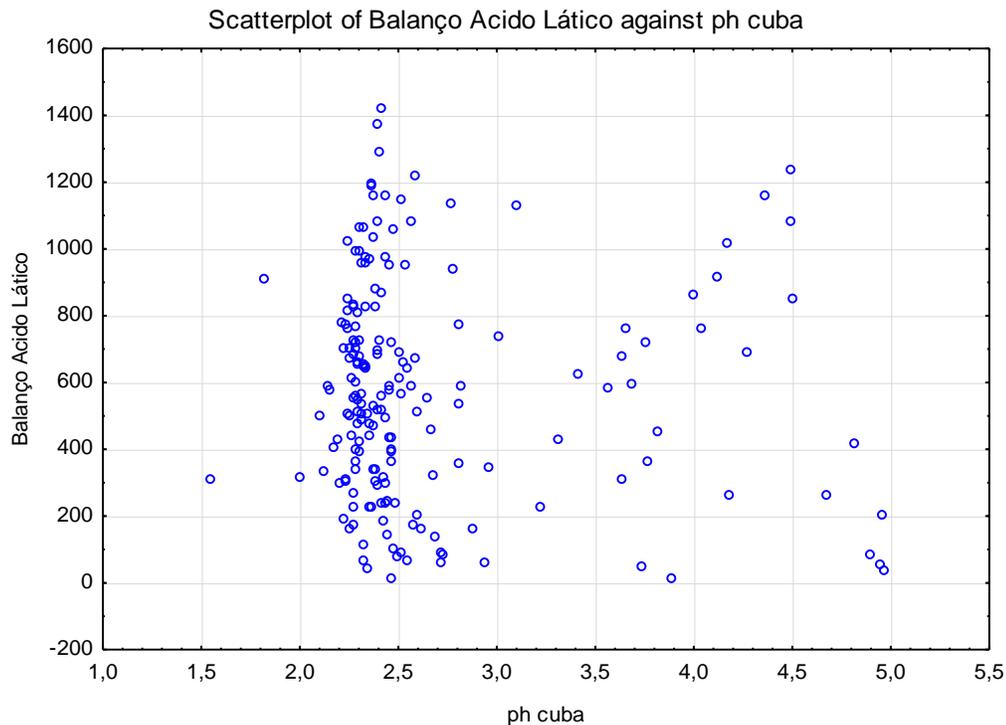
Fonte: Autor próprio

Na Figura 11 é notado uma distribuição de pontos extremamente dispersa que não se ajusta ao modelo linear, significando que a variância da variável independente ART/MS não está relacionada com a variável dependente balanço de ácido lático.

Segundo estudos, a relação ART/MS ao apresentar valores extremamente elevados leva à inibição do desenvolvimento do fermento, podendo levar a uma diminuição da viabilidade do fermento, e por consequência, aumento do consumo do substrato pelas bactérias o que aumentaria a produção de ácido lático.

Para avaliação do parâmetro pH é exibido na Figura 12 como é seu comportamento juntamente ao Balanço de Ácido Lático.

Figura 12. Comportamento do parâmetro pH na Cuba



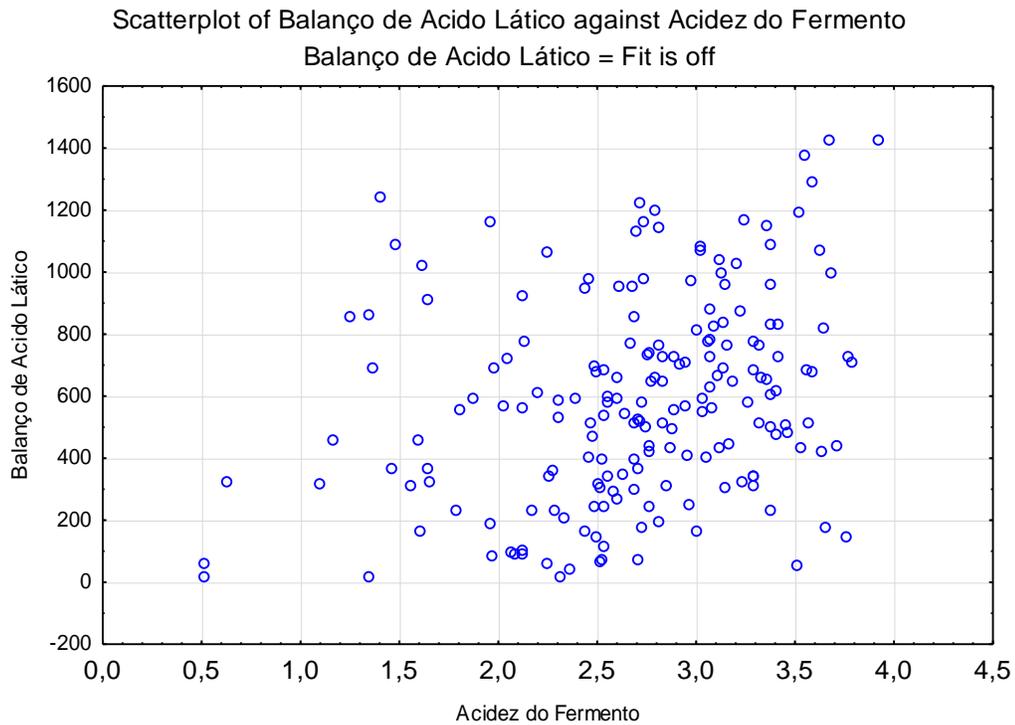
Fonte: Autor próprio

Não é possível através da Figura 12 obter relação da variável independente, pH na Cuba, com a dependente, formação de Ácido Lático. Entretanto, sabe-se que o pH é um dos parâmetros mais importantes a serem analisados quando se quer examinar a contaminação. O ácido sulfúrico (agente que reduz o pH) é adicionado na cuba até que o valor de pH esteja entre os limites de 2 a 2,5, o que causa um ambiente desfavorável ao desenvolvimento das bactérias contaminantes.

Cabe ressaltar que de acordo com os indicadores de processo mostrados na Tabela 2, o pH médio era de 2,66 com um desvio padrão de 0,68, o que indica um bom controle microbiológico. Além disso, estudos mostram que o pH baixo (2,0 a 2,5) na cuba pode afetar o metabolismo das leveduras, diminuindo a viabilidade celular. O fermento pode ainda sofrer efeitos mais severos para esta faixa de pH, se o tempo de exposição for superior a 2 horas. O tratamento ácido pode também causar estresse as leveduras, podendo afetar a fisiologia das células, modificando consequentemente seu funcionamento (Ludwig et al., 2001).

A seguir são apresentados na Figura 13 os pontos que relacionam a Acidez do Fermento com o Balanço de Ácido Lático.

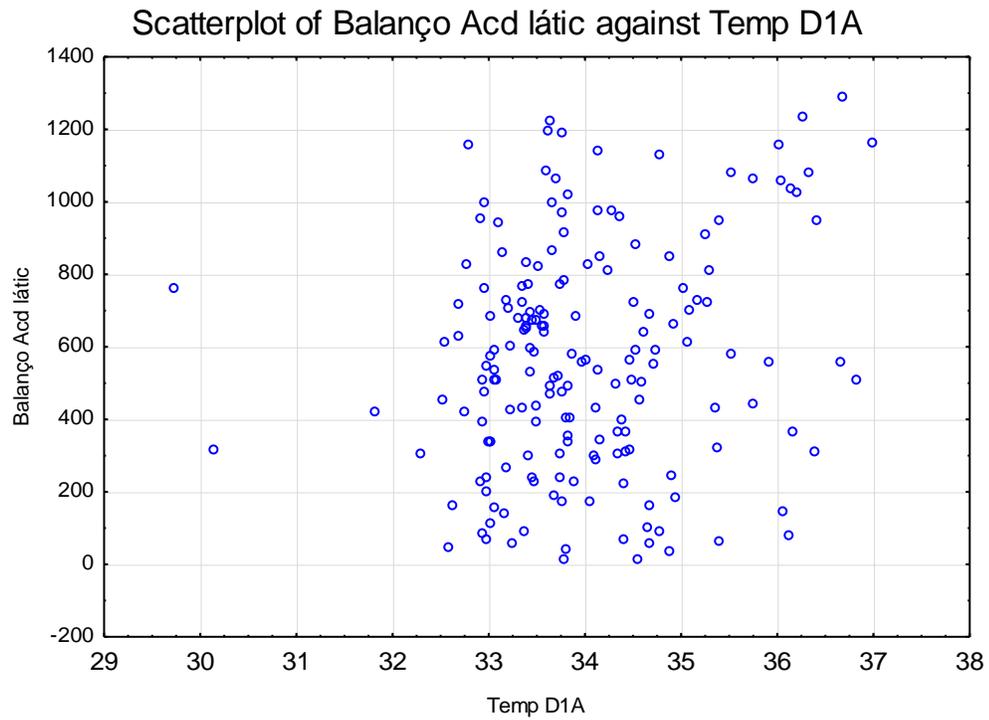
Figura 13. Comportamento do parâmetro Acidez do Fermento



O parâmetro de Ácidez do Fermento também não se relacionam com o Balanço de Ácido Lático. Na situação em que o parâmetro se adequa ao modelo, a relação da formação de Ácido Lático com a Acidez do Fermento pode ser discutida se baseando nas altas concentração de valores de ions dissociados de ácido lático, o lactato, que tende a equilibrar o sistema externo da levedura com seu interior, aumentando também a concentração de ions dentro da célula. O microorganismo tende então a gastar energia em forma de ATP, para remoção da substancia tóxica, e neste sentido, diminui a sua energia para reprodução e metabolismo.

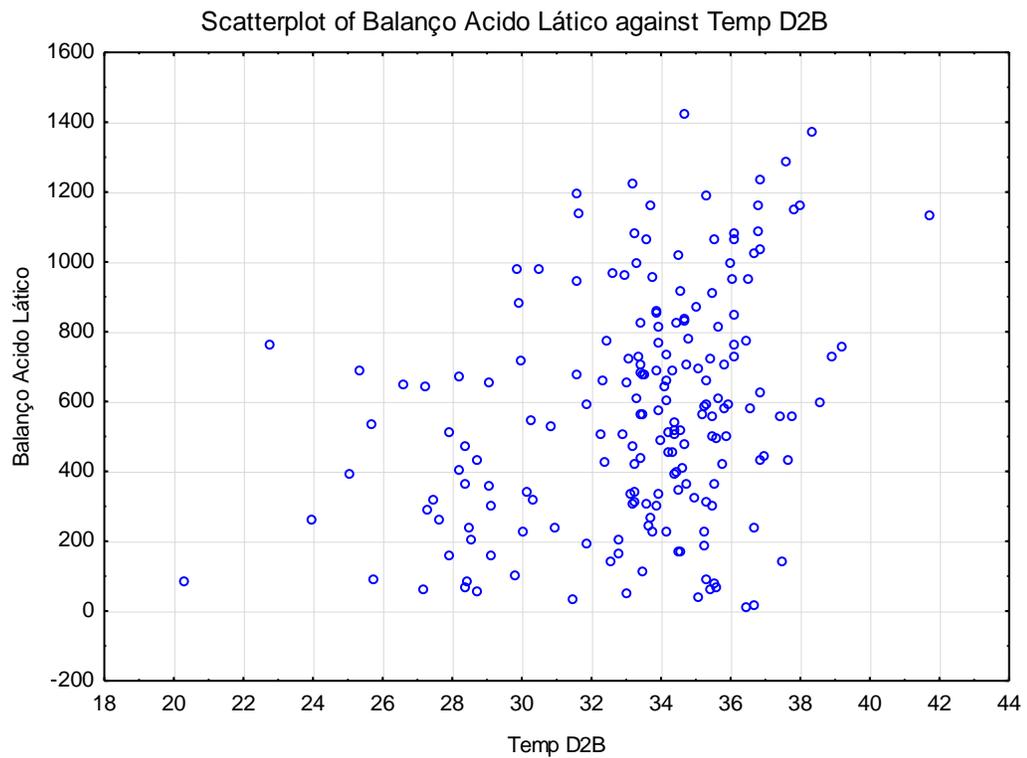
Todos os parâmetros citados anteriormente não se adequaram ao modelo de regressão múltipla, não diferente, a Temperatura da Dorna Primária A e Temperatura da Dorna Secundária B apresentaram valores inferiores para p , indicando a possibilidade de significância estatística, porém sem apresentarem altos valores para R , o que leva ao descarte das correlações. Os comportamento dos parâmetros são mostrados na Figura 14 e Figura 15.

Figura 14. Comportamento do parâmetro Temperatura da Dorna Primária A



Fonte: Autor próprio

Figura 15. Comportamento do parâmetro Temperatura da Dorna Secundária B



Fonte: Autor próprio

Apesar de não haver adequação ao modelo ajustado com os parâmetros da Tabela 3, a relação positiva entre Temperatura e Balanço de Ácido Lático é verdadeira, já que a reação de transformação do substrato em etanol libera energia, fazendo com que se aumente a temperatura das Dornas ocasionando a uma maior velocidade de desenvolvimento dos microorganismos contaminantes.

Uma possível causa do não ajuste dos resultados é a frequência de medição dos parâmetros, em que cada qual possui certa periodicidade para medição, podendo as análises de média aritmética não serem consideradas apropriadas para o ajuste estatístico.

Visto que os parâmetros não se ajustaram ao modelo de regressão linear, deve-se avaliar outros meios para que se possa, por fim, encontrar a variável responsável pelo aumento de produção de ácido lático.

É válido notar que o processo analisado é alimentado de forma contínua, ou seja, não existe uma a realização de assepsia das Dornas durante a produção. Diferentemente da fermentação em batelada, onde após a liquidação do vinho levedurado existe a etapa de assepsia da mesma, no modo de alimentação contínuo é inviável a realização da parada da produção para assepsia. Apenas em situações oportunas como pausa na moagem por falta de matéria prima ou chuva, é que são realizadas as limpezas nas Dornas.

Na unidade de produção estudada não há limpeza das Dornas com o *Spray Ball*, sendo portanto um meio potencial para contaminação das bactérias. Este instrumento é formado por um cabeçote que recebe a flegmaça para assepsia do tanque. O mesmo, injeta a solução com alta pressão na parede das dornas, limpando-as de modo uniforme e eficaz. Este método de limpeza é vantajoso já que utiliza o próprio subproduto da destilação como desinfetante, destruindo assim as bactérias que interferem na integridade do vinho.

5 CONCLUSÃO

A quantificação de Ácido Lático pode ser um dos métodos de monitorar a intensidade da contaminação no meio fermentativo. Sabe-se que sua produção é vinculada a vários fatores de processo, todavia, o estudo estatístico realizado neste trabalho para modelos lineares demonstrou uma não correlação entre o balanço de ácido lático e os parâmetros selecionados para avaliação.

A análise estatística, ainda que apresentando valores de p inferiores a 0,05 para parâmetros como ART/MS, pH na cuba, Acidez do Fermento e Temperatura nas Dornas, não obteve relação com a produção de Ácido Lático, já que os valores de ajuste da regressão linear R^2 foram insatisfatórios.

Devido a estes resultados é possível vincular a produção do Ácido a outra medida do processo, como a falha operacional na limpeza das Dornas de fermentação, que possui grande potencial em ser causador do aumento da formação do Ácido. A ausência da assepsia leva a formação de um biofilme acumulador de bactérias que se agregam dificultando sua remoção e produzindo ainda mais substâncias contaminantes.

6 REFERENCIAS BÍBLIOGRÁFICAS

ALCARDE, A.R.; HORII, J.; NOBREI, T.P. **VIABILIDADE CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISAE CULTIVADA EM ASSOCIAÇÃO COM BACTÉRIAS CONTAMINANTES DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.** Ciência e Tecnologia dos Alimentos, 2007.

AMORIM, H. V. **FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: CIÊNCIA & TECNOLOGIA.** Fermentec, 2005, Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001450127>

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. **BIOETANOL- BRASIL 30 ANOS NA VANGUARDA.** Multi-Ciência: Revista interdisciplinar dos centros e núcleos da UNICAMP, 2006. Disponível em: http://www.multiciencia.unicamp.br/art02_7.htm

ATALA, D.I.P.; COSTA, A.C.; MACIEL FILHO, R.; MAUGERI FILHO, **FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA COM ALTA DENSIDADE CELULAR: MODELAGEM CINÉTICA E CONVALIDAÇÃO DE PARÂMETROS.** Livro de Resumos do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2000.

BASTOS, REINALDO GASPAR. **TECNOLOGIA DAS FERMENTAÇÕES: FUNDAMENTOS DE BIOPROCESSOS.** 2011.

BATISTA, A.S. **SACCHAROMICES CEREVISAE EM MILHO ARMAZENADO E O EFEITO NA REDUÇÃO DE AFLATOXICOSES.** Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 2001.

CAMOLEZ, M. A; MUTTON, M. J. R. **INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS CONTAMINANTES SOBRE O PROCESSO FERMENTATIVO. STAB – AÇÚCAR, ÁLCOOL E SUBPRODUTOS,** Piracicaba, v.23, n.5, p.40-47, 2005.

CHERUBIM, R. A. EFEITOS DA VIABILIDADE DA LEVEDURA E DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.

Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2003.

CHIEPPE JÚNIOR, JOÃO BAPTISTA, TECNOLOGIA E FABRICAÇÃO DO ÁLCOOL. Santa Maria, 2012. Disponível em: <http://redeetec.mec.gov.br/>

DUARTE, J.C.; LOURENÇO, V.; RIVEIRO, B. CONTINUOUS CULTURE OF FLOCCULENT YEAST FOR ETHANOL PRODUCTION. BIOTECHNOLOGY DEPARTMENT, Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação. Portugal, 2006. Disponível em: https://dc.engconfintl.org/bioenergy_i/6/ <https://cnpem.br/fermentacao-continua-ou-em-batelada/>

E. F. GOMES E A. PASQUALETTO, O BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR COMO FONTE DE CRÉDITOS DE CARBONO: O CASO DA USINA JALLES MACHADO S/A DE GOIANÉSIA-GO, 2006. Disponível em: <http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/7074>

<https://fermentecnews.com.br/>

FURTADO, T.A.; SCANDIFFIO, ÁLCOOL NO BRASIL - UMA LONGA HISTÓRIA. Scientific American Brasil. 2006

GURGEL, M. N. A. Tecnologia para aproveitamento de resíduos da agroindústria sucroalcooleira como biofertilizante organomineral granulado. Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola. Campinas, SP: [s.n.], 2012.

LEHNINGER, A.L. PRINCÍPIOS DE BIOQUÍMICA. São Paulo, 1984.

LIMA, U. DE A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. DE. BIOTECNOLOGIA

INDUSTRIAL: PRODUÇÃO DE ETANOL. Vol. 3. Cap. 1. São Paulo – SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

NARENDRANATH, N.V.; POWER, R. **EFFECT OF YEAST INOCULATION RATE ON THE METABOLISM OF CONTAMINATING LACTOBACILLI DURING FERMENTATION OF CORN MASH.** *Jornal microbiologia e biotecnologia industrial*, 2004.

SCHMIDELL, W. LIMA, U. A. AQUARONE, E. BORZANI, W. **BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL: VOLUME 2: ENGENHARIA BIOQUÍMICA.** Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo-SP, 2001.

VASCONCELOS, J. N; SANTOS, FERNANDO; BORÉM, ALUÍZIO; CALDAS, CELSO. **CANA-DE-AÇÚCAR: BIOENERGIA, AÇÚCAR E ÁLCOOL – TECNOLOGIAS E PERSPECTIVAS.** 22. ed. Viçosa: UFV, 2010. Disponível em: <http://redeetec.mec.gov.br/>

Balço Ácido Lático	ART/MS	Acidez Mosto	pH na cuba	T (°C) Dorna Primária A	T (°C) Dorna Secundária A	T (°C) Dorna Terciária A	T (°C) Dorna Primária B	T (°C) Dorna Secundária B	T (°C) Dorna Terciária B	Cloro Livre	Acidez do Fermento	Brix Do Mosto	GL	% de Levedo
861,360	0,285	1,410	3,995	33,134	32,524	31,051	32,963	33,848	33,083	0,140	1,350	23,090	8,575	58,580
852,800	0,283	1,420	4,503	34,155	32,928	30,367	34,415	33,854	33,612	1,600	1,250	22,990	8,063	69,000
1.083,890	0,279	1,670	4,491	35,511	32,638	30,567	35,253	36,120	33,525	0,090	1,480	23,750	8,760	72,460
1.236,550	0,308	1,320	4,496	36,255	34,092	32,250	35,936	36,824	34,463	0,140	1,410	23,170	8,887	70,920
1.160,520	0,315	0,970	4,355	32,796	31,874	30,971	32,986	33,687	29,954	0,170	1,960	21,370	8,080	58,890
775,880	0,314	0,850	2,808	33,728	33,442	32,345	33,141	36,444	32,095	0,830	2,140	19,820	7,283	46,650
365,440	0,374	0,730	3,765	34,347	34,970	33,787	32,684	28,384	38,565	0,220	1,650	19,190	7,565	51,290
160,200	0,347	0,810	2,873	33,047	33,316	30,572	33,456	29,117	26,844	0,130	1,610	19,810	6,660	73,330
89,830	0,301	1,130	2,716	33,363	33,939	31,606	33,092	25,758	26,859	0,880	2,090	21,260	7,920	76,870
534,890	0,335	0,990	2,810	34,126	33,058	30,799	33,616	25,663	26,073	2,660	2,540	22,780	8,135	75,040
642,720	0,309	0,890	2,543	34,607	34,213	32,324	34,775	27,213	25,372	3,070	2,780	22,090	8,200	72,500
103,290	0,270	0,920	2,470	34,645	35,103	33,434	35,137	29,803	27,249	2,810	2,130	23,000	9,460	74,210
161,880	0,285	1,210	2,610	34,674	34,323	31,871	34,079	27,921	29,301	0,390	2,440	23,040	9,510	75,480

Balço Ácido Lático	ART/MS	Acidez Mosto	pH na cuba	T (°C) Dorna Primária A	T (°C) Dorna Secundária A	T (°C) Dorna Terciária A	T (°C) Dorna Primária B	T (°C) Dorna Secundária B	T (°C) Dorna Terciária B	Cloro Livre	Acidez do Fermento	Brix Do Mosto	GL	% de Levedo
434,780	0,282	1,090	2,465	34,114	33,175	31,583	33,979	28,705	33,868	0,090	2,770	22,030	9,300	77,720
470,610	0,286	1,040	2,374	33,625	34,194	32,056	33,968	28,391	26,522	0,110	2,480	23,170	8,847	82,920
316,210	0,263	0,910	2,419	34,469	34,375	32,095	34,836	27,421	27,642	0,090	2,510	23,250	9,225	79,380
511,600	0,264	1,090	2,291	34,487	34,345	32,032	35,025	27,927	30,081	0,220	2,830	23,010	9,070	76,890
978,790	0,277	1,170	2,328	34,141	33,615	31,983	34,488	30,513	30,958	0,100	2,740	23,360	9,357	79,660
366,170	0,294	1,360	2,277	34,426	33,863	31,464	34,585	34,714	30,723	0,250	2,710	23,640	9,270	78,500
240,210	0,278	1,430	2,435	33,453	34,247	31,556	34,532	36,645	28,595	0,330	2,540	24,120	9,550	74,000
969,170	0,276	1,470	2,353	33,759	34,241	32,714	33,832	32,622	31,911	0,490	2,980	23,780	9,335	74,040
1.195,770	0,267	1,760	2,365	33,621	33,982	32,270	33,220	31,591	31,855	0,170	2,800	24,290	8,990	78,650
227,410	0,263	1,400	2,358	33,878	34,301	32,604	33,445	30,048	34,663	0,080	2,170	22,760	8,815	79,500
292,260	0,271	1,320	2,392	34,107	34,671	32,275	33,629	27,262	26,706	0,080	2,590	22,730	9,017	78,170
1.223,140	0,279	1,350	2,586	33,642	34,130	31,862	34,111	33,164	34,222	0,590	2,720	22,580	9,035	76,750

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
69,110	0,281	1,580	2,541	32,970	33,944	31,717	33,821	28,373	26,039	0,060	2,710	22,140	8,255	76,730
402,460	0,272	1,390	2,463	33,840	33,719	32,400	34,357	28,205	24,592	0,300	2,460	23,310	8,723	75,060
342,000	0,280	1,040	2,388	33,819	34,376	32,511	34,613	30,115	26,455	0,110	2,260	23,290	9,123	76,570
304,440	0,275	0,980	2,387	34,337	34,552	32,213	35,062	29,088	29,163	0,120	2,520	23,680	9,253	73,910
977,690	0,275	1,130	2,430	34,273	34,564	32,453	34,306	29,871	29,733	0,210	2,460	23,480	9,307	78,500
394,790	0,267	1,250	2,462	32,921	33,788	32,280	33,265	25,026	34,008	0,840	2,530	23,340	9,167	78,330
679,330	0,265	1,300	3,637	33,298	31,704	30,830	33,104	31,551	31,708	0,870	2,540	21,930	9,165	78,340
1.139,590	0,289	1,310	2,763	34,141	32,530	30,370	32,822	31,633	40,820	0,950	2,820	23,850	8,337	80,000
648,360	0,319	1,740	2,327	33,364	31,439	31,326	33,541	26,577	30,294	0,260	3,190	23,720	8,473	78,700
684,180	0,300	1,450	2,392	33,019	23,054	22,542	33,406	33,393	31,465	0,110	3,290	23,380	8,590	73,780
491,950	0,276	1,250	2,309	33,639	24,319	25,852	33,798	33,975	32,140	0,300	2,880	24,330	9,230	70,780

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
521,110	0,285	1,700	2,395	33,708	28,330	28,590	34,211	34,531	33,293	0,420	2,710	24,230	9,120	80,150
299,240	0,276	1,780	2,435	33,400	30,225	28,729	34,077	33,871	33,754	0,140	2,690	23,960	8,940	78,070
662,000	0,271	1,510	2,294	34,911	31,583	30,112	34,765	35,310	33,468	0,330	3,110	24,170	9,187	80,950
769,800	0,282	1,340	2,280	33,351	29,230	28,712	34,790	33,937	33,650	0,480	2,670	24,880	9,510	72,620
539,490	0,265	1,270	2,313	33,056	29,616	29,243	34,587	34,395	33,070	0,320	2,640	24,290	9,430	76,670
589,990	0,304	1,250	2,450	33,056	33,556	30,695	31,585	31,860	32,695	0,470	2,600	24,090	9,123	76,710
398,360	0,277	1,220	2,285	34,372	34,876	31,409	34,017	34,457	33,499	0,240	3,050	23,980	8,630	72,320
347,160	0,286	1,190	2,958	34,163	35,866	31,568	34,096	34,487	33,008	0,120	2,630	24,260	8,930	79,110
1.020,000	0,284	1,290	4,164	33,825	35,447	30,837	33,902	34,479	32,405	0,120	1,620	24,000	8,940	76,660
690,740	0,278	1,310	4,264	33,581	34,961	31,155	33,607	33,893	32,586	0,220	1,370	23,630	9,013	77,130
918,860	0,293	1,530	4,121	33,788	37,362	32,503	33,899	34,550	33,439	0,290	2,130	24,340	9,187	76,560

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
825,910	0,296	1,380	2,380	33,510	38,115	33,258	34,233	34,466	32,642	0,070	3,090	23,860	9,357	76,220
943,160	0,310	1,590	2,773	33,097	35,896	31,769	32,886	31,569	32,415	0,020	2,440	22,960	8,780	73,970
88,120	0,306	1,150	2,722	32,926	33,936	31,305	33,679	28,437	28,295	0,100	2,130	20,140	7,547	70,000
203,830	0,308	0,920	2,599	32,981	33,383	30,825	33,168	32,774	23,375	0,090	2,340	19,640	7,190	76,690
60,800	0,295	0,900	2,712	33,233	33,784	31,499	33,116	27,141	28,779	0,560	2,250	21,790	7,673	79,440
241,590	0,329	0,840	2,409	32,969	33,402	30,653	33,415	28,510	27,196	0,670	2,770	23,940	8,400	71,270
508,750	0,305	0,840	2,311	33,052	33,412	30,449	33,590	32,252	28,368	0,070	2,470	24,370	8,967	73,130
656,050	0,290	0,810	2,318	33,394	33,789	32,024	34,008	29,028	27,080	0,070	2,800	25,420	9,417	75,650
881,100	0,341	0,810	2,379	34,524	31,870	34,491	34,242	29,891	30,025	0,350	3,070	22,600	9,163	79,560
782,120	0,298	0,810	2,214	33,777	26,791	26,655	34,455	34,806	33,161	0,740	3,070	24,920	9,270	76,020
299,820	0,315	0,860	2,204	34,094	32,686	27,930	34,856	35,476	33,352	0,210	3,150	23,560	8,930	77,220

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix	GL	% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do		Levedo
												Mosto		
643,560	0,293	1,100	2,332	33,579	28,253	21,689	34,052	34,076	32,596	0,120	2,830	23,340	8,440	71,590
830,570	0,303	0,850	2,335	34,019	29,367	24,959	34,320	34,683	33,377	0,100	3,380	23,480	8,437	71,440
561,100	0,281	0,790	2,280	33,959	32,810	26,757	33,935	35,177	34,108	0,080	3,080	22,930	9,090	76,790
834,790	0,272	0,830	2,273	33,395	28,894	23,725	33,492	34,669	32,911	0,150	3,140	23,410	9,200	76,930
604,700	0,269	0,960	2,277	33,215	23,729	16,973	33,229	34,170	33,176	0,100	3,380	23,010	9,007	75,300
319,270	0,247	0,680	1,999	30,142	17,970	10,910	29,815	30,299	31,605	0,300	3,240	23,390	9,190	72,920
267,080	0,277	0,850	2,273	33,178	24,534	20,873	33,051	33,717	33,583	0,170	2,600	22,710	8,153	76,180
392,590	0,254	0,860	2,300	33,484	26,976	25,647	33,050	34,400	33,021	0,110	2,690	23,110	8,303	79,000
764,550	0,278	0,690	4,037	29,717	24,770	30,096	30,098	22,770	43,541	0,080	2,820	21,250	6,770	75,000
686,380	0,266	0,930	2,268	33,896	33,435	33,424	33,076	25,302	21,564	0,220	3,140	22,490	8,337	67,980
545,880	0,264	0,820	2,289	32,977	33,916	33,107	32,994	30,255	23,945	0,130	3,040	23,710	9,083	73,920

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
509,610	0,263	0,850	2,239	32,933	33,309	33,233	32,933	32,908	31,927	0,080	2,690	22,690	9,047	74,090
774,410	0,257	0,870	2,231	33,399	33,057	32,725	32,882	32,434	31,813	0,090	3,290	22,600	8,817	72,130
512,700	0,294	1,110	2,595	36,830	33,017	31,432	37,956	34,234	29,414	0,100	3,320	24,640	10,415	71,100
957,250	0,288	1,100	2,328	32,902	33,638	33,554	33,173	33,746	32,261	2,180	3,150	25,280	9,600	80,660
658,680	0,284	1,030	2,293	33,577	33,122	32,744	33,921	34,141	31,465	2,410	3,330	25,390	9,547	80,150
679,340	0,278	1,130	2,297	33,377	32,867	31,920	33,859	33,472	31,937	0,110	3,560	25,160	9,450	75,000
1.189,510	0,274	1,240	2,364	33,754	34,087	33,218	35,505	35,287	32,890	0,650	3,520	25,240	9,547	78,390
813,960	0,275	1,040	2,245	34,228	33,903	32,704	34,913	33,921	32,736	0,380	3,650	24,490	9,297	73,960
996,560	0,271	1,080	2,305	32,957	33,643	33,152	33,764	33,281	32,611	0,690	3,690	25,270	9,583	75,280
307,660	0,271	0,880	2,235	32,300	33,306	32,619	33,099	33,179	32,111	0,410	3,290	25,550	10,353	76,560
163,100	0,283	0,760	2,248	32,619	32,913	32,352	33,400	32,793	32,915	0,860	3,010	25,920	9,987	76,480

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
960,900	0,261	0,680	2,312	34,365	33,079	32,877	33,872	32,924	32,434	1,700	3,380	24,930	10,215	78,160
729,730	0,281	0,780	2,299	33,170	33,098	32,605	33,319	33,369	32,813	0,630	2,760	24,720	9,700	76,670
342,000	0,296	0,920	2,284	32,984	33,272	32,828	33,136	33,229	32,903	0,420	3,290	25,040	8,953	78,330
705,890	0,291	0,900	2,282	33,193	33,190	32,279	33,365	33,434	32,798	0,240	3,790	25,260	9,727	75,430
676,640	0,293	0,940	2,254	33,491	33,569	32,831	34,128	33,541	32,861	1,630	3,590	25,030	9,727	80,780
474,640	0,298	0,940	2,295	32,959	33,282	32,534	33,962	33,197	32,020	0,720	3,410	25,580	9,887	79,990
827,420	0,294	0,970	2,269	32,768	33,400	32,548	33,213	33,387	32,491	0,340	3,420	24,450	9,477	77,910
723,980	0,287	1,020	2,281	33,350	33,111	32,432	33,473	33,090	32,541	0,910	3,770	24,840	9,567	80,060
440,010	0,304	0,840	2,260	33,495	33,057	32,369	33,613	33,394	32,697	0,510	3,720	24,380	9,707	79,400
1.065,440	0,301	1,060	2,326	33,689	33,317	32,572	33,309	33,561	32,570	1,000	3,630	25,450	9,747	81,750
1.423,590	0,293	0,980	2,411	33,570	33,393	32,876	33,673	34,668	33,437	0,410	3,680	25,060	9,853	81,250

Balanço Ácido Lático	ART/MS	Acidez Mosto	pH na cuba	T (°C) Dorna Primária A	T (°C) Dorna Secundária A	T (°C) Dorna Terciária A	T (°C) Dorna Primária B	T (°C) Dorna Secundária B	T (°C) Dorna Terciária B	Cloro Livre	Acidez do Fermento	Brix Do Mosto	GL	% de Levedo
173,370	0,275	1,020	2,270	33,763	34,103	33,115	34,045	34,471	33,032	0,980	3,660	25,350	9,825	78,750
478,470	0,279	0,720	2,352	33,768	34,498	33,460	33,712	34,653	32,937	0,640	3,470	25,340	10,027	74,940
172,040	0,292	0,870	2,571	34,049	33,373	32,658	34,178	34,573	33,424	0,940	2,730	24,680	9,970	77,320
589,010	0,295	0,950	2,812	33,476	34,732	33,758	33,882	35,247	33,582	0,400	2,390	24,830	9,703	77,890
869,290	0,318	0,890	2,416	33,651	34,297	33,194	34,011	35,022	33,195	0,860	3,230	25,760	9,930	79,200
191,420	0,319	0,910	2,223	33,685	33,819	33,314	34,285	31,841	48,028	0,610	2,810	23,070	8,123	77,340
308,780	0,305	0,870	2,234	33,734	34,102	33,129	34,455	33,558	30,870	1,140	2,850	24,580	8,627	74,150
704,760	0,306	0,970	2,249	35,082	34,148	33,250	35,271	35,789	32,700	0,490	2,950	25,550	9,500	76,210
556,590	0,315	0,880	2,273	35,912	34,428	33,470	36,674	37,750	33,595	0,810	2,890	25,340	9,643	80,370
1.131,260	0,321	0,960	3,099	34,782	35,599	36,101	34,414	41,692	48,996	0,140	2,700	25,080	7,975	75,000
1.085,950	0,295	1,170	2,390	33,598	35,476	34,383	35,611	36,760	34,116	0,530	3,380	25,340	9,643	74,680

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix	GL	% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do		Levedo
												Mosto		
764,340	0,308	0,910	2,245	35,030	35,184	34,172	34,397	36,075	33,369	0,080	3,160	22,640	8,567	64,430
1.025,750	0,320	0,840	2,245	36,191	35,218	33,873	36,024	36,646	34,779	0,080	3,210	24,090	8,850	83,550
502,810	0,332	0,700	2,105	34,588	35,814	34,896	34,720	35,857	33,957	0,080	3,460	24,070	9,345	77,480
590,580	0,349	0,860	2,138	34,726	35,921	35,124	34,946	35,931	34,165	0,490	3,040	24,670	8,825	74,590
407,850	0,338	1,000	2,168	33,805	34,382	33,632	34,036	34,627	32,642	0,150	2,960	21,920	8,113	76,990
501,460	0,341	0,910	2,255	34,317	34,535	33,531	34,584	35,441	34,988	0,140	2,750	24,050	8,077	73,850
813,260	0,327	0,950	2,289	35,287	34,711	33,795	35,326	35,658	34,867	1,040	3,010	24,490	8,450	72,060
1.066,170	0,341	0,920	2,299	35,741	34,936	34,042	35,891	36,086	35,875	1,030	3,030	23,980	8,830	76,370
629,070	0,373	0,760	3,412	32,679	34,738	33,379	33,048	36,823	34,048	0,420	3,070	26,180	9,330	77,380
726,380	0,334	0,960	2,273	34,508	35,002	36,507	34,459	38,900	44,144	0,690	2,890	24,300	8,777	89,600
49,440	0,392	0,980	3,737	32,574	33,072	35,677	33,393	33,000	29,579	0,150	3,510	22,380	9,515	73,340

Balanço Ácido Lático	ART/MS	Acidez Mosto	pH na cuba	T (°C) Dorna Primária A	T (°C) Dorna Secundária A	T (°C) Dorna Terciária A	T (°C) Dorna Primária B	T (°C) Dorna Secundária B	T (°C) Dorna Terciária B	Cloro Livre	Acidez do Fermento	Brix Do Mosto	GL	% de Levedo
457,140	0,158	0,690	2,666	34,562	33,231	32,897	34,640	34,227	33,261	0,940	1,600	17,560	6,600	73,330
695,720	0,302	1,290	2,389	33,428	33,940	33,389	34,005	35,045	32,953	0,090	2,490	22,180	7,913	74,360
445,080	0,318	1,060	2,351	35,748	35,788	35,596	36,156	36,963	34,028	0,110	3,170	24,200	9,160	80,000
1.036,680	0,314	1,140	2,372	36,133	36,540	35,816	36,722	36,840	33,879	0,150	3,120	25,800	9,210	79,530
1.290,100	0,309	1,190	2,405	36,686	37,410	36,381	37,279	37,606	35,484	0,090	3,590	25,190	9,017	78,850
1.373,220	0,308	1,320	2,394	36,871	37,603	37,401	37,328	38,359	35,955	0,270	3,550	25,070	8,923	76,840
496,170	0,354	1,170	2,432	33,814	34,873	34,419	34,356	35,574	35,590	0,370	3,380	22,770	8,640	76,490
240,330	0,368	1,290	2,482	33,734	33,351	33,030	33,663	30,944	44,562	0,490	2,490	22,240	7,320	79,000
244,520	0,363	1,280	2,447	34,896	34,004	33,545	35,004	33,658	29,844	0,100	2,970	24,910	7,883	77,500
144,680	0,385	1,260	2,444	36,056	34,711	34,164	36,418	37,491	35,760	0,270	3,760	28,600	9,703	72,780
433,890	0,385	1,330	2,452	35,362	34,351	34,161	35,688	36,845	34,983	0,280	3,530	25,430	9,807	77,330

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix		% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do	GL	Levedo
												Mosto		
1.159,890	0,385	1,370	2,368	36,021	34,188	33,886	36,516	36,770	34,478	0,590	2,740	26,470	8,285	78,330
1.163,360	0,386	1,250	2,437	36,976	35,844	35,351	37,405	37,974	35,651	0,530	3,250	26,800	8,403	80,000
1.150,410	0,388	1,180	2,512	37,328	36,964	35,624	37,423	37,830	35,538	0,460	3,360	26,710	8,587	74,440
592,700	0,376	0,750	2,565	34,523	30,945	33,268	34,520	35,280	45,106	0,100	1,880	18,670	5,710	71,340
227,950	0,345	0,510	3,215	32,901	30,662	31,292	33,144	34,125	31,654	0,180	1,790	17,820	5,820	69,510
188,190	0,373	1,180	2,421	34,931	33,263	32,870	35,160	35,222	32,095	1,900	1,960	24,020	7,700	76,220
226,680	0,375	1,430	2,359	34,404	34,456	33,447	34,243	35,248	32,806	0,330	2,290	24,340	8,325	76,690
42,020	0,368	1,300	2,343	33,809	34,550	34,418	33,904	35,042	33,303	0,700	2,370	25,890	8,332	77,220
69,940	0,373	1,320	2,327	34,408	34,658	33,876	34,076	35,590	33,251	0,830	2,530	26,530	8,500	71,810
142,200	0,342	1,480	2,681	33,155	32,558	32,033	32,680	32,550	44,168	0,240	2,500	26,440	8,590	78,460
555,930	0,355	1,100	2,649	34,704	34,689	33,644	34,689	35,453	32,369	0,230	1,810	24,600	6,800	78,460

Balanço Ácido Lático	ART/MS	Acidez Mosto	pH na cuba	T (°C) Dorna Primária A	T (°C) Dorna Secundária A	T (°C) Dorna Terciária A	T (°C) Dorna Primária B	T (°C) Dorna Secundária B	T (°C) Dorna Terciária B	Cloro Livre	Acidez do Fermento	Brix Do Mosto	GL	% de Levedo
92,510	0,374	1,140	2,511	34,773	33,188	32,866	34,728	35,267	33,478	0,220	2,070	27,010	8,500	75,840
13,170	0,376	1,970	2,460	34,543	32,974	32,370	35,917	36,418	34,074	0,320	2,320	25,790	8,673	74,560
322,670	0,351	0,920	2,677	35,371	34,626	33,885	35,317	34,965	32,002	0,310	1,660	22,750	6,255	76,320
560,770	0,356	0,950	2,416	36,665	35,623	34,806	36,682	37,397	35,250	0,210	2,130	26,070	8,340	73,500
1.062,460	0,368	0,970	2,478	36,027	35,623	34,879	35,651	35,505	33,686	0,270	2,250	26,720	8,875	77,000
689,940	0,385	1,060	2,502	34,672	33,606	33,265	34,229	34,318	32,875	0,070	1,980	24,930	8,837	78,550
565,370	0,372	1,060	2,512	34,013	33,112	32,940	34,006	33,457	32,294	0,100	2,030	22,380	8,305	79,670
611,860	0,344	1,160	2,503	35,056	35,369	35,312	34,645	35,626	33,875	0,070	2,200	25,910	8,810	74,620
580,160	0,381	1,230	2,449	35,508	34,538	34,736	34,517	35,790	33,474	0,080	2,560	25,980	8,987	75,840
582,240	0,356	1,110	3,565	33,870	38,135	35,462	34,339	36,535	45,354	0,090	2,310	25,210	8,750	75,840
720,060	0,351	1,500	3,758	32,676	32,160	29,369	32,697	29,974	27,877	0,100	2,050	25,040	4,820	74,330

Balço														
Ácido	ART/MS	Acidez	pH na	T (°C) Dorna	Cloro	Acidez do	Brix	GL	% de					
Lático		Mosto	cuba	Primária A	Secundária A	Terciária A	Primária B	Secundária B	Terciária B	Livre	Fermento	Do		Levedo
												Mosto		
723,200	0,373	0,760	2,465	35,273	33,843	33,229	35,456	35,408	33,398	0,160	2,830	24,750	8,225	75,000
951,920	0,363	1,320	2,458	36,404	35,890	34,846	35,934	36,510	34,159	0,120	2,610	25,570	8,340	79,330
950,790	0,367	1,190	2,530	35,387	33,796	33,254	35,926	36,036	34,033	0,130	2,680	25,720	8,867	77,500