

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DE VINHO DO FRUTO  
DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* Mill)**

**ROSEANY DE VASCONCELOS VIEIRA LOPES**

Campina Grande – PB  
Fevereiro de 2005

---

**ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DE VINHO DO FRUTO DA  
PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* Mill)**

**ROSEANY DE VASCONCELOS VIEIRA LOPES**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Química da  
Universidade Federal de Campina  
Grande, em cumprimento às  
exigências para obtenção do Grau  
de Mestre.

Área de Concentração: Operações e Processos

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Campina Grande – PB

Fevereiro de 2005



L864e

Lopes, Roseany de Vasconcelos Vieira

Estudo cinetico da producao de vinho do fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) / Roseany de Vasconcelos Vieira Lopes. - Campina Grande, 2005.

95 f. : il.

Dissertacao (Mestrado em Engenharia Quimica) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciencias e Tecnologia.

1. Engenharia Quimica - Fermentacao 2. Vinho do Fruto da Palma - Fermentacao 3. Dissertacao I. Silva, Flavio Luiz Honorato da II. Universidade Federal de Campina Grande - Campina Grande (PB) III. Título

CDU 633.36(043)

**ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DE VINHO DO FRUTO DA PALMA  
FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* Mill)**

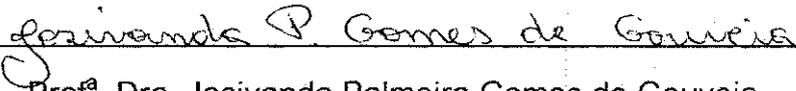
ROSEANY DE VASCONCELOS VIEIRA LOPES

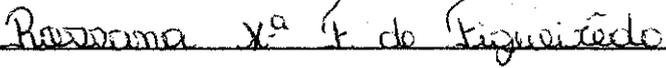
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 16 / 02 / 2005

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira  
(Examinadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dra. Josivanda Palmeira Gomes de Gouveia  
(Examinadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dra. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo  
(Examinadora)

CAMPINA GRANDE - PB

Fevereiro de 2005

## DEDICATÓRIA

A minha mãe Josinez, minha irmã Hellen e  
ao meu esposo Walszon Terlizzie, com muito carinho.

## AGRADECIMENTOS

Agradecer não me parece ser a forma mais generosa de manifestar a minha gratidão, apesar de gratidão ser um sentimento que temos pelas pessoas com as quais temos respeito e carinho, mas como disse um sábio ensinamento "Recordar o bem recebido é fazer-se merecedor de tudo quanto amanhã possa ser-lhe brindado".

Inicialmente agradeço a Deus, minha primeira estrutura, que em todos os momentos da minha vida me mostra um caminho de luz.

A minha família, especialmente meus pais Wilson e Josinez e meus irmãos Hellen e Wilson Júnior, pela compreensão, apoio e incentivo que sempre me deram, sem vocês com certeza eu não seria o que sou.

Ao meu esposo Walszon Terlizzie pelo companheirismo, amor e apoio incondicionais.

A minha mãe e ao meu tio Josélio Camêlo, pela disposição e boa vontade na árdua colheita dos frutos da palma.

Ao professor Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, pela orientação, compreensão e acima de tudo por acreditar que nas circunstâncias em que me encontrei tudo daria certo.

As amigas Maricélia e Elizabelly pela incessante disposição e boa vontade de me ajudar.

Ao funcionário Jardes Caiçara do Laboratório de Engenharia Bioquímica.

A Coordenação de Pós Graduação em Engenharia Química.

A Maricé, pela dedicação ao trabalho e boa vontade com que trata as pessoas.

Aos amigos de outros laboratórios, que nos cederam equipamentos, não permitindo que a pesquisa fosse interrompida.

A todos os amigos, que felizmente são muitos, tantos que não caberiam nesta seção do trabalho, em que destaque, sem ordem de relevância, pelo companheirismo, união e/ou contribuição para realização dessa etapa, Mary

Roberta, Cleide, Isabel, Wagner, Alberto, Moacir, Mércia, Klebson, Renata, Diane, Manuela.

A Universidade Federal de Campina Grande, pela oportunidade de subir mais um degrau dessa grande escada.

Ao CNPq pelo apoio a pesquisa e incentivo financeiro.

Finalmente, agradeço a todos que, de alguma forma, colaboraram para a conclusão desse trabalho. Meu sincero obrigado!

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\rho_{\text{Alcool}}$  - densidade específica do etanol (g/L)

$\mu_{\text{máx}}$  - velocidade específica máxima de crescimento do microrganismo ( $\text{h}^{-1}$ )

$\mu_X$  - velocidade específica de crescimento do microrganismo ( $\text{h}^{-1}$ )

$\mu_S$  - velocidade específica de crescimento do substrato ( $\text{h}^{-1}$ )

$\mu_P$  - velocidade específica de formação do produto ( $\text{h}^{-1}$ )

$K_s$  - constante de saturação (g/L)

$^{\circ}\text{Brix}$  - concentração de sólidos solúveis

$^{\circ}\text{GL}$  - graus Gay-Lussac

$P$  - concentração final de produto (g/L)

$P$  - produtividade (g/L.h)

$P_0$  - concentração inicial de produto (g/L)

$Q_P$  - quantidade de álcool produzida (p/v)

$r_X$  - velocidade instantânea de crescimento do microrganismo

$r_S$  - velocidade instantânea de consumo de substrato

$r_P$  - velocidade instantânea de formação de produto

$R_{\text{PFI}}$  - relação peso polpa pelo peso do fruto integral

$R_{\text{VPFI}}$  - relação peso do suco pelo peso do fruto integral

$R_{\text{VPP}}$  - relação do volume de polpa pelo peso (polpa + sementes)

$R_{\text{VP}}$  - relação volume de vinho pelo peso do suco do fruto integral

$R_{\text{BP}}$  - relação peso do bagaço pelo peso do fruto integral

$S$  - concentração final em substrato (g/L)

$S_0$  - concentração em substrato inicial (g/L)

$T$  - temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )

$t$  - tempo (h)

$X$  - concentração final de biomassa (g/L)

$X_0$  - concentração inicial de biomassa (g/L)

$Y_{\text{P/S}}$  - rendimento do produto (etanol)

$Y_{\text{X/S}}$  - rendimento de biomassa

# SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<i>i</i>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<i>ii</i>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b> .....	<i>iv</i>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<i>v</i>
<b>RESUMO</b> .....	<i>viii</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>ix</i>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<i>1</i>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<i>1</i>
1.1. JUSTIFICATIVA .....	<i>3</i>
1.2. OBJETIVO GERAL.....	<i>4</i>
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	<i>4</i>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<i>5</i>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<i>5</i>
2.1. A palma forrageira.....	<i>5</i>
2.2. Figo-da-Índia .....	<i>7</i>
2.3. Definição de vinho .....	<i>11</i>
2.4. Obtenção do vinho.....	<i>12</i>
2.5. Microbiologia do vinho .....	<i>13</i>
2.5.1 Leveduras ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	<i>13</i>
2.6. Fermentação alcoólica.....	<i>14</i>
2.7. Cinética fermentativa.....	<i>15</i>
2.7.1 Modelo de Monod .....	<i>17</i>
2.7.2 Perfis de X, P e S.....	<i>18</i>
2.7.3 Velocidades instantâneas de transformação .....	<i>19</i>
2.7.4 Velocidades específicas de transformação.....	<i>20</i>
2.7.5 Parâmetros da fermentação: rendimento e produtividade.....	<i>20</i>
2.8. Planejamento experimental e análise estatística.....	<i>21</i>
2.9. Trabalhos similares da literatura (produção de vinhos).....	<i>24</i>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<i>27</i>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<i>27</i>
3.1. Matéria-prima .....	<i>27</i>

<b>3.2. Metodologia da fermentação alcoólica .....</b>	<b>27</b>
3.2.1 Produção do vinho do fruto da palma .....	27
3.2.2 Recepção e seleção.....	27
3.2.3 Retirada dos espinhos e lavagem dos frutos .....	29
3.2.4 Pesagem dos frutos .....	29
3.2.5 Extração da polpa e armazenamento .....	30
3.2.6 Clarificação e filtração.....	31
3.2.7 Preparo do mosto: sulfitação e adição de nutrientes.....	32
3.2.8 Chaptalização .....	33
3.2.9 Fermentação.....	33
3.2.10 Decantação e trasfega .....	34
3.2.11 Engarrafamento .....	34
3.2.12 Pasteurização .....	35
3.2.13 Armazenamento.....	36
<b>3.3. Análises realizadas durante a fermentação alcoólica .....</b>	<b>36</b>
3.3.1 Determinação da concentração de sacarose .....	36
3.3.2 Determinação da concentração de biomassa .....	37
3.3.3 Determinação da concentração de ácidos totais.....	38
3.3.4 Determinação do pH.....	39
3.3.5 Determinação da concentração de etanol.....	39
3.3.6 Rendimento em relação ao fruto .....	40
<b>3.4. Planejamento fatorial .....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>45</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>45</b>
4.1. Introdução .....	45
4.2. Rendimento em peso do fruto da palma forrageira para a produção dos vinhos 46	
4.3. Cinética da fermentação alcoólica do vinho do fruto da palma forrageira.....	47
4.3.1 Considerações gerais para o vinho do fruto integral .....	57
4.4. Cinética da fermentação alcoólica do vinho da polpa do fruto da palma forrageira.....	58
4.4.1 Considerações gerais para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira .....	73
4.5. Avaliação dos parâmetros cinéticos da fermentação .....	75
4.6. Estudo dos efeitos da concentração de levedura e do °Brix sobre o %conversão e produtividade para a produção de vinhos de polpa e do fruto integral .....	78

<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>85</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>85</b>
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>87</b>
<b>6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO VII.....</b>	<b>88</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>88</b>

## RESUMO

Devido ao fato da demanda de alimentos ser cada vez crescente no Brasil, principalmente em regiões onde há a escassez e a desnutrição, como a região Nordeste, no contexto sócio-econômico é muito importante para esta região à busca de alternativas que possam minimizar os graves problemas que nela existem. A utilização de estudos como este, tem fundamental importância para o desenvolvimento sustentável dos países em desenvolvimento, visando à utilização de matérias-primas renováveis, agregando seu valor com produtos de maior tempo de prateleira, já que a palma forrageira (*Opuntia ficus-Indica* Mill) e seu fruto (figo da Índia) no Brasil são praticamente, utilizados na alimentação bovina. O fruto figo-da-índia é rico em vitaminas, principalmente A e C, cálcio e fósforo, possui altos valores nutritivos e poder calorífico. O teor total de aminoácidos livres é maior que a média de outros frutos; de fato, esse valor só é encontrado nos cítricos e na uva. Dessa forma, nesta pesquisa, foram estudadas as melhores formas de aproveitamento e utilização de uma matéria-prima pouco utilizada no Brasil, mas que é abundante na região Semi-árida do Nordeste brasileiro (Caatinga). E fez-se necessário estudar a cinética da fermentação alcoólica da produção de dois tipos de vinho. A metodologia utilizada consistiu inicialmente na elaboração do planejamento fatorial  $2^2$ , nesse trabalho estudou-se o vinho sob dois aspectos, no primeiro elaborou-se o vinho do fruto integral, onde foram feitos sete experimentos, sendo três no ponto central. No segundo aspecto elaborou-se o vinho da polpa do fruto e nesse caso, foi necessário estender o planejamento fatorial para uma configuração estrela, foram feitos onze experimentos, sendo 8 experimentos diferentes e 3 no ponto central, em ambos os casos foram verificados os efeitos da concentração inicial de °Brix e da concentração de levedura. Em seguida foi feito uso de um bioreator em batelada de polietileno com capacidade de 7 e 10L e agitação magnética, nele foi adicionado o suco do fruto clarificado e o inóculo (levedura de panificação), este na temperatura de 30 °C, com as concentrações iniciais de °Brix e levedura determinadas de acordo com a matriz do planejamento fatorial do vinho do fruto integral e da polpa, respectivamente. A partir daí, deu-se início a fermentação alcoólica, onde

foram analisados em tempos regulares o decaimento do substrato limitante (sacarose), a produção de células, o produto (etanol), o pH e a acidez total, ao final da mesma foi feita à filtração, engarrafamento, pasteurização e armazenamento. Na produção do vinho do fruto da palma forrageira o suco apresentou uma variação do teor alcoólico entre 3,3 a 5,3°GL; a acidez total de 0,25 a 1,02g/100mL e o pH de 3,1 a 4,65 para o vinho do fruto integral e 3,62 a 5,32°GL; a acidez total de 0,23 a 0,91g/100mL e o pH de 2,86 a 4,8 para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira. A produção de álcool foi satisfatória, dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira. O rendimento e produtividade máximas foram de 88% e 5,9 g/L.h para o vinho do fruto integral e 95% e 3,6 g/L.h para o vinho de polpa. O estudo realizado mostrou que a produção do vinho sob os dois aspectos tem viabilidade técnica para fabricação.

**Palavras-chave:** fermentado de fruta, *Opuntia ficus-indica* Mill, figo-da-índia, fermentação alcoólica.

## ABSTRACT

Due to the fact that the food demand in Brazil is growing mainly in the areas of Northeast, where there is a shortage and the malnutrition, it is very important to make a search of alternatives, which can minimize this serious regional and socioeconomic problem. The use of such studies has fundamental importance for the developing countries. The use of renewable raw materials and their products of larger shelf time are needed to be found out. The Pear Cactus (*palma forrageira* ou *ficus-Indian Opuntia Mill*) and its fruit (Indian Fig) are practically used in the bovine feeding in Brazil. The Indian Fig fruit is rich in vitamins A and C, calcium and phosphorous. It possesses high nutrition values and a calorific power. The total amount of free amino acids is greater than the average found in other fruits. In fact, this value is only found in the citric fruits and in the grape. Therefore in this research a study of the best form of using a raw material which is least used in Brazil but is abundant in the semiarid area of the Brazilian North-east (Caatinga) has been made. In this study the kinetics of the alcoholic fermentation for the production of two types of wine was performed. The methodology used consisted of the initial elaboration of a 2<sup>2</sup> factorial planning. The two types of wine production studied were the wine of the integral fruit and the wine of the pulp of the fruit. In the first case seven experiments where three being at the central point and in the second case eleven experiments with eight being different and three at the central point were made. In the case of fruit pulp wine, a star configuration factorial planning was also needed to be performed. In both types of wine, effects of the initial °Brix concentration and of the yeast concentration were verified. A batch polythene bioreactor of 10L capacity with magnetic agitation was used. First the juice of the clarified fruit and the inoculums (bakery yeast), at the temperature of 30 °C, were added to the bioreactor. The initial concentrations of °Brix and yeast concentrations were determined in agreement with the factorial planning for the integral fruit and of the pulp wines respectively. Afterwards, as the alcoholic fermentation process started, the decline of the limiting substratum sucrose, the production of cells, the product ethanol, the pH and the total acidity were analyzed at regular time intervals. At the end of the process the solution was

filtered, bottled, pasteurized and stored. In the production of the wine of the fruit of the Pear Cactus, the juice presented a variation of alcoholic concentration from 3.3 to 5.3 °GL; the total acidity from 0.25 to 1.02g/100mL and the pH from 3.1 to 4.65 for the wine of the integral fruit. For the wine of Pear Cactus fruit pulp the variations were: alcoholic concentration from 3.62 to 5,32°GL; the total acidity from 0.23 to 0.91g/100mL and the pH from 2.86 to 4.8 for. The production of alcohol was satisfactory according to the standards required by the Brazilian legislation. The maximum yield and productivity were of 88% and 5.9 g/L.h for the wine of the integral fruit and 95% and 3.6 g/L.h for the pulp wine. This study showed that the production of the wine under the two aspects has technical viability.

**Keywords:** Pear Cactus fruit wine, *Opuntia ficus-indica* Mill, Indian Fig, alcoholic fermentation.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUÇÃO

Existe uma nova tendência mundial em relação ao mercado consumidor de alimentos. É cada vez maior a demanda de produtos a base de frutos, devido o valor nutricional, principalmente vitaminas como A e C e fibras, esses nutrientes vem sendo associados à prevenção de diversas doenças como o câncer, distúrbios coronários, excesso de colesterol (Counsell e Horing, 1981). Dentre tantos produtos envolvidos nesse mercado pode-se destacar o vinho, que é largamente apreciado no mundo e intensamente estudado.

O vinho é uma bebida que nunca perderá sua majestade de bebida sagrada e seu valor histórico. Estudos e novas descobertas acerca dessa bebida são desenvolvidos ao longo dos séculos e segundo Dias (2001) a produção de vinho passou de somente arte para arte com embasamento científico, ampliando-se as pesquisas em vitivinicultura. Toda a tecnologia de produção do vinho é conhecida e cada vez mais estudada, buscando-se melhor qualidade e maior produtividade. A vitivinicultura tem sido difundida no Brasil com vistas a um crescimento de produção e valorização do vinho nacional. Como a uva, vários outros frutos podem ser utilizados para a formulação de mostos que podem, posteriormente, ser submetidos à fermentação alcoólica por ação de leveduras. Entretanto, não há tecnologia totalmente voltada para a elaboração destas bebidas no que diz respeito à levedura a ser utilizada, à temperatura ideal de fermentação e ao tipo de tratamento que o mosto do fruto, ou o próprio fruto, deve sofrer na fase pré-fermentativa.

Nesse trabalho utilizou-se o figo-da-índia, que é o nome dado ao fruto da palma forrageira para produção de vinho. É um fruto esverdeado, doce e comestível, com muita polpa e casca fina, é rica em vitaminas (principalmente A e C), cálcio e magnésio e rodeada de pequenos pontos pretos que a recobrem, esses pontos são cheios de pequenos espinhos. Sendo assim, como o fruto da palma forrageira tem alto valor nutritivo é grande o interesse em ampliar suas possibilidades de uso, principalmente por causa do desperdício, pois a palma é, praticamente utilizada na alimentação do gado e o fruto é, em grande parte, desperdiçado. A transformação industrial em produtos diversos e atrativos com uma maior durabilidade de prateleira

aumenta seu valor (Hernández et al; 1992). Assim, o futuro das zonas áridas e semi-áridas em todo o mundo depende do desenvolvimento sustentável de sistemas agrícolas numa seleção adequada de cultivo (Barbera et al; 1994).

O vinho é produzido a partir da fermentação alcoólica que é um processo enzimático através de microrganismos, nesse caso a levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) que metaboliza o substrato (açúcares redutores) originando principalmente o etanol.

Dentre os gêneros de leveduras de vinho, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são destacadas, pois são agentes da fermentação alcoólica. Cada gênero é dividido em espécies, que se diferenciam: por seu aspecto, suas propriedades, sua forma de reprodução e também pela maneira de transformar o açúcar. As *Saccharomyces* ou fermento de panificação é um microrganismo composto de uma única célula, mas que invadem o meio muito rapidamente e nesse momento as leveduras iniciais desaparecem, elas se destacam por não serem patogênicas.

Quando o processo de obtenção do vinho é conduzido a partir do suco de uvas frescas, segundo a O.I.V. (*Office Internationale de la Vigne et du Vin*), obtém-se uma bebida alcoólica com o nome de vinho. Então qualquer bebida resultante de fermentação que não siga os pré-requisitos segundo a O.I.V. não pode ser oficialmente, considerado vinho. Porém, a legislação brasileira (Brasil, 1997), afirma que: "Fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura". Vinhos que não são provenientes da uva devem obrigatoriamente ser rotulados com a denominação fermentado (vinho) acompanhada do nome da fruta da qual se originou, como exemplos: fermentado (vinho) de abacaxi, fermentado de laranja, fermentado de caju, fermentado do figo-da-índia, entre outros.

O uso de uma metodologia embasada em estudos realizados para obtenção de bebida alcoólica fermentada a partir da polpa e do fruto da palma forrageira, a realização de análises químicas da bebida, e a criação de oportunidades que oferecem meios de sobrevivência em regiões como o Nordeste, através da geração de produtos como o vinho, que é uma bebida alcoólica de grande difusão, aproveitando o alto potencial de uma cultura nativa dessa região como o figo-da-índia (fruto da palma forrageira) foi o objetivo do presente trabalho.

## 1.1. JUSTIFICATIVA

O Laboratório de Engenharia Bioquímica, do Centro de Ciências e Tecnologia do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande (CCT/DEQ/UFCG), vem desenvolvendo pesquisas com a finalidade de valorizar culturas como o pedúnculo do caju, utilizando o suco para produção de vinho, vinagre e aguardente e, aumentar o valor agregado do bagaço do pedúnculo.

Assim como para o pedúnculo do caju, estudos foram realizados para valorização da palma forrageira, através do enriquecimento protéico da raquete da palma, dando continuidade a esses estudos e valorização dessas culturas, foi feito o estudo do aproveitamento do fruto da palma forrageira para produção de vinho, já que este é praticamente desperdiçado com o corte das palmas.

A produção do vinho do fruto da palma forrageira poderá ser uma técnica viável que em poucos anos poderá ser desenvolvida por pequenos produtores, pela abundância da matéria-prima, que é rica em valores nutritivos e encontrada em grande quantidade na região Nordeste. Como é crescente a demanda de alimentos no Brasil, principalmente no Semi-Árido, no contexto sócio-econômico é muito importante para essa região à busca de alternativas que minimizem seus graves problemas, e contribuições que promovam o desenvolvimento sustentável, reduzindo as condições de subnutrição a que estão sujeitos largos contingentes da população nordestina.

A utilização do fruto da palma forrageira conhecida como figo-da-índia é de grande importância para valorizar esta cultura, por ser uma matéria-prima pouco utilizada em fins alimentícios e ser largamente desperdiçada, visto que o objetivo principal é a alimentação do gado, essa valorização maximizará os ganhos para o produtor, produzindo assim produtos com características aceitáveis pelo consumidor e pela legislação brasileira com a otimização dos produtos gerados. O suco do fruto da palma pode ser utilizado para produção de vinho, aguardente (destilado da fermentação do vinho) e vinagre de boa qualidade (oxidação do vinho), pois o fruto apresenta concentrações de carboidratos solúveis que permitem o processo fermentativo.

## 1.2. OBJETIVO GERAL

Estudar o melhor aproveitamento do fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), observando o estudo cinético da fermentação alcoólica para produção de vinho de boa qualidade, com características aceitáveis pela legislação brasileira e pelo consumidor, maximizando assim ganhos para o produtor.

## 1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir vinho do fruto integral e vinho da polpa do fruto;
- Calcular o rendimento em peso do vinho integral e da polpa;
- Calcular os parâmetros da cinética de fermentação:  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{máx}$ ;
- Verificar os efeitos das variáveis de entrada (concentração inicial de açúcares (°Brix) e concentração inicial de levedura) sobre as variáveis respostas (eficiência do processo - % conversão e produtividade), tendo como objetivo quantificar os efeitos destas variáveis para uma futura otimização do processo;
- Analisar o vinho produzido: concentração de etanol, concentração de metanol, acidez acética, pH, concentração de açúcar e confrontar com a legislação brasileira acerca do vinho do fruto.

## CAPÍTULO II

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. A palma forrageira

No Brasil, a palma forrageira é cultivada como planta forrageira principalmente no Nordeste, por ser uma cultura bem adaptada as condições adversas das regiões Semi-Áridas e especialmente para o consumo animal, salvando rebanhos em períodos de grande seca, graças ao seu alto teor de umidade, devido às propriedades fisiológicas caracterizadas por um processo fotossintético, que apresenta elevada eficiência de uso d'água. A riqueza em água (cerca de 90% da matéria-verde) é uma característica importante nas regiões sujeitas à secas prolongadas, como o Nordeste (Embrapa, 2004).

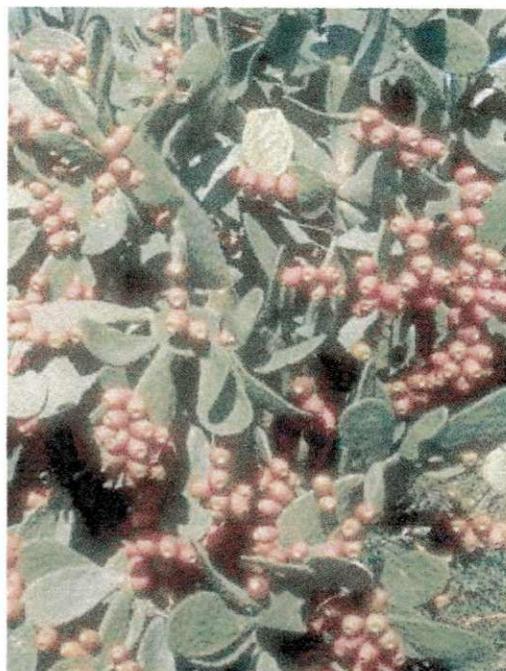
As palmas são plantas xerófitas, da família das cactáceas do gênero *Opuntia*, também conhecida por palmatória, com alta resistência à seca. Segundo Valdez et al. (1989) são bastante ricas em água, mas de acordo com Santos et al. (1981) são pobres em proteínas e gorduras, não possuindo assim nutrientes em quantidades suficientes, impossibilitando-a de ser utilizada como única fonte de alimentação animal, sendo recomendando por pesquisadores fornecer a palma na dieta animal com um suplemento protéico, numa quantidade nunca superior a 50% da dieta.

A palma forrageira é nativa da América tropical, da parte Sul dos Estados Unidos e do norte do México e foi dispersa nas zonas subtropicais da América do Sul (Guerra, 1990) e da América Central, onde é usada a milhares de anos na alimentação humana como verdura ou pelo consumo de seus frutos "in natura" (Deiró et al., 2003). No Brasil foi introduzida no final do século XIX.

Barbosa (1998) descreveu a palma forrageira como sendo ramosíssimo, de porte desenvolvido; articulações grossas e carno-suculentas, oblíquas ou elípticas, planas, inermes ou com espinhos; flores de tamanho médio, amarelas, brilhantes; fruto baga, ovóide, grande amarelo ou roxo quando madura com espinhos no pericarpo, nas Figuras 2.1 e 2.2, apresentam-se a cultura da palma com os frutos.



**Figura 2.1 - Palma forrageira florindo.**



**Figura 2.2 - Palma forrageira em época de safra do fruto.**

A classificação botânica da palma é:

- Divisão: *Magnoliophyta*
- Classe: *Magnoliatae*
- Ordem: *Caryophyllades*
- Família: *Cactaceae*
- Gênero: *Opuntia*
- Espécie: *Opuntia ficus-indica* Mill

Sua área de cultivo nos estados do Nordeste brasileiro é de mais de 400 mil hectares, sendo a maior parte em Pernambuco e Alagoas (Lira et al; 1989). É pouco exigente em fertilidade do solo, mas não prospera em solos arenosos, pouco profundos ou sujeitos a alagamento. Além de ser cultivada com a finalidade de alimentar animais, o cultivo da palma forrageira atende uma pequena demanda do mercado interno brasileiro com a obtenção de figos da índia (fruto da palma), e principalmente o mercado de exportação do fruto.

A perenidade e resistência às pragas e doenças tornam a palma forrageira uma planta de baixo custo. A praga mais importante que afeta a produção da palma é a cochonilha, que também é conhecida como piolho da palma, ela modifica o

aspecto da palma, sugando a planta para se alimentar, enfraquecendo a mesma e provocando o amarelecimento e morte das raquetes.

De acordo com Santos et al; (1994), em alguns municípios de Pernambuco, Alagoas e da Paraíba, as doenças mais comuns da palma forrageira são podridão mole, provocada pela bactéria *Pectobacterium sp.*, e podridão preta causada pelo fungo *Stinonamadiplodia frumentii Zambettaks*. Ambas, aparentemente, não provocam grandes danos à cultura. Tratos culturais e adubação são medidas que podem ser também utilizadas para ajudar no melhor desenvolvimento da cultura e combate às pragas (Santos et al., 1998).

## 2.2. Figo-da-Índia

Figo-da-índia é o nome dado ao fruto da palma forrageira. Depois que a planta foi trazida ao Brasil seu cultivo para a produção de frutos, acabou se concentrando no estado de São Paulo. Em Valinhos-SP se encontra a principal produção de figo-da-índia do país (Jornal Correio da Paraíba, 2004). Os colonos italianos trouxeram da terra natal tanto o gosto pelo figo quanto às técnicas de manejo que foram espalhadas e cultivadas em todas as regiões tropicais e subtropicais secas do mundo há vários séculos.

Há registros de que o fruto desse cacto era um item importante na alimentação dos indígenas da América do Norte, tendo sido levado para a Europa pelos primeiros exploradores espanhóis. Da Espanha, os mouros carregaram a planta para a África, onde a palma, como ocorre no Nordeste brasileiro, é usada hoje como forrageira nos tempos de seca para alimentar bois, cabras e porcos.

Existem vários tipos de figueira-da-índia, com frutos cuja coloração varia do verde-amarelado ao laranja, e até ao roxo. Rico em vitaminas (principalmente A e C), cálcio e magnésio, o figo-da-índia é muito valorizado na medicina natural, sendo recomendado na prevenção da asma, tosse, vermes, problemas na próstata, dores reumáticas, entre outros (Toda Fruta, 2004).

O figo-da-índia como é mostrado na Figura 2.3 é um fruto esverdeado e doce, com 5-10cm de comprimento e 4-8 cm de largura, com muita polpa e casca fina, é rodeado de pequenos pontos pretos que o recobrem, esses pontos são cheios de pequenos espinhos, essas são, na verdade, as folhas desse fruto, e por onde a planta faz a fotossíntese. A polpa, amarelo-ouro parece meio porosa, cheia de

sementinhas pretas. Porém seu sabor é doce, com leve toque ácido, a fruto é surpreendentemente refrescante.



**Figura 2.3 - Raquete da palma forrageira com frutos.**

No Brasil, a figueira-da-índia (também conhecida como figueira-do-inferno ou da barbaria), produz praticamente durante o ano todo, mas a safra propriamente dita, ocorre entre os meses de dezembro a março. O trato com o fruto deve ser delicado, muito sensível, e não pode ser simplesmente extraído da palma, nem pode receber nenhum arranhão, o que diminuiria seu tempo de validade. No processo de colheita não se deve chacoalhar os figos para que a base deles não seja machucada, evitando assim o apodrecimento. Talvez por culpa do incômodo causado pelos pequenos espinhos ou por conta do desconhecimento do fruto, o figo-da-índia ainda não conquistou grande espaço no mercado brasileiro. Todo o processo de cultivo, manejo e embalagem seguem rígido padrão de qualidade. Como o figo-da-índia no Brasil é extremamente resistente a doenças, não é necessário usar nenhum tipo de agrotóxicos, e a adubação deve ser feita três vezes ao ano, e totalmente orgânica, pode-se utilizar esterco de suínos, borra de café, farinha de osso e torta de mamona, entre outras matérias orgânicas, pois o cacto se adapta muito a solos férteis. Depois de colhido é sugestivo manter um pedacinho de palma na base do figo, para que ele possa ter um maior tempo de durabilidade, este cerca de 15 dias, prazo de validade garantido pelo produtor.

Os frutos são bem apreciados pelo homem e animais. É bastante elevado o valor nutritivo da baga, apresentando na sua composição uma fonte de fibras, uma boa concentração de carboidratos solúveis e cálcio, apreciada por várias populações

latino-americanas. Vários autores estudaram a composição química do fruto da palma forrageira, esse conhecimento é importante para o sucesso de qualquer processo biotecnológico (Tabelas 2.1, 2.2 e 2.3).

**Tabela 2.1 – Composição química da polpa do fruto da palma forrageira (g/100g)**

Parâmetros	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Umidade	85,1	84,0	85-90	85,6	83,8
Proteínas	0,8	0,8	1,4-1,4	0,21	0,82
Gordura	0,7	0,6	0,5	0,12	0,09
Fibras	0,1	3,1	2,4	0,02	0,23
Cinzas	0,4	1,0	-	0,44	0,44
Açúcar total	-	10,5	10-17	12,8	14,06
Vitamina C (mg %)	25,0	20,0	4,6-4,1	22,00	20,33
β-caroteno (mg %)	-	-	Traços	Traços	0,53

(1) Askar e El-Samahy (1981), (2) Paredes e Rojo (1973), (3) Pimienta (1990), (4) Sawaya et al. (1983), (5) Sepúlveda e Sáenz (1990).

**Tabela 2.2 – Composição mineral da polpa do fruto da palma forrageira (mg/100g)**

Mineral	(1)	(2)	(3)	(4)
Ca	24,4	18,0	27,6	12,8
Mg	98,4	-	27,7	16,1
Fé	-	0,42	1,5	0,4
Na	1,1	-	0,8	0,6
K	90,0	-	161	217,0
P	28,2 <sup>a</sup>	20,55	15,4	32,8

(1) Askar e El-Samahy (1981), (2) Paredes e Rojo (1973), (3) Sawaya et al. (1983), (4) Sepúlveda e Sáenz (1990).

<sup>a</sup>Fosfato PO<sub>4</sub> (mg/100g).

**Tabela 2.3 – Características tecnológicas da polpa do fruto da palma forrageira (g/100g)**

Parâmetro	(1)	(2)	(3)	(4)
Polpa e sementes	-	-	48	49,6
Casca	-	-	52	50,4
PH	5,8	5,3-7,1	5,75	6,37
Acidez (% ácido cítrico)	0,05	0,01-0,12	0,18	0,06
°brix (SST)	13,2	12-17	14,20	14,06
Sólidos totais	14,9	10-15	14,50	16,20
Pectina	-	-	0,19	0,17

(1) Askar e El-Samahy (1981), (2) Pimienta (1990), (3) Sawaya et al. (1983), (4) Sepúlveda e Sáenz (1990).

O fruto da palma forrageira tem um valor nutritivo similar ao de outras frutas, embora seu teor de sólidos seja maior que o da ameixa, damasco, cereja, pêsego, maçã e melão (Pimienta, 1990; Schmidt-Hebbel e Pennacchiotti, 1985), a maioria dos açúcares é redutor, com cerca de 53 por cento de glicose e o resto de frutose (Russel e Felker, 1987; Sawaya et al., 1983; Sepúlveda e Sáenz, 1990). Sob esse aspecto, cabe mencionar que a glicose é a única substância de metabolismo energético das células do cérebro e nervosas e que no fruto da palma forrageira está presente como açúcar livre que é absorvido diretamente pelo corpo. A frutose contribui para um melhor sabor, devido à sua maior doçura e à sua fácil absorção (Cheftel et al., 1983) e os monossacarídeos (glicose e frutose) são os açúcares diretamente metabolizados pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O poder calorífico de sua polpa é de aproximadamente 50 kcal/100g (Sawaya et al., 1983; Schmidt-Hebbel e Pennacchiotti, 1985), isto é, comparável com o de outras frutas (maçã, pêra, laranja, cherimólia, damasco).

Os teores de proteínas, gordura, fibras e cinzas são similares ao de outras frutas. O teor total de aminoácidos livres (257,24 mg/100g) é maior que a média de outros frutos; de fato, esse valor só é encontrado nos cítricos e na uva. O fruto da palma apresenta ainda, alto nível de ácido ascórbico, a concentração de vitamina C é mais alta que a encontrada na maçã, na pêra, na uva e na banana (Cheftel et al., 1983; Sáenz, 1985).

De acordo com Hernández e León (1992), o alto valor do pH (Tabela 2.3) e o alto teor de sólidos solúveis, tornam a polpa do fruto muito atrativa como meio microbiológico, que requer um tratamento térmico de, pelo menos, 115,5°C para se obter um bom controle de microrganismos. A cor do fruto, por seus pigmentos (clorofilas e betalaínas em frutos verdes e púrpuras, respectivamente), é um parâmetro importante para determinar sua atratividade e a de seus produtos. Alguns componentes secundários são os compostos voláteis, responsáveis pelo aroma do fruto e de seus produtos. Entre eles os álcoois representam a maior parte, principalmente o etanol. Há outros componentes mais característicos do fruto, como alguns álcoois não saturados (Flath e Takahashi, 1978), alguns aldeídos não saturados, encontrados em variedades verdes e púrpuras.

Segundo Fonseca e Nogueira (1984), as condições de estocagem pós-colheita influenciam diretamente nas perdas de vitamina C. Os frutos constituem, em

geral, uma matéria-prima altamente perecível e por isso devem ser acondicionadas de forma adequada ou processadas o mais rapidamente possível após a colheita. Nesse trabalho, em alguns momentos foi necessário armazenar os frutos antes do despulpamento, devido a grande quantidade colhida.

As perdas de valor nutritivo no que se referem às proteínas, lipídeos e carboidratos, são pouco relevantes nos produtos vegetais processados, devido ao fato desses nutrientes serem mais estáveis as condições de processo (Fennema, 1977; Harris e Von Loesecke, 1971).

Vários fatores podem interferir no mecanismo de degradação da vitamina C: temperatura, pH, oxigênio, enzimas, catalisadores metálicos, substâncias oxidantes e redutoras, concentração inicial de ácido ascórbico e reações com antocianinas (Ansejo, 1959; Fennema, 1982; Priestley, 1979; Santini Jr., 1956; Tochinni, 1985).

A maturação e a senescência dos frutos e vegetais em geral também são retardados pela refrigeração. O tempo e temperatura de acondicionamento são definidos de acordo com o tipo de fruto e seu estágio de maturação, por exemplo, abacaxi "de vez" de 10°C a 12°C por 1-3 semanas, goiaba de 5 a 10°C por 2-3 semanas (Bleinroth, 1988; Mitchell et al; 1972; Fischer e Van Duyne, 1952; Ezzel et al., 1959; Nelson, 1979).

Quanto mais rapidamente a fruto for trazida para sua temperatura ótima de armazenamento, maior será a vida pós-colheita do fruto. Isto é particularmente importante para aqueles frutos que são altamente perecíveis (como é o caso do fruto da palma), ou seja, uma vida pós-colheita curta (Spagnol e Sigrist, 1992).

### **2.3. Definição de vinho**

De acordo com a definição da Organização Internacional do Vinho - (Office Internationale de la Vigne et du Vin) com sede na França, só é possível chamar de vinho a bebida resultante da fermentação da uva. Portanto, vinhos elaborados com outros frutos devem obrigatoriamente, pela legislação brasileira (Brasil, 1997), ser rotulados com a denominação fermentado (vinho) acompanhada do nome do fruto da qual se originou. Portanto, fermentado (vinho) de caju, fermentado de acerola, fermentado de laranja, fermentado de maçã, fermentado de pêra, fermentado de abacaxi, etc.

Segundo Borzani et al. (1983) a bebida alcoólica, em nosso país, é definida como um produto refrescante, aperitivo ou estimulante destinado à ingestão humana no estado líquido, e contendo mais de meio grau Gay-Lussac de álcool etílico, "o vinho é definido como uma bebida proveniente exclusivamente da fermentação alcoólica de uva madura e fresca ou suco de uva fresca".

Borzani et al. (1983) dizem que a definição bioquímica de vinho seria "bebida proveniente da fermentação de suco de uva pelas leveduras e, em alguns casos, pelas bactérias lácticas".

O vinho de fruto é uma bebida cujo teor alcoólico pode variar em torno de 10 a 14°GL, sendo obtido pela fermentação do suco clarificado e corrigido, no caso do vinho de pedúnculos doces, frescos e sadios. Quando comparados com os vinhos de uva podem ser dos tipos seco, suave e licoroso. Assim, o vinho é o resultado da fermentação do suco ou mosto, tornando-se um produto vivo que sofre alterações, respira e se modifica.

É recomendável deixar a garrafa de vinho fechada ou ingeri-lo depois de aberta, pois poderá se tornar vinagre, podendo ser perigoso à saúde. Se esse processo acontecer por um tipo de microrganismo não próprio para essa transformação, pode causar até a morte se ingerido.

#### **2.4. Obtenção do vinho**

O vinho é obtido a partir da fermentação alcoólica de açúcares por difusão, através do suco de fruto natural madura, principalmente a uva (*Vitis vinifera*) (Corazza et al; 2001), pois tradicionalmente a maioria dos vinhos que se conhece são produzidos da uva. No entanto, pode-se fazer uso de qualquer fruto que se possuir, desde que o mesmo apresente níveis razoáveis de açúcar, fazendo uso das técnicas tais como são empregadas no vinho de uva, com sabores característicos de cada fruto.

O fermentado (vinho) de frutos como caju, abacaxi, banana, laranja, entre outros são de boa qualidade, mas apresentam um inconveniente que é a alta concentração de pectina, sendo assim o suco fermentado pode além de produzir compostos importantes para a qualidade sensorial do produto, como etanol, composto voláteis (acetaldeído, ésteres), ácidos e álcoois superiores (n-propanol, isobutanol, isoamílico), produz também o metanol que é uma substância altamente

tóxica (Aquarone et al., 1983). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (1992), a concentração de metanol máxima permitida é de 0,25mL/100ml de bebida.

A concentração e a diversidade de formação destes compostos variam tanto com o microrganismo fermentador quanto com o substrato a ser fermentado, fazendo com que cada bebida tenha sua identidade. A quantidade de açúcares fermentescíveis e de fontes nitrogenadas também é significativa, principalmente para a formação dos álcoois (Beech e Carr, 1977; Berry e Watson, 1987; Rapp e Versini, 1991).

## **2.5. Microbiologia do vinho**

### **2.5.1 Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*)**

As leveduras são microrganismos muito importantes por suas atividades bioquímicas, e ainda mais na obtenção do álcool por via fermentativa (Lima et al., 1992), pois são os agentes da fermentação alcoólica (Borzani et al., 1983), essas atividades têm aplicações industriais muito importantes (Scriban e Dubuis, 1984) e sem dúvida ocupam entre os microrganismos um lugar de destaque pelas facilidades de exploração econômica que oferecem (Angelis, 1986).

Tem-se conhecimento da existência de aproximadamente doze gêneros de leveduras de vinho, cada um dividido em uma grande variedade de espécies, que se diferenciam por seu aspecto, suas propriedades, sua forma de reprodução e pela maneira de transformar o açúcar. As leveduras encontradas na vinificação podem apresentar uma das quatro formas seguintes: elíptica ou oval; alongada, em forma de salsicha; esférica; e apiculada, alongada em suas extremidades, como limão.

Segundo Pelczar et al. (1981), as leveduras como bolores, são organismos eucarióticos. A forma e a estrutura das leveduras variam muito entre as diversas espécies, seu diâmetro pode variar de 10 a 20 microns (Borzani et al., 1983). Elas constituem um grupo de microrganismos unicelulares, que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou por cissiparidade e que desenvolvem a fermentação alcoólica, invadindo o meio muito rapidamente. A multiplicação por brotamento não precisa mais que 10 a 15 minutos para dar origem à outra célula, e

uma única célula de levedura pode dar origem a alguns milhões de indivíduos em 24 horas.

A maior parte da levedura empregada na indústria é a *Hemiascomycetes* do gênero *Sacharomyces*. Tecnicamente é chamada de levedura sendo cientificamente denominada *Sacharomyces cerevisiae*. Na produção do vinho, a levedura utilizada foi a *Saccharomyces cerevisiae* ou fermento de panificação, entre as *Saccharomyces*, o poder alcoogênico varia de 8 a 18° GL.

As leveduras têm grande importância sob vários aspectos, industrialmente, apresentam os seguintes pontos de interesse:

- São agentes de fermentações alcoólicas, na produção do álcool industrial e de todas as bebidas alcoólicas destiladas ou não destiladas;
- São utilizadas na panificação;
- São, pelo menos potencialmente importantes fontes de proteína e de fatores de crescimento passíveis de serem utilizadas na alimentação animal e, mesmo humana.

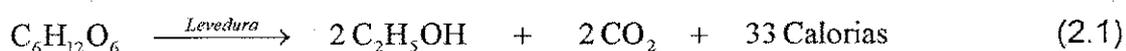
As *Saccharomyces* invadem o meio muito rapidamente. Entre as *Saccharomyces*, o poder alcoogênico varia de 8 a 18 °GL. Na fase final de uma fermentação alcoólica, as espécies dominantes são *Saccharomyces ellipsoideus* e *Saccharomyces bayanus*, sendo esta última a mais alcoogênica e denominada "acabadora" de vinhos de graduações alcoólicas elevadas (Borzani et al., 1983).

As vantagens do inóculo de leveduras, quando bem realizado, pode assim ser resumido:

- Início da fermentação mais rápida, principalmente nas primeiras cubas;
- Uma fermentação mais regular e sua conclusão sempre mais rápida;
- Boa conservação de vinhos, sendo bem secos, isto é, isentos de açúcares redutores fermentescíveis (Borzani et al; 1983).

## 2.6. Fermentação alcoólica

No processo da fermentação alcoólica de açúcares, os principais produtos são álcool etílico e gás carbônico, de acordo com a equação abaixo:



Entretanto, a molécula da glicose passa em processo anaeróbio por doze etapas intermediárias antes de ser transformada em etanol e gás carbônico. Ao lado de etanol e gás carbônico, formam acetaldeído, glicerol, 2,3 butilenoglicol, ácido láctico e ácido cítrico como produtos constantes da fermentação alcoólica e que contribuem para o sabor e o aroma do vinho. Os ésteres, como acetato de etila, são também formados pela esterificação de ácidos orgânicos fixos como ácido tartárico e málico também catalisados pelas enzimas das leveduras.

Durante a fermentação alcoólica, alguns fatores influenciam no processo, tais como:

- A concentração de carboidrato no suco;
- O pH do meio;
- A concentração de levedura;
- A temperatura de fermentação.

A temperatura de fermentação é extremamente importante: a temperatura entre 25 e 33°C permite obter alto rendimento em álcool, não somente pela fermentação mais completa, mas também por minimizar a perda por evaporação.

O controle de pH é importante durante o processo de fermentação alcoólica, pois, os valores de pH iniciais podem variar de 3,8 a 4,0, esta faixa de pH utilizada pode ser suficiente para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir bactérias indesejáveis (Borzani et al., 1983).

## **2.7. Cinética fermentativa**

O estudo da cinética de fermentação é de fundamental importância, para que seja possível conhecer o significado prático com que as velocidades das transformações acontecem e os fatores que nela influenciam, e tem os objetivos de medir essas velocidades que ocorrem durante o processo, verificar a influência dos fatores nas velocidades das transformações e com os objetivos atingidos permitir o conhecimento das condições mais favoráveis de se conduzir e controlar um processo fermentativo.

No estudo da cinética das fermentações, alguns pontos devem ser levados em consideração, como:

- As concentrações dos microrganismos ou das enzimas catalisadoras do processo;
- Decomposição relativamente rápida desses catalisadores;
- Temperatura desfavorável;
- Limitações consideráveis das técnicas experimentais das concentrações.

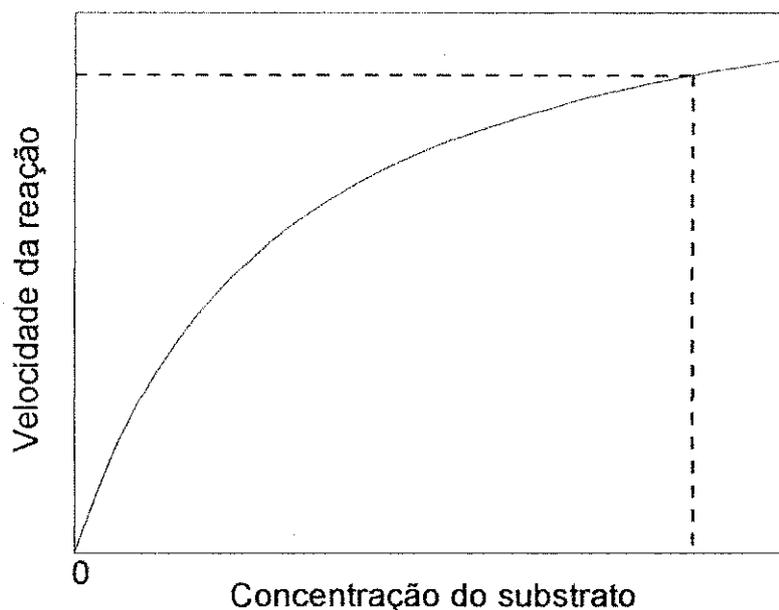
Durante a cinética, as concentrações dos microrganismos, catalisadores das reações que se processam não permanecem constantes no decorrer do tempo, o que vem complicar a análise dos problemas envolvidos. Pode acontecer, em alguns casos, uma decomposição relativamente rápida desses catalisadores, como decorrência de condições ambientes pouco favoráveis, particularmente da temperatura. Em muitos outros casos, as concentrações desses microrganismos aumentam com o tempo, freqüentemente de modo considerável, como conseqüência da reprodução dos microrganismos responsáveis pelas transformações.

Segundo Borzani et al; (1983) as transformações em apreço, dificilmente podem ser consideradas como reações químicas isoladas e bem definidas. Via de regra, a reação que interessa faz parte de um conjunto desconhecido de transformações de alta complexidade, desenvolvido pela célula para manter sua atividade vital nas condições em que se encontram.

Um outro caso a ser observado é o que se refere à interdependência dos fatores que influenciam nas velocidades das reações fermentativas, interdependência essa que aumenta a complexidade dos trabalhos experimentais e das interpretações teóricas correspondentes.

Considerando o caso mais simples em que um substrato, de fórmula molecular S, é transformado em produtos, de fórmulas moleculares P, Q, etc; em uma reação catalisada por uma enzima de fórmula molecular E, o primeiro problema apresentado, ao pretender-se estudar a cinética dessa reação, é a medida de sua velocidade em condições experimentais bem definidas.

A concentração do substrato, uma vez fixada, outras condições experimentais, influem consideravelmente na velocidade da reação, conforme a curva da Figura 2.4.



**Figura 2.4 - Representação da cinética enzimática.**

Pode-se observar, na Figura 2.4 que a velocidade da reação comporta-se como uma função crescente da concentração do substrato até um determinado valor dessa concentração, depois de um determinado tempo a velocidade se manterá constante.

### 2.7.1 Modelo de Monod

Para as diversas cinéticas de fermentação, o modelo de Monod apresenta um bom ajuste, pois a partir da regressão linear dos dados experimentais obtidos pode-se calcular o valor da velocidade específica média ( $\mu$ ).

Acerca da cinética fermentativa, na Figura 2.5 é apresentada uma curva de variação característica do modelo de Monod. A Equação 2.2 expressa matematicamente o modelo de Monod:

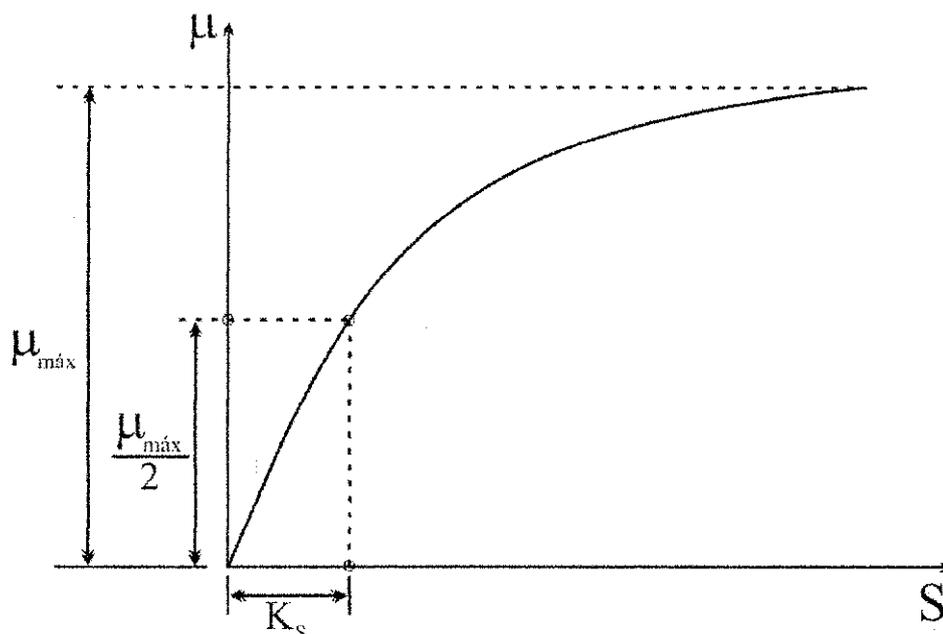
$$\mu_x = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{K_s + S} \quad (2.2)$$

onde:  $\mu_x$  = velocidade específica de crescimento de microrganismos;

$\mu_{m\acute{a}x}$  = velocidade específica máxima de crescimento de microrganismos;

$K_s$  = constante de saturação;

$S$  = concentração do substrato.

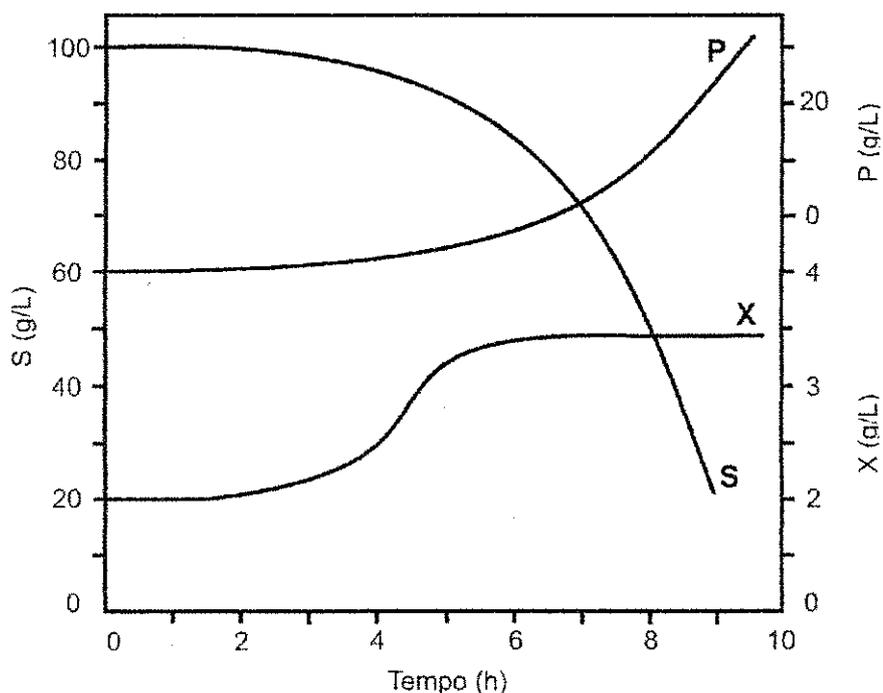


**Figura 2.5 - Representação da cinética fermentativa, conforme o modelo de Monod.**

Segundo Borzani et al. (1983), durante o crescimento exponencial do microrganismo há considerável consumo de substrato, o que deveria acarretar, pela equação de Monod, uma diminuição de  $\mu$ , o que não se observa na prática. Essa contradição aparente poderá, porém, ser explicada, se levar em consideração que, na fase exponencial, a concentração de substrato ( $S$ ) deve ser muito superior a  $K_s$ , resultando pela equação de Monod, praticamente  $\mu = \mu_{\text{máx}}$  e, portanto,  $\mu = \text{cte}$ .

### 2.7.2 Perfis de X, P e S

O estudo cinético de um processo fermentativo consiste em uma análise de valores da concentração de um ou mais componentes de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se por componente o microrganismo ( $X$ ) ou a biomassa, os produtos do metabolismo ( $P$ ) ou metabólitos, os nutrientes ou substratos ( $S$ ), que compõem o meio de cultura. Esses valores experimentais de concentração, quando representados em função do tempo, permitirão os perfis das curvas de ajuste (Figura 2.6).



**Figura 2.6 - Representação da cinética fermentativa, através dos perfis de curvas: X, P e S. São as concentrações do microrganismo, do produto e do substrato residual no meio, respectivamente.**

Pode-se observar, na Figura 2.6 que a velocidade da reação comporta-se como uma função decrescente da concentração do substrato até um determinado valor dessa concentração, depois de um determinado tempo a velocidade se manterá constante (estado estacionário), por outro lado há aumento do produto e da concentração de células.

Para que os dados de uma cinética sejam aplicados ao dimensionamento de uma unidade produtiva, é necessário seu conhecimento prévio, ou seja, é necessário um estudo para que se tenha o conhecimento da cinética, do contrário torna-se inviável a transferência de um experimento de laboratório para a escala industrial.

### 2.7.3 Velocidades instantâneas de transformação

As definições das velocidades instantâneas de crescimento ou reprodução do microrganismo, consumo de substrato e formação de produto podem ser observadas a partir da Figura 2.6, mostradas respectivamente pelas expressões que seguem abaixo, para um determinado tempo  $t$ . Essas velocidades podem ser obtidas através dos valores das inclinações das tangentes às respectivas curvas apresentadas na Figura 2.6.

$$r_x = \frac{dX}{dt} \quad (2.3)$$

$$r_s = -\frac{dS}{dt} \quad (2.4)$$

$$r_p = \frac{dP}{dt} \quad (2.5)$$

#### 2.7.4 Velocidades específicas de transformação

As expressões 2.6, 2.7 e 2.8 são denominadas velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de produto, respectivamente. Devido o fato de uma concentração microbiana X aumentar durante um cultivo descontínuo, aumentando conseqüentemente a concentração do complexo enzimático responsável pela transformação do substrato S no produto P. Dessa forma, é possível se analisar os valores das velocidades instantâneas (Equações 2.3, 2.4, e 2.5) com referência a concentração microbiana, isto é, especificando-as com respeito ao valor de X em um dado instante, conforme indicam as equações:

$$\mu_x = \frac{1}{X} \cdot \left[ \frac{dX}{dt} \right] \quad (2.6)$$

$$\mu_s = \frac{1}{X} \cdot \left[ -\frac{dS}{dt} \right] \quad (2.7)$$

$$\mu_p = \frac{1}{X} \cdot \left[ \frac{dP}{dt} \right] \quad (2.8)$$

onde:

$\mu_x$  = Velocidade específica de crescimento do microrganismo

$\mu_s$  = Velocidade específica de consumo do substrato

$\mu_p$  = Velocidade específica de formação do produto

#### 2.7.5 Parâmetros da fermentação: rendimento e produtividade

Considerando um determinado tempo t de fermentação, os correspondentes valores de X, S e P podem ser relacionados entre si com referência a Figura 2.6, através dos fatores de conversão definidos por:

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (2.9)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (2.10)$$

$$\text{Prod} = \frac{Qp}{t} \quad (2.11)$$

onde:

$Y_{X/S}$  = Rendimento de biomassa, expresso pela quantidade de biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

$Y_{P/S}$  = Rendimento do produto, expresso pela quantidade de produto formado em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

$X$  = concentração final de biomassa (g/L);

$X_0$  = concentração inicial de biomassa (g/L);

$S$  = concentração final de substrato (g/L);

$S_0$  = concentração inicial de substrato (g/L).

$P$  = concentração final de produto (g/L);

$P_0$  = concentração inicial de produto (g/L);

$Q_p$  = quantidade de álcool produzida (p/v);

Prod = produtividade (g/L.h);

$t$  = tempo total de fermentação (h).

Entretanto, nem sempre o substrato se esgota completamente quando a concentração celular apresenta seu valor máximo, podendo ainda existir uma concentração residual daquela substância no meio de cultura, ao término da fermentação.

## 2.8. Planejamento experimental e análise estatística

O método de planejamento experimental por análise de superfície de resposta possui como princípio a técnica de planejamento fatorial, onde os experimentos são programados através de um planejamento fatorial (Box e Hunter, 1978), sendo possível a realização de diversos experimentos ao mesmo tempo.

O principal objetivo do planejamento fatorial é relacionar empiricamente as variáveis dependentes (respostas) com as variáveis independentes (variáveis de

entrada), além de ser possível determinar estatisticamente o efeito de cada variável na(s) resposta(s) desejada(s).

Segundo Barros Neto et al. (1995) para a utilização do planejamento experimental é necessário primeiramente determinar quais as variáveis controladas (variáveis de entrada) e as respostas que se quer estudar. Posteriormente, é necessário definir claramente qual objetivo que se pretende atingir através dos experimentos, para se determinar que tipo de planejamento fatorial deva ser utilizado. Definidas as variáveis de entrada e as respostas desejadas pode-se utilizar um planejamento fatorial.

O planejamento experimental desse trabalho foi elaborado sob dois aspectos, no primeiro elaborou-se o vinho do fruto integral e especificou-se em dois os níveis das variáveis de entrada, que foram: concentração inicial de °Brix e a concentração de levedura, os experimentos foram executados para todas as combinações possíveis dos níveis dos fatores, para que o objetivo do planejamento pudesse ser alcançado de forma eficaz, permitindo verificar se houve ou não ajuste do modelo linear. Foram realizadas replicatas do ponto central para estimar o desvio padrão dos experimentos e a verificação de como se apresentou a curvatura da superfície de resposta.

No segundo aspecto elaborou-se o vinho da polpa do fruto e nesse caso, utilizou-se o planejamento fatorial com configuração estrela, tendo em vista a necessidade de expandir o planejamento fatorial. Dessa forma, especificou-se os níveis das variáveis de entrada em dois, que foram: concentração inicial de °Brix e a concentração de levedura adicionando a configuração estrela. E também foram realizadas replicatas e a análise da curvatura da superfície de resposta.

De acordo com Box e Hunter (1978) a técnica de planejamento experimental por análise de superfície de resposta pode ser empregada para responder as seguintes perguntas:

- como um conjunto de variáveis de entrada pode ter efeito, numa faixa de interesse, sobre as variáveis dependentes;
- quais conjuntos de variáveis de entrada produzirão um produto dentro das especificações desejadas;

- quais valores ou faixas das variáveis de entrada produzirão valor ótimo para uma resposta específica e como se comporta a superfície de resposta próxima deste ponto.

Os fatores, ou seja, as variáveis controladas pelo experimentador, tanto podem ser qualitativos como quantitativos. Dependendo do problema pode haver mais de uma resposta de interesse (Barros Neto et al., 1995).

Tendo o objetivo de realizar o mínimo de experimentos e determinar preliminarmente os fatores (variáveis de entrada) que tenham ou não influência significativa sobre a resposta, fez-se um planejamento fatorial com dois níveis (nível -1 e nível +1) para cada fator. Se  $n$  fatores estão contidos no estudo, o planejamento fatorial necessitará da realização de  $2^k$  ensaios diferentes, cobrindo todas as combinações possíveis. Para a obtenção do erro experimental é necessário a realização de pelo menos 2 ensaios no ponto central (nível 0), correspondendo a média aritmética dos níveis -1 e +1.

Sendo o planejamento experimental um método baseado e executado com técnicas estatísticas é de fundamental importância à avaliação dos modelos empíricos obtidos através da regressão dos dados experimentais. O exame dos resíduos é ferramenta importante na avaliação da qualidade do ajuste de qualquer modelo. A Tabela 2.4, conhecida como tabela de análise de variância ou ANOVA ("Analysis of Variance"), resume toda a análise estatística que avalia a qualidade do ajuste do modelo (Barros Neto et al., 1995).

**Tabela 2.4 – Análise da variância (ANOVA)**

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Média da soma dos quadrados	Grau de liberdade	Teste F
Regressão	SQR	MQR	$L - 1$	$MQR/MQr$
Resíduos	SQr	MQr	$N - L$	-
Falta de ajuste	SQfaj	Mqfaj	$M - L$	-
Erro puro	SQep	MQep	$N - M$	-
Total	SQT	-	$N - 1$	-
Qualidade do ajuste	$Ra^2 = SQR/SQT$	-	-	-
Coefficiente de Correlação	<b>Ra</b>	-	-	-
Ftabelado	-	-	-	Fconfiança, L-1, N-L

Fonte: SILVA (1998)

Observando a Tabela 2.4, pode-se perceber que um modelo que apresenta valores altos de resíduos é um modelo de má qualidade. O coeficiente de correlação ( $R_a$ ) representa a comparação da variância dos pontos experimentais em relação ao modelo ajustado. Quanto mais próximo o valor de  $R_a$  estiver de 1, os valores preditos pelo modelo estão em concordância com os valores observados experimentalmente. No caso de concordância total o valor de  $R_a = 1$ .

O teste F é outro parâmetro importante na verificação da validade estatística do modelo ajustado. O teste F de significância é utilizado para investigar se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos valores experimentais. Comparando-se o valor de F calculado pela regressão dos dados experimentais com o valor tabelado para uma distribuição de referência F confiança, L-1, N-L, e encontrando valores de F calculado acima de quatro vezes o valor de F tabelado, a regressão é útil para fins preditivos, ou seja, a equação ajustada é estatisticamente significativa e os valores experimentais são bem representados pelo modelo proposto pelo ajuste.

## **2.9. Trabalhos similares da literatura (produção de vinhos)**

Nesse item foi feita a análise de resultados de trabalhos semelhantes, referentes à produção de vinho, independente da sua fonte de origem, da cinética fermentativa e planejamento fatorial. Com o objetivo de comparar resultados obtidos por outros pesquisadores com os resultados deste trabalho.

Asquieri et al. (2004), estudaram a fabricação de vinho branco e tinto de Jaboticaba utilizando a polpa e a casca, respectivamente. E chegaram à conclusão de que o vinho de Jaboticaba apresenta muita semelhança com o vinho de uva, bem como os vinhos de polpa e casca. Os teores alcoólicos estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira (10-13°GL), bem como a acidez total (55 a 130 meq/L). O pH para o vinho tinto e branco variou entre 4,0-3,3, respectivamente. Com relação à concentração de sacarose final este apresentou resultados de 90, 40 e 41g/L para os vinhos tinto e branco.

Asquieri et al. (2004), também fizeram o estudo das características físico-químicas e sensoriais dos vinhos tinto seco e doce, fabricados com a fruto integral. A acidez total para o vinho seco de jaboticaba foi 122,3 meq/L e 79,3 meq/L para o vinho doce e 129 meq/L e 106,3 meq/L para vinhos jovens e velhos,

respectivamente, observando uma redução de acidez com o tempo de armazenamento. Com relação ao pH, este se situou entre 3,16 e 3,3 para o vinho seco e para o vinho doce 3,31 e 3,32 de 4 meses a um ano de armazenamento, respectivamente. A concentração final de sacarose foi 63,44g/L para o vinho tinto e 39,8g/L para o mesmo vinho após 1 ano de engarrafado. Para vinhos doces teve 87,4g/L e 96,26g/L em 4 meses e um ano de engarrafado. O teor alcoólico para vinhos tintos secos jovens (4 meses) e velhos (1 ano) há uma variação de 10°GL em vinhos jovens e 12°GL em vinhos velhos. Esse mesmo comportamento foi constatado para vinhos doces.

Bortolini e Sant'anna (2001) estudaram a fermentação alcoólica do suco de kiwi, com seis formas de preparar o mosto para a fermentação alcoólica, variando a quantidade de nutrientes e de sacarose. O processo fermentativo foi conduzido com temperatura a 28°C, e com inóculo  $10^6$  UFC/mL de *Saccharomyces cerevisiae*. Os rendimentos da fermentação alcoólica variaram entre 38,65 a 47,23%, com eficiências entre 75,62 a 92,41% e produtividade entre 0,72 a 2,0 g/L.h.

Dias (2001), estudou a elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir dos mostos de cajá e cacau. As fermentações foram conduzidas a temperatura de 22°C durante dez dias, e os mostos foram inoculados com a levedura selecionada *Saccharomyces cerevisiae* a uma concentração de  $10^7$  cél./L, com acompanhamento diário do °Brix e da atividade fermentativa pela liberação de CO<sub>2</sub>. As graduações alcoólicas dos vinhos de cacau e cajá foram 11,5 e 12°GL, respectivamente. Os pH's dos mostos de cacau e cajá foram, respectivamente, 3,58 e 2,56. Não foram encontradas concentrações de metanol nas bebidas, o que indica que provavelmente, a levedura Sc<sub>2</sub> (que foi uma estirpe de levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada) não possui a enzima pectinametilesterase, responsável pela liberação de grupos metil das cadeias de pectina.

Estudos realizados na Universidade Federal de Campina Grande, por Silva (2004), avaliou o aproveitamento do pedúnculo do caju para a produção de vinho de caju. A fermentação alcoólica foi operada em batelada agitada, utilizando levedura comercial Fleischmann. Obtiveram resultados de rendimento variando entre 51,65 a 63,10%, produtividade variando de 1,14 a 2,16 g/L.h,  $Y_{X/S} = 0,0678$  g/g,  $Y_{P/S} = 0,323$  g/g,  $\mu_{\text{máx}} = 0,16$  h<sup>-1</sup>.

Marangon et al. (2003) estudando a produção de vinho de caqui, realizou um experimento em três bateladas em estufas a 28°C. O caqui foi fermentado em forma de polpa e em pedaços. O rendimento da fermentação alcoólica da polpa de caqui foi de 97% e produtividade de 0,665 g/L.h e se verificou que a fermentação alcoólica do caqui em pedaços, alcançou um rendimento de 74% e produtividade de 0,582 g/L.h.

## CAPÍTULO III

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Matéria-prima

A matéria-prima utilizada neste trabalho foi o fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), adquiridos na região do cariri paraibano em Soledade e Pocinhos e selecionados de acordo com o estado de maturação e conservação.

#### 3.2. Metodologia da fermentação alcoólica

##### 3.2.1 Produção do vinho do fruto da palma

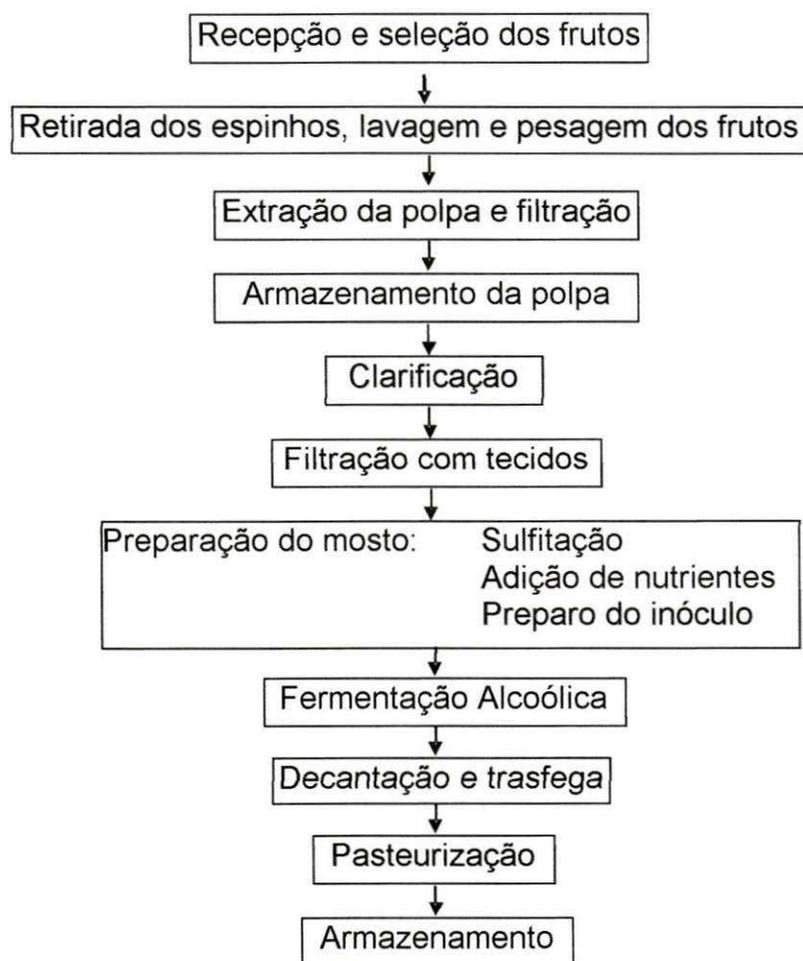
Os experimentos foram realizados no Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEQ/CCT/UFCG, em bioreatores em batelada descontínuo de polietileno com capacidade variável de 7 e de 10 litros, sendo produzidos 3,5 litros (volume útil). O processo de produção utilizado neste trabalho foi baseado no manual "Como fazer vinho de caju" ([www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm](http://www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm), 2004) e sofreu algumas alterações, pelo fato de ter sido utilizada outra matéria-prima.

A Figura 3.1 mostra o fluxograma da metodologia da produção do vinho de polpa e do fruto da palma forrageira.

##### 3.2.2 Recepção e seleção

Assim como a palma forrageira, os seus frutos contêm grande quantidade de espinhos, o que dificulta a colheita, o transporte e o manuseio. A colheita dos frutos foi realizada com o auxílio de luvas de couro, foices, machadinhos e transportados em tambores de plástico. A recepção e seleção dos mesmos foram realizadas com o auxílio de luvas de borracha (Mucambo), distinguindo-os de acordo com o seu estado de maturação.

Os frutos passaram por uma seleção para eliminar os que estavam machucados, verdes ou muito maduros. A seleção é um ponto importante para garantir um produto de boa qualidade, visto que os frutos machucados, verdes e muito maduros apresentam fermentação indesejável, comprometendo a qualidade do vinho. Na Figura 3.2 é mostrada a recepção e seleção dos frutos obtidos.



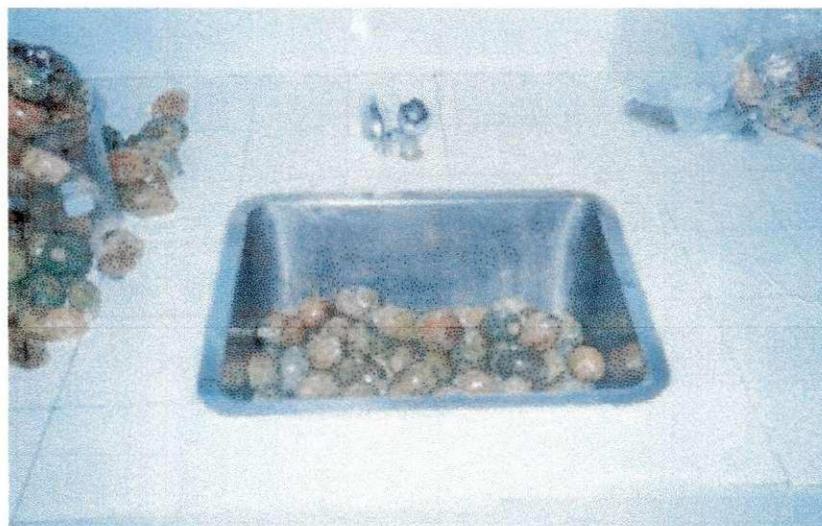
**Figura 3.1 - Fluxograma da metodologia de produção do vinho da polpa e do fruto integral da palma forrageira.**



**Figura 3.2 - Recepção e seleção dos frutos.**

### 3.2.3 Retirada dos espinhos e lavagem dos frutos

A retirada dos espinhos foi feita através de uma raspagem do fruto com faca de cozinha em água corrente, para que dessa forma se pudessem eliminar ao máximo os espinhos contidos nos frutos, evitar a passagem de espinhos para o produto, bem como evitar que os espinhos machucassem as mãos. Após a retirada dos espinhos foram realizadas as lavagens dos frutos. As lavagens foram feitas em uma solução de hipoclorito de sódio de concentração de 2,5% (p/p) visando eliminar os microrganismos e as sujeiras mais grosseiras aderidas aos frutos. Colocou-se a matéria-prima em imersão na água durante 15 minutos. Em seguida realizou-se uma nova lavagem em água corrente objetivando a retirada das sujeiras finas e, principalmente, para eliminar o resíduo de cloro remanescente da lavagem anterior, conforme a Figura 3.3.



**Figura 3.3 - Lavagem dos frutos.**

### 3.2.4 Pesagem dos frutos

Realizaram-se pesagens, em uma balança analítica (Marca - Gehaka), com o objetivo, ao fim do processo, de verificar o rendimento da produção. Fez-se a pesagem do fruto inteiro (Figura 3.4), da polpa, o fruto integral, das cascas e dos resíduos-bagaço. Após a realização das pesagens, os frutos foram cortados para que pudessem ser liquidificados (Figura 3.5).

### 3.2.5 Extração da polpa e armazenamento

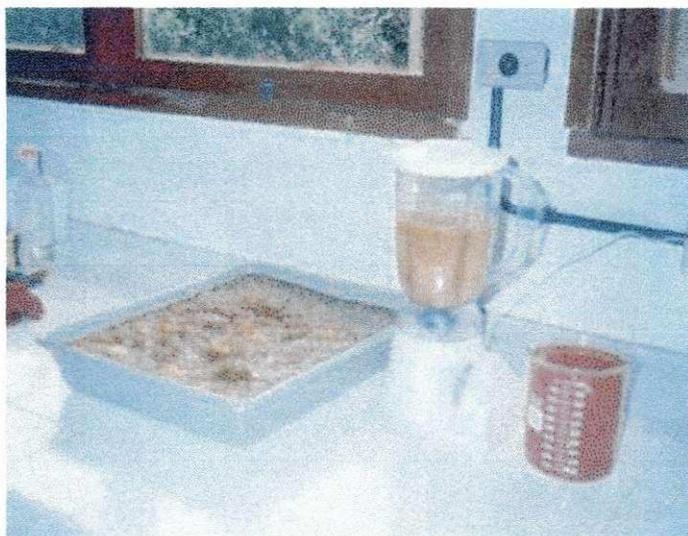
A extração da polpa foi realizada com o auxílio de um liquidificador doméstico (Figura 3.6) (Marca - Mallory). Em seguida mediu-se volumetricamente a polpa em embalagens de 3,5 L (Figura 3.7), fez-se a etiquetagem e armazenou-se em freezer com a finalidade de prolongar a vida útil, mantendo a um nível mínimo a respiração e a perda de água.



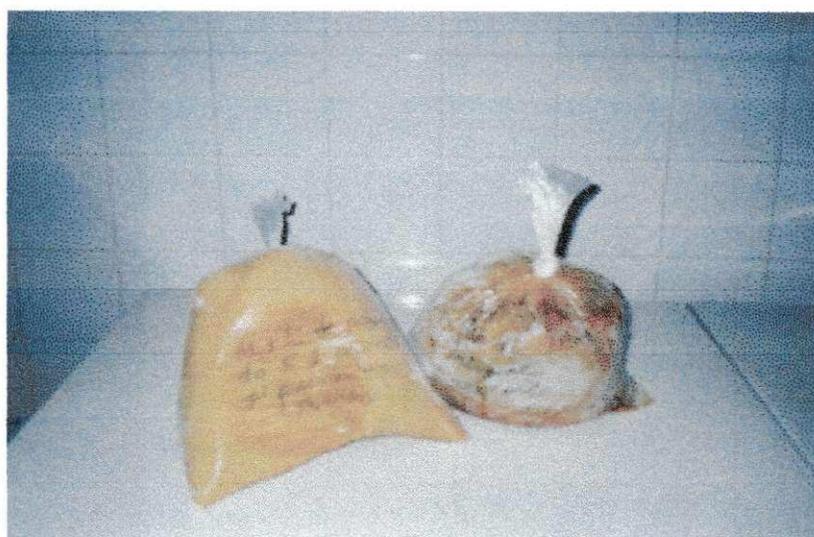
**Figura 3.4 - Pesagem dos frutos.**



**Figura 3.5 - Corte dos frutos**



**Figura 3.6 - Extração da polpa com auxílio do liquidificador.**



**Figura 3.7 – Polpas embaladas.**

### **3.2.6 Clarificação e filtração**

A clarificação foi realizada utilizando-se uma solução de gelatina a 10% (comercial, incolor e inodora, Royal), numa proporção de 6 mL/litro de suco, deixando em seguida o mosto por 24 horas na geladeira para promover uma melhor floculação da gelatina com a pectina.

Logo em seguida, fez-se uma filtragem (Figura 3.8) através de tecidos de algodão previamente limpos e esterilizados em estufa (1195 AMP 42, De Leo Cia & Ltda), fazendo-se torções para a direita e para a esquerda. Dessa forma, o mosto apresentou um aspecto mais límpido que antes desta etapa, separando a pectina que floculou com a gelatina do suco clarificado.

A clarificação foi realizada com o objetivo de remover a pectina que é um polissacarídeo encontrado em nível mais elevado em frutos de origem tropical. Sua presença no mosto pode ocasionar o surgimento de uma substância conhecida como o metanol que é altamente tóxica.

### 3.2.7 Preparo do mosto: sulfitação e adição de nutrientes

A sulfitação foi realizada com a finalidade de desinfetar o suco, prevenindo a ocorrência de situações indesejáveis durante a fermentação. O uso de agentes antioxidantes é frequentemente utilizado para evitar reações oxidativas como, degradação de vitaminas, degradação de carotenóides, reações de escurecimento com compostos fenólicos (Borenstein, 1987) e proliferação de microrganismos.



**Figura 3.8 - Filtração do mosto.**

O metabissulfito de potássio ( $K_2S_2O_5$ ) (VETEC), foi adicionado ao mosto numa concentração de 3 gramas para cada 10 litros de suco clarificado. Dissolveu-se previamente o sal em uma porção de suco e, a seguir, com agitação, misturou-se essa solução ao restante do líquido.

A adição de nutrientes, fósforo e nitrogênio foi realizada visando suplementar, satisfatoriamente, as necessidades do microrganismo. Esses dois nutrientes foram adicionados ao suco nas formas de fosfato de potássio ( $KH_2PO_4$ ) (VETEC), e sulfato de amônio [ $(NH_4)_2SO_4$ ] (VETEC, P.A), nas concentrações de 0,6 e 0,2 gramas para

cada litro de suco, respectivamente. Os reagentes podem ser observados na Figura 3.9.



**Figura 3.9 - Reagentes adicionados ao mosto.**

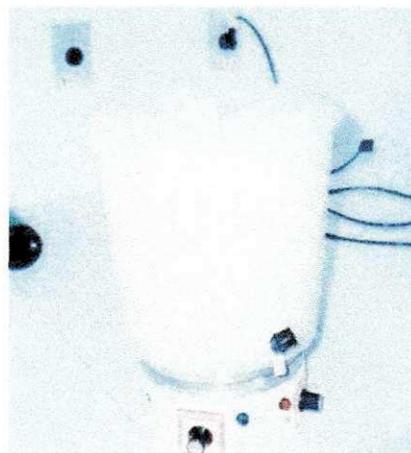
### 3.2.8 Chaptalização

A chaptalização é a etapa do processo em que se adiciona a sacarose ( $C_6H_{12}O_{11}$ ), açúcar comercial (que é o substrato limitante para a levedura) ao mosto, para se obter um produto com a graduação alcoólica dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira, que prediz a graduação de vinhos, no intervalo de 4 a 14 por cento em volume, a vinte graus Celsius (Brasil, 1997). A sacarose foi adicionada de acordo com o planejamento experimental, visto que a concentração inicial de sacarose foi uma variável de entrada e nem todos os experimentos foram chaptalizados.

### 3.2.9 Fermentação

A fermentação é a etapa de inoculação do microrganismo ao mosto, para que ele consuma o substrato e produza álcool. O microrganismo utilizado foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento de panificação, marca Fleischmann, 70% de umidade), utilizado por ser mais fácil de ser adquirida no comércio ao contrário de outras leveduras selecionadas, por exemplo, que seriam adquiridas em bancos de cepas. A fermentação foi conduzida em reator batelada de polietileno, agitado com agitadores magnéticos (Quimis), com capacidade de sete ou dez litros. Assim como a sacarose a adição do inóculo seguiu o planejamento experimental. As análises da

fermentação foram realizadas em intervalos de três horas, o término de todas as fermentações se deu quando as concentrações de °Brix alcançaram valores em torno de 3,5, que corresponde a 37,0 g/L de sacarose, com a finalidade de se obter vinhos suaves. Na Figura 3.10 é mostrado o Bioreator utilizado durante a fermentação alcoólica do vinho do fruto da palma.



**Figura 3.10 – Fermentador (Bioreator).**

### **3.2.10 Decantação e trasfega**

Finalizada a fermentação, o vinho foi levado à geladeira por 24h para facilitar a decantação da levedura, devido o fato da levedura ser menos solúvel a baixas temperaturas, comportamento observado na produção dos vinhos do fruto da palma forrageira. Dessa forma, após 24h foi feita à primeira trasfega do vinho de um reator para kitassatos de 1.000mL, com o auxílio de um compressor (Fanem Ltda, Modelo C, BD-503), rolha com saída superior, e mangueiras de conexão e sucção, descartando assim a levedura. Essa etapa foi repetida outras vezes, até que se eliminasse a maior quantidade de levedura possível. Na Figura 3.11, é possível verificar a trasfega do vinho do fruto da palma.

### **3.2.11 Engarrafamento**

O engarrafamento foi feito em garrafas PET, com capacidade de 1.000mL, visto que as garrafas apropriadas para vinhos de vidro verde escuro, não acondicionaram adequadamente, permitindo vazamento, entrada de oxigênio e microrganismos indesejáveis, as garrafas PET foram vedadas com fita plástica adesiva (Figura 3.12).



**Figura 3.11 - Trásfega do vinho.**

### **3.2.12 Pasteurização**

O processo de pasteurização visa à eliminação de microrganismos indesejáveis, inclusive resíduos remanescentes do fermento, por choque térmico. O equipamento utilizado foi um banho maria com de tanque de aço inoxidável provido de serpentina de aquecimento elétrico (18 BU, B.Braun Biotech International, variação de 0 a 140°C). A pasteurização ocorreu durante 30 minutos, com água previamente aquecida a uma temperatura de 65°C (Figura 3.13). O choque térmico foi realizado, com o resfriamento das garrafas em água corrente.



**Figura 3.12 - Engarraçamento do vinho.**



**Figura 3.13 - Pasteurização do vinho.**

### **3.2.13 Armazenamento**

As garrafas foram mantidas deitadas em prateleiras comuns de madeira, e ao abrigo da luz.

### **3.3. Análises realizadas durante a fermentação alcoólica**

Durante a fermentação alcoólica do vinho do fruto da palma forrageira, foram realizadas análises em períodos de 3h até o final de cada fermentação de: concentração de sacarose (g/L), concentração de biomassa (g/L), concentração de ácidos totais (g/100ml), pH e concentração de etanol (g/L). A metodologia de cada análise citada anteriormente seguem discriminadas a seguir. Também foi feita análise para determinar a concentração de metanol no vinho, realizada através de cromatografia gasosa, no Laboratório de Qualidade do Álcool da GIASA S.A/PB.

#### **3.3.1 Determinação da concentração de sacarose**

Material utilizado:

- Areômetro de °Brix (INCOTHERM) escala de 0 a 10°Brix e de 10 a 20°Brix, aferido a 20°C
- Termômetro de 0 a 100°C
- Proveta de 500 mL.

#### Metodologia:

Para determinação da concentração de sacarose, encheu-se a proveta com 500mL de mosto, em seguida emergiu-se o areômetro até o ponto de afloramento, com o cuidado de não molhar a haste acima deste ponto, após alguns segundos fez-se a leitura do °Brix observado. Ao tempo em que o areômetro adquiria estabilidade, foi introduzido o termômetro, após dois minutos anotou-se a temperatura indicada. Com o auxílio da tabela de correção de °Brix, este foi corrigido em função da temperatura, para a temperatura padrão de 20°C. Dessa forma, a concentração de sacarose foi expressa em gramas por litro.

As Equações 3.1 e 3.2, foram utilizadas para obtenção do °Brix corrigido e a curva de calibração para determinação da concentração de sacarose (g/L):

$$^{\circ}\text{Brix corrigido} = ^{\circ}\text{Brix não corrigido} \pm \text{o fator de correção} \quad (3.1)$$

$$S \text{ (g/L)} = (^{\circ}\text{Brix corrigido}) \times 10,13 + 1,445 \quad (3.2)$$

### 3.3.2 Determinação da concentração de biomassa

#### Material:

- Estufa de laboratório
- Suporte universal
- Papel de filtro (tarja preta)
- Funil de vidro
- Pipeta graduada de 10 mL
- Béquer de 100 mL

#### Metodologia:

Pesou-se o papel de filtro seco e anotou-se o seu peso. Em seguida, colocou-se o papel de filtro no funil de vidro, que estava fixo no suporte universal. Retirou-se uma alíquota de 20mL com uma pipeta, transferindo-a para o papel de filtro, realizando a filtração. Após a filtração, transferiu-se o papel de filtro para a estufa, juntamente com o resíduo da filtração, a uma temperatura em torno de 50°C durante 2 horas, aproximadamente. Ao final do tempo de secagem, pesou-se novamente o conjunto e anotou-se para fins de cálculo. As equações 3.3 e 3.4, mostram o cálculo da concentração de biomassa.

$$P_x \text{ (g)} = P_T - P_S \quad (3.3)$$

onde:

$P_x$  - Peso da amostra da biomassa (g)

$P_T$  - Peso total (papel de filtro + amostra da biomassa), seco (g)

$P_S$  - Peso do papel de filtro seco (g)

$$X(\text{g/L}) = \frac{P_x(\text{g})}{V(\text{mL})} \times \frac{1000(\text{mL})}{1(\text{L})} \quad (3.4)$$

onde:

$X(\text{g/L})$  - Concentração de biomassa (g/L)

$P_x$  - Peso da amostra da biomassa (g)

$V$  - Volume da alíquota pipetada para a filtração (20mL)

### 3.3.3 Determinação da concentração de ácidos totais

Material:

- Bureta de 50 mL
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Solução de hidróxido de sódio (VETEC a 0,1N)
- Solução de fenolftaleína ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ) a 1,0% (Química Moderna)
- Água destilada

Metodologia:

Na titulação volumétrica pipetou-se no Erlenmeyer 2 mL da amostra de mosto fermentado, 2 mL de água destilada e 3 gotas da solução de fenolftaleína promovendo uma ligeira agitação. A titulação foi feita com a solução de hidróxido de sódio até o ponto de mudança de coloração, repetiu-se a titulação para garantir a confiabilidade nos dados. Com o resultado do volume gasto na titulação, foi possível realizar os cálculos para verificação dos ácidos totais (Equação 3.5).

$$A(\text{g/100mL}) = \frac{N_b \times V_b \times M_{eq}}{V_a} \times 100 \quad (3.5)$$

onde:

$N_b$  - normalidade da base (NaOH, 0,1N)

$V_b$  - volume da base gasto na titulação (mL)

$M_{eq}$  - miliequivalente do ácido acético (0,06)

$V_a$  - volume da amostra (mL)

A - Concentração de ácidos totais expresso em porcentagem de ácido acético (g/100mL)

### 3.3.4 Determinação do pH

Material:

- pHmetro digital da marca (Nova Técnica Modelo NT pH 2 N°9543)
- Béquer de 100 mL
- Solução tampão pH 7,0
- Solução tampão pH 4,0

Metodologia:

Após calibrar o pHmetro, transferiu-se 50 mL da solução a ser analisada, para uma béquer, imergiu-se o eletrodo na solução a ser determinado o pH, cobrindo o bulbo de vidro. Fez-se a leitura no aparelho e anotou-se o valor do pH da solução analisada. Em seguida, retirou-se o eletrodo da solução analisada, lavando-o com água destilada, deixando este imerso em um béquer contendo água destilada, e o aparelho na posição neutra para outras análises.

### 3.3.5 Determinação da concentração de etanol

Material:

- Ebuliômetro (Metalúrgica Leonardo Ltda, Modelo 3300, com graduação de 0 a 25°GL)
- Termômetro (INCOTHERM, com graduação de 0 a 100°C)
- Régua de conversão
- Lamparina a álcool

Metodologia:

A concentração de etanol foi obtida a partir do Ebulliômetro, que determina a porcentagem alcoólica (°GL - Graus Gay Lussac). Inicialmente montou-se o equipamento, e foi feita a calibração do equipamento com água, até a temperatura de ebulição, visto que a temperatura de ebulição do etanol é menor que a da água, a qual serve de referência para o etanol. Após isto, deixou-se escoar a água existente na caldeira para fazer a determinação da graduação alcoólica da solução desejada. Sendo assim, a porcentagem alcoólica da solução alcoólica foi determinada da mesma maneira que da água.

Com a temperatura de ebulição da água e da amostra, determinou-se a concentração alcoólica da amostra, utilizando a régua de conversão. Primeiramente alinhou-se a temperatura de ebulição da água com a marca zero da escala °GL (v/v), em seguida visualizou-se diretamente a graduação alcoólica comparando a temperatura de ebulição da amostra analisada.

A partir da graduação alcoólica na escala Gay Lussac (°GL), obteve-se a concentração de etanol expressa em g/L (Equações 3.7 e 3.8). Sendo 1°GL equivalente a 1% de etanol, que por sua vez equivale a 1mL/100mL (Equação 3.6).

$$1^{\circ}\text{GL} \longrightarrow 1\% \text{ de Etanol} \longrightarrow \frac{1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = \frac{1^{\circ}\text{GL}}{100} \quad (3.6)$$

$$P \text{ (g/L)} = \rho_{\text{Alcool}} \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left( \frac{^{\circ}\text{GL}}{100} \right) \times 1 \left( \frac{\text{L}}{\text{L}} \right) \quad (3.7)$$

$$P \text{ (g/L)} = 0,7895 \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{^{\circ}\text{GL}}{100} \times \frac{1000}{1} \left( \frac{\text{mL}}{\text{L}} \right) \quad (3.8)$$

onde:

- P - Concentração de etanol (g/L);
- $\rho_{\text{Alcool}}$  - Densidade específica do etanol (0,7895 g/mL)

### 3.3.6 Rendimento em relação ao fruto

O processamento dos frutos foi feito para obter o suco clarificado, e a partir daí foi verificado o rendimento em relação ao fruto. Com base nesses cálculos é possível se verificar a viabilidade da produção dos vinhos.

Os cálculos dos rendimentos são relações simples entre os pesos e volumes, feitos na metodologia de produção, citada anteriormente nos itens 3.2.2 a 3.2.5. Essas relações se encontram dispostos a seguir para os dois tipos de vinhos produzidos.

**Relação peso de polpa do fruto integral pelo peso do fruto integral:** essa relação representa em porcentagem o quanto aproximadamente de polpa é extraído do fruto integral (Equação 3.9).

$$R_{PFI} = \frac{P_{Polpa}}{P_{Fruto\ integral}} \times 100\% \quad (3.9)$$

onde:

$R_{PFI}$  = Relação peso de polpa pelo peso do fruto integral (%)

$P_{Polpa}$  = Peso de polpa (g)

$P_{Fruto\ integral}$  = Peso total dos frutos integrais (g)

**Relação volume de polpa pelo peso do fruto integral:** essa relação representa em porcentagem o quanto de volume aproximado de polpa é obtido do fruto integral. A Equação 3.10 representa essa relação para o vinho do fruto integral.

$$R_{VPFI} = \frac{V_{Polpa}}{P_{Fruto\ integral}} \times 100\% \quad (3.10)$$

onde:

$R_{VPFI}$  = Relação volume de polpa pelo peso do fruto integral (%);

$V_{Polpa}$  = Volume de polpa (mL);

$P_{Fruto\ integral}$  = Peso total dos frutos integrais (g).

**Relação volume de polpa pelo peso (polpa + sementes):** essa relação representa em porcentagem o quanto de volume aproximado de polpa é obtido após a extração da polpa do fruto sem as sementes. A Equação 3.11 representa essa relação para o vinho de polpa.

$$R_{VPP} = \frac{V_{Polpa}}{P_{Polpa+sementes}} \times 100\% \quad (3.11)$$

onde:

$R_{VPP}$  = Relação do volume de polpa pelo peso (polpa + sementes) (%);

$V_{Polpa}$  = Volume de polpa (mL);

$P_{polpa+sementes}$  = Peso (polpa + sementes) (g).

### **Relação volume do vinho pelo peso de polpa utilizada do fruto integral**

essa relação representa em porcentagem o quanto de volume aproximado de vinho é obtido a partir da polpa integral (Equação 3.12).

$$R_{VP} = \frac{V_{Vinho}}{P_{Polpa}} \times 100\% \quad (3.12)$$

onde:

$R_{VP}$  = Relação volume do vinho pelo peso do suco do fruto integral (%);

$V_{Vinho}$  = Volume do vinho (mL);

$P_{Polpa}$  = Peso do suco do fruto integral utilizada (g).

### **Relação peso do bagaço do fruto integral pelo peso do fruto integral:**

essa relação representa em porcentagem o quanto aproximadamente de bagaço se obtém a partir do fruto integral (Equação 3.13).

$$R_{BP} = \frac{P_{Bagaço}}{P_{Fruto\ integral}} \times 100\% \quad (3.13)$$

onde:

$R_{BP}$  = Relação peso do bagaço pelo peso dos frutos integrais (%);

$P_{Bagaço}$  = Peso do bagaço (g);

$P_{fruto\ integral}$  = Peso dos frutos integrais (g).

### 3.4. Planejamento fatorial

Um dos objetivos do planejamento experimental fatorial, e posterior análise de superfície de resposta, é realizar o menor número de experimentos, reduzindo custos e tempo, além de determinar a influência significativa ou não das variáveis de entrada sobre a(s) resposta(s), quantificando os efeitos destas variáveis para a otimização do processo. Neste trabalho, na análise da regressão dos dados experimentais dos planejamentos fatoriais foi utilizado o programa Statistica, versão 5.0.

O planejamento experimental desse trabalho foi elaborado sob dois aspectos, no primeiro elaborou-se o vinho do fruto integral e foram especificados os níveis das variáveis de entrada em dois, conforme Tabela 3.1, que foram: concentração inicial de °Brix e a concentração inicial de levedura. Realizou-se sete experimentos com volumes iguais de 3,5 L, sendo 4 experimentos distintos e 3 no ponto central, como mostrado na Tabela 3.2 da matriz de planejamento.

No segundo aspecto elaborou-se o vinho da polpa do fruto, e o planejamento experimental foi semelhante ao vinho do fruto integral, conforme as Tabelas 3.1 e 3.2, porém o resultado desse planejamento não foi satisfatório, visto que o modelo não foi estatisticamente significativo, sendo necessário a expansão do planejamento para configuração estrela (Tabelas 3.3 e 3.4).

Dessa forma, os níveis das variáveis de entrada foram especificados em dois: concentração inicial de °Brix e a concentração inicial de levedura. Foram realizados onze experimentos com volumes iguais de 3,5 L, sendo 8 experimentos distintos e 3 no ponto central.

O tempo de realização dos experimentos para os dois aspectos de vinhos elaborados variou não sendo possível finalizá-los em tempos regulares, mas com o decaimento final de °Brix em torno de 3,5, em função de se desejar produzir vinho suave.

**Tabela 3.1 – Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2<sup>2</sup>**

Variáveis	Nível (-1)	Ponto Central (0)	Nível (+1)
Concentração de °Brix	8,0	11,0	14,0
Concentração de levedura (g/L)	5,0	15,0	25,0

**Tabela 3.2 – Matriz de planejamento fatorial  $2^2 + 3$  experimentos no ponto central para a produção do vinho do fruto integral da palma forrageira**

Produção de vinho do fruto integral da palma forrageira		
Experimentos	Concentração de °Brix	Concentração de Levedura
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

**Tabela 3.3 – Níveis das variáveis do planejamento fatorial  $2^2$**

Variáveis	Nível (- $\alpha$ )	Nível (-1)	Ponto Central (0)	Nível (+1)	Nível (+ $\alpha$ )
Concentração de °Brix	7,0	8,0	11,0	14,0	15,0
Concentração de levedura (g/L)	1,0	5,0	15,0	25,0	29,0

**Tabela 3.4 – Matriz de planejamento fatorial  $2^2 + 3$  experimentos no ponto central + 2K**

Produção de vinho da polpa do fruto da palma forrageira		
Experimentos	Concentração de °Brix	Concentração de Levedura
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	- $\alpha$	0
9	+ $\alpha$	0
10	0	- $\alpha$
11	0	+ $\alpha$

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 4.1. Introdução

Neste capítulo serão apresentadas as análises e discussões referentes aos resultados obtidos do rendimento do fruto e da polpa, das cinéticas das fermentações alcoólicas dos vinhos do fruto integral e da polpa do fruto da palma forrageira e a análise das superfícies de respostas através das ANOVAs.

Inicialmente, serão discutidos os dados levantados na fermentação alcoólica para a produção de vinho. No processo de fermentação alcoólica, avaliou-se o rendimento em peso do vinho do fruto integral e do vinho da polpa e os parâmetros cinéticos:  $\mu_{m\acute{a}x}$ ,  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$  e % conversão e produtividade. A determinação dos parâmetros cinéticos é importante porque em estudos futuros podem contribuir para o desenvolvimento da modelagem e simulação matemática do processo para ampliação e otimização da produção de vinho do fruto da palma forrageira.

Além dos dados anteriormente citados, também foram verificados as concentrações de sacarose, etanol, ácidos totais, pH e os efeitos das variáveis de entrada (concentração de açúcares e concentração de leveduras) sobre as variáveis resposta (eficiência do processo - % conversão e produtividade), tendo como objetivo quantificar os efeitos dessas variáveis para uma futura otimização do processo.

Os vinhos produzidos foram do tipo suave, com graduação alcoólica em torno de 5,0 °GL. O reator em batelada com agitação mecânica foi utilizado devido à facilidade de execução, e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi escolhida pela viabilidade em adquiri-la, visto que a mesma é uma levedura de panificação, sendo facilmente comerciável, o que pode favorecer futuramente a produção pelos pequenos produtores. A agitação foi promovida durante toda a fermentação, de uma forma constante e sem controle rigoroso. A fermentação foi conduzida sem controle da temperatura, com faixa de variação de 24 a 33 °C.

#### 4.2. Rendimento em peso do fruto da palma forrageira para a produção dos vinhos

As pesagens feitas durante o processamento do fruto para a produção de polpa foram importantes, porque através dessas pesagens foi possível avaliar a viabilidade do processo de produção do vinho, calculando rendimentos em peso dos vinhos do fruto integral e da polpa do fruto da palma forrageira.

Como os frutos foram obtidos em grandes quantidades e em um único período, foi necessário despulpá-los em tempo hábil, visto que são muito perecíveis. Então foi feito todo o despulpamento, e as polpas foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas. Sendo assim, o rendimento em peso do fruto será discutido e analisado de maneira geral e não a partir de cada experimento realizado, ou seja, de acordo com o total de frutos despulpados de uma única vez.

Os rendimentos em termos de fruto, polpa, vinho e bagaço apresentaram melhores resultados para os vinhos do fruto integral, do que para os vinhos simplesmente de polpa (Tabelas 4.1 e 4.2), como era de se esperar. Apesar do vinho de polpa apresentar um sabor mais agradável em análises sensoriais preliminares, as cascas e sementes que seriam desperdiçadas ou reaproveitadas como subprodutos, foram utilizadas para fabricação do vinho do fruto integral, apresentando melhores resultados, o que implica que a utilização do fruto integral é uma técnica viável, pois é possível maximizar toda a utilização do fruto. Em termos econômicos, o custo de obtenção do mesmo é baixo.

**Tabela 4.1 - Dados referentes às pesagens, volumes e rendimentos para os vinhos do fruto integral**

Peso total dos frutos integrais ( $P_{\text{frutos}}$ )	59.470 g
Peso total de polpa do fruto integral	55.960 g
Peso do bagaço	4.741 g
Volume total de polpa do fruto integral	60.763 mL
Volume de polpa do fruto integral utilizada	24.500 mL
Volume final de vinho do fruto integral	14.390 mL
$R_{\text{PFI}}$	94,0%
$R_{\text{VPFI}}$	100,0%
$R_{\text{VP}}$	59,0%
$R_{\text{BP}}$	8,0%

**Tabela 4.2 - Dados referentes às pesagens, volumes e rendimentos para os vinhos de polpa do fruto**

Peso total dos frutos ( $P_{\text{frutos}}$ )	117.595 g
Peso de polpa + sementes (antes de triturar)	62.922 g
Peso total de polpa (depois de coada)	56.422 g
Peso das cascas dos frutos	44.950 g
Peso do bagaço (sementes)	6.500 g
Volume total de polpa	54.975 mL
Volume de polpa utilizada	38.500 mL
Volume final de vinho	15.845 mL
$R_{\text{PFI}}$	48,0%
$R_{\text{VPP}}$	87,0%
$R_{\text{VP}}$	41%
$R_{\text{BP}}$	11,52%

A Tabela 4.3 apresenta a comparação dos rendimentos (%) do vinho do fruto da palma e do vinho de caju, a partir dela verifica-se que os rendimentos dos vinhos do fruto integral e de polpa apresentaram em geral melhores resultados, principalmente o vinho do fruto integral, visto que o mesmo é aproveitado completamente.

**Tabela 4.3 - Dados referentes aos rendimentos (%) para os vinhos do fruto da palma e de caju**

Relações para o vinho de caju	Vinho de caju <sup>(1)</sup>	Relações para os vinhos do fruto da palma	Vinho de polpa (2)	Vinho Integral (3)	Diferença (1)-(2)	Diferença (1)-(3)
$P_{\text{suco}}/P_{\text{pedúnculo}}$	80,99	$R_{\text{PFI}}$	48,0	94,0	32,99	-13,01
$V_{\text{suco}}/P_{\text{pedúnculo}}$	45,80	$R_{\text{VPFI}}$ ou $R_{\text{VPP}}$	87,0	100,0	-41,2	-54,2
$V_{\text{vinho}}/P_{\text{suco}}$	56,50	$R_{\text{VP}}$	41,0	59,0	15,5	-2,5
$P_{\text{bagaço}}/P_{\text{pedúnculo}}$	13,57	$R_{\text{BP}}$	11,52	8,0	2,05	5,57

Fonte: \*Torres Neto et al. (2002)

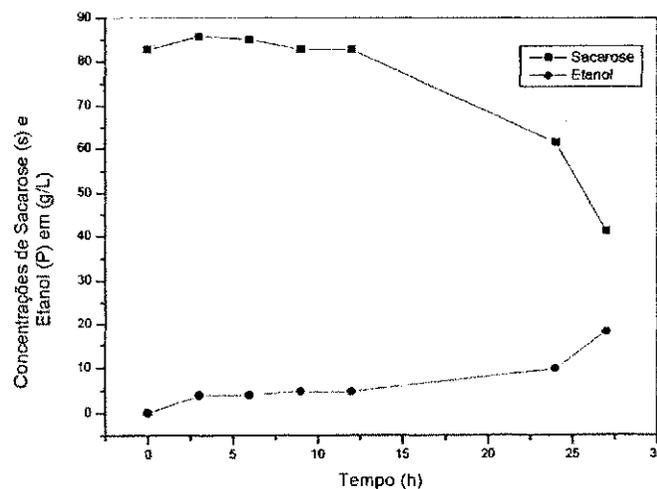
#### 4.3. Cinética da fermentação alcoólica do vinho do fruto da palma forrageira

Durante a fermentação alcoólica do vinho do fruto da palma forrageira, foram obtidos dados experimentais referentes às concentrações de substrato (sacarose), produto (etanol), biomassa (microrganismo), acidez total e pH em intervalos de 3 horas, durante variadas faixas de tempos de processo até que ao final de cada experimento as fermentações estivessem em torno de 3,5°Brix (vinho suave), que corresponde a aproximadamente 35 g/L de sacarose. Os valores dos dados

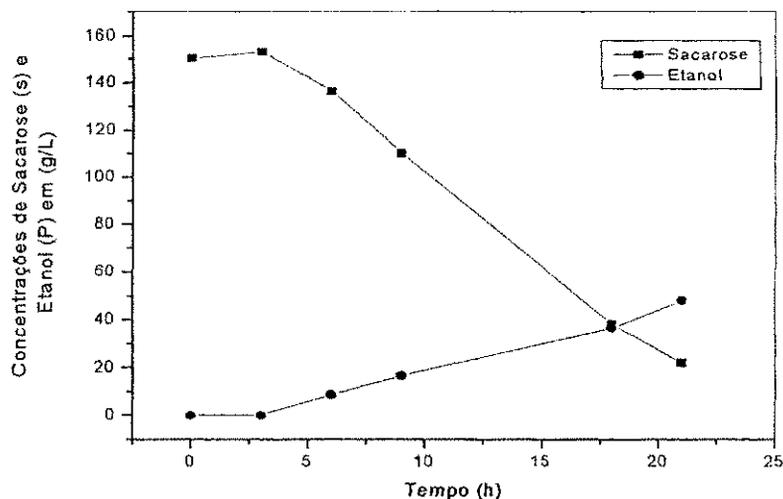
experimentais estão apresentados nas Figuras 4.1 a 4.7, referentes às variações das concentrações de substrato e produto.

Com os resultados obtidos nesse experimento (Figura 4.1), verificam-se os perfis de queda de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação. Durante o processo de fermentação houve queda considerável da concentração de sacarose (S) após 12 horas de fermentação, conseqüência do consumo do substrato pelo microrganismo, atingindo níveis próximos de 41 g/L, e como efeito houve uma produção de etanol em torno de 18 g/L. No início da fermentação até aproximadamente 12 horas, a velocidade de produção de etanol foi lenta.

Analisando os resultados apresentados na Figura 4.2, verifica-se os perfis de decaimento de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação para o experimento 2, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 14,0 e 5,0 g/L, respectivamente. No processo de fermentação houve um bom decaimento da concentração de sacarose (S) após 3 horas de fermentação, provocada pelo consumo (metabolismo) do substrato pelo microrganismo, atingindo níveis próximos de 22 g/L, como conseqüência houve uma considerável produção de etanol, sendo esta em torno de 48 g/L.

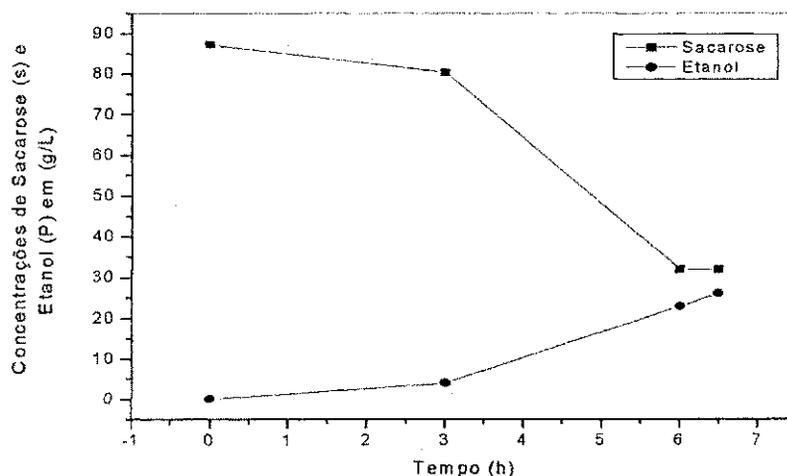


**Figura 4.1 - Cinética fermentativa do experimento 1 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 82,4 g/L, etanol (P) = 18,2 g/L e concentração de leveduras (X) = 5,0 g/L.**



**Figura 4.2 - Cinética fermentativa do experimento 2 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 143,2 g/L, etanol (P) = 48,0 g/L e concentração de leveduras (X) = 5,0 g/L.**

Na Figura 4.3 são apresentados os perfis de S e P do processo de fermentação do vinho do fruto da palma forrageira, para o experimento 3. As concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 8,0 e 25,0 g/L, respectivamente. Houve uma boa queda de substrato (S), apesar de no final da fermentação os níveis de sacarose se apresentarem constantes, atingindo 32 g/L. Da mesma maneira, houve uma boa produção de etanol, sendo esta em torno de 26 g/L.



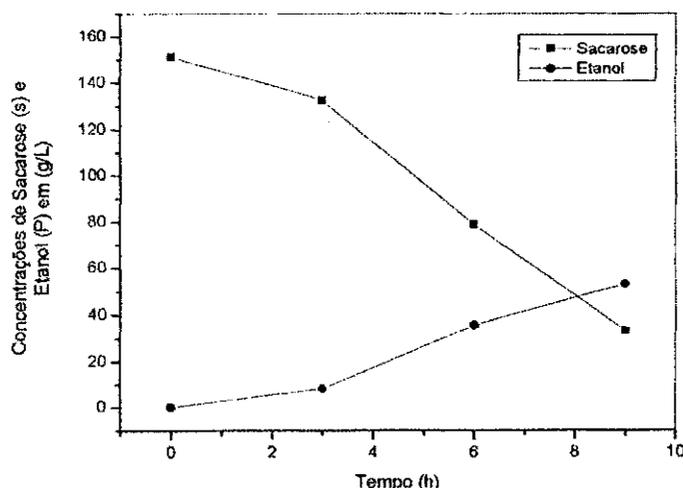
**Figura 4.3 - Cinética fermentativa do experimento 3 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 82,4 g/L, etanol (P) = 26,0 g/L e concentração de leveduras (X) = 25,0 g/L.**

Com os resultados obtidos no experimento 4 (Figura 4.4) com concentrações iniciais de °Brix e levedura de 14,0 e 25,0 g/L, respectivamente, verificam-se os perfis de queda de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação. Durante o processo de fermentação, houve decaimento considerável da concentração de sacarose (S) até o final da fermentação, pelo consumo de substrato através do microrganismo, até atingir níveis próximos de 33 g/L, em paralelo o perfil de P é crescente e ficou em torno de 53 g/L.

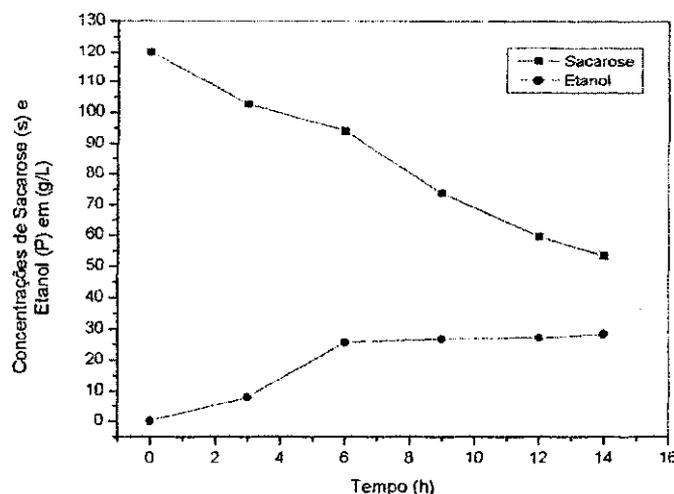
Os resultados apresentados nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7, mostram os perfis de queda de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação, oriundas de experimentos nos pontos centrais do planejamento fatorial (processos fermentativos repetidos). As concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 11,0 e 15,0 g/L, respectivamente.

Observa-se um bom decaimento de substrato até o final da fermentação, os quais atingiram níveis de 38 e 53 g/L, da mesma forma os perfis de produção de etanol também foram satisfatórios, estes atingindo níveis que variaram de 26 a 32 g/L.

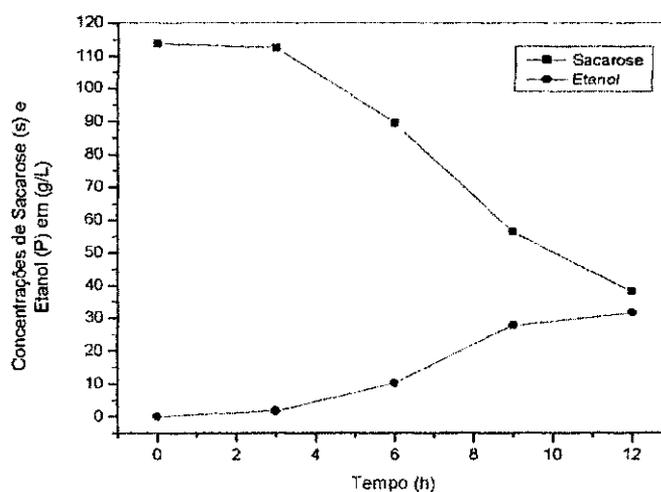
Observa-se ainda, que as cinéticas foram relativamente rápidas com um tempo médio de 12 horas de fermentação, visto que as concentrações de °Brix e levedura são intermediárias de acordo com a tabela de níveis das variáveis de concentração (Tabela 3.1).



**Figura 4.4 - Cinética fermentativa do experimento 4 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 143,2 g/L, etanol (P) = 53,0 g/L e concentração de leveduras (X) = 25,0 g/L.**

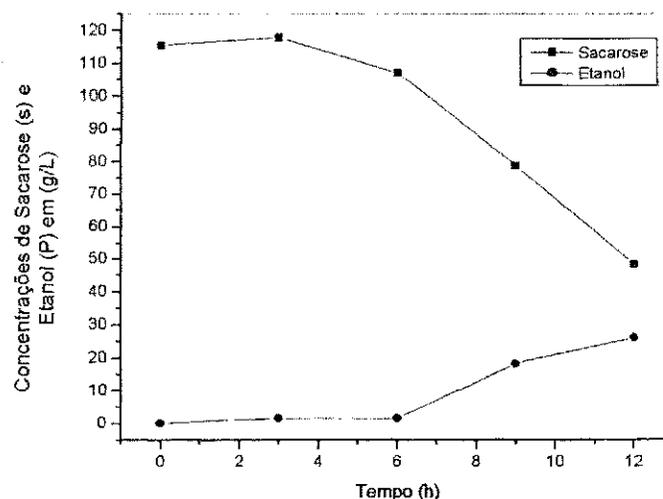


**Figura 4.5 - Cinética fermentativa do experimento 5 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 28,5 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**



**Figura 4.6 - Cinética fermentativa do experimento 6 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 31,7 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**

De acordo com Borzani et al. (1983) durante o processo de produção de vinho há formação de ácidos, como ácido láctico, acético e succínico. Sendo assim, as Figuras 4.8 a 4.14 apresentam a variação de acidez total, expressa em g/100mL de ácido acético e pH durante o processo de produção do vinho do fruto da palma forrageira.



**Figura 4.7 - Cinética fermentativa do experimento 7 do planejamento fatorial para o vinho do fruto integral: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 26,1 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**

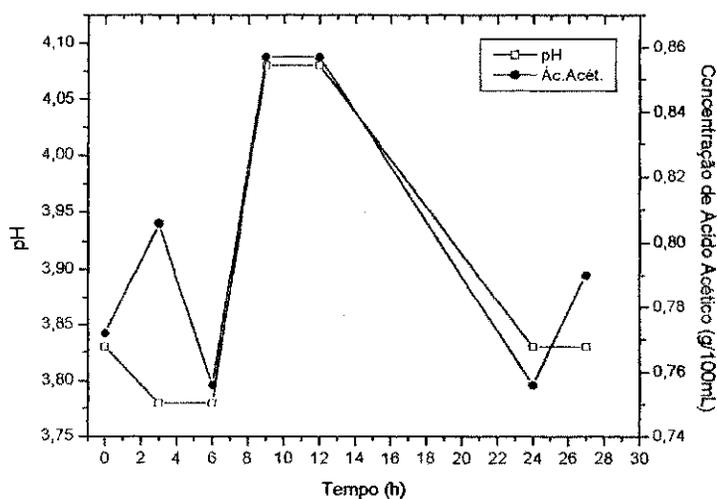
Observando-se a Figura 4.8, verifica-se que a velocidade de formação da acidez total oscilou durante todo o período de fermentação, apresentando estabilidade apenas no período de 9 a 12 horas de processo. O mesmo fato ocorreu para a variação de pH, que também oscilou em vários momentos, sendo estável apenas nos períodos de 3 a 6 horas de fermentação e 24 a 27 horas, este sofreu uma alteração que variou de 3,8 a 4,1.

A Figura 4.9 apresenta as variações de pH e acidez total para o experimento 2, indicando que o pH nos primeiros instantes da fermentação não sofreu grandes alterações, em contrapartida, após as 6 horas de fermentação houve uma queda do mesmo, que passou de 3,7 no início para 3,3 no final da fermentação. Por outro lado, a velocidade de formação dos ácidos totais foi crescente, sendo estável apenas nas 3 primeiras horas de fermentação.

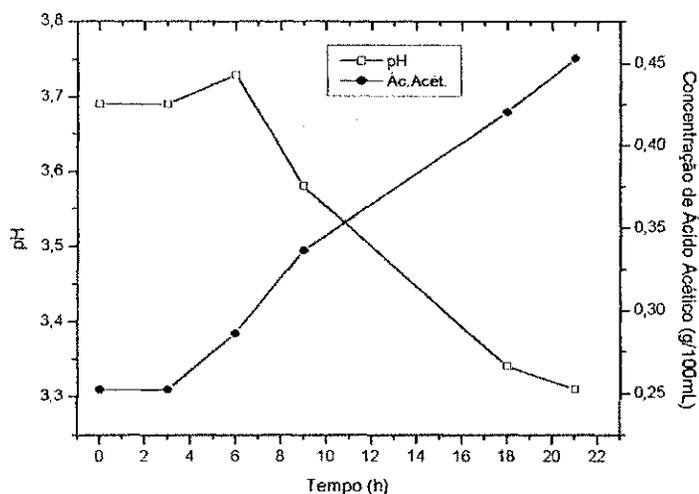
Na Figura 4.10 estão apresentadas as variações de pH e acidez total para o experimento 3. Verifica-se um constante crescimento de pH, que variou de 4,09 a 4,3 e também a acidez total durante todo o período de fermentação, sendo este último constante apenas no período de 3 a 6 horas de fermentação.

A Figura 4.11 apresenta as variações de pH e acidez total para o experimento 4, indicando que para o pH houve decréscimo até as 6 horas de fermentação, aumentando em seguida até o final da fermentação, e este passou de 3,78 a 3,28,

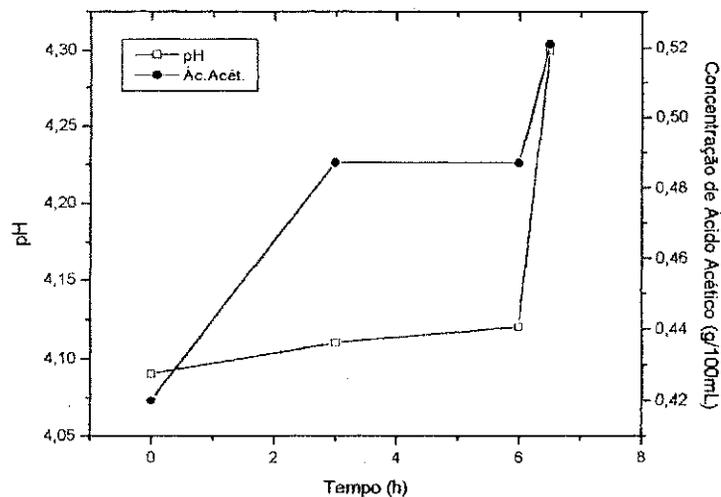
em contrapartida, a velocidade de formação da acidez total foi crescente durante todo o período de fermentação.



**Figura 4.8 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 1º experimento.**



**Figura 4.9 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 2º experimento.**



**Figura 4.10 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 3º experimento.**

Os resultados apresentados nas Figuras 4.12, 4.13 e 4.14, mostram as variações de pH e acidez total em relação ao tempo de fermentação, resultantes, de experimentos nos pontos centrais do planejamento fatorial (processos fermentativos repetidos). A Figura 4.12 mostra que nas primeiras e últimas horas de fermentação o pH ficou estável, mas variou na fase intermediária da fermentação chegando a 3,85, já nas Figuras 4.13 e 4.14 a faixa de pH foi crescente. Observa-se ainda que a concentração de ácidos totais variou até as 12 horas de fermentação na Figura 4.12, se estabilizando ao término desta, na Figura 4.13 foi crescente e na Figura 4.14 houve variações na concentração dos ácidos totais, sendo crescente no início e no final da fermentação, sofrendo decaimento das 3 as 9 horas.

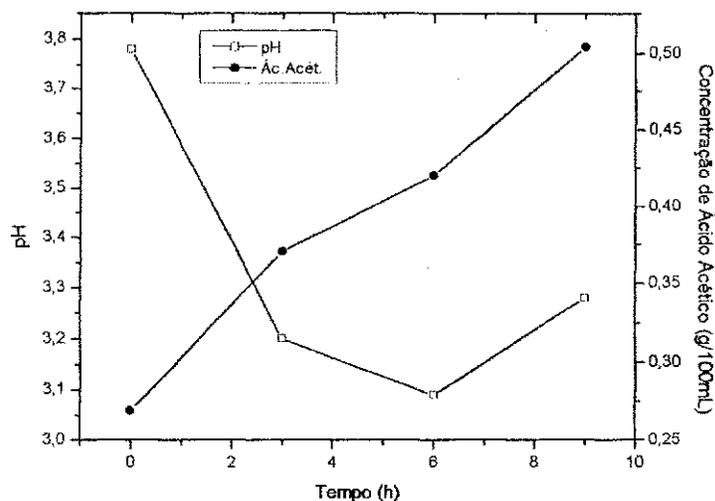


Figura 4.11 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 4º experimento.

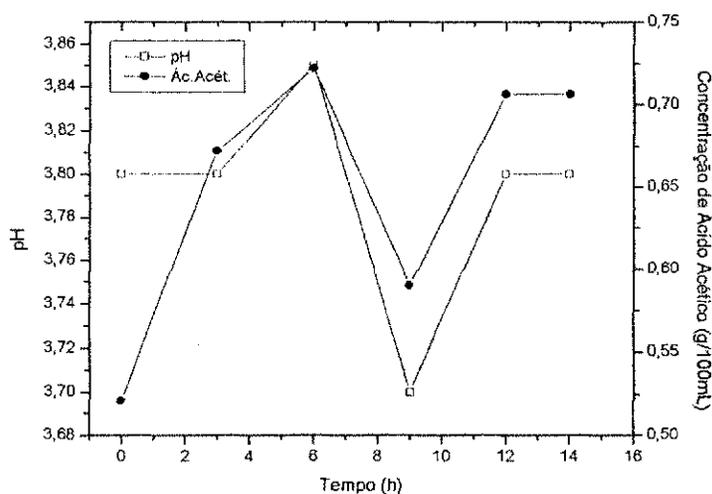
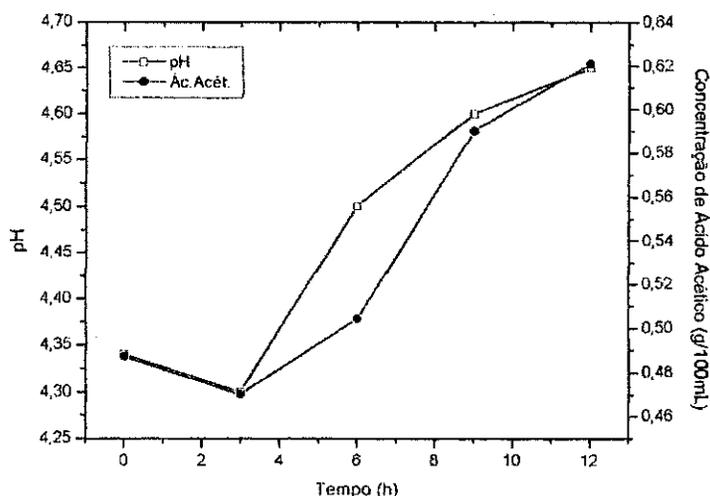
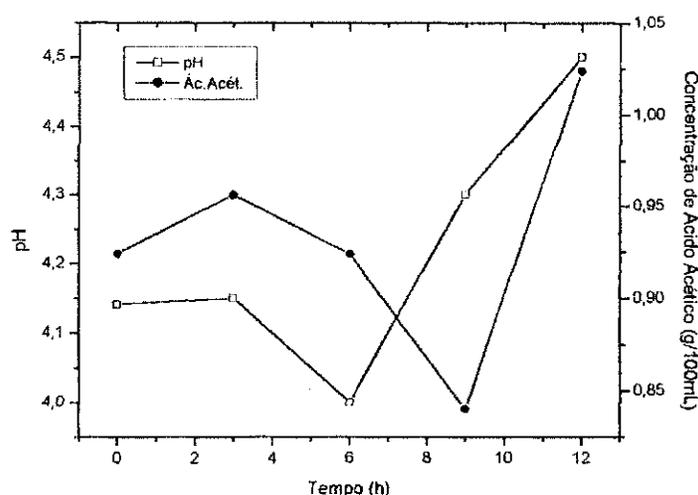


Figura 4.12 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 5º experimento.



**Figura 4.13 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 6º experimento.**



**Figura 4.14 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 7º experimento.**

A análise de determinação do metanol no vinho do fruto integral da palma forrageira foi feita através de cromatografia gasosa que revelou uma concentração de metanol de 1,4 mg/100mL, que não representa nem 1% do máximo permitido pela legislação, que segundo Salton et al. (2000) é de 0,5g/100mL de álcool anidro. Sendo assim, o valor da concentração de metanol encontra-se bem abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira, ou seja, abaixo da concentração considerada como tóxica, o que indica que a metodologia utilizada para retirada da pectina foi bem conduzida, uma vez que o metanol presente no vinho é produzido na

fermentação alcoólica através da degradação da pectina. O ministério da Agricultura – Portaria nº 84 de 25 de Abril de 1989, citado por Rizzon e Meneguzzo (2001), afirmam que a concentração máxima de metanol permitida nos vinhos de mesa é de 35 mg/100mL da bebida.

#### 4.3.1 Considerações gerais para o vinho do fruto integral

Analisando as cinéticas anteriormente apresentadas, verifica-se a influência das variáveis de entrada (concentração de °Brix e concentração de levedura). A concentração de levedura, quando passa do nível (-1) para o nível (+1), mostra grandes variações no tempo de fermentação.

No caso do experimento 1, inicialmente o processo de fermentação ocorreu de forma lenta, que de acordo com Lima et al; (1992) no processo de fermentação, há a existência de 3 fases distintas (preliminar, tumultuosa e complementar). No início da fermentação ocorre uma adaptação do microrganismo que é dado pela fase preliminar, onde as leveduras ao entrarem em contato com o mosto iniciam uma intensa multiplicação celular com pequenos desprendimentos de CO<sub>2</sub>, ou seja, há pouca formação de produto e um aumento de células. Por outro lado, o que também pode ter ocasionado uma produção de etanol lenta até às 12 horas de fermentação foram as concentrações iniciais de °Brix e levedura 8,0 e 5,0 g/L, respectivamente, principalmente a concentração de levedura, já que segundo Silva (1998) a utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), numa concentração de 20 g/L, mostrou-se adequada para a obtenção de uma fermentação rápida, dentro dos padrões exigidos para uma fermentação alcoólica, o que possivelmente não poderia ser justificado pela baixa concentração de °Brix, visto que com limites razoáveis de açúcar é possível ocorrerem boas fermentações.

No experimento 2, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 14,0 e 5,0 g/L, respectivamente, e apesar da concentração inicial de levedura ter sido baixa, e poder apresentar problemas na fermentação como explicado no experimento anterior, esta não teve grande influência na reação, bem como na produção de etanol.

No experimento 3, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 8,0 e 25 g/L, respectivamente, o que explica o rápido tempo de fermentação, devido a alta concentração de levedura existente inicialmente no mosto, que consumiu em pouco tempo a pequena concentração de substrato (sacarose) no início da fermentação.

Quanto ao experimento 4, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 14,0 e 25,0 g/L, respectivamente, e como 20 g/L de levedura é uma concentração adequada para ocorrerem boas fermentações, segundo Silva (1998), este fato pode explicar a boa produção de etanol e rápido tempo de fermentação, visto que a concentração de levedura estava acima de 20 g/L.

Com relação aos experimentos 5, 6 e 7 (no ponto central), observa-se que as cinéticas foram relativamente rápidas com um tempo médio de 12 horas de fermentação, visto que as concentrações de °Brix e levedura, são intermediárias de acordo com a tabela de níveis das variáveis de concentração (Tabela 3.1). Pode-se afirmar que houve uma boa reprodutibilidade dos três experimentos no ponto central.

Em termos de verificação de pH, observa-se que apesar de em alguns experimentos ter havido oscilações e quedas de pH, estas faixas podem ser consideradas ótimas para o pH de uma fermentação alcoólica, pois segundo Bortolini et al. (2001), essas faixas de pH são suficientes para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir as bactérias indesejáveis. Furletti (1986) também afirma que a faixa de pH entre 4,0 e 4,5 conduz bem uma fermentação alcoólica e que as leveduras alcoólicas em geral, apresentam uma zona ótima de pH variável, para que ocorram seus processos fisiológicos, mas essa variação sempre se processa em valores de pH inferiores ou igual a 7,0, ou seja, elas se apresentam como microrganismos acidófilos.

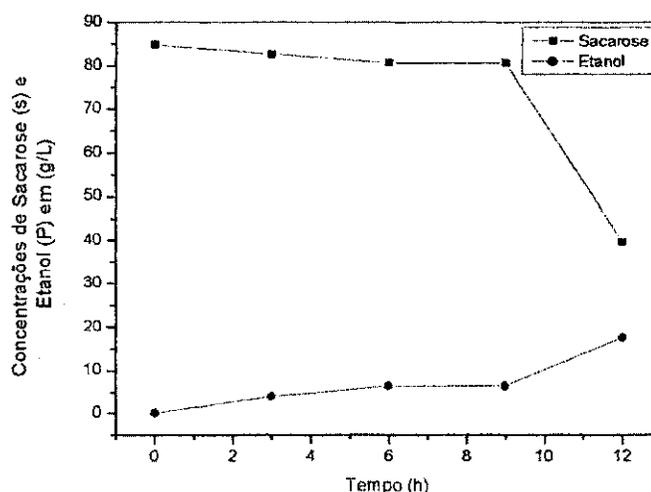
Com relação aos ácidos totais, observa-se que houve experimentos com crescimento na concentração destes e oscilações, porém estes estão dentro do limite permitido pela legislação brasileira que devem estar entre 0,33 (mínimo) e 0,78 g/100mL (máximo). Ao analisar o aumento do % de ácido acético, verificou-se que em alguns experimentos chegou a aumentar em até 90% do valor da concentração inicial. Sabe-se que um aumento de até 2 vezes (100%) do percentual de ácido acético no processo de produção de vinho é considerado normal, acima de 2 vezes há produção excessiva de ácidos no vinho.

#### **4.4. Cinética da fermentação alcoólica do vinho da polpa do fruto da palma forrageira**

Assim como para o vinho do fruto integral, durante a fermentação alcoólica do vinho de polpa, foram obtidos dados experimentais referentes às concentrações de

substrato (sacarose), produto (etanol), biomassa (microrganismo), acidez total e pH em intervalos de 3 horas, durante variadas faixas de tempos de processo até que ao final de cada experimento as fermentações estivessem em torno de 35 g/L de sacarose remanescente no vinho. Os valores dos dados experimentais estão apresentados nas Figuras 4.15 a 4.25, referentes às variações das concentrações de substrato e produto.

Com os resultados obtidos no experimento 1 (Figura 4.15), verificam-se os perfis de queda de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação. Durante o processo de fermentação a queda da concentração de sacarose (S) só foi considerável após as 9 horas de fermentação, até atingir níveis próximos de 40 g/L, como consequência houve uma produção de etanol em torno de 18 g/L. Observa-se ainda que do início da fermentação até as 9 horas, a velocidade de produção de etanol foi lenta.

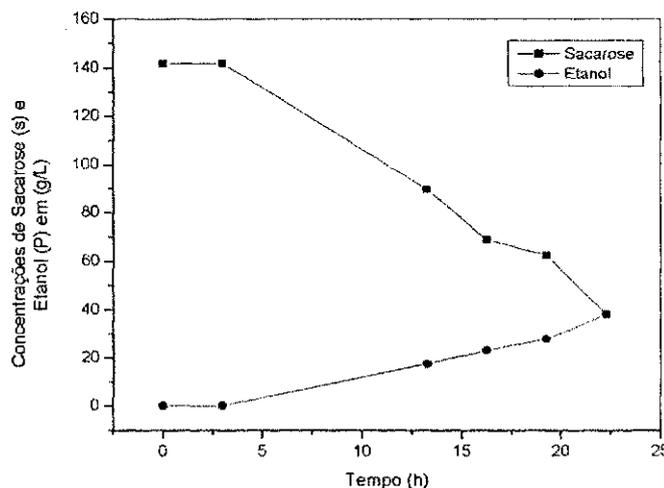


**Figura 4.15 - Cinética fermentativa do experimento 1 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 84,8 g/L, etanol (P) = 17,6 g/L e concentração de leveduras (X) = 5,0 g/L.**

Analisando os resultados apresentados na Figura 4.16, verifica-se a cinética fermentativa do experimento 2, onde as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 14,0 e 5,0 g/L, respectivamente.

No processo de fermentação houve um bom decaimento da concentração de sacarose (S) após 3 horas de fermentação, antes desse tempo a fermentação foi

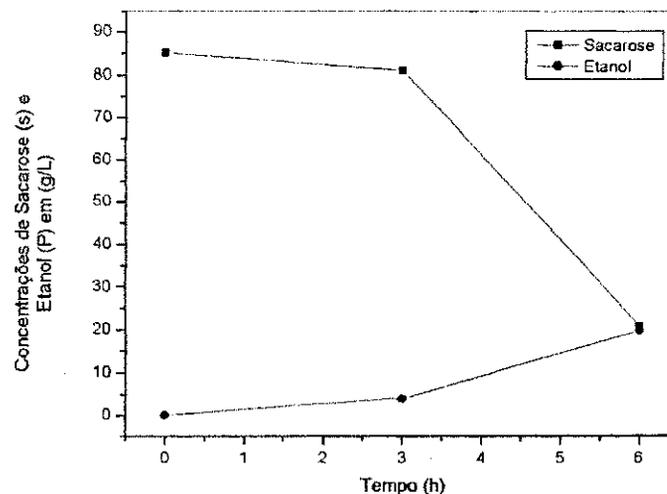
estável, sem apresentar variações. O decaimento de sacarose se deve pelo consumo (metabolismo) do substrato pelo microrganismo, que atingiram níveis próximos de 38 g/L, como consequência houve uma considerável produção de etanol, sendo esta em torno de 38 g/L.



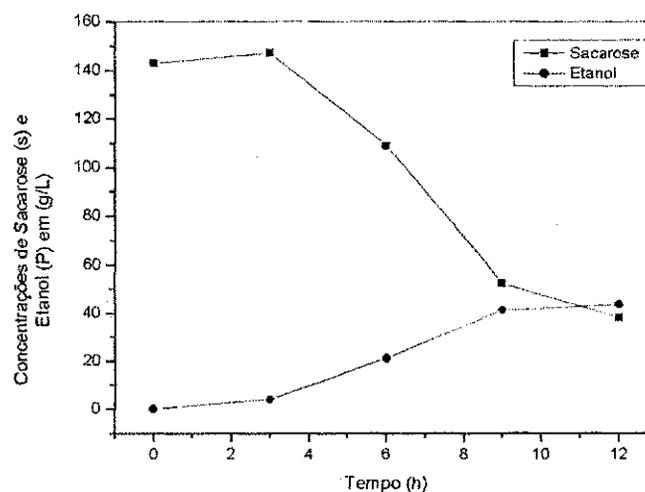
**Figura 4.16 - Cinética fermentativa do experimento 2 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 143,2 g/L, etanol (P) = 38,0 g/L e concentração de leveduras (X) = 5,0 g/L.**

A Figura 4.17 apresenta a cinética fermentativa do vinho de polpa do fruto da palma forrageira para o experimento 3, onde se observa o decaimento de substrato (S) e produção de etanol (P). As concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 8,0 e 25,0 g/L, respectivamente. Houve uma satisfatória queda de substrato (S) após 3 horas de fermentação, atingindo um nível final de sacarose de 21 g/L e um nível de produção de etanol de 20 g/L.

Na Figura 4.18 são apresentados os perfis de S e P para o experimento 4, com concentrações iniciais de °Brix e levedura 14,0 e 25,0 g/L, respectivamente. Observa-se um decaimento considerável de sacarose a partir das 3 horas de fermentação, como consequência dessa queda, tem-se uma produção de etanol, que acompanha a queda de sacarose, sendo crescente também a partir das 3 horas, devido ao consumo de substrato pelo microrganismo, onde foram atingidos no final da fermentação níveis de sacarose próximos de 38 g/L e de etanol 43,5 g/L.



**Figura 4.17 - Cinética fermentativa do experimento 3 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 84,8 g/L, etanol (P) = 20,0 g/L e concentração de leveduras (X) = 25,0 g/L.**

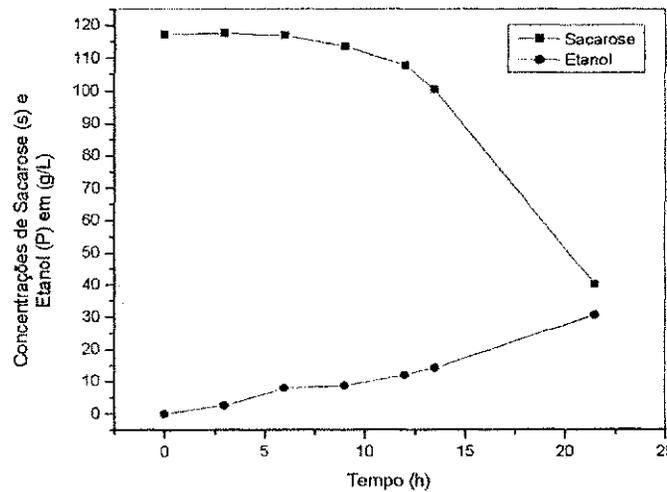


**Figura 4.18 - Cinética fermentativa do experimento 4 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 143,2 g/L, etanol (P) = 43,5 g/L e concentração de leveduras (X) = 25,0 g/L.**

Os resultados apresentados nas Figuras 4.19, 4.20 e 4.21, mostram os perfis de queda de substrato (S) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em relação ao tempo de fermentação, oriundas de experimentos nos pontos centrais do

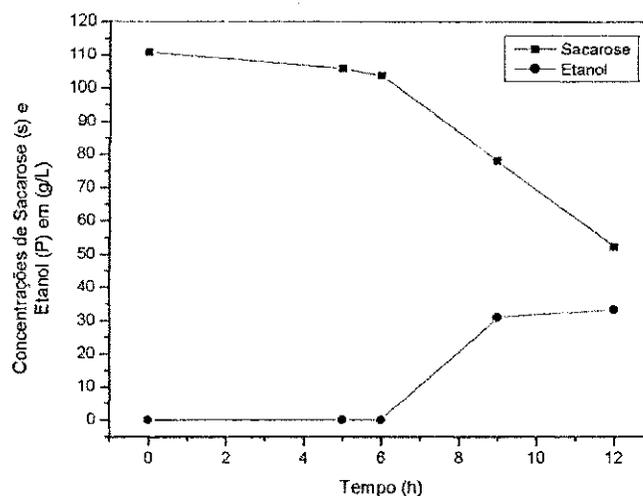
planejamento fatorial (processos fermentativos repetidos). As concentrações de °Brix e levedura foram de 11 e 15 g/L, respectivamente.

Nas três fermentações observa-se um considerável decaimento de substrato até o fim das fermentações, onde apresentam uma queda acentuada do substrato depois de decorridas 6 horas de processo, com os níveis de sacarose atingindo uma faixa de 40 a 52 g/L. Os perfis de produção de etanol apresentaram melhores resultados nos experimentos 5 e 7, Figuras 4.19 e 4.21, enquanto o perfil de etanol na Figura 4.20 (experimento 6) não se alterou até as 6 horas de fermentação, e teve crescimento somente após esse tempo, os níveis de etanol atingidos, para os três experimentos, variaram entre 30 a 36 g/L.

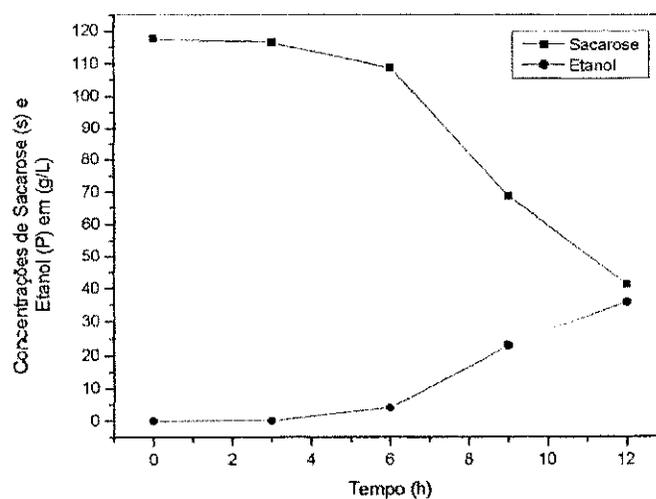


**Figura 4.19 - Cinética fermentativa do experimento 5 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 30,4 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**

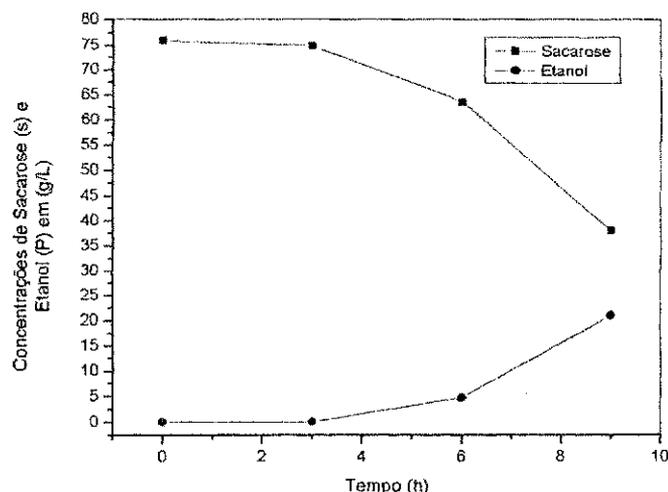
Na Figura 4.22, observa-se os perfis de S e P do processo de fermentação do vinho de polpa do fruto da palma forrageira, oriundas da expansão do planejamento fatorial, ou configuração estrela (experimento 8), onde as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 7,0 e 15,0 g/L, respectivamente. Houve uma satisfatória queda de substrato (S), com os níveis de sacarose atingindo 38 g/L e uma produção de etanol que chegou a 21 g/L.



**Figura 4.20 - Cinética fermentativa do experimento 6 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 28,5 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**



**Figura 4.21 - Cinética fermentativa do experimento 7 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 35,6 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**



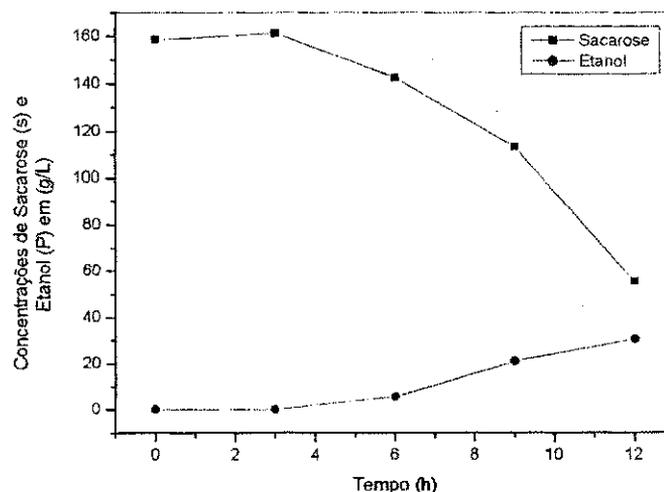
**Figura 4.22 - Cinética fermentativa do experimento 8 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 72,3 g/L, etanol (P) = 21 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**

A Figura 4.23 apresenta a cinética fermentativa para o experimento 9, nas concentrações de °Brix e levedura de 15 e 15 g/L, respectivamente. Dessa forma, observa-se os perfis de S e P do processo de fermentação do vinho de polpa do fruto da palma forrageira, oriundas da expansão do planejamento fatorial, ou configuração estrela, observa-se uma satisfatória queda de substrato (S), com os níveis de sacarose atingindo 55 g/L e uma considerável produção de etanol (P) que chegou a 30 g/L.

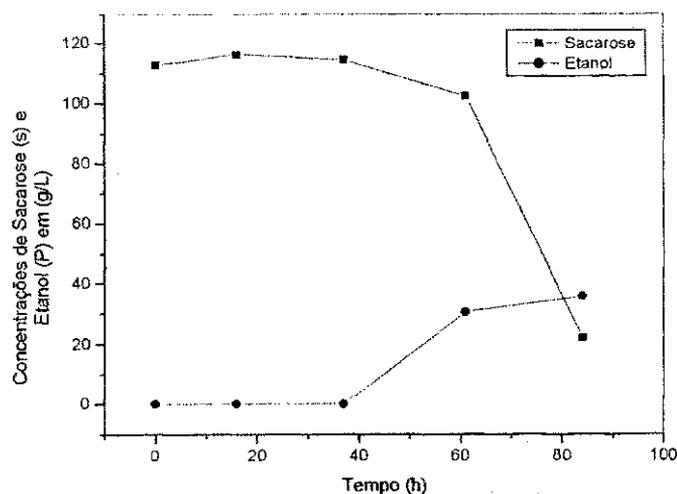
A Figura 4.24 apresenta a cinética fermentativa do experimento 10, observam-se os perfis de S e P do processo de fermentação do vinho de polpa do fruto da palma forrageira, oriundas da expansão do planejamento fatorial, ou configuração estrela, onde o substrato (S) e o etanol (P) sofrem decaimento. As concentrações iniciais de °Brix e levedura foram, 11,0 e 1,0 g/L, respectivamente, e o tempo de fermentação de 84 horas, o substrato atingiu níveis de 22 g/L e o etanol 36 g/L.

Na Figura 4.25, observa-se os perfis de S e P do processo de fermentação do vinho de polpa do fruto da palma forrageira, oriundas da expansão do planejamento fatorial, ou configuração estrela (experimento 11), onde se observa o decaimento de substrato (S) e produção de etanol. As concentrações iniciais de °Brix e levedura

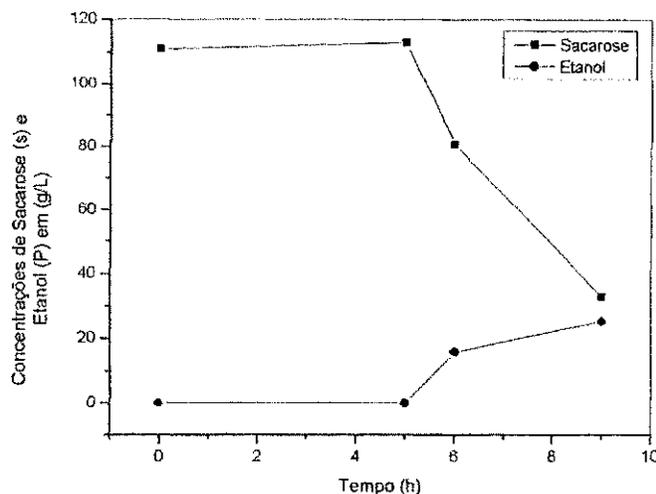
foram 11,0 e 29,0 g/L, respectivamente. Houve uma satisfatória queda de substrato (S), apesar de esta ter acontecido após o tempo de 5 horas, por conseguinte a produção de etanol aumentou após esse mesmo período, os níveis de sacarose atingiram 32 g/L e a produção de etanol chegou a 25 g/L.



**Figura 4.23 - Cinética fermentativa do experimento 9 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 153,3 g/L, etanol (P) = 30,4 g/L e concentração de leveduras (X) = 15,0 g/L.**



**Figura 4.24 - Cinética fermentativa do experimento 10 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 35,6 g/L e concentração de leveduras (X) = 1,0 g/L.**



**Figura 4.25 - Cinética fermentativa do experimento 11 do planejamento fatorial para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira: concentração inicial de sacarose (S) = 112,9 g/L, etanol (P) = 25,3 g/L e concentração de leveduras (X) = 29,0 g/L.**

As Figuras 4.26 a 4.36 apresentam a variação de acidez total, expressa em g/100mL de ácido acético e pH durante o processo de produção do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.

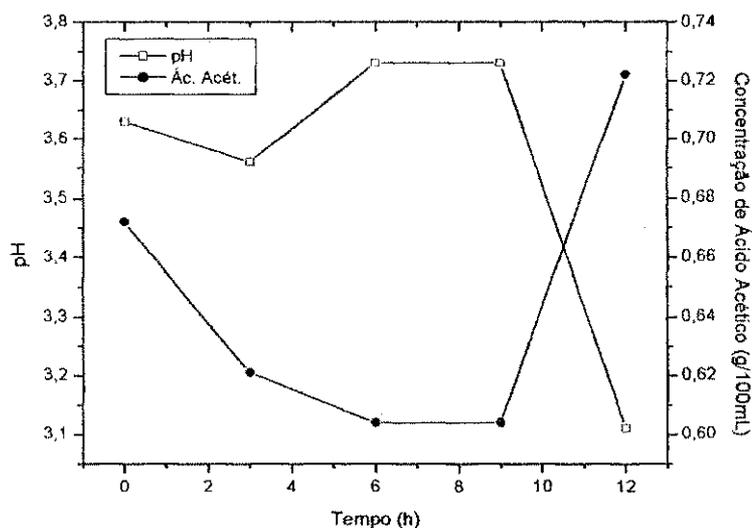
Observando a Figura 4.26 a velocidade de formação dos ácidos totais sofreu um decaimento durante praticamente todo o período de fermentação, sendo considerável nas primeiras 12 horas do processo. A variação de pH oscilou em vários momentos, sendo estável apenas nos períodos de 6 a 9 horas de fermentação e caindo até as 12 horas, chegando a níveis de 3,11.

O resultado apresentado na Figura 4.27 mostra a variação de pH e acidez total em relação ao tempo de fermentação. Nela se observa o crescimento de ácidos totais, e também do pH, que variou de 4,14 a 4,7, porém este parâmetro sofreu uma pequena queda entre às 3 e 13 horas de processo, mas a partir desse intervalo continuou a ser crescente até o final da fermentação.

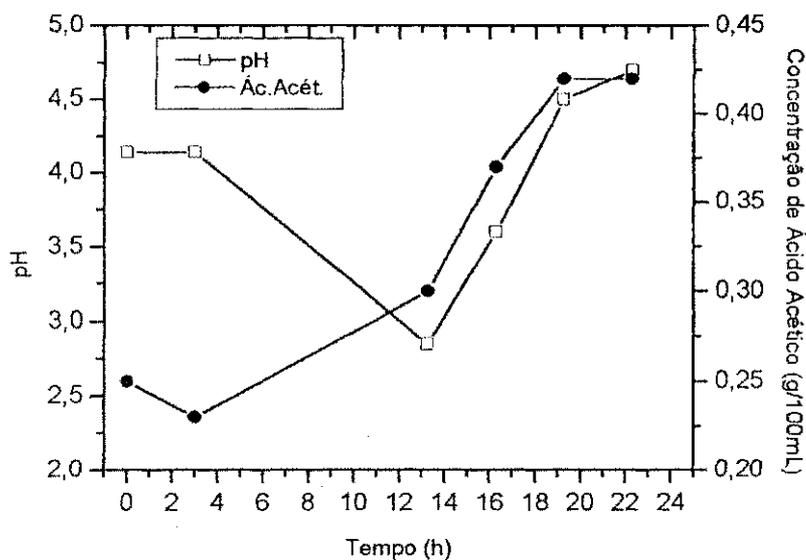
Na Figura 4.28 estão apresentadas as variações de pH e acidez total para o experimento 3. Verifica-se um pequeno aumento de pH que variou de 3,61 a 3,67, e também dos ácidos totais durante todo o período de fermentação.

A Figura 4.29 apresenta as variações de pH e acidez total para o experimento 4, indicando que no pH houve um decréscimo até 6 horas de fermentação,

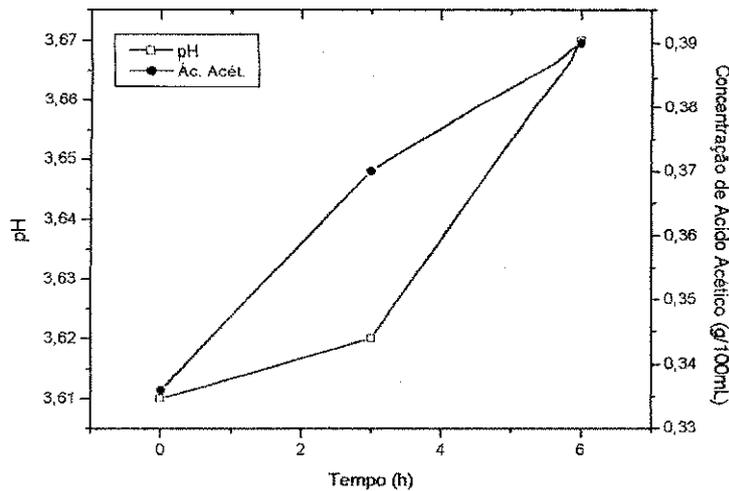
aumentando em seguida até o final da fermentação. E este passou de 3,84 a 3,38. Em contrapartida, a velocidade de formação dos ácidos totais foi crescente.



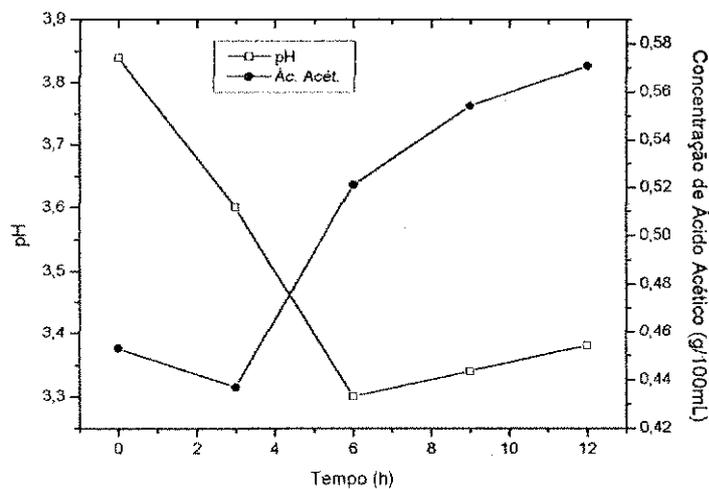
**Figura 4.26 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 1º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**



**Figura 4.27 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 2º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**



**Figura 4.28 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 3º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

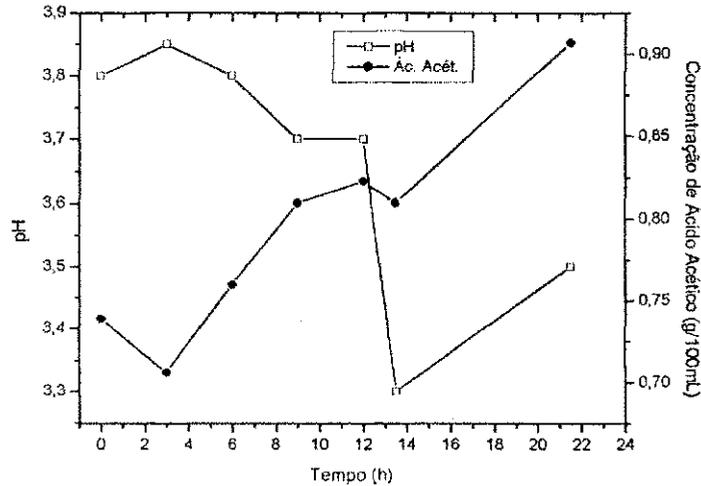


**Figura 4.29 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 4º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

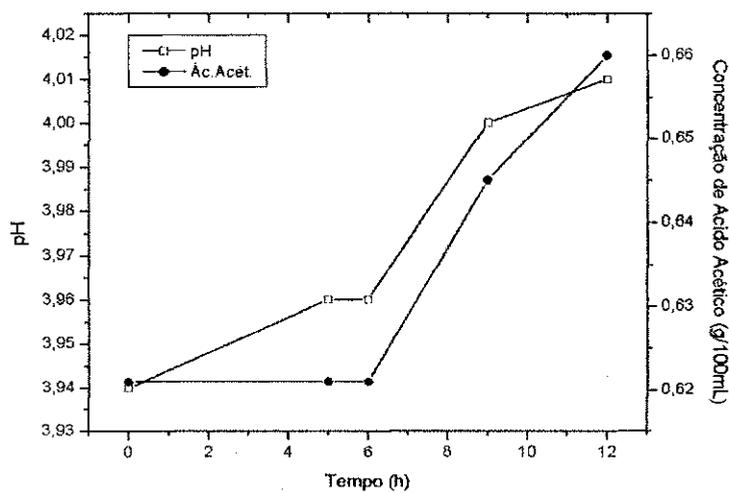
Os resultados apresentados nas Figuras 4.30, 4.31 e 4.32, mostram as variações de pH e ácidos totais em relação ao tempo de fermentação, resultantes de experimentos nos pontos centrais do planejamento fatorial (processos fermentativos repetidos), referentes aos experimentos 5, 6 e 7.

As Figuras 4.30 e 4.32 mostram que a variação de pH sofreu um decaimento, exceto após as 13,5 horas para o experimento 5 que houve um crescimento no pH,

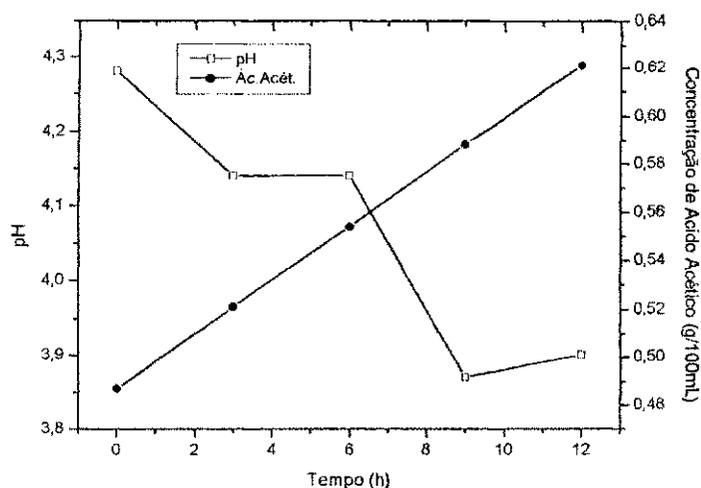
Para o experimento 6 (Figura 4.31) a faixa de pH foi crescente. Com relação aos ácidos totais, as figuras 4.30, 4.31 e 4.32 apresentam um crescimento durante o processo de fermentação.



**Figura 4.30 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 5º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

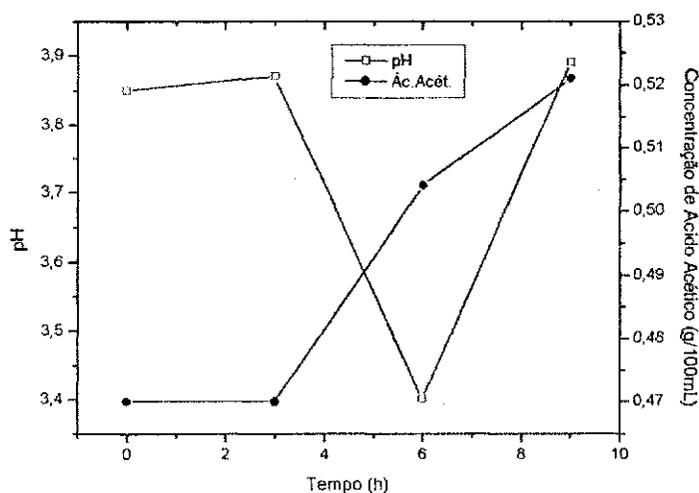


**Figura 4.31 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 6º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**



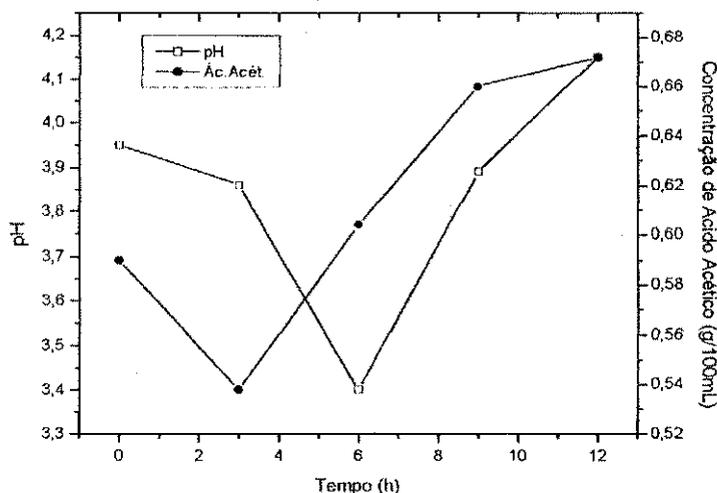
**Figura 4.32 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 7º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

Na Figura 4.33, estão apresentadas as variações de pH e ácidos totais do experimento 8. Verifica-se uma estabilidade no início da fermentação para o pH e posteriormente um decaimento, se elevando em seguida, chegando a níveis de 3,89. Com relação aos ácidos totais, estes apresentaram estabilidade nas 3 primeiras horas da fermentação, crescendo em seguida até o final da mesma.



**Figura 4.33 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 8º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

Na Figura 4.34, que apresenta o processo fermentativo do experimento 9, se observa que a formação dos ácidos totais foi crescente, mas sofreu um pequeno decaimento nas 3 primeiras horas de fermentação. O mesmo fato ocorre para a variação de pH, que também é crescente, após as 6 horas de fermentação, chegando a níveis de 3,95 a 4,15, que é considerado uma faixa boa de pH, porque conduz a uma boa fermentação.

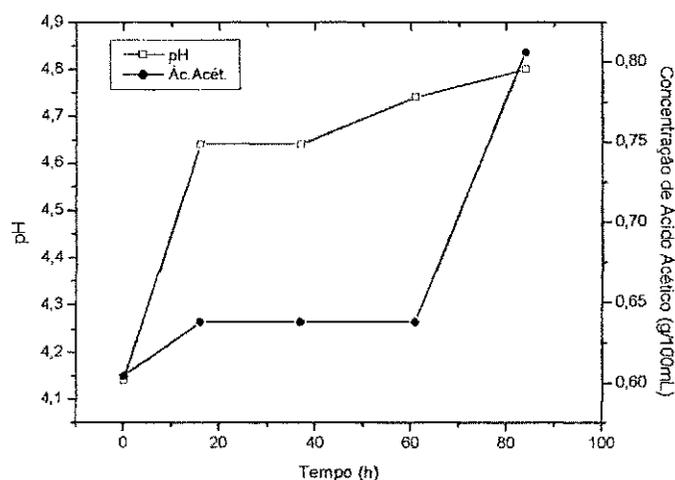


**Figura 4.34 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 9º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

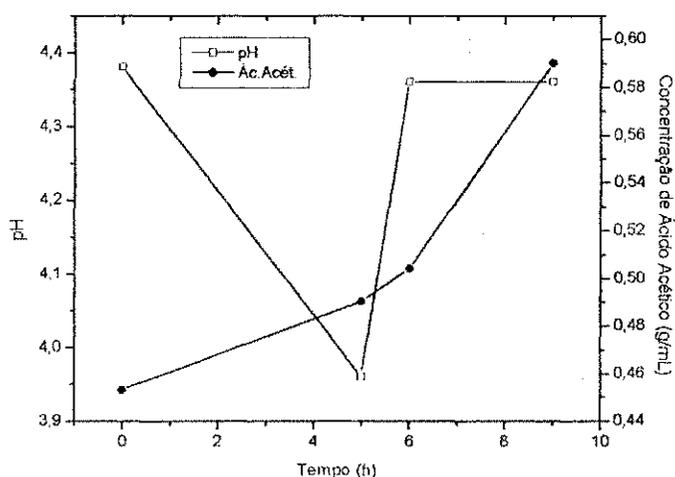
Na Figura 4.35 (experimento 10), se observa que a formação dos ácidos totais foi crescente, porém foi estável das 16 às 61 horas de fermentação, devido o fato da fermentação ter sido lenta, o que proporcionou a estabilidade de várias análises desse processo. O mesmo fato ocorreu para a variação de pH, que também é crescente, mas que ficou estável das 16 às 37 horas de processo, variando em todo processo de 4,14 a 4,8, que é considerada uma boa faixa de pH.

Na Figura 4.36 (experimento 11) estão apresentadas as variações de pH e acidez total. Verifica-se uma constante formação dos ácidos totais durante todo o período de fermentação. No entanto, a faixa de pH não foi crescente, mas sofreu decaimento nas 5 primeiras horas de processo, aumentando em seguida e ficando estável posteriormente. Neste ocorreu uma pequena variação de 4,38 a 4,36, que pode ser considerada estável durante toda a fermentação.

A análise de determinação do metanol no vinho de polpa do fruto da palma forrageira foi feita através de cromatografia gasosa, que revelou uma concentração de metanol de 1,4 mg/100mL. Sendo assim, o valor da concentração de metanol encontra-se bem abaixo da concentração máxima permitida pela legislação brasileira, ou seja, abaixo da concentração considerada tóxica para a saúde do consumidor, o que indica que a metodologia utilizada para retirada da pectina foi bem conduzida, por meio do processo de clarificação do mosto.



**Figura 4.35 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 10º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**



**Figura 4.36 - Variação do pH e da concentração de acidez total, em g/100mL de ácido acético, em função do tempo de fermentação do 11º experimento do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.**

#### 4.4.1 Considerações gerais para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira

As cinéticas do vinho de polpa anteriormente apresentadas mostraram influências das variáveis de entrada, como apresentaram para o vinho do fruto integral. No experimento 1 do vinho de polpa, observa-se o mesmo comportamento ocorrido no experimento 1 do vinho do fruto integral, fato que foi explicado para a Figura 4.1, que mostra uma velocidade lenta no início da fermentação.

O que também pode ter ocasionado uma produção de etanol lenta até às 9 horas de fermentação foram as pequenas concentrações iniciais de °Brix e levedura 8,0 e 5,0 g/L, respectivamente, principalmente concentração de levedura, já que segundo Silva (1998), a utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) numa concentração de 20 g/L, mostrou-se adequada para obtenção de teores alcoólicos dentro dos padrões exigidos para uma fermentação alcoólica, o que possivelmente não se justificaria pela concentração de °Brix, visto que com limites razoáveis de açúcares podem ocorrer boas fermentações.

No experimento 2, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 14,0 e 5,0 g/L, respectivamente, e apesar da concentração inicial de levedura ter sido baixa, podendo apresentar problemas na fermentação como explicado na Figura 4.1, esta não teve grande influência na velocidade da reação, bem como na produção final de etanol, sendo os perfis similares ao experimento 2 do fruto integral.

No experimento 3, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 8,0 e 25,0 g/L, respectivamente, o que explica o rápido tempo de fermentação, devido à alta concentração de levedura existente inicialmente no mosto, que consumiu em pouco tempo a pequena concentração de sacarose no início da fermentação.

Com relação ao experimento 4, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 14,0 e 25,0 g/L, respectivamente. Estes valores podem explicar a boa produção de etanol, apesar do tempo de fermentação ter sido mais extenso para as mesmas concentrações do experimento 4 do vinho do fruto integral.

Nos experimento 5, 6 e 7, observa-se que a média do tempo de fermentação para os experimentos 6 e 7 foi de 12 horas, por outro lado, o tempo de fermentação para o experimento 5 foi 21,5 horas, apesar das concentrações de °Brix e levedura terem sido iguais para os três experimentos, assumindo valores de 11 e 15 g/L, respectivamente. Sendo assim, observa-se que não houve boa reprodutibilidade dos três experimentos.

No experimento 8, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram 7,0 e 15,0 g/L, respectivamente. O que explica o rápido tempo de fermentação, devido a maior concentração de levedura existente inicialmente no mosto que consumiu em pouco tempo a concentração de sacarose no início da fermentação.

Quanto ao experimento 9, o qual apresentou concentrações iniciais de °Brix e levedura de 15,0 e 15,0 g/L, respectivamente, o tempo de fermentação foi de 12 horas, sendo explicado pela igual proporção das concentrações de °Brix e levedura, porque dessa forma a levedura necessitou de um tempo de adaptação para se multiplicar e começar a consumir o substrato, como pode ser observado nas 3 primeiras horas de processo.

As concentrações iniciais de °Brix e levedura no experimento 10 foram de 11,0 e 1,0 g/L, respectivamente. O tempo de fermentação foi de 85 horas, o qual pode ser explicado pela baixíssima concentração de levedura, tornando o tempo de adaptação e multiplicação muito maior do que o encontrado nos experimentos anteriores. A queda de substrato foi considerável somente após atingir 37 horas de fermentação, atingindo níveis de 22 g/L. A mesma proporção de produção de etanol foi observada após 37 horas, atingindo o nível de 36 g/L ao final da fermentação.

No experimento 11, as concentrações iniciais de °Brix e levedura foram de 11,0 e 29,0 g/L, respectivamente. Apesar da concentração de levedura ter sido acima de 20 g/L, a qual é recomendada por Silva (1998), a queda de substrato ocorreu somente após 6 horas de fermentação. O tempo de fermentação foi de 9 horas, podendo ser explicado pela maior concentração de levedura existente inicialmente no mosto, a qual consumiu em pouco tempo a concentração de sacarose.

Em termos de análise de pH, verifica-se que apesar de em alguns experimentos ter havido oscilações e quedas de pH, essas faixas podem ser consideradas ótimas para o pH de uma fermentação alcoólica, como explicado anteriormente nas considerações gerais para o vinho do fruto integral.

A velocidade de formação dos ácidos totais sofreu decaimentos e foi crescente, comportamento observado em todos os experimentos, durante todos os períodos de fermentação. Porém, as concentrações de ácidos totais estão dentro do limite permitido pela legislação brasileira. Ao analisar o aumento do percentual de

ácido acético, verificou-se que em alguns experimentos o mesmo aumentou em até 94% do valor inicial.

#### 4.5. Avaliação dos parâmetros cinéticos da fermentação

O cálculo e a avaliação dos parâmetros cinéticos é importante, pois podem servir para a otimização, através de modelagem e simulações, do processo de produção do vinho da polpa ou do fruto da palma forrageira.

Os valores dos parâmetros cinéticos para os vinhos do fruto integral e da polpa do fruto: rendimento de biomassa em relação ao substrato ( $Y_{X/S}$ ) e rendimento de produto em relação ao substrato ( $Y_{P/S}$ ), foram calculados utilizando as Equações 2.9 e 2.10.

Em função dos erros sistemáticos nas análises do crescimento de biomassa (X), não foi possível calcular os valores de  $Y_{X/S}$  em todos os experimentos. No caso do parâmetro  $\mu_{máx}$ , foi calculado um valor médio, considerando-se que praticamente não há crescimento de células quando a concentração inicial de X está em torno de 20 g/L. O cálculo de  $\mu_{máx}$  é considerado, neste caso, um valor aparente. Na Tabela 4.4 são apresentados os dados relativos aos parâmetros cinéticos que foram calculados para o vinho do fruto integral. Observa-se que a conversão, a produtividade e o rendimento em relação ao produto  $Y_{P/S}$ , atingiram níveis de 88%, 5,9 g/L.h e 0,47, respectivamente. O valor de  $\mu_{máx}$  aparente foi de até 0,29.

**Tabela 4.4 - Dados referentes aos parâmetros: %conversão, produtividade,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{máx}$  aparente para o vinho do fruto integral**

Parâmetros	Experimentos						
	1	2	3	4	5	6	7
%conversão	81	69	88	45	80	78	72
Produtividade (g/L.h)	0,7	2,2	2,9	5,9	1,9	2,6	2,1
$Y_{P/S}$	0,43	0,37	0,47	0,24	0,42	0,41	0,39
$\mu_{máx}$ aparente	-	-	0,29	0,049	-	-	-

A Tabela 4.5 apresenta as variáveis estatísticas (média e desvio padrão) dos resultados do %conversão, produtividade e os parâmetros cinéticos da fermentação: rendimento em relação ao produto  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{máx}$  para o vinho do fruto integral e dados

semelhantes de outros tipos de vinhos encontrados na literatura para efeitos de comparação.

**Tabela 4.5 - Dados referentes aos parâmetros: %conversão, produtividade,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  aparente para o vinho do fruto integral comparados com a literatura**

Parâmetros	Média dos parâmetros	Desvio padrão	Valores da literatura
%conversão	73,3	13,92	38,65 - 47,23**
Produtividade	2,6	2,6	0,74 - 2,0**
$Y_{P/S}$	0,39	0,07	0,323* - 0,44****
$\mu_{m\acute{a}x}$	0,16	0,17	0,19 h <sup>-1</sup> ***

Fonte: \*Torres Neto et al., (2003); \*\*Bortolini et al., (2001); \*\*\*Dominguez et al., (1993); \*\*\*\*Borzani et al., (1983).

Através da Tabela 4.5, pode-se comparar as médias, dos dados da Tabela 4.4 com os valores da literatura. Assim, observa-se que o %conversão (73,3) e a produtividade (2,6 g/L.h) apresentam valores acima das faixas encontradas na literatura.

O parâmetro cinético ( $Y_{P/S}$ ) apresenta um valor dentro da faixa encontrada na literatura. O  $\mu_{m\acute{a}x}$  calculado apresenta um valor abaixo do encontrado na literatura e relativamente próximo, nota-se que o valor de  $\mu_{m\acute{a}x}$  apresenta um desvio padrão alto 0,17.

Em termos gerais pode-se considerar que os dados experimentais dos parâmetros cinéticos, do %conversão e produtividade são satisfatórios, visto que em determinadas comparações os valores encontrados estão acima dos encontrados na literatura, o qual pode indicar uma conversão e produtividade maior do que em outros trabalhos realizados, confirmando que a utilização do fruto da palma é um substrato viável para produção de vinho (produto fermentado).

A Tabela 4.6 apresenta os valores referentes aos parâmetros cinéticos que foram calculados para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira. A partir dela observa-se que a conversão, a produtividade, o rendimento em relação ao produto  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  aparente atingiram, os seguintes valores: 100%, 3,6 g/L.h, 0,53 e 0,1, respectivamente.

A Tabela 4.7 apresenta as médias dos resultados do %conversão, produtividade e os parâmetros cinéticos da fermentação: rendimento em relação ao

produto  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira e dados semelhantes da literatura para efeito de comparação.

**Tabela 4.6 - Dados referentes aos parâmetros : %converso, produtividade,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  aparente para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira**

Parâmetros	Experimentos										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
%converso	72	68	57	27	86	100	87	100	54,8	72,9	60
Produtividade (g/L.h)	0,7	1,5	3,3	3,6	1,7	2,8	3,0	2,3	2,5	0,39	0,32
$Y_{P/S}$	0,39	0,37	0,31	0,14	0,46	0,32	0,47	0,53	0,30	0,39	0,32
$\mu_{m\acute{a}x}$ aparente	-	-	0,047	0,1	-	-	-	-	-	-	0,002

**Tabela 4.7 - Dados referentes aos parâmetros: %converso, produtividade,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  aparente para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira comparados com a literatura**

Parâmetros	Média dos parâmetros	Desvio padrão	Valores da literatura
%converso	71,3	16,3	38,65 - 47,23**
Produtividade	2,01	1,1	0,74 - 2,0**
$Y_{P/S}$	0,36	0,1	0,323* - 0,44****
$\mu_{m\acute{a}x}$	0,05	0,0491	0,19 h <sup>-1</sup> ***

Fonte: \*Torres Neto et al., (2003); \*\*Bortolini et al., (2001); \*\*\*Dominguez et al., (1993); \*\*\*\*Borzani et al., (1983).

Observando-se a Tabela 4.7, percebe-se que o percentual de conversão assumiu o valor de 71,3, acima do encontrado na literatura. A produtividade assumiu o valor de 2,01 g/L.h, o qual está dentro da faixa encontrada por Bortolini et al. (2001).

O parâmetro cinético ( $Y_{P/S}$ ) calculado mostra um valor dentro da faixa encontrada por Borzani et al., (1983), por outro lado o  $\mu_{m\acute{a}x}$  mostra um valor muito abaixo do encontrado por Dominguez et al., (1993). Da mesma maneira que foi verificado para o  $\mu_{m\acute{a}x}$  do processo fermentativo do fruto integral, o  $\mu_{m\acute{a}x}$  aparente do processo fermentativo do vinho de polpa  alto.

De maneira geral, pode-se considerar que os dados experimentais dos parâmetros cinéticos (%converso e produtividade) foram satisfatórios, visto que em determinadas comparações, os valores encontrados estão acima dos apresentados

na literatura, o que pode indicar uma conversão e produtividade maior do que em outros experimentos realizados, confirmando a viabilidade técnica do processo de produção do vinho de polpa do fruto da palma forrageira.

Os parâmetros de %conversão, produtividade,  $Y_{P/S}$  e  $\mu_{m\acute{a}x}$  estão bem relacionados à interação substrato e microrganismo. Assim, pode-se afirmar que a levedura de panificação utilizada apresenta boa interação com o fruto da palma (substrato integral ou substrato polpa).

#### **4.6. Estudo dos efeitos da concentração de levedura e do °brix sobre o %conversão e produtividade para a produção de vinhos de polpa e do fruto integral**

Com o planejamento fatorial nesse trabalho, verificou-se a influência das duas variáveis de entrada (concentração de levedura e do °brix) sobre os valores das variáveis resposta (%conversão e produtividade) do processo, buscando definir as faixas ótimas de operação do processo, ou seja, faixas que maximizem as respostas.

De acordo com as Tabelas 3.1 e 3.2, para os dois tipos de vinhos produzidos, verifica-se que as concentrações iniciais de °brix e levedura foram utilizadas para o tratamento estatístico do planejamento fatorial, buscando analisar quais concentrações fornecem valores ótimos e estatisticamente significativos. Os níveis das variáveis de entrada foram escolhidos de acordo com levantamentos feitos em estudos anteriores realizados no Laboratório de Engenharia Bioquímica – UFCG.

Neste trabalho, foram utilizados dois tipos de planejamento fatorial, ou seja, o planejamento fatorial completo (modelo linear) e expansão desse planejamento para a configuração estrela (modelo quadrático). Ambos são importantes para a verificação das variáveis controladas, com uma quantidade reduzida de experimentos. A Tabela 4.8 apresenta a matriz de planejamento com as respostas (%conversão e produtividade), as quais foram obtidas a partir dos experimentos realizados com as combinações dos níveis estudados (fruto integral).

Para o modelo linear, foram realizados sete experimentos, dos quais três foram repetidos no ponto central. No modelo quadrático, foram realizados onze experimentos, dos quais três no ponto central. Esses foram repetidos para que se pudesse permitir uma estimativa da variação em função do erro experimental. Os

ensaios foram realizados aleatoriamente e os valores em parênteses são as concentrações de °brix e de levedura, como definido na Tabela 3.1.

**Tabela 4.8 - Matriz do Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> e dados experimentais do % conversão e da produtividade para os ensaios do vinho do fruto integral**

Ensaio	Concentração de °Brix	Concentração de levedura (g/L)	Conversão (%)	Produtividade (g/L.h)
1	-1 (8,0)	-1 (5,0)	81,3	0,67
2	+1 (14,0)	-1 (5,0)	69,1	2,28
3	-1 (8,0)	+1 (25,0)	87,8	2,90
4	+1 (14,0)	+1 (25,0)	44,9	5,89
5	0 (11,0)	0 (15,0)	80,0	1,90
6	0 (11,0)	0 (15,0)	78,0	2,63
7	0 (11,0)	0 (15,0)	72,2	2,18

As equações da regressão linear dos dados experimentais ajustados para %conversão e a produtividade (g/L.h) do vinho do fruto integral, respectivamente são:

$$\% \text{ Conversão} = \mathbf{73,28} - \mathbf{13,72B} - 4,45L - 7,7B \cdot L \quad (4.1)$$

$$\text{Produtividade} = \mathbf{2,63} + \mathbf{1,15B} + \mathbf{1,46L} + 0,35B \cdot L \quad (4.2)$$

Onde B e L representam concentrações de °Brix e levedura (g/L), respectivamente.

Os parâmetros em negrito são os estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

Nas Tabelas 4.9 e 4.10 são apresentadas as análises das variâncias para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros, através de uma regressão, para %conversão e produtividade (g/L.h), respectivamente.

Com a finalidade de verificar se o modelo apresenta significância estatística, foi feita a análise de variância (% de variação explicada e teste F), utilizando-se do programa Statistica, versão 5.0.

Com o teste F foi possível observar que o valor de F calculado foi maior que o valor de F tabelado, para um nível de 95% de confiança. Portanto, pode-se afirmar que o modelo empírico é estatisticamente significativo (Barros Neto et al; 1995).

As Figuras 4.37 e 4.38 apresentam as superfícies de resposta mostrando os efeitos das variáveis: concentração de °Brix e concentração de levedura sobre a produtividade e %conversão do vinho do fruto integral.

**Tabela 4.9 - Análise de variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros para %conversão**

Fonte de variação	Soma quadrática	G.L	Média quadrática	Teste F
Regressão	1069,63	3	356,54	
Resíduo	85,36	3	28,45	12,53
Falta de ajuste	55,60	2	14,88	
Erro puro	29,76	1	55,60	
<b>Total</b>	<b>1154,99</b>	<b>6</b>	<b>192,50</b>	
% de variação explicada	93,0			
% max. de variação explicável	97,42			
F tabelado para 95% de confiança				9,28

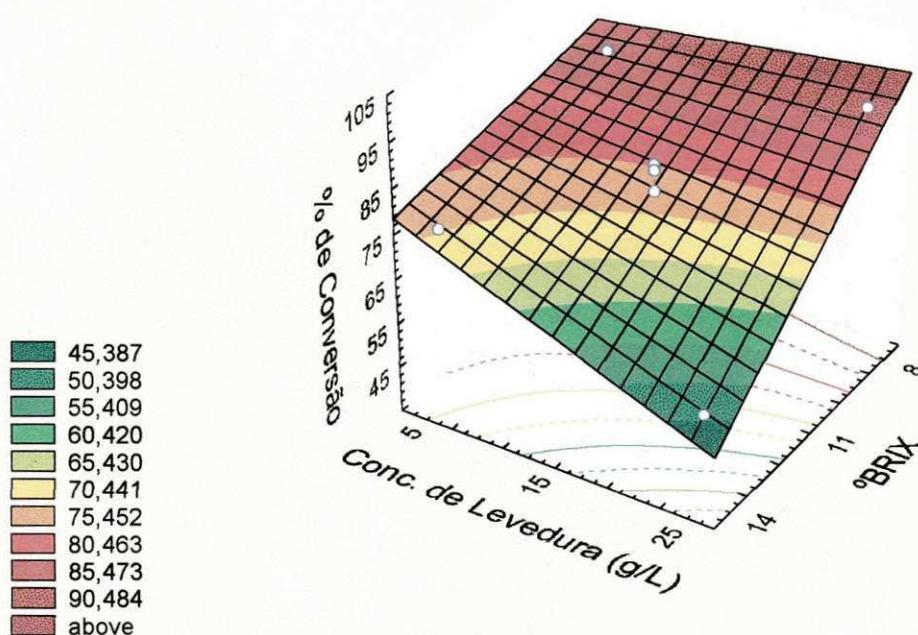
**Tabela 4.10 - Análise de variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros para a produtividade**

Fonte de variação	Soma quadrática	G.L	Média quadrática	Teste F
Regressão	14,27	3	4,76	
Resíduo	1,11	3	0,37	12,86
Falta de ajuste	0,83	2	0,13	
Erro puro	0,27	1	0,83	
<b>Total</b>	<b>15,38</b>	<b>6</b>	<b>2,56</b>	
% de variação explicada	93,0			
% máxima de variação explicável	98,24			
F tabelado para 95% de confiança				9,28

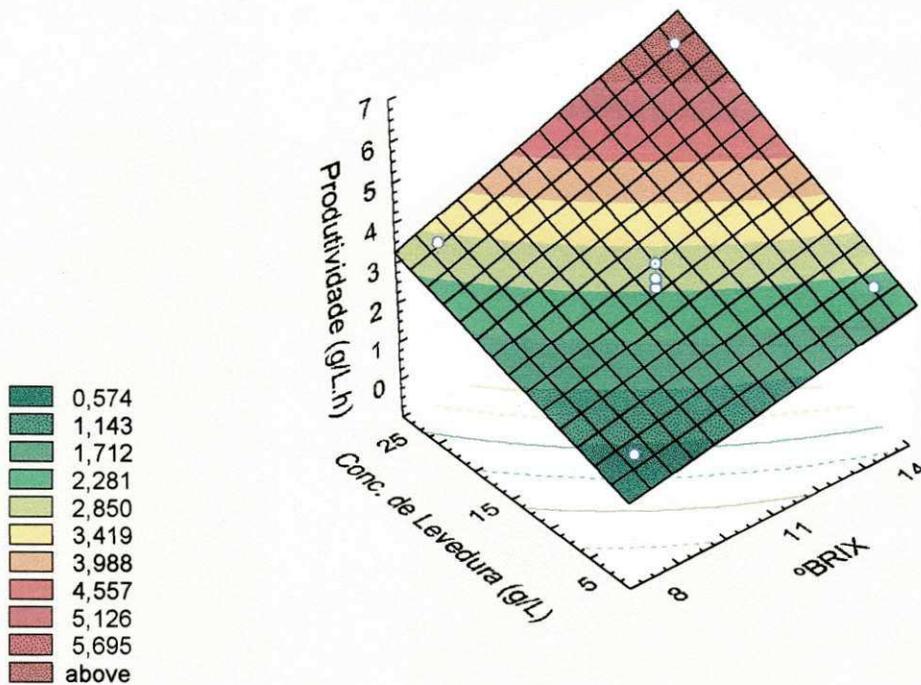
Analisando a Figura 4.37, observa-se que com a diminuição da concentração de °Brix para qualquer concentração de levedura, %conversão de formação do vinho aumenta. Isso significa que quando a concentração de °Brix no vinho passa do nível inferior (-1) para o nível superior (+1), o %conversão diminuiu. O valor do %conversão chega a 90%, quando se opera o processo fermentativo com concentração inicial de sacarose (°Brix) abaixo de 10 para qualquer valor de concentração de levedura.

Observando a Figura 4.38, verifica-se que com o aumento da concentração de °Brix e concentração de levedura, a produtividade de formação do vinho aumenta. Isso significa que quando a concentração de °Brix no vinho passa do nível inferior (-1) para o nível superior (+1) a produtividade aumenta. Valores acima de 10°Brix e 15% de levedura maximizam a produtividade do vinho do fruto integral, alcançando um valor de 6,3 g/L.h.

Analisando as Figuras 4.37 e 4.38, verifica-se que com maiores concentrações de levedura ocorreram melhores resultados de produtividade. Para a resposta % de conversão, o valor máximo independe da concentração de levedura. Entretanto, com elevada concentração de °Brix ocorreram menores resultados de %conversão, mas maiores valores de produtividade. Sendo assim, tentando conciliar melhores valores de %conversão e produtividade, verifica-se que com maiores concentrações de levedura e médias concentrações de °Brix se obtém os melhores resultados para as duas respostas.



**Figura 4.37 - Superfície de resposta: variação de %conversão em função das concentrações de °Brix e levedura para o vinho do fruto integral.**



**Figura 4.38 - Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações de °Brix e levedura para o vinho do fruto integral.**

Para o estudo do vinho com a polpa do fruto utilizou-se o modelo quadrático, onde foram realizados onze experimentos, sendo três no ponto central, os quais foram repetidos para permitir uma estimativa da variação em função do erro experimental. O modelo linear não apresentou efeitos estatisticamente significativos, e foi necessário ampliar os níveis para verificar se houve efeitos das variáveis independentes em estudo sobre as respostas. Os ensaios foram realizados aleatoriamente e os valores em parênteses (Tabela 4.11) são as concentrações de °Brix e de levedura, como definido na Tabela 3.3.

As equações do modelo quadrático dos dados experimentais ajustados para o %conversão e a produtividade do vinho de polpa do fruto da palma forrageira, respectivamente são:

$$\% \text{ Conversão} = \mathbf{91} - \mathbf{12,2B} - \mathbf{9,3L} - \mathbf{10,8B^2} - \mathbf{16,26L^2} - 6,5B \cdot L$$

$$\text{Produtividade} = \mathbf{2,5}$$

Onde B e L representam concentrações de °Brix e levedura (g/L), respectivamente. Os parâmetros em negrito são estatisticamente significativos ao nível de 90% de confiança. A produtividade não apresentou efeitos significativos dos

parâmetros, apenas a média. O teste F mostrou que F calculado foi menor que F tabelado para um nível de 90% de confiança. Não sendo o modelo estatisticamente significativo.

**Tabela 4.11 - Matriz de planejamento fatorial  $2^2$  + configuração estrela e dados experimentais do %conversão e da produtividade para os ensaios do vinho de polpa do fruto da palma forrageira**

Ensaio	Concentração de °Brix	Concentração de levedura (g/L)	Conversão (%)	Produtividade (g/L.h)
1	-1 (8,0)	-1 (5,0)	72,0	0,7
2	+1 (14,0)	-1 (5,0)	68,0	1,5
3	-1 (8,0)	+1 (25,0)	57,0	3,3
4	+1 (14,0)	+1 (25,0)	27,0	3,6
5	0 (11,0)	0 (15,0)	86,0	1,7
6	0 (11,0)	0 (15,0)	100	2,8
7	0 (11,0)	0 (15,0)	87,0	3,0
8	$-\alpha$ (7,0)	0 (15,0)	100	2,3
9	$+\alpha$ (15,0)	0 (15,0)	54,8	2,5
10	0 (11,0)	$-\alpha$ (1,0)	72,9	0,39
11	0 (11,0)	$+\alpha$ (29,0)	60,0	0,32

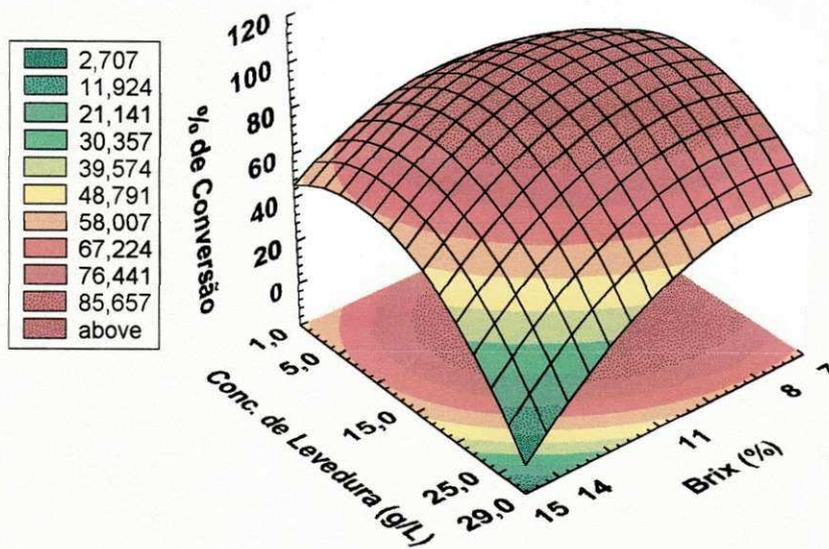
A Tabela 4.12 apresenta as análises das variâncias para o ajuste do modelo quadrático com 6 parâmetros, através de uma regressão para o %conversão.

**Tabela 4.12 - Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático com 6 parâmetros para %conversão**

Fonte de variação	Soma quadrática	G.L	Média quadrática	Teste F
Regressão	3771,512	5	754,30	4,10
Resíduo	919,293	5	183,86	
F. de ajuste	797,293	4		
Erro puro	122,00	1		
Total	4690,81	10		
% de variação explicada	80,4			
% máxima de variação explicável	97,4			
F tabelado para 90% de confiança				3,45

A Figura 4.39 apresenta a superfície de resposta mostrando os efeitos das variáveis: concentrações de °Brix e concentrações de levedura sobre o %conversão do vinho de polpa do fruto da palma forrageira. Foi verificado que o %conversão

chega ao máximo de 95%, ou seja, praticamente todo o substrato foi convertido em etanol.



**Figura 4.39 - Superfície de resposta: Variação do %conversão em função das concentrações de °Brix e levedura para o vinho de polpa do fruto integral.**

Analisando a Figura 4.39, verifica-se que com a diminuição da concentração de °Brix para concentração de levedura fixada no ponto central, o %conversão de formação do vinho aumentou. Isso significa que quando a concentração de °Brix no vinho passou do nível inferior (-1) para o nível superior (+1), o %conversão aumentou. O %conversão se aproximou de 95%, para maiores concentrações de °Brix, com  $L = 15\text{g/L}$ .

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho, dois tipos de vinhos foram produzidos em escala laboratorial. O vinho do fruto integral e o vinho de polpa do fruto da palma forrageira.

As principais conclusões advindas deste trabalho são:

- Em termos de rendimento (p/p) ou (v/p), a produção dos vinhos do fruto integral e de polpa são tecnicamente viáveis, principalmente o do fruto integral, o qual apresentou altos rendimentos no aproveitamento do fruto;
- A levedura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizada como inóculo no processo fermentativo foi eficiente na conversão da sacarose em etanol;
- As cinéticas fermentativas apresentaram bons perfis de decaimento de substrato, convertendo-se em etanol para ambos os vinhos produzidos;
- Faixas ótimas de pH para os processos de fermentação foram verificadas, praticamente, em todo o tempo;
- As concentrações de ácidos totais estão dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira;
- Para o vinho do fruto integral foi verificado que maiores concentrações de levedura apresentam maiores resultados de produtividade, no entanto o % conversão independe da concentração levedura. Por outro lado, elevadas concentrações de °Brix apresentaram menores resultados de % conversão, porém maiores valores de produtividade;

- Para o vinho de polpa do fruto da palma forrageira foi verificado que o %conversão chega ao máximo de 95% para menores concentrações de °Brix e para concentração de levedura fixada no ponto central (15g/L);
- Os parâmetros de %conversão, produtividade,  $y_{P/S}$  e  $\mu_{máx}$ , confirmam que a levedura de panificação utilizada apresenta boa interação com o fruto da palma (substrato integral ou substrato polpa);
- Os estudos cinéticos das produções dos vinhos de polpa e do fruto integral da palma forrageira mostraram a viabilidade técnica dos processos.

## CAPÍTULO VI

### 6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Com o objetivo de aperfeiçoar ainda mais estudos subseqüentes, algumas perspectivas são apresentadas:

- Verificação da análise sensorial;
- Análise de substâncias voláteis (acetaldeídos, ésteres, acetona) e álcoois superiores (n-propanol, isobutanol, n-butanol, isoamilico) nos vinhos, para verificar se estão de acordo com as especificações permitidas pela legislação brasileira;
- Reestudo dos parâmetros cinéticos:  $\mu_{\text{máx}}$  (velocidade específica máxima de crescimento do microrganismo) e  $Y_{XS}$  (rendimento de biomassa);
- Confecção de um reator com resfriamento externo, para controle de temperatura;
- Estudo da otimização do processo de produção de vinagre e aguardente do vinho do fruto integral e de polpa do fruto da palma forrageira.

## CAPÍTULO VII

### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS, D.F. Leveduras. Fermentação etanólica: microbiologia. Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro – Unesp. Campinas. São Paulo. 1986.

ANSEJO, C.F. Aspectos químicos e nutritivos de la acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). Ciência – Revista Hispano-Americana de Ciências Puras e Aplicadas, v.19, nº 6 e 7, p.109-118. 1959.

ANSEJO, C.F. Vitamin C in acerola and hose hips. Journal of Agricultural of University of Puerto Rico, v.43, p.212-213. 1959.

AQUARONE, E., LIMA, U.A., BORZANI, W. (coords): Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo, v.5, 1983.

AQUARONE, E.; ZACANARO JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E., LIMA, U.A., BORZANI, W. (coords): Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. São Paulo, v.5, 1983.

ASKAR, A. e S.K. El-Samahy. Chemical composition of prickly pear fruits. Lebensm. Rdsch, v.77, p.279-281. 1981.

ASQUIERI, E.R., CANDIDO, M.A., DAMIANI, C., ASSIS, E.M. Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Mirciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. Alimentaria. España, v.355, p.97-109, 2004.

ASQUIERI, E.R., CANDIDO, M.A., DAMIANI, C., ASSIS, E.M. Vino de jaboticaba (*Mirciaria jaboticaba* Berg: Estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados con la fruta integral). Alimentaria. España, v.355, p.111-122, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO. Compêndio da legislação de alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos. 5ª versão, v.1, São Paulo, 1992.

BARBERA, O., INGLESE, P., MANTIA, T. Influence of seed content on some characteristics of the fruit of cactus pear (*Opuntia ficus-indica Mill*). Università degli Studi di Palermo. Scientia Hort, v.58, p.161-165. Itália. 1994.

BARBOSA, H.P. Tabela de composição de alimentos do estado da Paraíba "Setor Pecuário". 2ª edição, p.23-188, UFPB/FAPEP. 1998.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, J.S., BRUNS, R.E. Planejamento e Otimização de Experimentos. Editora Unicamp, Campinas, São Paulo, 1995.

BEECH, F.W., CARR, J.G. Cider and perry. In: ROSE, A.H. (ed.). Alcoholic beverages. London: Academic press, v.1, cap.3. (Economic Microbiology series). 1977.

BERRY, D.R., WATSON, D.C. Production of organoleptic compounds. In: BERRY, D.R., RUSSEL, I., STEWART, G.G. (eds.). Yeast biotechnology. London: Allen e Unwn, cap. 11. 1987.

BLEINROTH, E.W. Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais. Manual técnico. Instituto de Tecnologia de Alimentos, p.200. 1988.

BORENSTEIN, B. The role of ascorbic acid in foods. Food Technology, v.4, nº 11, p.98-99. 1987.

BORTOLINI, F., SANT'ANNA, E.S. Comportamento das fermentações alcoólicas e acéticas de fermentados de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. In: I Congresso da Sociedade Brasileira de Biotecnologia, São Paulo. 2001.

BORZANI, W., AQUARONE, E., LIMA, U.A. Engenharia bioquímica, v.3. São Paulo. 1983.

BOX, G.E.P., HUNTER, J.S. Statistics for experiments. New York. 1978.

BRASIL, Decreto nº 2314, 4 set. 1997. Dispõe sobre o registro, classificação, padronização, controle, inspeção e fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União. Brasília, 05 de set., 1997.

CHEFTEL, J.C., CHEFTEL, H., BESACON, P. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. La ed. Acribia, v.11, Zaragoza. Españã. 1983.

COMO FAZER VINHO DE CAJU. Disponível em: [www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm](http://www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm). Acesso em: 22 de Janeiro de 2004.

CORAZZA, M.L., RODRIGUES, D.G., NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja, nº4, v.24, p.449-452, Química Nova. 2001.

COUNSELL, J.N., HORING, P.H. Vitamina C (ascorbic acid). Applied Science Publishers London. 1981.

DEIRÓ, T., OLIVEIRA, R., FERNANDES, M.F., SOUZA, V. A palma: alimento alternativo. Departamento de Nutrição. Recife. 2003.

DIAS, D.R. Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir de mostos de cajá (*Spondias mombin*) e cacau (*Theobroma cacao*). Dissertação (Mestrado), p.130, Lavras. UFLA. 2001.

DOMINGUEZ, H., NÚÑEZ, M.J., CHAMY, R., LEMA, J.M. Determination of kinetic parameters of fermentation processes by continuous unsteady-state method: application to the alcoholic fermentation of D-Xylose by *Pichia stipitis*. Biotechnology and Bioengineering, v.41, p.1129-1132. New York. 1993.

EMBRAPA. Tecnologias 2004. Disponível em: ([www.cnpqg.embrapa/tecnologias/quersabermas/500p/P256.html](http://www.cnpqg.embrapa/tecnologias/quersabermas/500p/P256.html)). Acesso em: 23 de Janeiro de 2004.

EZZEL, D.B., WILCOX, M., DEMARE, K.D. Vegetable storage physiological and biochemical effects of storage humidity on sweet potatoes, v.7, nº7, p.640-644. Journal Agricultural Food Chemistry. 1959.

FENNEMA, A.O.R. Loss of vitamins in fresh and frozen foods, nº12, p.32-35 e 38. Food Technology. Reverté Ed. Barcelona. 1977.

FENNEMA, A.O.R. introducción a la ciencia de los alimentos, v.2. Reverté Ed. Barcelona. 1982.

FISCHER, W.B., VAN DUYN, F.O. Effect of variations in blanching on quality of frozen broccoli, snap beans and spinach, v.17, nº4, p.315-325. Food Research. 1952.

FLATH, R.A., TAKANASHI, J.M. Volatile constituents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill., de Castilla variety). 1978.

FURLETTI, M.E.M. Fatores físicos e químicos que interferem na fermentação etanólica. Fermentação etanólica: microbiologia. Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro – Unesp. Campinas. São Paulo. 1986.

GUERRA, F. La medicina precolombina. Editorial Cultura Hispánica. Universidad Autónoma de México. México. 1990.

HARRIS, R.S., VON LOESECKE, H.W. Nutritional evaluation of food processing, A.V.I, p.612. Connecticut. 1971.

HERNANDEZ, B., LEON, J. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. Roma. Itália. 1992.

JORNAL CORREIO DA PARAÍBA. Documento publicado dia 07 de Fevereiro de 2003 – 15:09. Disponível em [www.caprinet.com.br](http://www.caprinet.com.br) . Acesso em 23/02/2004.

LEVENSPIEL, O. The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. nº22, p.1671-1687. *Biotechnology e Bioengineering*. 1980.

LIMA, U.A., AQUARONE, E., BORZANI, W. *Biotecnologia. Tecnologia das fermentações*, v.2. Edgard Blucher. São Paulo. 1992.

LIRA, M.A., FARIAS, I., SANTOS, M.V.F, FILHO, J.J.T. Introdução, geração e avaliação de clones de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica Mill*). In: Simpósio Nordeste de Alimentação de Ruminantes. Anais Natal: EMPARN, p.241. 1989.

MARAGON, A.L.P., DA SILVA, P.H.A., MENDES, G.L. Produção de vinagre de caqui. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Viçosa-MG. 2003.

MITCHELL, F.G., GUILLON, R., PARSONS, R.A. Commercial cooling of fruits and vegetables. California Agricultural Experiment Station Extension Service. Division of Agricultural Sciences. University of Califórnia, p.44. USA. 1972.

NELSON, K.E. Physiological disorders of fresh fruits and vegetables. In: postharvest physiology and handling of horticultural commodities course, p.3. University of California. Davis. U.S.A. 1979.

PAREDES, O., ROJO, R. Estudio para el enlatado de jugo de tuna. *Tecnologia de los alimentos*, nº8, p.237-240. 1973.

PELCZAR, M.J., ROGER, R., CHAN, E.C.S. microbiologia. Traduzido por Pereira, M.M. McGraw-Hill do Brasil. São Paulo. 1981.

PIMIENTA, E. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara. México. 1990.

PRIESTLEY, R.J. Effects of heating on foodstuffs. Applied Science. Ed. London, p.417. 1979.

RAPP, A., VERSINI, G. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In: International Symposium on nitrogen in grapes and wine, p.156-164. 1991.

RIZZON, L.A., MENEGUZZO, J. Elaboração de vinagre (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 36), p.14. Bento Gonçalves. 2001.

RUSSEL, C.E., FELKER, P. The prickly pears (*Opuntia spp.* Cactaceae): a source of human and animal food in semiarid regions. Econ. Bot., nº41, p.433-445. 1987.

SÁENZ, C. La tuna (*Opuntia ficus-indica Mill*) un cultivo com perspectivas. Alimentos. Universidad de Chile. Santiago. Chile. 1985.

SALTON, M.A., DAUDT, C.E., RIZZON, L.A. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.20, p.302. 2000.

SANTINI Jr. R., HUYKE, A. Identificación of the anthocyanin present in the acerola which produce color changes in the juice or pasteurization and canning. Journal Agricultural of University Puerto Rico, v.40, nº4, p.171-178. 1956.

SANTINI Jr. R., HUYKE, A. Identificación of sugar present in fruit of the acerola (*Malpighia puniceifolia L.*) by paper chromatography. Journal Agricultural of University Puerto Rico, v.40, nº2, p.87-84. 1956.

SANTOS, D.C., LIRA, M.A., SANTOS, M.V.F.A., FARIAS, I., TAVARES FILHO, J.J., SANTOS, V.F. Competição de clones de palma forrageira (*Opuntia c Nopalea*). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Anais... Botucatu: SBZ, nº35, p.37. São Bento do Una – PE. 1998.

SANTOS, M.V.E., LIRA, M.A., FARIAS, I. Efeito do período de armazenamento pós-colheita sobre o teor de matéria seca e composição química das palmas forrageiras, v.27, nº6, p.777-783. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 1981.

SAWAYA, W.N., KHATCHADOURIAN, H.A., SAFI, W.N., AL-HAMMAD, H.M. Chemical characterization of prickly pear pulp (*Opuntia ficus-indica Mill*), and the manufacturing of prickly pear jam, nº18, p.183-193. Journal of Food Technology. 1983.

SCHMIDT-HEBBEL, H., PENNACCHIOTTI, I. Tabla de composición química de alimentos chilenos, 7ª edição, Editorial Universitaria. Santiago. Chile. 1985.

SCRIBAN, R., DUBUIS, T. Biotecnologia. Editora Manoele Ltda. São Paulo. 1984.

SEPÚLVEDA, E., SAÉNZ, C. Chemical and physical characteristics of prickly pear (*Opuntia ficus-indica Mill*) pul, nº30, p.551-555. Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos. 1990.

SILVA, F.L.H. Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua extrativa. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas – SP. 1998.

SILVA, M.E. Estudos cinéticos da fermentação alcoólica de produção de vinho e da fermentação acética de produção de vinagre de vinho de caju. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Campina Grande – PB. 2004.

SPAGNOL, W.A., SIGRIST, J.M.M. Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais. Manual Técnico nº9. ITAL. Campinas. 1992.

TOCCHINI, R.P. Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade do suco concentrado de laranja pasteurizado, embalado assepticamente em Tetra brik, p.51. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. ESALQ. 1985.

TODA FRUTA. Disponível em [www.todafruta.com.br](http://www.todafruta.com.br). Acesso em 15 de Fevereiro de 2004.

TORRES NETO, A.B. Utilização do suco de caju para a produção de vinho. Relatório de iniciação científica, PIBIC/CnPq. Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Campina Grande – PB. 2003.

VALDÉZ, C.A., RIVERA, J., ROGELIO, A. El nopal como forrage, 2ª edição, p.12-66. Univerdidad Autónoma Chapingo. 1989.