



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS-PPGSA**

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

**CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO E DA DESTILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE
AGUARDENTE DE ABACAXI**

**POMBAL – PB
FEVEREIRO – 2014**

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

**CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO E DA DESTILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE
AGUARDENTE DE ABACAXI**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Coordenação do Curso de Mestrado em
Sistemas Agroindustriais da Universidade
Federal de Campina Grande – UFCG como parte
dos requisitos necessários para a obtenção do
Grau de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

Orientadora: Dra. Mércia Melo de Almeida

**POMBAL – PB
FEVEREIRO – 2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFCG

DIS
P228c

Parente, Gisleânia Dourado Landim.

Cinética da fermentação e da destilação na produção de aguardente de abacaxi /
Gisleânia Dourado Landim Parente. - Pombal, 2014.
75fls.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de
Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2014.

"Orientação: Prof.^a Dr.^a Mércia Melo de Almeida".
Referências.

1. Abacaxi - *Ananas Comosus L. Merrill*. 2. Fermentação Alcoólica. 3. Álcool -
Destilação. I. Almeida, Mércia Melo de. II. Título.

UFCG/CCTA

CDU 634.774+663.5

**CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO E DA DESTILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE
AGUARDENTE DE ABACAXI**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2014

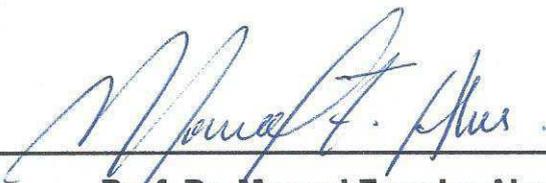
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Mércia Melo de Almeida

DEQ/CT/UFPB

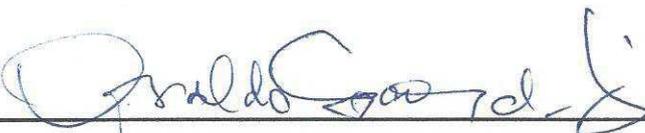
Orientadora



Prof. Dr. Manoel Ferreira Alves

DEQ/CT/UFPB

Examinador externo



Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva

UATA/CCTA/UFCG

Examinador interno

POMBAL - PB

FEVEREIRO - 2014

DEDICATÓRIA

A luz da minha vida que é Deus. A meu porto seguro: Meus pais Gilvany Dourado L. Parente e Gildenor de Sá Parente, minhas irmãs Gil-heânia Parente Landim e Gislaíny Dourado L. Parente e minha sobrinha querida Sofie Odir de Sá Landim.
Estas pessoas compõem a razão pela qual exerço a arte de viver

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho e por nunca ter me abandonado;

A minha preciosa família, meus pais e minhas irmãs que não pouparam incentivos e renovaram minhas forças quando mais precisei;

As minhas verdadeiras fadas madrinhas tia Vanderly e tia Valdeny pelo carinho revigorante;

A Dr^a. Patrícia Lemos que não me deixou desistir desse sonho;

A minha orientadora Dra. Mércia Melo de Almeida, a quem possuo grande admiração, por acreditar em meu trabalho e por ter contribuído muito mais que mereço em minha formação profissional e pessoal;

A Jessica Leite que foi um presente de Deus em minha vida, por nunca ter medido esforços para me auxiliar e por ter estado presente junto comigo em cada momento dessa pesquisa, devo-a interminável gratidão;

Aos examinadores da banca pelos benefícios acrescentados nesta dissertação;

Ao Dr. Clovis Gouveia pela enorme contribuição dada para a conclusão desta pesquisa;

Aos meus eternos e amados amigos Larissa Bernardo, Ywhury Albuquerque, Daniela Tavares, Wellida Lima, Érika Lorayne, Cinthia Teixeira Nirya Maria, Barbara Pereira. Em especial a Isana Maria que deu todo apoio, a Inácia Moreira, Emanuela Paiva e Maria José por terem me acolhido e por todas as vezes que se dispuseram a ajudar neste trabalho.

As Laboratoristas da Universidade Wélida Cristina e Fabíola Farias pelo auxílio e paciência;

Expresso aqui minha colossal gratidão a todos que de forma direta ou indireta contribuíram na concretização desse trabalho.

RESUMO

A Paraíba é o maior produtor de abacaxi do Brasil, sendo esta uma das frutas tropicais mais apreciadas, devido seu sabor e aroma característico. As exigências estabelecidas pelo mercado *in natura* estão entre as causas do desperdício de frutas, descartando-se as que estão fora do perfil exigido pelo consumidor. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi utilizar o abacaxi como matéria-prima para elaboração de aguardente de fruta. A fermentação alcoólica foi conduzida, em sistema de batelada, e avaliou-se a concentração celular (X), concentração de sólidos solúveis (S) e concentração de etanol (P) durante a fermentação para o estudo cinético através dos experimentos dispostos no planejamento fatorial. Utilizando o planejamento fatorial 2^2 e análise de superfície de resposta avaliou-se a influência das concentrações de sólidos solúveis e de levedura no processo de fermentação alcoólica, sobre as respostas (% conversão, produtividade, $Y_{X/S}$ e $Y_{P/S}$). O fermentado alcoólico foi destilado em alambique de cobre e armazenado em barril de freijó onde permaneceu por 90 dias, para descanso. Com base nos resultados, pode-se observar que a produção de etanol nas condições operacionais do ponto central da matriz de planejamento, foi a mais adequada, alcançando um teor alcoólico de 70,66g/L (8,98°GL). Pela superfície de resposta e o diagrama de Pareto verificou-se uma influência significativa das duas variáveis de entrada sobre a produtividade, sendo que a concentração de levedura exerceu maior influência. Por fim, a aguardente de abacaxi apresentou características físico-químicas dentro dos parâmetros exigidos pela legislação vigente, com exceção do cobre. Portanto, foi possível comprovar a viabilidade técnica do uso de abacaxi como matéria-prima na elaboração de aguardente como uma excelente alternativa de aproveitamento dos excedentes de safra, contribuindo para o crescimento da agroindústria e colaborando para melhores condições de emprego e renda nas propriedades rurais, principalmente no Estado da Paraíba.

Palavras-chave: *Ananas comosus* L. Merrill, caracterização físico-química, etanol, destilação.

ABSTRACT

Paraíba is the largest producer of pineapple in Brazil , this being one of the most prized tropical fruits , due to its characteristic flavor and aroma. The requirements set by the market in nature are among the causes of wasted fruit , discarding those that are out of profile required by the consumer . Thus the objective of this research was to use the pineapple as a feedstock for production of spirits from fruit. The alcoholic fermentation was conducted in a batch system, and evaluated the cell concentration (X), soluble solids concentration (S) and ethanol concentration (P) during fermentation for the kinetic study through experiments in the factorial design. Using 2^2 factorial design and response surface analysis evaluated the influence of concentrations of soluble solids and yeast in the fermentation process, on the responses (% conversion, productivity, $Y_{x/s}$ and $Y_{x/p}$) . The alcoholic fermentation was distilled in copper stills and stored in barrel freijó where he remained for 90 days of rest . Based on the results , it can be seen that ethanol production in the operating conditions of the center point of the planning matrix , was optimal , achieving an alcohol content of 70.66 g / L (8.98 ° GL) . The response surface and the Pareto diagram there was a significant influence of the two input variables on productivity, whereas the concentration of yeast had greater influence. Finally, brandy pineapple presented physicochemical characteristics within the parameters required by law, with the exception of copper. Therefore, it was possible to prove the technical feasibility of using pineapple as a feedstock in the production of spirits as an excellent alternative use of surplus crop, contributing to the growth of agribusiness and helping to better conditions of employment and income in rural properties, mainly in the state of Paraíba .

Key words: *Ananas comosus L. Merrill*, physicochemical characterization, ethanol, distillation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Abacaxi Pérola	17
Figura 3.2	Classificação dos estágios de maturação do abacaxi Pérola	18
Figura 3.3	Levantamento Sistemático da Produção Agrícola	20
Figura 3.4	Representação da cinética fermentativa, através dos perfis de curva X (concentração do microrganismo, P (concentração de produto) e S (concentração do substrato)	22
Figura 4.1	Obtenção e transporte dos frutos	34
Figura 4.2	Etapa de lavagem dos abacaxis	35
Figura 4.3	Etapa de sanitização dos abacaxis	36
Figura 4.4	Etapa de remoção da casca dos abacaxis	36
Figura 4.5	Fluxograma de produção da aguardente de abacaxi	38
Figura 4.6	Biorreator utilizado na fermentação alcoólica	40
Figura 4.7	Fase de sedimentação da levedura	45
Figura 4.8	Alambique usado na destilação da aguardente de abacaxi	46
Figura 4.9	Barril de <i>Freijó</i> utilizado no descanso da aguardente de abacaxi	47
Figura 5.1	Cinética fermentativa referente ao experimento 01	52
Figura 5.2	Cinética fermentativa referente ao experimento 02	53
Figura 5.3	Cinética fermentativa referente ao experimento 03	54
Figura 5.4	Cinética fermentativa referente ao experimento 04	55
Figura 5.5	Cinética fermentativa referente ao ponto central (experimentos 05,06 e 07)	56

Figura 5.6	Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações de levedura e sólidos solúveis(°Brix) para o fermentado de abacaxi	60
Figura 5.7	Diagrama de Pareto para a produtividade do fermentado de abacaxi	61
Figura 5.8	Cinética da destilação do mosto fermentado de abacaxi com grau alcoólico de 8,98°GL	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Caracterização físico-química do abacaxi Pérola	19
Tabela 3.2	Padrões de qualidade exigida pela legislação acerca de aguardente de fruta	26
Tabela 3.3	Limites de contaminantes permitidos em aguardente	31
Tabela 4.1	Valores codificados e reais das variáveis de entrada	41
Tabela 4.2	Matriz de planejamento fatorial completo $2^2 + 3$	42
Tabela 5.1	Dados referentes às pesagens e rendimentos do abacaxi pérola	49
Tabela 5.2	Características físico-químicas do abacaxi pérola	50
Tabela 5.3	Resultados do % conversão, produtividade, $Y_{P/S}$ e $Y_{X/S}$ do processo fermentativo do suco de abacaxi	57
Tabela 5.4	Modelo empírico decodificado para a produtividade analisados ao nível de 90% de confiança	59
Tabela 5.5	Análise de variância para produtividade ao nível de 90% de confiança	59
Tabela 5.6	Resultado das análises dos componentes voláteis na aguardente de abacaxi em relação às normas estabelecidas pela legislação para aguardentes de fruta	63

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

AT – Açúcares totais

AR – Açúcares redutores

AT – Acidez titulável

CL – Concentração de levedura

CSS – Concentração de sólidos solúveis

CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo

CCTA – Centro de Ciência e Tecnologia Agroalimentar

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ITEP – Instituto Tecnológico de Pernambuco

LTPOV - Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal

LPFD - Laboratório de Produtos Fermento Destilado

°GL - graus Gay-Lussac

P - Concentração de etanol experimental

P - Concentração final de produto (g/L)

P₀ - concentração inicial de produto (g/L)

ρ_{Alcool} - Densidade específica do etanol (0,7895 g/mL)

SS - Sólidos solúveis

S - concentração final de substrato (g/L)

S₀ - concentração inicial de substrato (g/L)

t - Tempo de fermentação (h)

T – Temperatura (°C)

UATA – Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

X - concentração final de biomassa (g/L)

X_0 - concentração inicial de biomassa (g/L)

$Y_{x/s}$ - Rendimento de biomassa com relação ao substrato

$Y_{p/s}$ - Rendimento de produto com relação ao substrato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 ABACAXI	17
3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	20
3.3 AGUARDENTE DE FRUTA	25
3.4 DESTILAÇÃO	26
3.5 DESCANSO	27
3.6 COMPOSTOS VOLÁTEIS	28
3.6.1 Alcoóis superiores	28
3.6.2 Aldeídos	29
3.6.3 Ésteres	30
3.7 CONTAMINANTES	31
3.7.1 Acroleína	31
3.7.2 Carbamato de etila	32
3.7.3 Metanol	32
3.7.4 Cobre	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 MATÉRIA-PRIMA	34
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SUCO DE ABACAXI	37

4.3	DESCRIÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DA AGUARDENTE DE ABACAXI	38
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO DESTILADO DE ABACAXI	47
4.5	ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	47
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	RENDIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ABACAXI	49
5.2	ESTUDO CINÉTICO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	51
5.3	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS	56
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5.5	ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO DE DESTILAÇÃO	61
5.6	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE ABACAXI	62
6.	CONCLUSÕES	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1. INTRODUÇÃO

O Brasil está classificado como o terceiro maior produtor mundial de frutas, condição que faz do setor de fruticultura uma das principais atividades econômicas geradora de emprego e renda além de proporcionar o desenvolvimento rural. Infelizmente, parte dessa produção de fruta é desperdiçada todos os anos, contribuindo para o problema social da falta de alimentos e renda de muitas famílias brasileiras. Acredita-se que, as exigências estabelecidas pelo mercado do produto estão entre as causas desse desperdício, isso porque, antes de serem direcionadas aos varejistas, as frutas passam por um processo de seleção, onde as que estiverem fora do perfil padrão exigidos pelos consumidores, são descartadas gerando um excedente de produção.

Uma alternativa eficaz para minimizar tal problema, causado pelo desperdício de frutas, consiste na implantação de agroindústrias nas propriedades rurais o que proporcionará aos agricultores a possibilidade de aproveitar o excedente da produção agrícola como matéria-prima para alterá-la sua forma e transformá-lo em um produto.

Sendo assim, entre as frutas de maior produção no Estado da Paraíba, destaca-se o abacaxi, com colheita de 273.000 toneladas ao ano. É uma cultura que sempre foi destaque na fruticultura tropical devido às suas qualidades bastante apreciada em todo o mundo, apresentando grande importância para o Brasil com 15% da produção mundial (IBGE, 2012).

O abacaxi está entre as frutas tropicais mais populares, devido o seu sabor e aroma característico. O fruto maduro apresenta em média 16,2% de sólidos solúveis totais, 0,35% de ácido cítrico, 5,06% de açúcares redutores, 15,01% de açúcares totais e 4,15 pH, modificadas de acordo com a variedade e o estágio de maturação (BLEINROTH, 1978). O elevado teor de açúcar do abacaxi consiste em uma característica favorável para aplicação em processos biotecnológicos, como por exemplo, na fermentação alcoólica.

A legislação brasileira (BRASIL, 2008) define aguardente de fruta como a bebida com graduação alcoólica de 36 a 54% em volume, a 20°C, obtida de destilado alcoólico simples de fruta, ou pela destilação de mosto fermentado de fruta. A destilação deverá ser efetuada de forma que o destilado tenha o aroma e o

sabor dos elementos naturais voláteis contidos no mosto fermentado, derivados do processo fermentativo ou formados durante a destilação.

Atualmente, a cachaça é a bebida destilada mais consumida pelos brasileiros (8,0L/hab/ano) e a terceira em consumo mundial. A quantidade estimada de produção de aguardente no país é da ordem de 1,5 bilhões de litros por ano, sendo que a exportação equivale a menos de 1% deste total (VENTURINI FILHO, 2005).

Apesar da fabricação e o consumo de aguardente de fruta ou brandy serem bastantes populares em vários países, no Brasil, a matéria-prima destinada a sua fabricação é quase totalmente constituída pela cana-de-açúcar. (LIMA, 2011; SILVA, 2011). Sendo recentes os estudos voltados para aguardentes elaboradas pela fermentação de diferentes frutas, como por exemplo, figo da Índia (ROCHA, 2008); manga (SILVA ET AL., 2011); banana (ALVARENGA, 2011).

Fundamentado em tais informações, este trabalho teve como objetivo utilizar o abacaxi na elaboração de aguardente de fruta como opção de aproveitamento, evitando desperdícios, agregando valor e cooperando para o crescimento da agroindústria no Nordeste brasileiro.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a cinética fermentativa da produção de aguardente de abacaxi utilizando a levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*) e avaliar a composição físico-química confrontando com a legislação vigente acerca de bebidas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o rendimento (casca, coroa e resíduo) do fruto e as características físico-químicas do suco de abacaxi;
2. Utilizar a matriz de planejamento experimental fatorial 2^2 para verificar os efeitos das variáveis de entrada (Concentração de sólidos solúveis e Concentração de leveduras) sobre a(s) resposta(s) (%Conversão, produtividade) no processo de fermentação alcoólica;
3. Determinar os parâmetros cinéticos (%Conversão, produtividade, $Y_{x/s}$ e $Y_{p/s}$);
4. Estudar a cinética do processo de destilação do fermentado de abacaxi em alambique de cobre;
5. Estudar as características organolépticas após o descanso da aguardente em barril de freijó (*Cordia goeldiana*) por 90 dias;
6. Avaliar as características físico-químicas da aguardente de abacaxi e confrontar com a legislação vigente acerca de bebidas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ABACAXI

O abacaxi ou ananás, nomes utilizados tanto para a fruta como para a planta, pertence à família *Bromeliaceae* e gênero *Ananas*. Esse gênero é vastamente distribuído nas regiões tropicais por intermédio da espécie *Ananas comosus* (L.) Merril, a qual abrange todas as cultivares plantada de abacaxi (GIACOMELLI, 1981).

Figura 3.1– Abacaxi Pérola.



Fonte: SECON PB (2012).

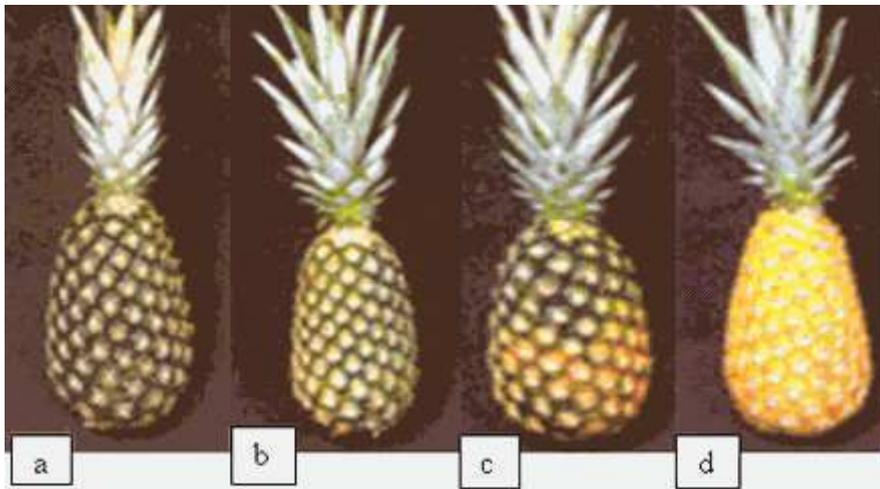
O abacaxizeiro é uma planta rústica e resistente às condições adversas e, apesar de ser originário de regiões de clima quente e distribuição pluvial bastante irregular, existem faixas ótimas dos fatores ambientais onde a cultura se desenvolve melhor (CUNHA E CABRAL, 1999).

O fruto apresenta polpa de cor amarelada ou laranja avermelhado, possuindo formato normalmente cilíndrico ou ligeiramente cônico constituído por 100 a 200 pequenas bagas ou frutinhos fundidos entre si sobre o eixo central ou coração formado por várias flores que iniciam seu desenvolvimento na base do fruto e floresce em espiral até o ápice (THÉ, 2001).

As variedades de abacaxi mais conhecidas podem ser classificadas em cinco grupos distintos: Cayenne, Spanish, Queen, Pérola e Perolera, de acordo com um conjunto de caracteres comuns, relativos ao porte da planta, forma do fruto e características morfológicas das folhas (EPSTEIN, 1999).

O abacaxi caracteriza o seu amadurecimento pela perda da cor verde devido a decomposição da clorofila através de transformação no pH, ativação da clorofilase e presença de sistemas oxidantes e o destaque dos carotenóides que são pigmentos de cor amarela a laranja. (CHITARRA E CHITARRA, 2005).

Figura 3.2 – Classificação dos estágios de maturação do Abacaxi Pérola.



Fonte: CEAGESP, 2012

O abacaxi apresenta uma variação muito grande na sua composição química, de acordo com a época em que é produzido, o que leva a ausência de homogeneidade na composição química de suas diversas partes (BLEINROTH, 1978). O abacaxi recém-colhido contém: 80-85% de água, 12-15% de açúcares, 0,6% de ácidos, 0,4% de proteínas, 0,5% de cinzas, 0,1% de gordura, alguma fibra e várias vitaminas, principalmente A e C (SALUNKHE E DESAI, 1984). Oliveira et al. (2012) caracterizou a polpa do abacaxi da variedade Pérola como mostra a TAB. 3.1.

TABELA 3.1 - Caracterização físico-química do abacaxi da variedade Pérola

Determinações	Valor Médio
pH (25°C)	3,06
Sólidos solúveis (°Brix)	13,56
Acidez titulável (% Ac. Cítrico)	0,57
Umidade (%)	85,50
Cinzas (%)	0,31
Açúcares totais (%)	9,60
Açúcares redutores (%)	4,36
Carboidratos (%)	13,18
Vitamina C (mg.Kg ⁻¹)	287,20

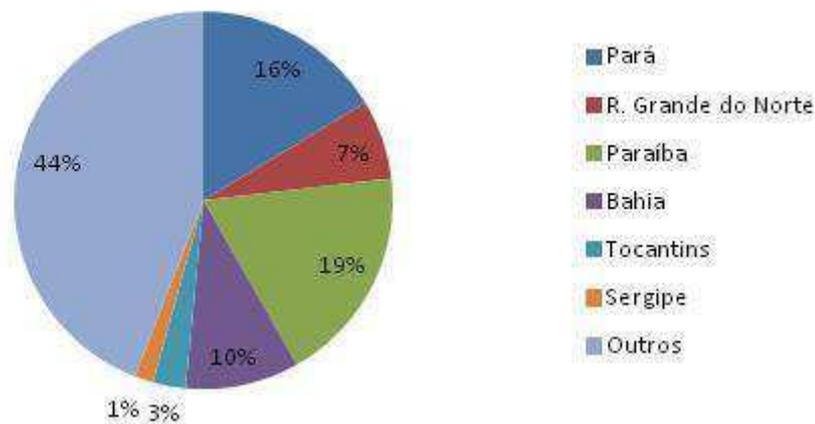
Fonte: Oliveira et al. (2012)

De acordo com os dados do IBGE, a produção brasileira atingiu em média 1.519.881 toneladas de abacaxi em 2011, produção 3,6% maior que a safra de 2012 que foi de 1.464.939 toneladas. Tais informações mostram a grande importância econômica dessa cultura para o Brasil, que tem praticamente toda produção dirigida para o mercado interno de frutas frescas (REITNHARDT et al., 2000).

Na Paraíba, a cultura do abacaxi sempre foi destaque no cenário nacional, não só por se tratar de um fruto com grandes qualidades organolépticas, mas principalmente pela alta rentabilidade e importância social de seu cultivo como atividade que requer intensiva mão de obra (CUNHA et al., 2007).

Em 2012, das 589.436 toneladas de abacaxi colhidos na região Nordeste, 273.564 toneladas foram produzidos na Paraíba, o que representa 18,7% da produção nacional conforme a FIG. 3.3.

Figura 3.3 – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.



Fonte: IBGE (2012)

A colheita do abacaxi paraibano concentra-se ao longo de todo o ano, entretanto de janeiro a julho colhem-se apenas 24,66% da sua produção ficando os 75,37% restante de sua colheita para os meses subsequentes (CARVALHO, et al. 2007).

3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Barre et al., (2000) considera o processo de fermentação alcoólica uma das etapas mais importantes para elaboração de vinhos e bebidas fermentadas, podendo ser conduzida com várias leveduras. A fermentação alcoólica inicia com a atuação das leveduras em condições de anaerobiose que usam os açúcares do mosto para seu crescimento e multiplicação, tendo como resultado a formação de álcool, anidrido carbônico e outros compostos secundários. (LIMA et al, 2001)

A transformação do açúcar em etanol e CO₂ envolvem 12 reações em sequência ordenada, onde cada uma delas é catalisada por uma enzima específica. Essas enzimas, denominada glicolíticas, se encontram no citoplasma celular, região da célula que a fermentação alcoólica se processa e podem sofrer ações de diversos fatores (nutrientes, minerais, vitaminas, inibidores, substâncias do próprio metabolismo, pH, temperatura e outros), alguns que estimulam e outros que

reprimem a ação enzimática, afetando o desempenho do processo fermentativo conduzido pelas leveduras (LIMA et al., 2001).

Convém ressaltar, que os produtos finais da metabolização do açúcar irão depender das condições ambientais em que a levedura se encontra. Assim, enquanto uma porção do açúcar é transformada em novas células, CO_2 e H_2O em aerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO_2 em anaerobiose (fermentação). Os carboidratos considerados substrato para a fermentação, tanto podem ser endógenos (constituintes da levedura, como glicogênio e trealose) como exógenos (sacarose, glicose, frutose e outros), estes últimos fornecidos à levedura. (LIMA et al., 2001)

Juntamente com o etanol e o CO_2 , o metabolismo anaeróbico permite a formação e excreção de glicerol, ácidos orgânicos (succínico, acético, pirúvico e outros), alcoóis superiores, acetaldeído, acetoína, butilenoglicol além de outros compostos de menos significado quantitativo (LIMA et al., 2001). Segundo Venturine Filho (2005) tais substâncias são responsáveis pela formação do aroma ou buquê que caracteriza o produto final.

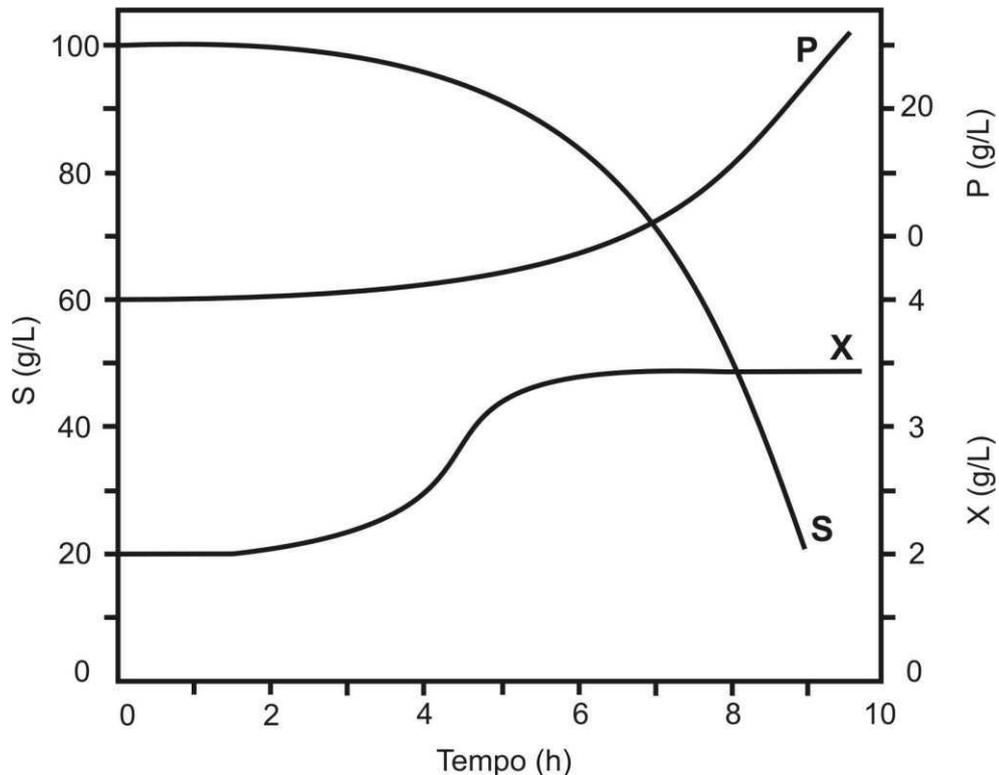
De acordo com Cardoso (2001) o rendimento da fermentação é uma característica importante na economia da produção no caso da aguardente, afetando diretamente a sua qualidade. Após a fermentação, o vinho cuja concentração alcoólica é de 7 a 8% é enviado ao alambique e aquecido, emitindo vapores com composição rica em compostos voláteis alcoólicos formando, assim, o teor alcoólico das bebidas.

Quando feito um estudo cinético dos processos fermentativos é possível que um experimento realizado em laboratório seja disposto em escala industrial, admitindo também uma comparação quantitativa entre as diferentes condições de cultivo, por intermédio de variáveis como as velocidades de transformação e os fatores de conversão. (SCHMIDELL et al., 2001)

Tal estudo consiste inicialmente na análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se por componentes o microrganismo ou concentração celular (X), os produtos do metabolismo (P) e os nutrientes ou substrato (S) que compõem o meio de cultura, esses valores experimentais de concentração quando representados em função do tempo (Figura 3.4), permitirão os traçados das curvas de ajuste que são indicados por $X = X(t)$, $P = P(t)$ e $S = S(t)$,

representando parte de um conjunto de dados, necessários ao dimensionamento de uma instalação produtiva. (SCHMIDELL et al., 2001).

Figura 3.4 - Representação da cinética fermentativa, através dos perfis de curvas: X (concentração do microrganismo), P (concentração de produto) e S (concentração de substrato).



É característico de um cultivo descontínuo que ocorra a multiplicação celular e assim aumente a concentração enzimática do meio, sendo as enzimas responsáveis pela transformação do substrato em produto, pode-se dizer que o produto também sofrerá um aumento de volume. (SCHMIDELL et al., 2001).

Considerando um determinado tempo de fermentação os correspondentes valores dos componentes do cultivo podem ser relacionados entre si através dos fatores de conversão, definidos nas Equações (3.1), (3.2) e (3.3), os fatores de conversão de substrato em concentração celular ($Y_{x/s}$), concentração celular em produto ($Y_{x/p}$) e substrato em produto ($Y_{p/s}$), respectivamente (SCHMIDELL et al., 2001).

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (3.1)$$

$$Y_{x/P} = \frac{X - X_0}{P - P_0} \quad (3.2)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (3.3)$$

As fermentações descontínuas vêm sendo utilizadas pelo homem desde a antiguidade e ainda hoje são as mais empregadas para obtenção de vários produtos fermentados. São também conhecidas por fermentações em batelada.

De acordo com Cardoso (2006), o processo é considerado um sistema fechado onde no momento da introdução do inoculo no substrato é tomado o tempo zero de fermentação constituindo a primeira fase, ou seja, uma incubação sob condições ótimas de crescimento. Uma segunda fase do processo é a ação do microrganismo sobre o substrato sendo esta a fermentação. Durante todo o processo de fermentação nada é adicionado ao sistema, a exceção do oxigênio necessário na fase inicial para elevar a concentração celular, um antiespumante, quando for requerido, e soluções ácidas ou básicas para ajuste do pH. Segundo Mendonça (1999), este processo é um dos mais utilizados por produtores de aguardente artesanais.

A fermentação descontínua pode levar a baixos rendimentos quando o substrato adicionado uma só vez no início da fermentação exerce efeito de inibição, repressão ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam. Por outro lado, apresentam menores riscos de contaminação, grande flexibilidade de operação, devido ao fato de poder utilizar os fermentadores para a fabricação de diferentes produtos, a possibilidade de realizar fases sucessivas no mesmo recipiente e condições de controle mais estreito da estabilidade genética do microrganismo (OLIVEIRA, 2001).

Durante o processo de fermentação alcoólica alguns fatores devem ser observados para que as leveduras tenham uma boa atuação na transformação da sacarose em etanol. Para que ocorra uma multiplicação intensa das células é

necessário que as exigências nutricionais das leveduras sejam supridas permitindo a sua reprodução (SCHWAN E CASTRO, 2001). Entretanto, a concentração de carboidrato do mosto pode afetar tanto na concentração celular como na produção de álcool, sendo assim, a quantidade de açúcar no mosto deve aumentar gradativamente à medida que a concentração celular aumenta (CARDOSO, 2006).

Além dos requerimentos nutricionais, fatores físico-químicos (pH e temperatura) e microbiológicos (concentração de leveduras) podem interferir no processo de fermentação, diminuindo sua eficiência e/ou a qualidade do produto final, sendo necessário um controle desses fatores.

De acordo com Cardoso (2006) existe uma correlação entre a acidez do mosto e a velocidade de crescimento da levedura, a qual atinge seu ponto ótimo de crescimento entre 5,0 e 6,0. Com relação à produção de álcool, Aquarone et al., (1983) mostra que a faixa de pH entre 3,8 e 4,0 permite uma fermentação alcoólica rápida além de inibir bactérias indesejáveis.

Outro fator de extrema importância é a temperatura, em que sua variação entre 25° a 33°C admite atingir alto rendimento alcoólico por permitir uma fermentação mais completa e também por minimizar as perdas por evaporação (AQUARONE et al., 1983).

Com relação aos microrganismos utilizados em processos de fermentação alcoólica, as leveduras estão em destaque, estas leveduras devem apresentar características como: alta tolerância ao etanol e bom rendimento, fermentar rapidamente o meio diminuindo assim o risco de contaminações, produzir melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis para a qualidade da bebida, apresentar estabilidade genética e no final da fermentação ser removida com facilidade do meio por floculação ou centrifugação (OLIVEIRA, 2001). Segundo Venturine Filho (2005), a *Saccharomyces cerevisiae* é espécie de levedura mais importante.

3.3 AGUARDENTE DE FRUTA

A utilização de sucos de frutas para elaboração de bebidas alcoólicas é uma forma de aproveitamento com o intuito de evitar o desperdício quando não se tem um consumo imediato, também agregando valor às bebidas regionais. A partir dos fermentados de frutas, por meio de destilação se obtêm as aguardentes de frutas sendo necessário à adaptação do processo de produção de acordo com a matéria-prima. (ASQUIERI, 2009)

Conforme o anexo VI da Portaria Nº65 de Abril de 2008 define-se aguardente de fruta como a bebida com graduação alcoólica de trinta e seis a cinqüenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida de destilado alcoólico simples de fruta, ou pela destilação de mosto fermentado de fruta. A destilação deverá ser efetuada de forma que o destilado tenha o aroma e o sabor dos elementos naturais voláteis contidos no mosto fermentado, derivados do processo fermentativo ou formados durante a destilação. Segundo Aquarone et al. (2001), as aguardentes de frutas podem apresentar denominações diferenciadas como a aguardente de cereja, chamada de *kirsch* ou *cherry brandy*; a aguardente de ameixa, como *slivowiczou mirabella*; a aguardente de pêra, como *pear brandy*; a aguardente de pêssego, como *peachbrandy*; e a aguardente de maçã, como *applebrandy*.

No que diz respeito aos padrões de qualidade e identidade aos quais devem obedecer, está regulamentada pelo decreto de nº 5.351, de 21 de janeiro de 2005, tendo em vista o disposto no Decreto no 2.314, de 4 de setembro de 2005, tendo em vista o disposto no Decreto no 2.314, de 4 de setembro de 1997, que regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, alterada pela Lei no 8.936, de 24 de novembro de 1994, expressa pela TAB. 3.2

TABELA 3.2 – Padrões de qualidade exigida pela legislação acerca de aguardente de fruta.

Componentes	Padrões
Grau alcoólico	36 a 54 ^o GL a 20 ^o C
Acidez volátil	100mg/100mL de álcool etílico
Ésteres	250mg de acetato de etila por mL de álcool etílico
Alcoóis superiores	360mg/100mL de álcool etílico
Aldeídos	30mg de acetato de etila por ml de álcool etílico

Fonte: BRASIL (2008)

3.4 DESTILAÇÃO

A destilação é um processo físico que permite separações químicas, consiste da passagem da fase líquida de uma substância ou mistura, sob aquecimento, ao estado gasoso, que em seguida, retorna ao estado líquido por meio de resfriamento (LIMA et al., 2001). É um processo que concentra o álcool e os compostos secundários, definindo em grande parte a composição química da aguardente, conferindo qualidade ao produto final (OSHIRO E MACCARI, 2005).

De acordo com Lima (1964), o destilado da aguardente é recolhido em três frações para a retirada de compostos indesejáveis:

Cabeça: líquido condensado nos primeiros minutos da destilação, correspondendo a 0,7 a 1,0% do volume total do vinho inicial. Essa fração contém produtos como o metanol, acetaldeído, acetato de etila etc., por serem mais voláteis do que o álcool. Apresenta grau alcoólico acima de 65 °GL devendo ser desprezada.

Coração: É a fração que será recolhida até que o teor alcoólico no tanque de recolhimento atinja o valor pré-estabelecido. Em geral 1–1,5 °GL acima do valor pretendido para o engarrafamento. Nesta fração concentram-se 80–90% do etanol contido no vinho. As moléculas das substâncias oleosas, como álcoois superiores de três a cinco átomos de carbono presentes no vinho tem maior afinidade pelas

moléculas de etanol (azeotrópicas) e saem ao longo de toda destilação com o perfil de concentração semelhante ao do próprio etanol. Esta é a fração nobre, ou seja, a aguardente que será comercializada.

Cauda: também chamada água fraca pelo baixo teor alcoólico, apresenta o maior teor de produtos menos voláteis, como os ácidos acéticos e lácticos que só evaporam na fase final da destilação. Devido seu maior ponto de ebulição, estes estabelecem interações mais fortes com a água do que o etanol, sendo que apenas 1% da acidez volátil do vinho é transferida para a aguardente.

Os aparelhos de destilação usados na elaboração de bebidas destiladas são, em sua maioria, constituídos de cobre. O cobre, metal bastante maleável, é resistente ao desgaste físico, bom condutor de calor, e apresenta grande influência na formação de sabor e aroma do produto final (FARIA et al, 2003). A utilização de alambiques de cobre é muito difundida na obtenção de destilados devido a facilidade de manipulação, solidez mecânica e a durabilidade do material (VENTUTINI, 1987). As razões para seu uso são controvertidas, alguns autores atribuem ao cobre um papel de catalisador durante o processo de destilação da aguardente (FARIA, 1982; VENTUTINI, 1987). A ausência de cobre no destilador pode produzir um defeito sensorial com aroma sulfurado no produto final (FARIA, 1982).

3.5DESCANSO

Após a destilação do vinho obtém-se um produto constituído basicamente por água, álcoois, aldeídos, ácidos, cetona, ésteres, entre outros. A denominação aguardente é dada a composição: água ($\pm 59\%$), álcool ($\pm 40\%$) e outros compostos secundários ($\pm 1\%$). As aguardentes recém-destiladas apresentam-se incolores, com gosto ardente, agressivo, sabor repugnante, além de buquê irregular, não sendo recomendado o seu consumo imediato. Contudo, torna-se necessário a alteração parcial da composição química do produto após sua destilação (VENTURINI FILHO, 2005).

Sendo assim, denomina-se envelhecimento de um destilado, o conjunto das reações químicas que ocorrem ao longo do tempo resultando em alterações na cor e melhoria do aroma e do sabor (VENTURINI FILHO, 2005).

São inúmeras as transformações químicas associadas ao processo de maturação e envelhecimento da aguardente destacando-se as reações entre os

componentes secundários proveniente da destilação, a extração direta dos componentes da madeira, a decomposição de macromoléculas da madeira (lignina, celulose e hemiceluloses) e sua incorporação à bebida, as transformações dos materiais extraídos da madeira, as reações dos componentes da madeira com componentes originais de destilado, entre outros (PIGGOTT, 1989).

Baseado em Rizzon e Meneguzzo (2001), para que o envelhecimento do destilado participe positivamente na qualidade do produto, três fatores são fundamentais: a liberação de compostos agradáveis da madeira, a oxigenação do destilado e o tempo de permanência no barril. Entre os compostos liberados pela madeira no período de envelhecimento destacam-se os compostos que atribuem cor ao destilado, além do aroma particular. Estudos mostram que a intensidade de cor e determinados aromas tais como: baunilha, torrefação da madeira estão relacionados com intensidade de aquecimento aplicado na madeira por ocasião da confecção do barril.

Para alcançar bons resultados, o armazenamento deve ser feito em recipientes de madeira (tonéis) para que ocorra o descanso da bebida, além de reações de oxidação e esterificação entre o destilado e os componentes da madeira, originando novas substâncias químicas, como compostos aromáticos, conferindo-lhe boas características sensoriais. Por exemplo, ácidos reagem com álcoois formando ésteres, que são as substâncias mais aromáticas que as anteriores (VENTURINI FILHO, 2005).

3.6 COMPOSTOS VOLÁTEIS

Durante o processo de fermentação alcoólica, o açúcar do mosto é utilizado pelas leveduras e transformado em dois produtos principais: etanol e dióxido de carbono. Porém, outros componentes em menor quantidade são produzidos, como por exemplo, os compostos voláteis (STELLA, 2010).

3.6.1 Alcoóis superiores

Os alcoóis superiores são produtos metabólicos decorrentes do crescimento de leveduras e aproveitamento de aminoácidos como fonte de nitrogênio. Sua formação depende grandemente das condições do meio de fermentação, da

quantidade e viabilidade do inóculo, da temperatura, do teor alcoólico final do vinho, entre outros fatores (LÉAUTÉ, 1990).

A síntese desse componente é estimulada por oxigênio e está relacionada linearmente ao crescimento da levedura (QUAIN, 1988). Os alcoóis superiores são produtos secundários do metabolismo de carboidratos. Já os aldeídos são intermediários na produção de alcoóis superiores, e condições que favorecem a sua produção além de favorecer a formação de pequenas quantidades de aldeídos (BERRY, 1983). Os principais são 2-metil-1-propanol (isobutanol), 2-metil-1-butanol (álcool amílico ativo) e 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico). Menores quantidades de álcoois alifáticos têm sido encontradas em vinhos, como 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol (álcool amílico), 1-hexanol, 1 octanol e outros (GARRUTI, 2001). Segundo Almeida (2007) a composição do meio (concentração de açúcar, pH, concentração e tipo de fonte de nitrogênio), temperatura, grau de aeração e a linhagem da levedura também influenciam a produção dos alcoóis superiores.

3.6.2 Aldeídos

São compostos muito voláteis, formados durante a fermentação e responsáveis pelo flavor das bebidas. Os aldeídos com até 8 átomos de carbono tem odor penetrante, muitas vezes enjoativo e indesejáveis em bebidas destiladas. Podem ser formados pela redução de ácidos graxos, mas são formados exclusivamente na fermentação alcoólica (PIGGOTT, 1989).

O principal aldeído associado à fermentação alcoólica é o acetaldeído. Em fermentações normais, este composto aparece no mosto durante as primeiras horas, mas tende a diminuir no estágio final da fermentação (ENGAN, 1970; MAIA, 1994). Entre os compostos carbonila, o acetaldeído constitui mais de 90% do total de aldeídos contidos em vinhos e bebidas alcoólicas destiladas (NIKÄNEM, 1986). Parte do acetaldeído excretado no vinho durante a fermentação fica ligado ao SO₂, enquanto o restante permanece livre e, conseqüentemente, disponível para o metabolismo da levedura (MILLÁN E ORTEGA, 1988).

Nascimento et al. (1997) explica que o acetaldeído também é produzido no corpo humano pelo metabolismo do etanol, e embora seja importante para o aroma e sabor de bebidas alcoólicas, em doses elevadas, é tóxico para o organismo humano. Quando há o aumento da concentração sanguínea do acetaldeído, ocorre

vermelhidão na face, dor de cabeça, dificuldade respiratória, vômito, transpiração, inquietação, aceleração do ritmo cardíaco e baixo na pressão sanguínea.

3.6.3 Ésteres

Os ésteres constituem a maior classe de compostos aromáticos em bebidas alcoólicas. São mais comumente encontrados em formato de etila (sabor artificial de rum), acetato de n-pentila (aroma de banana), acetato de octila (laranja), butirato de etila (abacaxi) e butirato de pentila (abricó) (HART E SCHUTZ, 1983).

Sua origem se dá pela reação de esterificação entre um ácido e um álcool. Essa reação pode ser catalisada por enzimas estearases ou pode ser efetuada quimicamente sem interferência de enzimas (YOKOYA, 1995). Berry (1995) acredita que a quantidade de éster produzida depende da quantidade relativa de álcool e acetil produzidos pela levedura.

Os fatores que mais afetam a concentração de ésteres no mosto são a composição do meio (fonte de carbono e sua concentração, suprimento de nitrogênio, pH do meio, variabilidade de micronutrientes e níveis de ácidos graxos insaturados/esteróis) e os procedimentos de fermentação tais como a temperatura de fermentação, concentração de dióxido de carbono (CO₂), oxigenação do meio e a seleção da linhagem da levedura (SOLES ET AL., 1982). Entretanto, deve ser levado em consideração no caso da utilização de frutas como matéria-prima, pois, também interferem na formação de ésteres (SUOMALAINEN ET AL., 1974).

A formação de ésteres pós-fermentação alcoólica, via reação química direta entre alcoóis e ácidos também ocorre, porém em escala bem menor estendendo-se ao envelhecimento com uma formação mais lentamente e em menor extensão. (NYKÄNEN E NYKÄNEN, 1991). De acordo com alguns autores, durante a maturação de bebidas destiladas normalmente ocorre uma diminuição do pH e das concentrações de álcool metílico e de álcool etílico, enquanto que há um aumento da acidez, da cor e das concentrações de ésteres como o acetato de etila, de aldeído acético, de acetona e dos compostos fenólicos (taninos). (CARDELLO E FARIA, 1997; PUECH, 1987; SOUZA E DEL MASTRO, 2000).

3.7 CONTAMINANTES

Em se tratar de contaminante, Alvarenga (2011) defende que as principais substâncias que oferecem perigo para a saúde humana e que podem comprometer a qualidade sensorial de bebidas destiladas podem ter origem orgânica (álcool butílico, álcool sec-butílico, acroleína, carbamato de etila, diacetil e metanol) ou inorgânica (arsênio, chumbo e cobre). A legislação brasileira estabelece limites para os valores máximos permitidos para cada um desses contaminantes, já para aguardentes de fruta, a legislação ainda não alterou a Portaria nº 371 de 1974, acrescentando exigências quanto aos teores de alguns contaminantes. Porém, a legislação para aguardente de cana já reformulada e exige limites destes contaminantes para a bebida (TAB. 3.3).

TABELA 3.3 – Limites de contaminantes permitidos em aguardente.

Contaminantes	Limite máximo
Acroleína	5mg/100mL álcool etílico
Álcool Butílico	3mg/mL álcool etílico
Álcool Sec-Butílico	10mg/mL álcool etílico
Carbamato de Etila	150µg/L de aguardente
Diacel	2mg/100mL de álcool etílico
Metanol	40mg/100mL de Álcool etílico
Chumbo	200µg/L de Aguardente
Arsênio	100µg/L de Aguardente
Cobre	5mg/L de Aguardente

Fonte: BRASIL (2005).

3.7.1 Acroleína

A acroleína é ocasionada pela desidratação do glicerol durante o processo de destilação e sua presença é indesejável na aguardente devido ao seu odor pungente (GUTIERREZ, 1993). Em estudo realizado por Nascimento et al.(1997) foi detectado acroleína em quantidades que variaram de 0,067mg/100mL de álcool anidro em

uísque 0,094mg/100mL em aguardentes comerciais e 0,364mg/100mL em aguardentes artesanais

3.7.2 Carbamato de etila

Em geral, o carbamato é produzido industrialmente a partir do fosfogênio, da uréia ou da cianamida. A principal forma de produção de carbamato de etila para fins comerciais é feita pela reação entre a uréia e o etanol (ARESTA, BOSCOLO, FRANCO, 2001). Este composto é conhecido devido seu potencial carcinogênico em animais em testes de laboratório, o que significa que ele pode ser considerado como potencial carcinogênico para o homem (BATTAGLIA, CONACHER, PAGE, 1990; NOVAES, 1996; NAGATOET AL., 2003).

A formação de carbamato de etila pode ocorrer antes, durante e após a etapa de destilação pela reação do etanol com alguns compostos nitrogenados. De acordo com Nagatoet al. (2003), o produto fermentado aquecido, como em bebidas destiladas, tem seu nível de carbamato de etila aumentado ainda mais. Isto acontece em dependência da concentração dos reagentes, temperatura, pH, luz e tempo de armazenamento.

3.7.3 Metanol

Para Maia (1994), o metanol é um álcool particularmente indesejável em bebidas alcoólicas e não tem importância no aroma das mesmas, sendo uma substância química tóxica que tem mostrado efeitos adversos na saúde humana como dor de cabeça, fadiga, náuseas, problemas na visão, cegueira, convulsões, colapsos sanguíneos, problemas respiratórios e até a morte. Segundo observações de Postel citado por Mutton (1992), a maior concentração de metanol nas aguardentes de frutas deve-se à composição do mosto fermentado que originou a bebida, já que o álcool metílico origina-se pela degradação enzimática da pectina e esta última é um constituinte dos tecidos vegetais, principalmente de frutas.

3.7.4 Cobre

A presença do cobre na produção de cachaça está associada ao processo de destilação, pois é o elemento de construção dos alambiques. O cobre oxidado ou “azinhavre” $[\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$, forma depósito nas paredes dos alambiques. Durante a destilação, esse composto seria dissolvido e arrastado pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando a cachaça (LIMA NETO et al., 1994).

A lei brasileira considera o cobre um contaminante da cachaça, definindo seu limite máximo, em 5 mg/L. Em outros países a legislação não tolera mais que 2 mg/L de cobre nos destilados alcoólicos (CARDOSO et al., 2003). A presença de elevadas concentrações de cobre em bebidas pode ser prejudicial à saúde humana (MOSHA et al., 1996).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Análises de Alimentos (LAA) e Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal (LTPOV) da Unidade Acadêmica Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande/ Campus Pombal e contou com o apoio do Laboratório de Produtos Fermento Destilados UFPB/ Campus João Pessoa e o Laboratório de Qualidade de Álcool da GIASA S.A. localizado em João Pessoa/PB.

4.1 MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima utilizada foi o Abacaxi Pérola (*Ananas comosus Merril*) proveniente do sertão paraibano mais especificamente das cidades de Patos/PB e Coremas/PB. Foram obtidos 150 abacaxis, em estágio maduro de cor amarela, transportados em caixas de polietileno e encaminhados imediatamente ao Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Vegetal – Campus Pombal onde a matéria-prima selecionada foi pesada com o objetivo de verificar o rendimento de produção.

Figura 4.1 – Obtenção e transporte dos frutos



Os cálculos dos rendimentos são relações simples entre as massas e volumes correspondentes ao fruto utilizado na produção. Os percentuais de rendimento (p/p) da coroa (RCO), casca (RCA) e fibras (RF) representam a quantidade de coroa, casca e fibras com relação aos frutos inteiros e calculados pelas Equações (4.1), (4.2) e (4.3).

$$\text{RCO (\%)} = \frac{\text{MASSA DA COROA}}{\text{MASSA DO FRUTO}} \times 100 \quad (4.1)$$

$$\text{RCA (\%)} = \frac{\text{MASSA DA CASCA}}{\text{MASSA DO FRUTO}} \times 100 \quad (4.2)$$

$$\text{RF (\%)} = \frac{\text{MASSA DA FIBRA}}{\text{MASSA DO FRUTO}} \times 100 \quad (4.3)$$

Os abacaxis foram lavados usando uma solução de detergente neutro a 2% para a retirada das sujidades presentes na superfície do fruto com auxílio de uma escova de nylon. Em seguida foram enxaguados com água limpa. Após a lavagem fez-se necessário uma sanitização, sendo imersos em uma solução de Cloro Ativo (Água sanitária) na dose de 50ppm (2,5mL/L) onde permaneceram por 15 minutos, conforme estabelecido pela ANVISA através da Resolução nº 150 de 28 de Maio de 1999. Para higienização dos equipamentos e utensílios usou-se uma solução de Cloro Ativo na dose de 200ppm (10mL/L) imersos em um período de 30 minutos (FIG. 4.2 e 4.3).

Figura 4.2 – Etapa de lavagem dos abacaxis



Figura 4.3 – Etapa de sanitização dos abacaxis



Para a extração do suco de abacaxi foi feito primeiramente a retirada da casca e coroa, para isso fez-se necessário o uso do método manual com auxílio de facas e em seguida o abacaxi foi cortado em cubos para facilitar o desfibramento. Os cubos de abacaxi foram processados em uma centrífuga de onde foi obtido o suco usado na fermentação. Durante esse processo foi retirada uma amostra significativa de suco para a realização das análises físico-químicas e o restante do suco de abacaxi foi acondicionado em garrafas PETs e armazenados em freezer a temperatura de - 18°C.

Figura – 4.4– Etapa de remoção da casca dos abacaxis



4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SUCO DE ABACAXI

A caracterização físico-química do abacaxi foi realizada no Laboratório de Análise de Alimentos – UATA/CCTA/UFCG, onde foram realizadas as análises de umidade, cinzas, sólidos solúveis (^o Brix), pH, acidez titulável (AT), vitamina C. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

UMIDADE: O teor de umidade foi determinado seguindo a metodologia de Brasil (2005).

CINZAS: As cinzas foram determinadas seguindo o método da AOAC (2005). O teor de cinzas serve para determinar a matéria orgânica, onde $MO = 100 - \text{Cinzas}$.

SÓLIDOS SOLÚVEIS: Os sólidos solúveis totais foram determinados seguindo a metodologia de Brasil (2005).

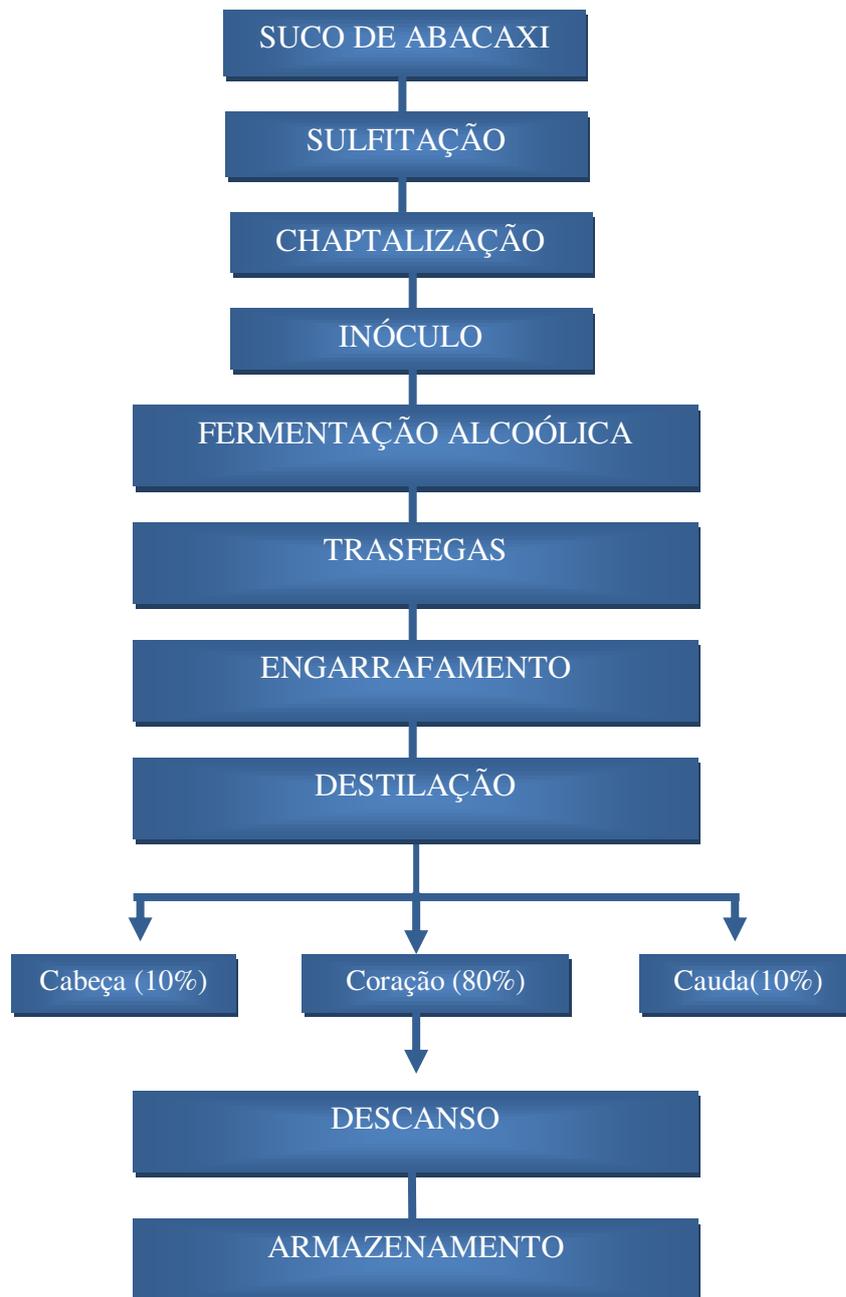
pH: O pH foi determinado pelo método potenciométrico, com o pHmetro previamente calibrado com as soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0.

ACIDEZ TITULÁVEL: A acidez total titulável foi determinada pelo método da AOAC (2005).

VITAMINA C: Foi dosado por titulometria utilizando-se solução de DFI (2,6 diclofenol-indofenol 0,02%) até obtenção de coloração róseo claro permanente, utilizando-se 1g de suco diluído em 50 mL de ácido oxálico 0,5% de acordo com Strohecker e Henning (1976). Para a titulação utilizou-se uma alíquota de 5 mL. Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ de polpa.

4.3 DESCRIÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DA AGUARDENTE DE ABACAXI

Figura - 4.5 - Fluxograma de produção da aguardente de abacaxi



O suco de abacaxi foi descongelado em temperatura ambiente e colocado em biorreatores de polietileno com capacidade de 7,5L. Inicialmente realizou-se a preparação do mosto, que consistiu na sulfitação, chaptalização e adição do inóculo; dando conseqüentemente, início ao processo de fermentação alcoólica.

SULFITAÇÃO: A sulfitação consiste em eliminar os fenômenos indesejáveis durante a fermentação, tais como o escurecimento e a proliferação de bactérias. Para isso adiciona-se o metabissulfito de potássio ($K_2S_2O_5$) numa concentração de 3 gramas para cada 10 litros de suco, sendo em 5L adicionado 1,5g de metabissulfito de potássio pesado em balança analítica e adicionado sob agitação.

CHAPTALIZAÇÃO: A chaptalização consiste em adicionar sacarose (açúcar comercial) ao mosto para se obter uma bebida com uma graduação alcoólica dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira (BRASIL, 2008) que estabelece uma graduação de 36 a 56°GL, a 20°C. Geralmente, a chaptalização é feita quando a fruta não tem quantidades suficientes de açúcares ou quando se deseja uma bebida com graduação alcoólica elevada. A concentração de açúcar no mosto foi corrigida com sacarose até concentrações de sólidos solúveis de 14, 17 e 20°Brix, conforme matriz de planejamento fatorial (TAB 4.2); para cada L de suco integral de abacaxi foram adicionados 25 g de açúcar conforme descrito por DIAS et al., (2003).

INÓCULO: Terminada a preparação do mosto foi feita a inoculação da levedura nas concentrações conforme matriz de planejamento fatorial (TAB. 4.2). O microrganismo inoculado foi a levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*) da marca Fleischmann, com 70% de umidade (base úmida). A levedura foi dissolvida em 300mL do mosto e adicionada posteriormente ao meio a fermentar.

FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: Feita a inoculação da levedura ao mosto deu-se início ao processo de fermentação alcoólica a uma temperatura de $27^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ (FIG. 4.6). O volume de mosto a fermentar foi 5L. Durante o processo fermentativo foi realizada a cada 3h o controle dos seguintes parâmetros: SS (°Brix), temperatura, pH, acidez total, teor alcoólico e concentração celular; até a estabilização da concentração de sólidos solúveis do mosto, expressos em °Brix.

Figura 4.6 – Biorreator utilizado na fermentação alcoólica



Estudo cinético e planejamento fatorial para a fermentação alcoólica

Durante a fermentação alcoólica foi realizado um estudo cinético com a finalidade de avaliar as velocidades das transformações que ocorrem durante todo o processo. Para isso, fez-se necessário a determinação periódica a cada três horas das principais variáveis envolvidas no processo fermentativo (sólidos solúveis, acidez titulável, pH, teor alcoólico, concentração celular e temperatura), para cada ensaio contido na matriz de planejamento fatorial (TAB. 4.2). Com os dados obtidos durante todo o processo de fermentação foi criado os gráficos representativos da cinética de fermentação, através dos perfis de curvas mostrando a evolução dos valores de concentração dos componentes de cultivo, em função do tempo (FIG. 5.1 a 5.5).

O planejamento experimental fatorial teve o objetivo de obter um estudo mais abrangente da influencia das variáveis de entrada sobre o sistema de maneiras mais organizada e em quantidade mínima de experimentos. Foram escolhidos os níveis para cada variável, e com isso foram realizados os ensaios, registrando as

combinações. A listagem dessas combinações é chamada de matriz de planejamento (BARROS NETO et al., 1995)

Esse estudo é designado para avaliar quantitativamente a influência das variáveis de entrada (Concentração de Sólidos solúveis e concentração de levedura) sobre a(s) resposta(s) (%Conversão, produtividade, $Y_{x/s}$ e $Y_{p/s}$), quantificando os efeitos destas variáveis para a otimização do processo. A TAB 4.1 mostra os níveis reais e codificados das variáveis independentes, representando as condições quantitativas usadas nas combinações possíveis, onde tem-se um nível inferior (-1), outro superior (+1) e o nível zero (0) que é o ponto central, correspondente a média algébrica dos níveis inferior e superior. A matriz de planejamento fatorial $2^2 + 3$, conforme TAB. 4.2, totalizando 7 experimentos, sendo 4 ensaios distintos e mais 3 no ponto central, onde estes ensaios idênticos tem como finalidade verificar a reprodutibilidade dos ensaios.

Para analisar estatisticamente a influência das variáveis de entrada (concentração de sólidos solúveis e concentração de levedura), sobre as respostas (%Conversão, produtividade, $Y_{x/s}$ e $Y_{p/s}$) foi utilizado o software Statistic graphic versão 7.0 aplicando a regressão linear e a análise de variância.

Variáveis de entrada:

Variável 1 (CS)– Concentração de sólidos solúveis (°Brix)

Variável 2 (CL) – Concentração de levedura (g/L)

TABELA 4.1 – Valores codificados e reais das variáveis de entrada

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
CS (°Brix)	14	17	20
CL (g/L)	10	15	20

TABELA 4.2 – Matriz de planejamento fatorial completo 2^2+3

Experimentos	Variável 1	Variável 2
1	-1 (14°Brix)	-1 (10g/L)
2	+1 (20°Brix)	-1 (10g/L)
3	-1 (14°Brix)	+1 (20g/L)
4	+1 (20°Brix)	+1 (20g/L)
5	0 (17°Brix)	0 (15g/L)
6	0 (17°Brix)	0 (15g/L)
7	0 (17°Brix)	0 (15g/L)

Percentual de Conversão, produtividade e parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica:

O percentual de conversão e a produtividade (g/L.h) relativo a fermentação alcoólica, foram calculados pelas Equações 4.4 e 4.5, respectivamente:

$$\text{Conversão (\%)} = \frac{P}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad (4.4)$$

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = \frac{P}{t} \quad (4.5)$$

em que:

P - concentração de etanol experimental;

S_0 - concentração inicial de substrato;

t - tempo de fermentação (h).

Através das Equações 4.6 e 4.7, foram calculados os parâmetros cinéticos $Y_{x/s}$ e $Y_{p/s}$:

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (4.6)$$

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (4.7)$$

onde:

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

X₀ - concentração inicial de biomassa (g/L);

S - concentração final de substrato (g/L);

S₀ - concentração inicial de substrato (g/L);

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

P₀ - concentração inicial de produto (g/L);

Y_{x/s} (rendimento de biomassa) - quantidade de biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

Y_{p/s} (rendimento do produto) - quantidade de produto formado em relação à quantidade de substrato limitante consumido.

Análises físico-químicas durante o processo de fermentação

Durante a fermentação alcoólica foram realizadas a cada 3 horas, as seguintes análises: concentração de sólidos solúveis totais (°Brix), temperatura, pH, concentração celular (g/L), concentração de etanol (°GL) e acidez total (g/100mL).

SÓLIDOS SOLÚVEIS (°Brix): Os sólidos solúveis foram determinados pelo método da AOAC (1997).

pH: O pH foi determinado pelo método potenciométrico, com o pHmetro previamente calibrado com as soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0.

CONCENTRAÇÃO CELULAR (BIOMASSA): A concentração celular foi determinada adotando-se o método de massa seca descrito por Florentino (2006), que consistiu em separar as células do meio, secá-las e pesá-las. Com o auxílio de uma pipeta 2 mL da amostra foram transferidas para tubos de eppendorff. Os tubos foram centrifugados por 10 minutos a uma rotação de 10.000 rpm e a solução sobrenadante, aspirada e desprezada. Aos tubos, contendo a levedura, foram adicionadas água destilada, e a operação de lavagem repetida duas vezes. Após a segunda lavagem as amostras foram colocadas em estufa a 105°C por 24 horas e pesadas até massa constante.

$$\frac{M1 - M2}{V} \times 1000 \text{ g / L} \quad (4.8)$$

CONCENTRAÇÃO DE ETANOL: A concentração de etanol foi determinada utilizando-se o ebulliômetro. Inicialmente foi feita a calibração do equipamento com água destilada, até a temperatura de ebulição, a qual serve de referência para o etanol. Com a temperatura de ebulição da água e da amostra, determinar-se-á a concentração de etanol da amostra em °GL utilizando a régua de conversão que acompanha o equipamento.

A concentração de etanol expressa em g/L (Equações 4.9 e 4.11) foi obtida a partir da graduação alcoólica na escala Gay Lussac (°GL). Sabendo que 1°GL equivalente a 1% de etanol, que por sua vez equivale a 1mL/100mL (Equação 4.10).

$$1^{\circ} \text{ GL} \longrightarrow 1\% \text{ de Etanol} \longrightarrow \frac{1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = \frac{1^{\circ} \text{ GL}}{100} \quad (4.9)$$

$$P \text{ (g/L)} = \rho_{\text{Álcool}} \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left(\frac{^{\circ} \text{GL}}{100} \right) \times 1 \left(\frac{\text{L}}{\text{L}} \right) \quad (4.10)$$

$$P \text{ (g/L)} = 0,7895 \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{^{\circ} \text{GL}}{100} \times \frac{1000}{1} \left(\frac{\text{mL}}{\text{L}} \right) \quad (4.11)$$

onde:

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

ACIDEZ TOTAL: A concentração de acidez total foi determinada pelo método de titulação volumétrica seguindo a metodologia proposta por Brasil (2005).

TRASFEGA E ENGARRAFAMENTO: Finalizada a fermentação, o vinho foi levado à geladeira por 7 dias para facilitar a decantação da levedura. Após 7 dias foi feita a primeira trasfega do vinho (transferindo a bebida para outro recipiente), depois foi centrifugado em uma centrífuga com velocidade de 10.000 rpm por 15 minutos com a finalidade de eliminar a maior quantidade de levedura possível. A trasfega consiste na remoção das partículas sólidas em suspensão que, caso não sejam removidas, podem dar origem a produtos de odor desagradável, os quais depreciam o vinho (AQUARONE et al., 1983). O fermentado foi acondicionado em garrafas PET e mantido sob refrigeração até o momento da destilação.

Figura 4.7 – Fase de sedimentação da levedura



DESTILAÇÃO: A destilação foi realizada no Laboratório de Produtos Fermento Destilados da UFPB em João Pessoa/PB, onde foi usado um alambique artesanal dimensionado para fornalha de 25 litros úteis, em cobre, chapa 18, rebatido, polido e envernizado, blindado em solda de cobre e solda neutra, coluna modelo deflegmador, termômetro, flanges, tampão em bronze e uma serpentina de resfriamento em cobre adaptada a uma caixa de cobre polida e rebatida. Antes de dar início ao processo de destilação do fermentado de abacaxi, fez-se necessário uma limpeza do alambique usando uma solução ácida a base de limão com a finalidade de evitar a oxidação do cobre e conseqüentemente a contaminação do destilado. O seu aquecimento foi feito por chama direta, no qual, inicialmente, abre-se a entrada de vinho no alambique até que o fermentado fosse transferido para o alambique ocupando aproximadamente 2/3 da sua capacidade total, em seguida, o ebulidor foi fechado e deu-se início ao aquecido moderadamente por chama direta através de um queimador semi-industrial a gás butano, começando o processo de destilação.

Esta prática, além de evitar o transbordamento e a explosão brusca de líquido não destilado, é recomendada pelos especialistas como condição básica para se obter uma aguardente de qualidade. A condução operacional do processo destilatório foi desenvolvida observando-se o tempo, a temperatura, o pH, a acidez e

o teor alcoólico do destilado onde foi coletado o álcool na forma de destilado fazendo a separação das frações cabeça (10%), coração (80%) e cauda (10%). Terminada a destilação, foi aberta a válvula de alimentação para evitar o “murchamento” do ebulidor descarregando o vinhoto, as frações cabeça e cauda foram descartadas para que não interferissem na qualidade da aguardente de abacaxi.

Esse processo de destilação foi realizado em duplicata com o volume de 10,62L de fermentado de abacaxi com 8,95°GL. Com os dados obtidos durante a destilação foi feito um estudo cinético, em períodos regulares a cada volume extraído (250mL), com a finalidade de avaliar o perfil da concentração alcoólica, determinar a quantidade de etanol extraído, quantificar as frações de cabeça, coração e cauda e calcular os rendimentos em cada fase do processo.

Figura 4.8– Alambique usado na destilação da aguardente de abacaxi



DESCANSO E ARMAZENAMENTO: A aguardente recém-distilada de coloração branca apresenta um paladar agressivo e levemente amargo. Portanto, torna-se indispensável que ocorra um descanso. Uma parte da fração coração obtida na etapa de destilação foi colocada em barril de madeira de Freijó (*Cordia goeldiana*) onde permaneceu por um período de 90 dias (FIG. 4.9).

Figura 4.9 – Barril de *Freijó* utilizado no descanso da aguardente de abacaxi



4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO DESTILADO DE ABACAXI

As análises de caracterização do destilado do abacaxi foram efetuadas para avaliar a qualidade da aguardente, segundo os Métodos Oficiais de Análises para Destilados Alcoólicos, Retificados e Alcoólicos por Mistura, segundo o Decreto 2314, de 04/09/1997. Artigo 91 (BRASIL, 1997).

TEOR ALCOÓLICO: As concentrações de etanol nos destilados foram determinadas por densimetria, utilizando-se o alcoômetro de Gay Lussac, corrigindo os resultados da leitura a 20°C.

ACIDEZ TITULÁVEL: A acidez total foi obtida por titulação seguindo a metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (BRASIL, 2005).

COBRE: A determinação de cobre foi realizada pelo Instituto Tecnológico do Pernambuco – ITEP através da técnica de absorção atômica.

4.5 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

As determinações dos teores de ésteres, aldeídos, álcoois superiores e metanol e etanol da aguardente de abacaxi foram determinadas por cromatografia

gasosa no Laboratório da destilaria Gramame Industrial Agrícola GIASA S.A\PB localizada a 60 km do Porto de Cabedelo/PB.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ABACAXI

O rendimento de polpa de um fruto também é considerado um atributo de qualidade, especialmente para os frutos destinados a elaboração de produtos, cujo valor mínimo exigido pelas indústrias processadoras é de 40% (OLIVEIRA ET AL, 1999; CHITARRA E CHITARRA, 2005). Na TAB. 5.1 que se refere às pesagens e rendimentos dos frutos mostra que o abacaxi obteve um rendimento de polpa (63,57%) superior ao mínimo exigido pelas indústrias, sendo este um item favorável na produção da aguardente de abacaxi.

TABELA 5.1 – Dados referentes às pesagens e rendimentos de 10 unidades de abacaxi Pérola

Parâmetros	Resultados
Massa total dos frutos (kg)	12,79
Massa total de polpa (kg)	8,13
Massa total das cascas (kg)	3,25
Massa total de bagaço (kg)	2,45
Massa total de suco (kg)	5,68
Rendimento de polpa (% p/p)	63,57
Rendimento de suco (% p/p)	44,41
Rendimento de casca (% p/p)	25,41

A caracterização físico-química do abacaxi pode ser observada na TAB. 5.2.

TABELA 5.2 – Características físico-químicas do abacaxi

Parâmetros analisados	Média e desvio padrão
Umidade (%)	85,91 ± 0,47
Cinzas (%)	0,30 ± 0,05
Sólidos solúveis (°Brix)	14,56 ± 0,23
Vitamina C (mg/100g)	24,50 ± 0,58
pH	3,88 ± 0,09
AT (% ácido cítrico)	0,82 ± 0,03

Pode-se observar, que o suco de abacaxi possui alto percentual de umidade com 85,91%, bastante próximo ao resultado encontrado por Oliveira et al. (2012) que foi de 85,5%. Com relação ao teor de cinzas de 0,3%, quase não houve diferença do valor exposto por Oliveira et al., (2012) de 0,31%.

Entre as características de maior importância para o desenvolvimento de processos biotecnológicos, como a fermentação alcoólica, estão: o teor de sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável e pH, sendo estes atributos decisivos na escolha da matéria-prima a ser utilizada em processos fermentativos. O pH e acidez são importantes nas fermentações alcoólicas industriais por causa de sua atuação no controle de bactérias contaminantes e seu efeito sobre as taxas de fermentação, de formação de subprodutos e de crescimento das leveduras (JONES et al., 1981).

Os principais ácidos responsáveis pela acidez são o cítrico e o málico, os quais contribuem respectivamente com 80% a 20% da acidez total. A acidez titulável do abacaxi geralmente varia de 0,6% a 1,6% e é expressa como porcentagem de ácido cítrico, enquanto o pH da polpa se enquadra na faixa de 3,7 a 3,9 (GONÇALVES E CARVALHO, 2000).

O pH do suco de abacaxi foi de 3,88 como mostra a TAB 5.2. Valor próximo ao encontrado por Lima (2011) e Oliveira et al., (2012) que foram de 3,57 e 3,06 respectivamente. Com relação à acidez titulável, Oliveira et al (2012) obteve um resultado igual a 0,57 %, Reinhrdt et al (2004) obteve 0,58% e Lima (2011) 0,65%, valores consideravelmente próximos. Segundo Aquarone et al (1983), a faixa de pH entre 3,8 e 4,0 permite uma fermentação alcoólica rápida além de inibir bactérias indesejáveis. Tais informações mostram que o suco de abacaxi usado na elaboração da aguardente encontra-se dentro da faixa adequada de pH e acidez para realizar uma boa fermentação, além de mostrar-se coerente quando comparado aos dados da literatura.

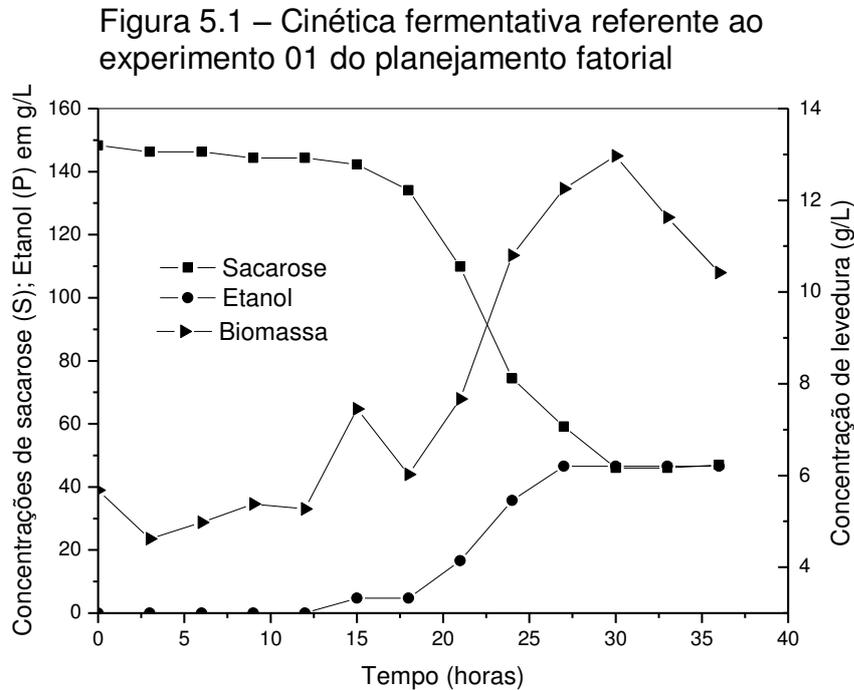
Os sólidos solúveis (SS), expressos em °Brix são os compostos que se misturam ou se dissolvem no suco da fruta, formados principalmente por açúcares, que dão o sabor doce ou ácido. De acordo com Cunha et al., (1999) o abacaxi Pérola geralmente possui um teor de SS entre 14 a 16° Brix variando também entre secções de uma mesma fruta. O valor de SS observado no abacaxi pérola é relativamente elevado (14,56 °Brix) sendo favorável a sua utilização em processos biotecnológicos.

Reinhrdt et al., (2004) observou um valor inferior ao descrito pela literatura (11,44° Brix), que segundo as Normas de Classificação do Abacaxi (2013), dita que abacaxis com teores de sólidos solúveis inferiores a 12° Brix são considerados imaduros. Oliveira et al., (2012) e Lima (2011) observaram valores de 13,56°Brix e 13,47°Brix, respectivamente. Percebe-se que os abacaxis destinados a produção da aguardente foram colhidos em estágio maduro com ótimas quantidades de açúcar apropriado para tal finalidade.

5.2 ESTUDO CINÉTICO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

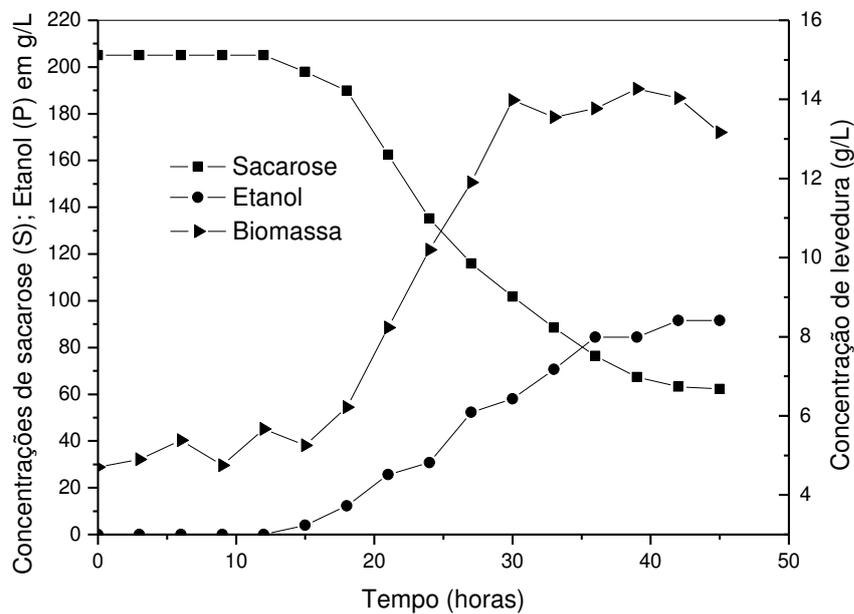
De acordo com Silva (2009), o controle das variáveis do processo de fermentação alcoólica é necessário para a produção de bebidas alcoólicas de alta qualidade e seguras para o consumo. Sendo assim, os valores dos dados experimentais estão representados pelas FIG 5.1 a 5.5, referentes às variações de concentração de substrato (S), produto (P) e biomassa (X), mostrando os perfis dos principais parâmetros do processo fermentativo, como a concentração de substrato

(sacarose), concentração de produto (etanol) e concentração celular (biomassa) todos expressos em g/L, ao longo do tempo de fermentação.



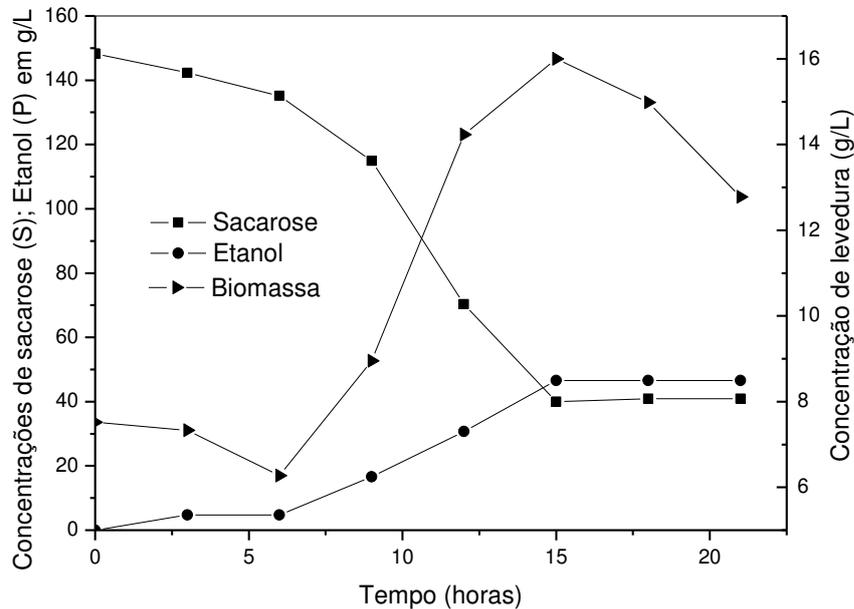
Pode-se observar na FIG. 5.1 que nas primeiras doze horas quase não houve modificações nas variáveis envolvidas no processo, esse tempo de retardo é considerado a fase de latência do microrganismo, logo em seguida verifica-se uma queda bastante significativa de sacarose ao mesmo tempo em que ocorre o aumento gradativo na produção de etanol juntamente com o aumento de biomassa. Após trinta horas de fermentação observou-se o declínio da concentração celular (biomassa) que havia atingido 12,97g/L e o início da estabilização das quantidades de sacarose e etanol. O teor alcoólico alcançado no experimento 01 foi de 46,58g/L (5,9°GL) considerado um valor fora da faixa pré-estabelecida (7,0 e 9,0° GL) para a produção de uma aguardente dentro das exigências da legislação vigente (Brasil, 2008).

Figura 5.2 - Cinética fermentativa referente ao experimento 02 do planejamento fatorial.



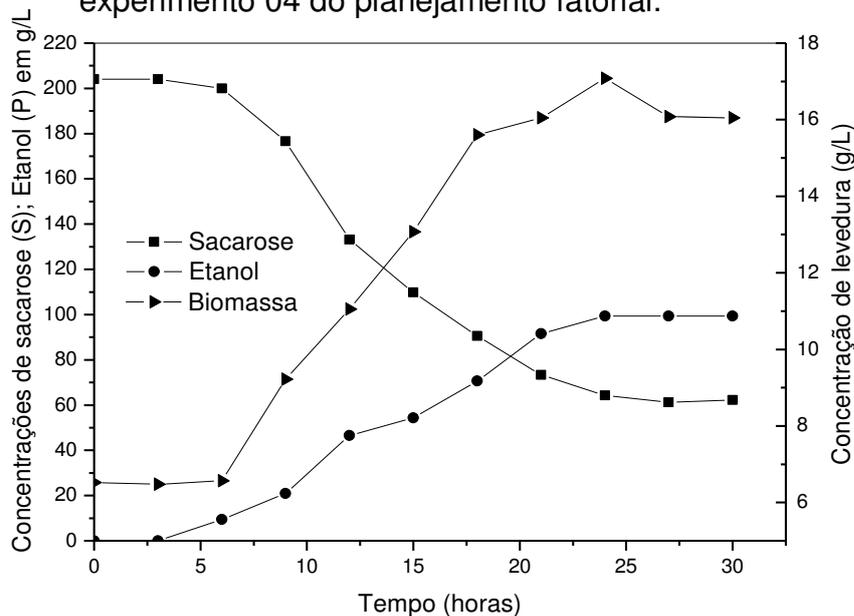
Analisando os resultados apresentados na FIG. 5.2 verificam-se o comportamento do substrato (sacarose), produto (etanol) e concentração celular (biomassa) em relação ao tempo de fermentação para o experimento 02. As concentrações iniciais de SS ($^{\circ}$ Brix) e levedura (g/L) foram 20,1 e 4,70 respectivamente. No processo de fermentação houve um decaimento da concentração de sacarose após 12 horas de fermentação decorrente do consumo (metabolismo) do substrato pelo microrganismo atingindo níveis próximos de 14,27 g/L de biomassa e uma produção de etanol de 91,59g/L (11,6 $^{\circ}$ GL). A quantidade de etanol produzida encontra-se acima da faixa desejada (7,0 a 9,0 $^{\circ}$ GL) para obtenção de uma aguardente dentro das exigências especificadas pela legislação vigente (Brasil, 2008). Isso porque, a etapa de destilação consiste em um processo de concentração do grau alcoólico e no caso de 11,6 $^{\circ}$ GL seria necessário em uma escala industrial, sofrer ajustes, diluindo-se o fermentado.

Figura 5.3 - Cinética fermentativa referente ao experimento 03 do planejamento fatorial.



No experimento 03 observou-se um declínio rápido da concentração de sacarose nas primeiras seis horas de fermentação, diferentemente dos experimentos 01 e 02 que mostraram retardo no processo de transformação de sacarose em etanol. Essa progressão acelerada na produção de etanol deve-se provavelmente à elevada concentração de levedura no mosto que chegou a atingir 16g/L. Nota-se que, durante todo o processo à medida que decaía a concentração de substrato ocorre um aumento proporcional de produto, característico do perfil ideal da fermentação alcoólica, estabilizando em 3,9º Brix. Mesmo tendo uma atuação fermentativa acelerada, o valor de etanol (46,58g/L) atingido foi abaixo do mínimo necessário para a produção de aguardente (7 a 9º GL).

Figura 5.4 - Cinética fermentativa referente ao experimento 04 do planejamento fatorial.

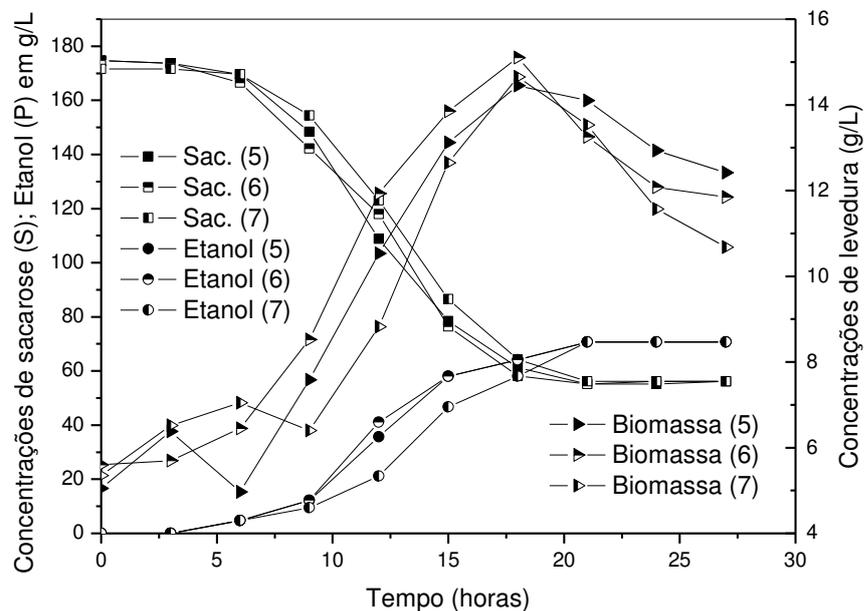


Os resultados obtidos no experimento 04 do planejamento fatorial estão representados pela FIG. 5.4 Após seis horas de fermentação nota-se o início do decaimento da sacarose e o aumento da produção de etanol proporcionalmente. Verifica-se também um aumento gradativo na concentração de levedura atingindo o pico máximo de 17,07g/L seguida de um declínio decorrente ao elevado teor alcoólico (99,32g/L). Passada vinte e quatro horas de fermentação observa-se uma estabilização do teor de SS entre 5,9 e 6,2^o Brix sinalizando o término da fermentação. Devido o alto teor alcoólico (12,59^oGL) o experimento 04 também mostra a necessidade de ajustes em escala industrial (a diluição).

Os quatro experimentos distintos do planejamento fatorial (FIG. 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4) apresentaram um perfil cinético onde é possível observar coerência entre as variáveis envolvidas no processo fermentativo, mas em contrapartida, os resultados obtidos mostraram a necessidade de ajustes em escala industrial para a elaboração de aguardente.

O comportamento cinético do ponto central do planejamento fatorial feito em três repetições, e pode ser observado através da FIG 5.5.

Figura 5.5 - Cinética fermentativa referente ao ponto central (experimentos 05, 06 e 07).



Verificou-se que os experimentos apresentaram boa reprodutibilidade dos dados referentes aos principais parâmetros: concentração de substrato (sacarose), concentração do produto (etanol) e concentração celular (levedura). Os valores iniciais de °Brix e levedura foram próximos de 17,0 e 5,34g/L, respectivamente, nota-se uma queda constantemente acelerada das concentrações de sacarose a partir das seis primeiras horas de fermentação em decorrência ao consumo do substrato pelos microrganismos cessando doze horas depois quando atingiram a estabilidade em torno de 5,4° Brix. Com relação à produção de etanol pode-se perceber uma progressão lenta durante todo o processo de fermentação alcançando ao final um teor alcoólico de 70,66g/L (8,98°GL), valor considerado ideal para a elaboração de aguardente. A concentração de levedura apresentou um crescimento rápido chegando ao seu pico máximo em 15,10g/L e decrescendo em seguida devido ao elevado teor alcoólico.

5.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

Analisou-se a influência das variáveis de entrada (independentes): concentração de sólidos solúveis (SS) em °Brix e concentração de leveduras dada em g/L, utilizando-se a matriz de planejamento experimental fatorial $2^2 + 3$ (TAB 4.2) onde as variáveis respostas foram: Produtividade, expresso em $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$; rendimento

teórico ($Y_{p/s}$), rendimento em biomassa ($Y_{x/s}$) e percentual de conversão do substrato em produtos ou eficiência do processo durante a fermentação alcoólica do suco de abacaxi, cujo objetivo foi otimizar as condições operacionais do sistema de produção de aguardente de abacaxi. Os valores desses parâmetros cinéticos foram calculados utilizando as Equações 3.1 e 3.3. Na TAB. 5.3 são apresentados os dados relativos aos parâmetros cinéticos que foram calculados para o fermentado de abacaxi.

TABELA 5.3 - Resultados da % conversão, produtividade, $Y_{P/S}$ e $Y_{X/S}$ do processo fermentativo do suco de abacaxi.

Experimentos	Variáveis de entrada		Parâmetros (Respostas)			
			Conversão (%)	Produtividade (g/L.h)	$Y_{P/S}$	$Y_{X/S}$
1	14º Brix	10g/L	81,24	1,55	0,413	0,072
2	20 º Brix	10g/L	87,42	2,04	0,447	0,060
3	14 º Brix	20g/L	79,26	2,59	0,405	0,057
4	20 º Brix	20g/L	95,25	3,68	0,487	0,047
5	17 º Brix	15g/L	98,55	2,94	0,504	0,056
6	17 º Brix	15g/L	98,35	2,94	0,504	0,046
7	17 º Brix	15g/L	98,21	2,94	0,501	0,044

Comparando os dados da TAB. 5.3 com os resultados obtidos por Almeida (2007) que trabalhou com o fruto do mandacaru, nota-se que alguns dos experimentos realizados com suco de abacaxi apresentaram maior percentagem de conversão que o experimento com o fruto do mandacaru (91,82%). Com relação à produtividade o valor alcançado por Almeida (2007) foi superior na maioria dos experimentos com o abacaxi, com exceção apenas do experimento quatro, consequentemente pelo fato de que este tenha sido realizado com maior quantidade de substrato e levedura. O rendimento de biomassa com relação ao substrato ($Y_{x/s}$) foi mais elevado no experimento com o fruto do mandacaru (0,075) e o rendimento de produto com relação ao substrato ($Y_{p/s}$) do fermentado do mandacaru (0,469)

chegou próximo aos valores obtidos com os experimentos do ponto central do planejamento fatorial realizado com o suco de abacaxi.

Silva (2009) mostra em seu trabalho com a otimização do processo de produção da aguardente de algaroba que a maioria dos seus ensaios, com exceção do primeiro, alcançaram valores superiores de produtividade variando de 3,62 a 5,047 $\text{gL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Em contrapartida, obtive-se menores valores referentes ao percentual de conversão (55,166 a 86,585%), ao rendimento de produto com relação ao substrato (0,282 a 0,442) e rendimento de biomassa com relação ao substrato (0,009 a 0,046).

No trabalho realizado por Rocha (2008), com a produção de aguardente a partir do fruto da palma forrageira obteve-se baixos valores de produtividade (1,19 $\text{gL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) e conversão (88,0%) e um rendimento de produto com relação ao substrato (0,450) próximo aos resultados desta pesquisa. Já Fontan (2011) obteve alto valor no percentual de conversão (94,0%) na produção de vinho de melancia além de uma produtividade de 1,65 $\text{gL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Referente ao rendimento de biomassa e produto com relação ao substrato encontrou valores de 0,14 e 0,65 respectivamente.

Mediante a tais comparações, torna-se possível afirmar que o percentual de conversão, produtividade e rendimento de biomassa e produto em relação ao substrato obtidos nesta pesquisa, estão dentro da faixa encontrada na literatura, mostrando valores superiores quando comparado com os dados do ponto central do planejamento fatorial (TAB. 5.3) o que significa que os experimentos alcançaram bons resultados sendo indicativo de viabilidade técnica de produzir a aguardente de abacaxi utilizando a levedura comercial na etapa do processo fermentativo em batelada.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com o objetivo de examinar a influência das variáveis de entrada: Concentração de Sólidos Solúveis e Concentração de levedura sobre as variáveis de respostas: %Conversão, produtividade, Y_p/s e Y_x/s , os dados experimentais foram submetidos a uma análise de regressão linear, utilizando o programa Statistic Graf 7.0. Os resultados obtidos mostraram que somente a produtividade sofreu influência das variáveis de entrada (SS e CL).

A Tabela 5.4 e 5.5 exibem respectivamente a equação da regressão linear ajustado para produtividade, e a análise de variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros através de uma regressão para produtividade com nível de 90% de confiança.

TABELA 5.4 – Modelo empírico decodificado para a produtividade analisados ao nível de 90% de confiança

Modelo empírico	R²	Teste F
Produtividade = 2,67 + 0,395SS* + 0,67CL*	0,84	2,21

* Coeficientes significativos ao nível de 90% de confiança

TABELA 5.5 – Análise de variância para produtividade ao nível de 90% de confiança

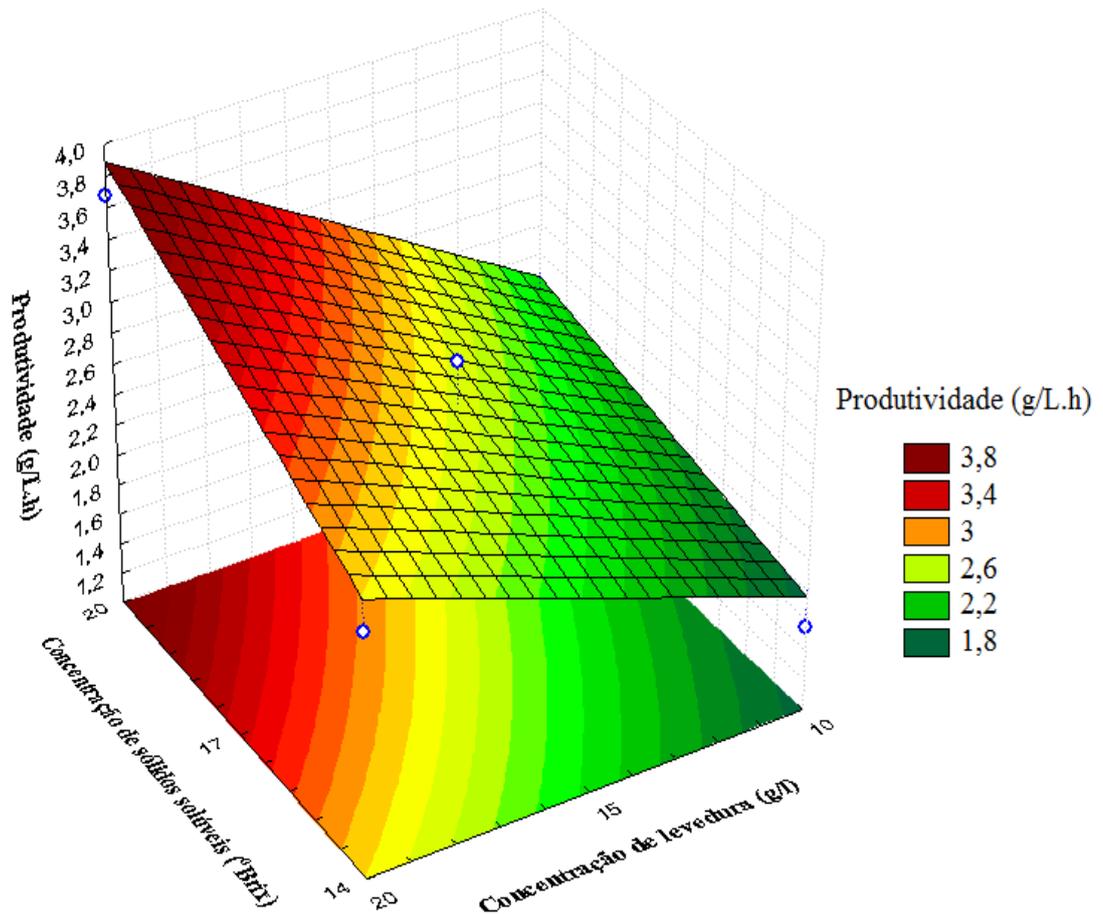
Fonte de variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	2,420	3	0,810	2,21
Resíduo	0,477	4	0,119	
Total	2,897	6		
R ²	0,84			
F Tab	3,07			

GL= Grau de liberdade; SQ= Somas dos quadrados; QM= Quadrado médio dos desvios

Pode-se observar por meio do teste F que o valor do F calculado foi maior que o valor do F tabelado para nível de 90% de confiança. Portanto, conclui-se que o modelo empírico é estatisticamente significativo (BARRO NETO, et al. 1995)

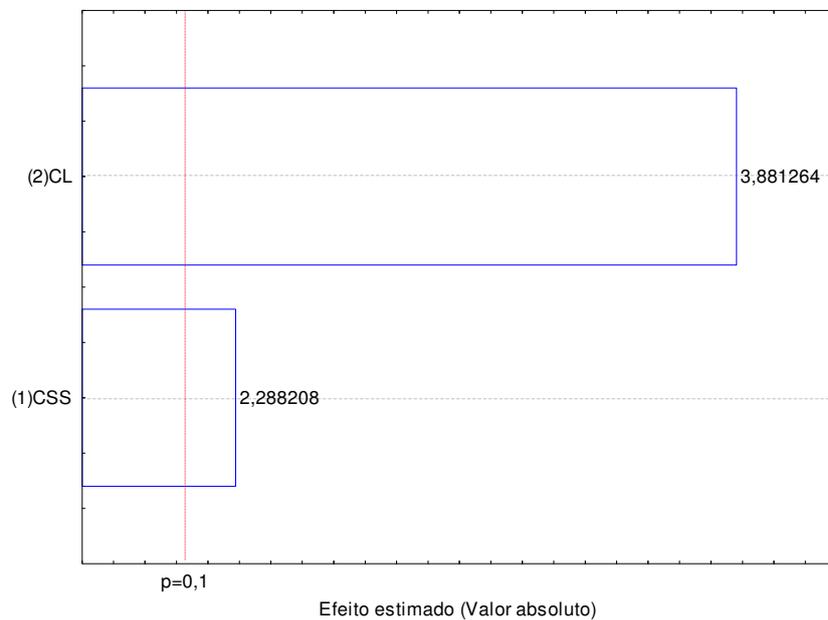
Nota-se através da FIG. 5.6, que o aumento da concentração de levedura proporciona maior elevação da produtividade que o aumento da concentração de sólidos solúveis, evidenciando que a concentração de levedura exerce maior influência sobre a produtividade que a concentração de sólidos solúveis.

Figura 5.6 – Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações de levedura e sólidos solúveis(°Brix) para o fermentado de abacaxi.



O diagrama de Pareto apresenta graficamente os efeitos significativos ao nível de confiança utilizado. Os valores que ultrapassam o valor p são considerados estatisticamente significativos observando-se o teste t . Nota-se na FIG 5.7, que tanto a concentração de levedura como a concentração de sólidos solúveis causaram efeitos significativos na produtividade, sendo a concentração de levedura mais expressiva, ou seja, exerce maior influência nos resultados.

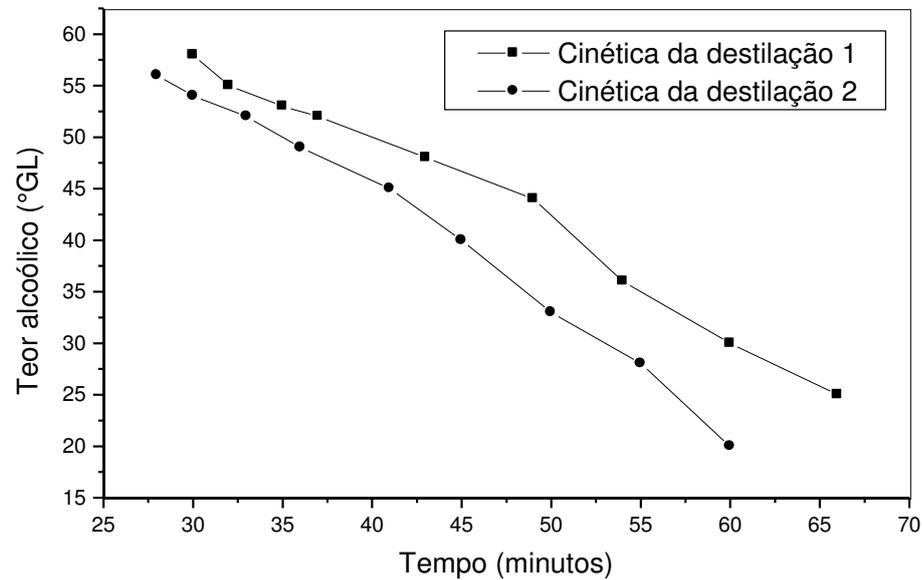
Figura 5.7 – Diagrama de Pareto para a produtividade do fermentado de abacaxi



5.5 ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO DE DESTILAÇÃO

A FIG. 5.8 apresenta a cinética da destilação do mosto fermentado de abacaxi, em duplicata, mostrando a redução do teor alcoólico com o aumento de tempo de destilação. Nota-se no início do processo, a obtenção de um destilado com elevado teor alcoólico (58 a 56° GL) concebendo a fração cabeça a uma temperatura de 29°C, essa fração é caracterizada pelo alto teor de substâncias de menor ponto de ebulição que o álcool, como por exemplo, o metanol. Em seguida, pode-se observar a formação das porções correspondentes a fração coração com teor alcoólico em torno de 55 a 56°GL reduzindo-se no decorrer do processo até o valor de 28 a 31 °GL. Por fim, apresenta no fim da curva, um destilado com 20 e 25°GL, sendo esta a cauda. Com relação à temperatura pode-se observar um considerado aumento em meados do processo estabilizando-se em seguida.

Figura 5.8 - Cinética da destilação do mosto fermentado de abacaxi com grau alcoólico de 8,98°GL



5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AGUARDENTE DE ABACAXI

Na Tabela 5.6 estão expostos os resultados das análises físico-químicas da aguardente de abacaxi e o padrão de exigência do Ministério da Agricultura Pecuária de Abastecimento (2008).

TABELA 5.6 – Resultados das análises dos componentes voláteis na aguardente de abacaxi em relação às normas estabelecidas pela legislação para aguardentes de fruta

Componentes	Coração			
	Recém-destilada	Após descanso de 90 dias	**Padrão (MAPA)	
			mg/100mL	
			Min.	Max.
Teor alcoólico (v/v)	40,96	40,05	36,00 v/v	54,00 v/v
Acetaldeído	15,60	17,58	-	30
Metanol	2,53	3,35	-	20
Acetona	-	0,076	-	-
Acetato de etila	1,84	2,01	-	250
N-propanol*	14,92	12,48	-	-
Isobutanol*	43,99	34,36	-	-
Isoamílico*	90,09	65,99	-	-
Álcoois superiores (*)	149,00	112,83	-	360
Ésteres	2,01	1,84	-	250
Acidez titulável	59	59	-	100
Cobre	3,10	4,50		0,5
Coef. Congêneres***	-	-	200	650

**PORTARIA Nº 65, DE 23 DE ABRIL DE 2008. O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe conferem os arts. 9º e 42º, Anexo I, do Decreto nº5.351, de 21 de janeiro de 2005, tendo em vista o disposto no Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, alterada pela Lei nº 8.936, de 24 de novembro de 1994, e o que consta do Processo nº 21000.002762/2008-86.

***Art 85. Os coeficientes de congêneres dos destilados, bebidas destiladas e retificadas, não previstos neste Regulamento, quando necessário, serão estabelecidos em ato administrativo complementar. Parágrafo único. **DECRETO Nº**

2.314, DE 4 DE SETEMBRO DE 1997. Art. 85. Parágrafo único. Entende-se como coeficiente de congêneres, ou componentes voláteis não-álcool, ou substâncias voláteis não-álcool, ou componentes secundários não-álcool, ou impurezas voláteis não-álcool, a soma de acidez volátil, expressa em ácido acético, aldeídos, expresso em acetaldeído, ésteres, expresso em acetato de etila, álcoois superiores, expressos pelo somatório dos mesmos, e furfural, todos expressos em miligramas por cem mililitros de álcool anidro.

Conforme TAB 5.6, pode-se observar que o teor alcoólico da aguardente de abacaxi recém destilada e submetida ao descanso em barril de freijó encontram-se dentro da faixa exigida pela legislação e semelhante ao teor alcoólico das bebidas fermento-destiladas oferecidas no mercado.

A presença de acetaldeído nas bebidas desempenha papel importante no desenvolvimento de sabor (BERRY, 1995). De acordo com Torres Neto et al., (2006), o acetaldeído é formado no decorrer da fermentação sendo um produto do metabolismo primário produzido a partir de aminoácido presentes no meio fermentativo e pela oxidação do etanol. Na aguardente de abacaxi foi encontrado um valor de 15,6mg/100mL para aguardente recém destilada e 17,58 para a aguardente descansada, essa elevação da quantidade de aldeído após o descanso acontece por serem produtos intermediários da oxidação do álcool ocorrida durante a etapa de descanso.

Com relação aos ésteres, expresso em acetato de etila, obteve-se baixos valores, onde a aguardente descansada apresentou quantidade um pouco maior que a recém-destilada, mas ainda dentro dos limites estabelecido pela legislação. Segundo Borragine (2009), com o envelhecimento ou descanso os destilados adquirem um teor mais elevado de ésteres e, conseqüentemente, um aroma mais agradável já que estes compostos são considerados os principais responsáveis pelo desenvolvimento do aroma dos destilados.

A quantidade de álcoois superiores (isoamílico, iso-butanol, n-propanol) encontrada na aguardente de abacaxi foi menor que em aguardentes de outras frutas, como por exemplo, a do fruto da palma forrageira que apresentou um valor de 149,90 e 371,62 chegando a ultrapassar o limite de 360 especificado na legislação (ROCHA, 2008).

O ácido acético é o ácido predominante em bebidas fermento-destiladas, este ácido é produzido pela levedura durante a fermentação alcoólica ou pelas bactérias

acéticas (BORRAGINE, 2009). Os resultados de acidez da aguardente de abacaxi descansada não teve diferença da aguardente recém destilada. A obtenção de baixos valores de acidez é justificado pelas boas práticas de higiene durante todo o processo de fermentação alcoólica, já que o nível de ácido acético está diretamente interligado a contaminações bacterianas indesejáveis. Esse fato, caracteriza a aguardente produzida como um produto de boa qualidade.

Verificou-se na TAB 5.6, que a aguardente de abacaxi apresentou elevados teores de cobre: 3,1mg/100mL (recém-destilada) e 4,5mg/100mL (descansada), sendo este um indicativo de falhas na higienização do alambique de cobre utilizado no processo de destilação. De acordo com Asquieri et al., (2009), para evitar altos níveis de cobre, recomenda-se a limpeza apropriada de alambiques e/ou tratamento da aguardente com carvão ativado.

Azevedo et al., (2003) analisaram 45 amostras de aguardente em vários municípios de Minas Gerais e constataram que 6,7% das amostras analisadas estavam contaminadas por cobre e que os alambiques investigados apresentavam má higienização. Por outro lado, Silva (2009) verificou na aguardente de algaroba fermentada com o fermento comercial, valores de 0,043 mg/L para o teor de cobre, bem abaixo do limite máximo de 5 mg/L estabelecido pela legislação, o que pode ser atribuído ao tratamento de limpeza do alambique, antes da destilação com uma solução ácida a base de limão.

Garbin et al., (2005) analisaram os níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, e os resultados mostraram que 42,86-60,00% das amostras analisadas encontraram-se fora dos parâmetros legais. A presença de cobre em aguardentes deve-se principalmente, à dissolução da parede interna do alambique pelos componentes da própria aguardente durante o processo de destilação. De acordo com Garbin et al (2005), o metal do alambique quando exposto ao ar úmido contendo gás carbônico, se oxida lentamente ficando coberto por uma camada esverdeada de azinhavre $[\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$ carbonato básico de cobre, esta camada é então dissolvida pelos vapores alcoólicos contaminados com ácidos carboxílicos, gerados durante o processo de destilação da aguardente o que acaba contaminando o produto.

6. CONCLUSÕES

- A matéria-prima utilizada apresentou características físico-químicas adequadas para aplicação em processos biotecnológicos, e pode ser usada como insumo na elaboração de aguardente de fruta;
- Os experimentos do ponto central com 17º Brix e 15g/L de levedura apresentaram a melhor condição para obter-se um fermentado alcoólico com um teor de etanol suficiente para obtenção da aguardente;
- Os resultados dos parâmetros % de conversão, produtividade, $Y_{P/S}$ e $Y_{X/S}$ do processo fermentativo do suco de abacaxi comprovou o bom desempenho da levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae*;
- O experimento 4 (20ºBrix e 20g/L levedura) apresentou maior percentual de conversão e produtividade que os demais experimentos, porém, com teor alcoólico superior a faixa desejada (7 a 9ºGL), necessitando conseqüentemente de uma diluição como ajuste em escala industrial;
- Através da análise da superfície de resposta e do diagrama de Pareto identificou-se uma influência significativa das duas variáveis de entrada sobre a produtividade, sendo que a concentração de levedura foi a variável de maior influência;
- A aguardente de abacaxi apresentou características físico-químicas dentro dos parâmetros exigidos pela legislação vigente (Brasil, 2008), exceto o teor de cobre, devido às condições inadequadas de higienização do alambique;
- Após o descanso de 90 dias em barril de freijó, observou-se uma pequena alteração da cor e aroma na aguardente de abacaxi, adquirindo uma coloração levemente âmbar e aroma emadeirado;

- Esta pesquisa comprovou que o uso de abacaxi como matéria-prima para elaboração de aguardente é uma excelente alternativa para o aproveitamento de excedente de safra, contribuindo para o desenvolvimento da agroindústria e conseqüentemente colaborando para melhores condições de emprego e renda nas propriedades rurais, principalmente do Estado da Paraíba.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. M. de. **Estudo da bioconversão do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) para produção de bioprodutos**. Campina Grande: UFCG/CCT, 2007. 145p. (Tese de Doutorado).

ALVARENGA, R. M. **Avaliação de parâmetros da fermentação e da destilação para adequação dos teores de compostos secundários em aguardente de banana**. Belo Horizonte/MG. Faculdade de Farmácia da UFMG, 2011. 157p. (Tese de Doutorado).

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16.ed. Gaithersburg: AOAC, 1997. v.2, 1141p.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U.A. **Biotecnologia Industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2001.

AQUARONE, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação: biotecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. v. 5, 43 p.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D.W. Cooper (II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. **J. Agric. Food. Chem.**, Washington, v.49, n.6, p.2819-2824, 2001.

ASQUIERI, E. R.; SILVA, A. G. de M.; CANDIDO, M. A. Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Goiânia/GO. p.896-904, 2009.

AZEVEDO, S.M. ; CARDOSO, M.G.; PEREIRA, N.E.; RIBEIRO, C.F.S.; SILVA, V.F.; AGUIAR, F.C. et al. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciênc. agrotec.**, Lavras. v.27, n.3, p.618-624, maio/jun., 2003. Disponível em <<http://www.eng.ufsc.br.labs/probioprojeto>>. Acesso em: 11/12/2006.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermentación alcohólica. In: FLANZY, C. **Enología: fundamentos científicos e tecnológicos**. Madrid: Mundi-Prensa e AMV, 2000, p. 274-315.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1995. 401p.

BATTAGLIA, R.; CONACHER, R.B.S.; PAGE, B.D. Ethyl carbamate (urethana) in alcoholic beverages and foods: a review. **Food Addit. Contam.**, London, v.7, n.4, p.477-496, 1990.

BERRY, D.R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. **Beverages: origin and development**. Flórida: Verlag Chemie, 1983. p. 64-78.

BERRY, D.R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. **Fermented Beverage Production**. 1ed. London: Blackie Academic & Professional. Cap.2, p. 32-34, 1995.

BLEINROTH, E. W. Matéria Prima. In: MEDINA, J. C.; BLEINROTH, E. W.; MARTIN, Z. J. de; SOUZA JUNIOR, A J. de; LARA J. C. de; HASHIZUMET, T.; MORETTI, V. A.; MARQUES, J. F. **Abacaxi: da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas: ITAL, 1978, p. 69-94.

BORRAGINI, M. C. C. **Envelhecimento da cachaça com circulação forçada e aeração**. Araraquara. Universidade Estadual Paulista. 2009. 90p. (Dissertação de Mestrado em Ciências dos Alimentos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). IV edição.

BRASIL, Decreto nº 2314, 4 set. 1997, **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 de set., 1997. 1997.

BRASIL. Decreto Nº 8.918, 14 de Jul. 1994, **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 Jul., 1994.

BRASIL. Portaria Nº 65, 23 de Abr. 2008, **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 Abr., 2008.

CARDELLO, H.M.A.B., FARIA, J.B. Modificações físico-químicas e sensoriais de aguardente de cana durante o envelhecimento em tonéis de carvalho. **Bol. Centrode Pesquisa e Processamento de Alimentos** v.15, n.2, p. 87-100, 1997.

CARDOSO, M. G. Produção de aguardente de cana-de-açúcar. In: Lavras; Editora UFLA, 2001. 264p.

CARDOSO, M. G.; Produção de aguardente de cana, 2a ed., UFLA: Lavras, 2006.

CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. **Química Nova**, vol. 26, n.2, 165-169, 2003.

CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, E. F. de; LACERDA, J. T. de; NETO, M. B.; ARAUJO, J. X. de. Controle alternativo da fusariose do abacaxi. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DO ABACAXI, 6., 2007, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa, PB, 2007. p. 96.

CHITARRA, M.I.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CUNHA, G. A. P. da; SILVA, S. de M.; MENDONCA, R. M. N.; MASCENA, J.; VILAR, L. da C.; LACERDA, J. T. de. Produção Integrada de Abacaxi na Paraíba e Bahia- Brasil. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DO ABACAXI, 6., 2007, João Pessoa, **Anais...**João Pessoa PB, p. 178.

CUNHA, G.A.P. da; CABRAL, J.R.S. Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. In: CUNHA, G.A.P. da; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. (Org.) **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p.17-5,1999

DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 342-350, set.-dez. 2003.

ENGAN, S. The influence of some aminoacids on the formation of higher aliphatic alcohol and esters. *Journal Institute of Brewing*, London, v. 76, p. 254-256, 1970.

EPSTEIN, L. Cultura – Abacaxi. 1999. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Abacaxi.htm>>. Acesso em: 20 set. 2013.

FARIA, J. B. et al. Cachaça, Pisco e Tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). Fermented beverage production. 2 ed. New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2003. cap. 15, p. 335-363.

FARIA, J. B. A redução dos teores de cobre contaminante das aguardentes de cana (*Saccharum officinarum* L.) brasileiras. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, SP, 1982, 52p.

FONTAN, R.C.I.; VERÍSSIMO, L.A.A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. **Bol. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. V.29, n. 2, p. 203-210, Curitiba, jul./dez, 2011.

FLORENTINO, E. R. **Aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática**. 2006. 138f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Engenharia Química, Natal.

GARRUTI, D.S. **Compostos voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. 2001. 218f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas.

GARBIN, R., BOUSZ JUNIOR, S., MONTANO, M.A. **Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil**. Ciências Rural Santa Maria, v.35, n.6, p.1440, Nov-dez, 2005

GIACOMELLI, E. J.; PY, C. **Abacaxi no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1981. 101 p

GONÇALVES, N.B.; CARVALHO, V.D. de. Características da fruta. In: GONÇALVES, N.B. (Org.). Abacaxi: pós-colheita. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de Tecnologia. Cap.2, p.13-27 (**Frutas do Brasil, 5**) 2000.

GUTIERREZ, L.E. Produção de álcoois superiores por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação alcoólica. Scientia Agrícola, Piracicaba, v.50, n.3, p.464-472, 1993.

HART, H.; SCHUETZ, R.D. **Química orgânica**. Rio de Janeiro. Campus, 1983. Cap.11, p. 218-244.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Banco de dados agregados. SIDRA: Sistema IBGE de recuperação automática. **Levantamento Sistemático da Produção agrícola**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/> Acesso em: 10 set. 2013.

JONES, R.P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P.F. **Alcohol fermentation by yeasts: The effect of environmental and other variables.** *Process Biochemistry*, London, v.16, 1981, p.42 – 49.

LÉAUTE, R. Distillation in alembiq. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 41, p. 30-103, 1990.

LIMA NETO, B. S., BEZERRA, C. W. B.; POLASTRO, L. R.; CAMPOS, P.; NASCIMENTO, F. R.; FRANCO, D. W. O cobre em aguardentes brasileiras: sua quantificação e controle. **Química Nova**, São Paulo, v.17, n.3. p.220-223, 1994.

LIMA, U. A. **Estudo dos principais fatores que afetam os componentes do coeficiente não álcool das aguardentes de cana.** 1964. 141 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1964.

LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos.** v. 4. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2001. 593p.

LIMA, A. B. de. **Qualidade e conservação pós-colheita de abacaxis ‘pérola’ e ‘MD2’ sob manejo orgânico convencional na agricultura familiar.** Areia: UFCG/CCA, 2011. 211p. (Tese de Doutorado)

MAIA, A.B.R. Componentes secundários da aguardente. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos.** Piracicaba, v.12, n.6, p.29-34, jul./ago., 1994.

MENDONÇA, A. T. **Identificação e estudo das características fisiológicas da *Saccharomyces cerevisiae* presentes em fermentação espontânea de cana-de-açúcar.** 1999. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

MILLER, G. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry.** v.31, p. 426-428. 1959.

MILLÁN, C.; ORTEGA, J.M. Production of ethanol, acetaldehyde and acetic acid in wine by various yeasts races: role of alcohol and aldehyde dehydrogenase. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.39, n.2, p.107-112, 1988.

MOSHA, D.; WANGABO, J.; MHINZI, G. African traditional brews: how safe are they?, **Food Chemistry**, V.57, n.2, p. 205-209, 1996.

MUTTON, M.J.R. (ed). **Aguardente de cana – produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 171p.

NAGATO, L.A.F.; SILVA, O.A., YONAMINE, M., PENTEADO, M. de V.C. Quantitation of ethyl carbamate (EC) by gás chromatography and mass spectrometric detection in distilled spirits. **Alimentaria**, Madrid, 311, p. 31-36, 2003.

NASCIMENTO, R.F.; LIMA NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Aldeídos em bebidas alcoólicas fermento-destiladas. **Rev. Engarrafador Moderno**, v.7, n.49, p.75-77, jan./fev., 1997.

NOVAES, F.V., Testes e análises realizados para assegurar a qualidade da aguardente brasileira. **Engarrafador Moderno**, jul/ago, p. 79-81, 1996.

NIKÄNEM, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and alcoholic beverages. **Am. J. Enol. Vitic.** v.37, p.84-96, 1986.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile Compounds In Food And Beverages**. New York: Marcel Dekker, Inc, 1991. p.548-580.

OLIVEIRA, E.S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais**. Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de Campinas, 2001. 135p. (Tese, Doutorado em Tecnologia de Alimentos).

OLIVEIRA, J. A. R.; CARVALHO, A. V.; MARTINS, L.H.S.; MOREIRA, D. K. T. Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de estruturas de polpa concentrada de abacaxi. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v.23, n. 1, p. 23-31, 2012.

OLIVEIRA, M.E.B.; BASTOS, M.S.R.; FEITOSA, T.; RANCO, M.A.A.C.; SILVA, M.G.G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v. 19, n. 3, p. 326-332, set./dez.1999.

OSHIRO, C. R. (Org.); MACCARI JUNIOR, A. (Org.). **Cachaças do Paraná: de gole em gole da cana ao copo** 1. ed. SEBRAE-PR, 2005.104 p.

PIGGOTT, J. R. et al. **The Service and Technology of Whiskies**: New York: Longman, 1989.

PUECH, J. L. Viellissement du cognac. **Sciences des Aliments**, v. 4, n. 1, p. 66-80, 1983.

QUAIN, D. E. Studies of yeast physiology-impact on fermentation performance and, product quality. **J. INST. BREW.** Vol. 95, no. 5, pp. 315-323. 1988

REINHARDT, D. H.; SOUZA, L. F. da S.; CABRAL, J.R.S. Abacaxi. Produção: Aspecto técnico. **Embrapa**, Brasília. 77p., 2000.

REINHARDT, D. H.; MEDINA, V. M.; CALDAS, R. C.; CUNHA, G. A. da; ESTEVAM, R. F. H. Gradiente de qualidade em abacaxi pérola em função do tamanho e de estágio de maturação do fruto. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal. V.26, n. 3, p. 544-546, dez. 2004.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO J. Elaboração de destilado do vinho na propriedade vitícola. **Embrapa Uva e Vinho**, Bento Gonçalves RS, 2001. 31p.

ROCHA, A. S. **Produção e avaliação físico-química da aguardente do fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus – indica* Mill)**. Campina Grande: UFCG/CTRN, 2008. 76p. (Dissertação de Mestrado).

SALUNKHE, D. K., DESAI, B. B. **Postharvest biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC Press, 1984. v. 2, 194p.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial**. São Paulo, Edgard Blücher Ltda, vol.2, 2001.

SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação alcoólica. In: CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001.

SILVA, C. G. da. **Otimização da fabricação da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares**. Campina Grande: UFCG/CCT, 2009. 235p. (Tese de Doutorado)

SILVA, M. C.; AZEVEDO, L. C. de; CARVALHO, M. M. de; SÁ, A. G.B. de; LIMA, M. S. Produção e avaliação de aguardente de manga envelhecida com chips de carvalho francês e umburana de cheiro. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 5, 2011, Maceió. **Anais...** Maceió: Centro de convenções, 2011.

SOLES, R. M., OUGH, C.S., KUNKEE, R.E. Esters concentration differences in wine fermented by various species and strains of yeasts. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.33,n.2, p.94-98, 1982.

SOUZA, M. D. C. A.; DEL MASTRO, N. L. Irradiation of cane sugar spirit. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 257-259, 2000.

STELLA, F. M. **Efeito da filtração com resinas iônica sobre a qualidade da cachaça**. Curitiba. Universidade Federal do Paraná, 2010. 98p. (Dissertação, Mestrado em Tecnologia de Alimento).

SUOMALAINEN, H; NIKANEN, L.; ERIKSSON, K. Composition and consumption of alcoholic beverages – A review. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.25, n.4, p.179-187, 1974.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967, 428p.

TAVARES, L. S.; ALVES, J. G. L. F.; SOARES, A. O.; CARNEIRO, J. de D. S., LEAL, R. S.; REZENDE, D. C. Desenvolvimento de aguardente de goiaba: Teste de conceito. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19, 2010, Lavras. **Anais...** Lavras.

THE, P. M. P. **Efeitos da associação de tratamento hidrotérmico, cloreto de cálcio e atmosfera modificada sobre o escurecimento interno e qualidade do abacaxi cv. Smooth cayenne**. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B. SWARNAKAR, R.; SILVA F. L. H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, v.29 n.3, p.489-492, 2006.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2005. 549p.

YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia André Tosello, 1995. 92p. (Série Fermentações industriais, n.2)

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, London, v. 57, p. 508-514, 1954.