



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**



**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE
PRODUTOS AGRÍCOLAS**

**OBTENÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO CALDO EXTRAÍDO DE VAGENS DE
ALGAROBA (*Prosopis juliflora* Sw DC)**

MANOEL TOLENTINO LEITE FILHO

**CAMPINA GRANDE - PB
FEVEREIRO/2016**

MANOEL TOLENTINO LEITE FILHO

**OBTENÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO CALDO EXTRAÍDO DE VAGENS DE
ALGAROBA (*Prosopis juliflora* Sw DC)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Agrícola na Área de Concentração, Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas.

ORIENTADORES: Prof. Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata
Profa. Dra. Maria Elita Martins Duarte

**CAMPINA GRANDE - PB
FEVEREIRO/2016**

MANOEL TOLENINO LEITE FILHO

**OBTENÇÃO DE ÁLCOOL A PARTIR DO CALDO EXTRAÍDO DE VAGENS DE
ALGAROA (*Prosopis Juliflora Sw DC*)**

Data: 29/02/2016 às: 09h00min

Resultado: Aprovado

BANCA EXAMINADORA

PARECER

Prof. Dr. Mario Eduardo R. M. Cavalcanti Mata
(Orientador UFCG/CTRN/UAEAli)

APROVADO

Prof^a. Dr^a. Maria Elita Martins Duarte
(Orientadora UFCG/CTRN/UAEAli)

APROVADO

Pesquisador. Dr. Renato Fonseca Aragão
(Examinador UFCG/CTRN/UAEAli)

APROVADO

Pesquisadora. Dr^a. Severina de Sousa
(Examinadora CNPq/UFCG)

APROVADO

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Trindade Rocha
(Examinadora UFCG/CTRN/UAEAli)

APROVADO

**CAMPINA GRANDE - PB
FEVEREIRO/2016**

"Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro dos gigantes."
(Isaac Newton)

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo.
Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas
admiráveis.”
(José de Alencar)

“ Tudo é do pai, toda honra e toda glória é dele a vitória alcançada em minha vida.”
(Padre Fábio de Melo)

Primeiramente a Deus, pois sempre foi meu pilar nos momentos mais difíceis, dando-me força e perseverança.

Aos meus pais Josefa e Manoel e aos meus irmãos: Patrício, José e Amonikele, por serem as pessoas mais importantes para mim e os que me ensinaram os valores da vida, sinônimos de honestidade, humildade e amor. Obrigada por serem exemplo de perfeição e dedicação a nossa família.

Dedico

Agradecimentos

Primeiramente a Deus que sempre esteve presente em minha vida, possibilitando essa conquista.

Aos meus pais pelos ensinamentos, carinho, dedicação e amor, que foram essenciais na minha vida para que eu chegasse até aqui.

Ao professor Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata, pela atenção, orientação e pelos ensinamentos por ele passados.

A professora Dra. Maria Elita Martins Duarte, pela paciência, dedicação e ensinamentos passados durante o mestrado.

Aos membros e funcionários do LEA em especial Renata Duarte Almeida, Renato Fonseca Aragão e Paulo de Almeida Farias, pela ajuda recebida e pela criação do vínculo de amizade.

Aos professores da pós-graduação em engenharia agrícola da UFCG, em especial, Ana Paula Trindade Rocha, Mozaniel Gomes da Silva, Francisco de Assis Santos e Silva, entre outros que contribuíram muito com seus conhecimentos e conselhos, ao longo desses anos por meio das disciplinas e debates, para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio, principalmente Emmanuel Moreira Pereira, Yvana Maria Gomes dos Santos e Francisco de Assis Mendes, que foram muito importantes em todos os momentos de minha caminhada. A todos os amigos que sempre me incentivaram e ajudaram neste grande passo.

A todos meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XIV
RESUMO.....	XV
ABSTRACT	XVI
1 - INTRODUÇÃO	17
1.1 Objetivo geral	18
1.2 Objetivos específicos	18
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1 – Algaroba	20
2.1.1 - Características agronômicas	21
2.1.2 – Vagens da algaroba.....	22
2.1.3 - Aspectos tecnológicos e industriais da algarobeira.....	23
2.2 - Produção de etanol	24
2.2.1 – Substrato	24
2.2.2 - Fermentações industriais	24
2.2.3 – fermento biológico (leveduras).....	24
2.2.4 Fermento fresco	25
2.2.5 Fermento seco.....	26
2.2.4 - Fermentação alcoólica.....	26
2.2.6 Legislação vigente	27
2.3 Trabalhos relacionados a produção de biocombustíveis	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Área experimental.....	30

3.2 Experimento	30
3.3. Descrição do processo e obtenção do fermentado (vinho) de algaroba	30
3.3.1. A matéria-prima.....	30
3.3.2. Planejamento fatorial.....	34
3.3.3. Adição de inóculo.....	34
3.4 Cálculo de produtividade, rendimento teórico, rendimento em biomassa, percentual conversão e produção de álcool por quilo de vagem.....	38
3.4.1 Cálculo da produtividade ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)	38
3.4. 2. Rendimento do produto ($Y_{p/s}$).....	38
3.4.5 Produção de etanol por quilograma de vagem.....	39
3.5 PRODUÇÃO DO BIOETANOL	39
3.5.1 Caracterização do bioetanol.....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
4.1 Tempo de fermentação	40
4.2. Cinética de fermentação	41
4.2.1 Evolução dos valores do teor alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$)	42
4.2.2 Evolução dos valores de sólidos solúveis totais ($^{\circ}\text{Brix}$).....	43
4.2.3 Evolução dos valores de pH	45
4.2.4 Evolução dos valores Temperatura.....	47
4.2.5 Evolução dos valores de biomassa (células).....	48
4.3. Cálculo de produtividade, rendimento teórico, rendimento em biomassa, percentual de conversão e produção de álcool por quilo de vagem.....	50
4.3.1 Produtividade ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)	50
4.3.2 Rendimento teórico ($Y_{p/s}$).....	51
4.3.3 Rendimento em biomassa ($Y_{x/s}$)	51
4.3.4 Percentual de conversão	52
4.3.5. Produção de álcool por quilo de vagem (L Kg^{-1})	52

4.4 Características do bioetanol.....	53
5 CONCLUSÃO.....	54
6. REFERENCIAS	55
APÊNDICE	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 3. 1: Processo de coleta das vagens de algaroba.....	31
Figura 3. 2: Vagens de algaroba acondicionadas em saco de nylon.	31
Figura 3. 3: Processo de expurga das vagens de algaroba.....	32
Figura 3. 4: seleção das vagens de algaroba.....	33
Figura 3. 5: hidratação e prensagem das vagens	33
Figura 3. 6: Processo de fermentação alcoólica das vagens de algaroba, através da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	35
Figura 3. 7: Ebulliômetro	36
Figura 3. 8: Sacarímetro imerso em caldo de algaroba.....	36
Figura 3. 9: eppendoff na estufa a 105°C.....	37
Figura 4. 1: Fermentação do caldo de algaroba por fermento fresco e granulado respectivamente.	40
Figura 4. 2 Tempo de fermentação dos experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix) respectivamente.	41
Figura 4. 3. Crescimento do teor alcoólico (°GL) em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix).....	42
Figura 4. 4. Decaimento da concentração de substrato (°Brix) em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix).	44
Figura 4. 5. Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix).	46
Figura 4. 6. Comportamento da temperatura em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix).	47

Figura 4. 7. Comportamento do crescimento da biomassa em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix) E4 (fermento Granulado e 20 °Brix) E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E4 (fermento Granulado e 16 °Brix).49

LISTA DE TABELAS

Tabela 3 1 Matriz de planejamento fatorial 2 x 3 , da fermentação alcoólica do caldo da algaroba.	34
Tabela 4. 1. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o crescimento do teor alcoólico em relação ao tempo. 43	
Tabela 4. 2. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o decaimento da concentração de substrato (°Brix) em relação ao tempo.	45
Tabela 4. 3. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o comportamento do pH em relação ao tempo.	47
Tabela 4. 4. Valores de A, B, C, D e E da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4$ Para o comportamento da temperatura em relação ao tempo.	48
Tabela 4. 5. Valores de A, B, C, D e E da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4$ Para o crescimento da biomassa em relação ao tempo.	50
Tabela 4. 6 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para a produtividade ($g L^{-1} h^{-1}$).	50
Tabela 4. 7 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o rendimento do produto ($Y_{p/s}$).	51
Tabela 4. 8 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o rendimento da biomassa ($Y_{x/s}$).	51
Tabela 4. 9 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o percentual de conversão em produto.	52
Tabela 4. 10 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para a produção media de álcool por quilograma de vagem.	52
Tabela 4. 11 Características físico-químicas do bioetanol confrontadas com a legislação vigente.	53
Tabela A 1: Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E1 (fermento fresco e 20 °Brix).	60
Tabela A 2 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E1 (fermento fresco e 20 °Brix).	60
Tabela A 3 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E2 (fermento fresco e 18 °Brix).	61
Tabela A 4 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E2 (fermento fresco e 18 °Brix).	61

Tabela A 5 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E3 (fermento fresco e 16 °Brix).	62
Tabela A 6 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E3 (fermento fresco e 16 °Brix).	62
Tabela A 7 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E4 (fermento granulado e 20 °Brix).	63
Tabela A 8 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E4 (fermento Ganulado e 20 °Brix).	63
Tabela A 9 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E5 (fermento granulado e 18 °Brix).	64
Tabela A 10 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E5 (fermento Ganulado e 18 °Brix).	64
Tabela A 11 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E6 (fermento granulado e 16 °Brix).	65
Tabela A 12 Medias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E6 (fermento Ganulado e 16°Brix).	65
Tabela A 13 Massa dos eppendorf vazios e com a biomassa respectivamente para E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix).	66
Tabela A 14 Massa dos eppendorf vazios e com a biomassa respectivamente para E4 (fermento granulado e 20 °Brix) E5 (fermento granulado e 18 °Brix) E6 (fermento granulado e 16 °Brix).	67

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

T - tempo de fermentação	[h]
S - concentração final de substrato	[g L ⁻¹]
P - concentração final de produto	[g L ⁻¹]
P₀ - concentração inicial de produto	[g L ⁻¹]
X - concentração final de biomassa	[g L ⁻¹]
X₀ - concentração inicial de biomassa	[g L ⁻¹]
S - concentração final de substrato	[g L ⁻¹]
S₀ - concentração inicial de substrato	[g L ⁻¹]
Y_{p/s} - Rendimento do produto	[-]
Y_{x/s} - Rendimento em biomassa	[-]
E1 – ensaio 1 (fermento fresco e 20 °Brix)	[-]
E2 - ensaio 2 (fermento fresco e 18 °Brix)	[-]
E3 - ensaio 3 (fermento fresco e 16 °Brix)	[-]
E4 - ensaio 4 (fermento granulado e 20 °Brix)	[-]
E5 - ensaio 4 (fermento granulado e 18 °Brix)	[-]
E6 - ensaio 4 (fermento granulado e 16 °Brix)	[-]

RESUMO

LEITE FILHO, M. T. **Obtenção de álcool a partir do caldo extraído de vagens de algaroba (*prosopis juliflora sw dc*)**. Dissertação, 67 p. (Programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – PB, 2016.

A vagem da algaroba se destaca pela grande quantidade de carboidratos presentes em sua constituição. Em virtude dessa característica o objetivo deste trabalho consiste em estudar o aproveitamento da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora SW DC*) para a produção de bioetanol. O projeto foi desenvolvido no laboratório de Engenharia de Alimentos – LEA do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais – CTRN da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. As vagens utilizadas foram adquiridas junto a produtores da cidade de Sumé no cariri paraibano, foram utilizadas vagens maduras, a extração do caldo da algaroba foi realizada em prensa manual, o caldo obtido teve o pH ajustado para 4,3 e o °Brix ajustado em 20, 18 e 16 e submetidos à fermentação por fermento fresco e por fermento granulado. A fermentação alcoólica foi conduzida, em sistema de batelada, e avaliou-se a concentração celular (biomassa), concentração de sólidos solúveis (°Brix), concentração de etanol (°GL) a temperatura e o pH as análises foram realizadas em intervalos de 2 horas. Utilizando o planejamento fatorial 2 x 3 com 3 repetições para análise da superfície de resposta avaliou-se a influência das concentrações de sólidos solúveis e o tipo de fermento no processo de fermentação alcoólica, sobre as respostas: percentual de conversão, produtividade, $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$ e produção de álcool por quilo de vagem. O fermentado alcoólico foi destilado em micro destilador de álcool. O produto final foi caracterizado segundo as normas da Agencia Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis – ANP. Os dados foram avaliados por meio de análise de variância e, quando significativos, foram comparados pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Houve o consumo de substrato e formação de álcool com diferença significativa entre os parâmetros analisados, com base nos resultados obtidos podemos afirmar que: E1 (fermento fresco e 20°Brix) foi o experimento com os piores resultados e E3 (fermento fresco e 16°Brix) foi o experimento com melhor resultados.

Palavras-Chave: *Prosopis juliflora*, Biotecnologia, Bioetanol,

ABSTRACT

LEITE FILHO, M. T. **Obtenção de álcool a partir do caldo extraído de vagens de algaroba (*prosopis juliflora sw dc*)**. Dissertação, 67 p. (Programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – PB, 2016.

The pod mesquite stands out for the large amount of carbohydrates present in its constitution. Because of this feature the objective of this work is to study the use of mesquite pods (*Prosopis juliflora DC SW*), for the production of bioethanol. The project was developed at the Center for Technology and Natural Resources - CTRN, Federal University of Campina Grande-PB, the Food Engineering Laboratory (LEA). The pods used were acquired from Sumé city producers in Paraíba cariri, mature pods were used to extract the juice of mesquite was held in hand press, the obtained broth was adjusted to pH 4.3 and the Brix adjusted (20, 18 and 16) and subjected to fermentation by fresh yeast and yeast granules. The alcoholic fermentation was carried out in batch system, and evaluated the cell concentration (biomass), concentration of soluble solids (° Brix), ethanol concentration (° GL) the temperature and pH of the analyzes were performed at intervals of 2 hours. Using factorial design 2 x 3 with three repetitions for response surface analysis evaluated the influence of soluble solids concentration and type of yeast in the fermentation process on the answers (% conversion, productivity, Y_p / s , y_x / s and production of alcohol per pod). The alcoholic fermentation was distilled in micro distillers of alcohol. The final product was characterized according to the regulations of the ANP. Data were evaluated by analysis of variance, and when significant, were compared by Tukey test at 5% probability. There was the substrate consumption and alcohol training with a significant difference between the parameters analyzed, based on the results we can say that: E1 (fresh yeast and 20 ° Brix) was the experiment with the worst results and E3 (food fresh and 16 ° Brix) was the experiment with better results.

Keywords: *Prosopis juliflora*, Biotechnology, bioethanol,

1 - INTRODUÇÃO

Nas regiões semiáridas as atividades agrícolas devem ser manejadas de maneira que o sistema de produção seja o mais sustentável possível. Para isto, é essencial o uso de espécies adaptadas às condições climáticas reinantes com destaque para altas temperaturas e déficit hídrico (PINHEIRO et al., 2014). Apesar de não ser uma planta nativa do Brasil, no entanto, devido a sua excelente adaptação às regiões áridas e semiáridas, a algarobeira é encontrada em plantações cultivadas e subespontâneas em todos os estados do Nordeste brasileiro; sua expansão para os demais estados da Federação ocorreu através da regeneração natural de plantios e hoje o Nordeste conta com a maior reserva algarobeira do País, embora este potencial não seja ainda, integralmente aproveitado, ocupando apenas cerca de 500 mil hectares. A algarobeira (*Prosopis juliflora*) é uma espécie vegetal leguminosa, não oleaginosa, originária dos Andes no Peru, espalhou-se pelo México, sudoeste dos Estados Unidos, Índia, África do Sul, Austrália, Jamaica e Havaí, as sementes da algarobeira foram introduzidas no Brasil em 1942, no município de Serra Talhada, sertão de Pernambuco. A algarobeira é uma planta que cresce razoavelmente bem nos desertos do continente americano e em alguns desertos africanos, sendo eminentemente xerófila. Trata-se de uma cultura nativa de regiões áridas que vão do sudoeste norte americano até a Patagônia, na Argentina. A espécie predominante no Brasil é a *Prosopis juliflora*, originária do deserto do Piura no Peru (SILVA et al., 2002).

SUASSUNA (2007) descreve que a algarobeira tem contribuído de forma decisiva para que a economia do semiárido não entrar em colapso, visto que sua ausência poderia causar desequilíbrio ambiental de grandes proporções, dado ao fato de estar inserida em todas as etapas do extrativismo vegetal servindo, assim, de proteção à vegetação nativa.

As vagens da algarobeira são frutos palatáveis, aromáticos e doces, e se acham entre os alimentos mais antigos utilizados pelo homem no Novo Mundo. Observou-se, durante a época do descobrimento, o uso das vagens da algaroba na alimentação humana, quando os espanhóis chegaram à América do Sul e encontraram os índios utilizando-os na alimentação, principalmente nas regiões semidesérticas, que se estendem do sul do Equador ao centro do Chile e da Argentina (FIGUEIREDO, 2004).

O caldo de algaroba, considerado como meio de cultura natural, por excelência, apresenta características bem peculiares, cujas especificidades são favoráveis aos processos de

fermentação. O mais importante é que seus componentes nutricionais induzem a ocorrência de microrganismos, a exemplo de outros meios naturais que contêm fontes de carbono e energia (OLIVEIRA, 2003). Meios naturais a exemplo do caldo de algaroba foram estudados com certo pioneirismo por ARRUDA (1994), o uso de leveduras selvagens pode propiciar uma melhor adaptação ao meio fermentativo.

As leveduras são um tipo de fungo unicelular, eucariotos pertencentes ao reino *Fungi* uma característica importante é sua ação fermentativa, as leveduras do gênero *Saccharomyces* são, sem dúvidas, os mais importantes microrganismos explorados pela humanidade. Segundo Vilela, (2005), a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é descrita como uma espécie resistente a altas concentrações de etanol (12 a 15% v/v), elevadas temperaturas, baixos valores de pH, que hidrolisa oligossacarídeos, como a maltotriose e a maltotretose para a produção e transformação em etanol, além de tolerar alta concentração de açúcar (osmotolerante). As principais formas encontradas do fermento biológico são nas formas frescas e granuladas.

O fermento fresco é uma pasta cremosa como manteiga, com textura lisa e moldável, lembra massa de vidraceiro ou argila úmida. Pode ser adquirido em lojas de especialidades alimentícias e mercearias de produtos naturais. O fermento seco ativo tem uma textura grossa e cor bege (FIG. 2.3). Sua obtenção se dá a partir da secagem do fermento fresco por ar quente. É quebrado em pequenas partículas ou grânulos do tamanho de um alpiste. Pode ser adquirido em mercearias, supermercados e algumas lojas de conveniências (KALANTY, 2012).

Nesse contexto, os objetivos deste trabalho são definidos a seguir.

1.1 Objetivo geral

- ✓ Estudar o aproveitamento da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC), para a produção de bioetanol.

1.2 Objetivos específicos

- ✓ Produzir o bioetanol a partir do caldo extraído das vagens de algaroba de acordo com o planejamento fatorial 2 x 3 com 3 repetições.
- ✓ Estudar a cinética da fermentação alcoólica para a produção de fermentado (vinho), utilizando a algaroba, acompanhando a evolução dos valores de sólidos solúveis totais (°Brix), pH, teor alcoólico (°GL), crescimento celular (biomassa) e temperatura.

- ✓ Verificar os efeitos das variáveis de entrada tipo de fermento e sólidos solúveis totais sobre as variáveis respostas: produtividade ($\text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$); percentual de rendimento teórico (Y_p/s); percentual de rendimento em biomassa (Y_x/s); e, percentual de conversão para o processo de produção do fermentado.

- ✓ Destilar o fermentado alcoólico da vagem de algaroba a fim de obter álcool etílico hidratado e avaliar as características do produto final (álcool etílico hidratado) para confrontar com a legislação em vigor.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Algaroba

A Algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) D.C.) foi introduzida no Brasil há mais de 50 anos, sendo bem difundida no Nordeste, principalmente por constituir-se em uma das raras espécies capazes de possibilitar aos animais e ao homem, subsídios necessários para driblar o fenômeno adverso e periódico da seca (SILVA et al., 2002).

No Nordeste do Brasil, a *Prosopis juliflora* (Figura 1) é encontrada em populações cultivadas e subspontâneas. Sua introdução no país ocorreu a partir de 1942 em Serra Talhada, PE, com sementes procedentes de Piura, Peru (AZEVEDO, 1960). A partir daí, sua expansão para os demais estados da federação ocorreu através de regeneração natural e plantios (LIMA, 1987). Além disso, merece especial atenção o fato da sua disseminação no Nordeste brasileiro. LIMA (1987) afirma que a importância desse gênero para o semi-árido consiste em sua capacidade de se adaptar a solos e climas inóspitos; taxa de crescimento rápido; alta palatabilidade como forragem; alta produtividade; capacidade de rebrotar, resistir a podas e ao pastejo; resistência a pragas e doenças.



Figura 2. 1: Árvore de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) D.C.).

2.1.1 - Características agronômicas

A algaroba, pela sua adaptação às condições semiáridas do Nordeste e pelos seus múltiplos usos, inclui-se como alternativa agronômica já comprovada (SOUZA & TENÓRIO, 1982). Del valle et al. (1983) afirmam que a velocidade de crescimento e a adaptação em solos áridos e semiáridos, mesmo com baixa pluviosidade anual, são razões suficientes para o investimento nesta espécie.

A algarobeira cresce em condições diferentes de solo, desde solos rochosos, arenosos a salinos, tendo também excelente desenvolvimento em solos ricos em nutrientes minerais, apresentando boa produção de vagens (NOBRE, 1982). Quanto à precipitação, apresenta bom desenvolvimento em locais com 300 até 500 mm anuais de pluviosidade e melhor se adapta a temperaturas superiores aos 20 °C (SILVA et al., 1989). Além disso, relata-se a capacidade dessa arbórea em restabelecer a fertilidade e produtividade de solos degradados, talvez pela sua capacidade de associação simbiótica com *Rhizobium* (FRANCO et al., 1988).

Em geral, as algarobeiras que vegetam no Nordeste do Brasil, apresentam ramos ascendentes, espinhos ou inermes, espinhos geminados, flores amarelo-esverdeadas agrupadas em inflorescências, em racimos em forma de espigas. São bissexuais, actinomorfas, apresentando cinco sépalas, cinco pétalas e dez estames. Os frutos são de coloração amarelo-palha (Figura 2), em forma de lomento drupáceo, casualmente falcado, retos, indeiscentes, com 10 a 40 cm de comprimento, 15 a 20 mm de largura e 4 a 5 mm de espessura contendo, em média, 17 sementes (LIMA, 1987).

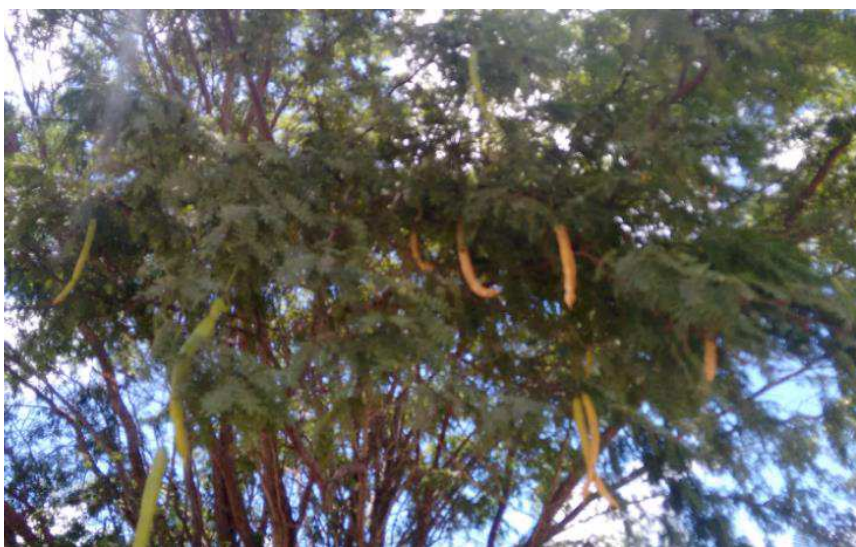


Figura 2. 2: Folhas, frutos verdes e maduros da algarobeira

Uma das características mais notáveis, e que por isso, faz da algaroba objeto de estudo é a época da frutificação. Em geral, os pontos de máxima floração e posterior frutificação, em

regiões tropicais, encontram-se na primavera do mês de setembro a novembro, quando também se observam menores precipitações (LIMA, 1994). Segundo o mesmo autor, ainda ocorre outro período de frutificação, menor que o citado, entre os meses de abril e julho.

A produção anual de vagem *in natura* no nordeste brasileiro pode variar de 0,6 a 1,1 milhão de toneladas, sendo que sua produção se concentra inteiramente nessa região (SILVA et al., 2002).

2.1.2 – Vagens da algaroba

As vagens da algaroba fazem parte dos alimentos usados pelo homem desde a pré-história, nas regiões onde a planta é nativa. São palatáveis, aromáticas lembrando baunilha, e doces em função do elevado teor de sacarose, que pode chegar a 30%. Sua proteína é de qualidade e digestibilidade razoáveis equiparando-se às da cevada (DEL VALLE et al., 1983).

A algaroba é uma leguminosa que, no Nordeste do Brasil, frutifica no período seco. Os frutos, ao cair das árvores, são consumidos pelos animais diretamente no pasto e/ou colhidos e armazenados. No que se refere ao valor nutritivo, a algaroba concentra nas vagens (frutos), constituindo-se rica fonte de carboidratos e proteínas, com valor energético bruto comparável ao milho (STEIN et al., 2002).

SILVA et al. (2002), além de mencionarem a excelente palatabilidade da algaroba, apresentaram dados interessantes sobre sua composição. Segundo os mesmos, a vagem de algaroba apresenta de 25 a 28% de glicose, 11 a 17% de amido, 7 a 11% de proteínas, 14 a 20% de ácidos orgânicos, pectinas e demais substâncias.

2.1.2.1 - Aspectos gerais das vagens

A algaroba é o nome que os conquistadores europeus deram aos frutos das espécies de *Prosopis* encontradas na América do Sul devido à sua semelhança com os frutos caroba da *Ceratonia siliqua*, leguminosa existente na região do Mediterrâneo. Segundo SILVA (2005), as vagens encontradas no semiárido da Paraíba são achatadas, mais ou menos curvas, com mais ou menos 20 centímetros de comprimento e entre 1 a 2 cm de largura, com depressões entre as sementes; são compostas de epicarpo coriáceo, de cor amarelo-claro; mesocarpo carnoso e rico em sacarose (mais de 30%); o endocarpo é lenhoso e forma uma cápsula resistente que protege as sementes.

2.1.2.2 - Principais aplicações e usos das vagens

As vagens, quando trituradas, são usadas para fazer farinha, que serve para preparar um tipo de pão. Deixadas fermentar, graças ao elevado teor de sacarose, dão origem a uma bebida alcoólica (FELKER e BANDURSKI, 1977; BECKER e GROSJEAN, 1980).

Vagens verdes podem ser cozidas, à semelhança de vagens de feijão; já o extrato aquoso obtido por maceração e cocção de vagens maduras, dá origem a um xarope comercializado em alguns países latino-americanos com o nome de “algarobina”, que pode ser usado como tônico e adoçante de café e outras bebidas.

Quando quebradas em pedaços pequenos e torradas, as vagens, depois de moídas, dão origem a um pó que pode ser usado como substituto (total ou parcial) do café; as vagens colhidas e trituradas podem destinar-se ao fabrico de rações e substituir, em parte, o milho (FIGUEIREDO, 1975).

A partir desse extrato concentrado se desenvolve uma bebida (semelhante a um suco) refrescante, nutritiva e de sabor agradável podendo-se, também, a partir desse extrato concentrado, obter formulação para geleias, como realizado com excelente aceitação por GROSSI & FIGUEIREDO (2000).

2.1.3 - Aspectos tecnológicos e industriais da algarobeira

Na indústria, a algaroba pode ser transformada em álcool e bebidas (aguardente, licor, bebida fermentada, bebida substituta do café, melado, vinagre) a exemplo de alguns países andinos, que fabricam bebidas tais como: aloja, chicha, etole, algarobina (fortificante) estomacal e afrodisíaca (CAMPELO, 1987). A algarobeira produz sombra, madeira, flores, frutos, folhas e raízes; toda a planta é aproveitada proporcionando uma gama satisfatória de produtos derivados da sua industrialização.

A madeira pesada, dura, estável e durável, serve para diversas construções rurais, móveis e utensílios; produz energia para aquecer fornos, fogões usinas e cozinhar alimentos. De acordo com GOMES (1999), em seu trabalho sobre características tecnológicas da algarobeira, esta possui uma madeira de excelente qualidade, em especial no que diz respeito às suas características tecnológicas, em equiparação com as tradicionais e conceituadas madeiras de uso corriqueiro na construção civil.

2.2 - Produção de etanol

2.2.1 – Substrato

Qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato constitui-se em matéria-prima para a obtenção de etanol; entretanto, para que seja viável economicamente é preciso considerar se seu volume de produção, o rendimento industrial e o custo de fabricação. Podem-se classificar matérias açucaradas as seguintes substâncias: cana, beterraba, melaços, mel-de-abelha e frutas; em matérias amiláceas e feculentas, amido de grãos, fécula de raízes e tubérculos: matérias celulósicas, palhas, madeiras, resíduos sulfíticos de fábricas de papel.

Em qualquer caso, para se constituir em matéria-prima o produto vegetal depende de variáveis, como: a variedade, a idade, a procedência e as condições culturais, de maturação, de sanidade, de colheita, de transporte, de armazenamento. A algaroba é uma planta do gênero *prosopis* de origem andina, altamente resistente à seca, que se adaptou muito bem ao Nordeste do Brasil. Esta planta produz como fruto uma vagem rica em proteína, gordura, vitaminas, sais minerais e, principalmente, açúcar (BORGES, 2004). Sendo assim um excelente substrato fermentativo.

2.2.2 - Fermentações industriais

A atividade microbiana é utilizada pelo homem desde a antiguidade, na obtenção de compostos orgânicos de grande utilidade, através de processos industriais, simples ou complexos que, geralmente, consistem na oxidação parcial de uma substância orgânica.

Segundo PANDEY (2003), tanto microrganismos em seu estado natural como na forma de culturas puras individuais ou mistas podem ser utilizados no processo da fermentação.

As leveduras foram os primeiros organismos descobertos capazes de crescer na ausência de oxigênio e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o microrganismo mais frequentemente utilizado na produção de etanol. Tão importante quanto à escolha do microrganismo é a escolha da condução do processo. A literatura tem registrado inúmeros modelos de biorreatores para a produção biotecnológica de etanol e atualmente o uso de células livres é o método mais empregado (LIMA, 2002).

2.2.3 – fermento biológico (leveduras)

Entende-se por leveduras um grupo peculiar de fungos unicelulares, também conhecidos como fermentos, amplamente distribuídos na natureza (água, ar, solo, plantas e animais). Exigem menos umidade que as bactérias, porém mais que os bolores. Como os

bolores preferem temperaturas de 20°C a 30°C para se desenvolver. Podem se desenvolver tanto na presença quanto na ausência de oxigênio (leveduras fermentativas) e meios com pH ácido favorecem o seu desenvolvimento. São caracterizadas por sua capacidade de transformar açúcares mediante mecanismos redutores (fermentação) e também oxidantes. As células das leveduras se apresentam de forma pequena e dão origem por germinação a novas células iguais (GAVA, 2008).

2.2.4 Fermento fresco

O fermento fresco é uma pasta cremosa como manteiga, com textura lisa e moldável, lembra massa de vidraceiro ou argila úmida (FIG. 2.3). Pode ser adquirido em lojas de especialidades alimentícias e mercearias de produtos naturais. Deve ser armazenado coberto e refrigerado. Se for mantido entre 2,22 e 4,44°C, poderá durar por até 45 dias. A cerca de 4 a 8°C por um período máximo de 15 dias. Deve ser tomado o cuidado de manter o menor tempo possível fora de refrigeração para evitar a perda do seu poder de fermentação. É importante verificar e seguir as orientações do fornecedor. Dosagem: varia conforme o tipo de substrato, o processo utilizado e a velocidade de fermentação desejada. Para usar esse tipo de fermento esfalel-o diretamente no substrato (KALANTY, 2012).



Figura 2. 3: Fermento biológico fresco

O fermento fresco por ser de fácil obtenção é mais barato que o fermento granulado que exige maior demanda de trabalho e energia na sua produção. Mas em relação a conservação e transporte o fermento fresco exige um controle de temperatura rigoroso o que implica em gastos posteriores.

2.2.5 Fermento seco

O fermento seco ativo tem uma textura grossa e cor bege (FIG. 2.4). Sua obtenção se dá a partir da secagem do fermento fresco por ar quente. É quebrado em pequenas partículas ou grânulos do tamanho de um alpiste. Pode ser adquirido em mercearias, supermercados e algumas lojas de conveniências. Deve ser armazenado em embalagem fechada conservado à temperatura ambiente e costuma ter uma vida-de-prateleira de um ano ou mais. Depois de aberto deve ser conservado sob refrigeração. Se for conservado em recipiente hermético e refrigerado pode durar de 3 a 4 meses. Congelado costuma manter suas propriedades por 6 meses ou mais. É importante verificar e seguir as orientações do fornecedor (KALANTY, 2012).



Figura 2. 4: Fermento biológico seco

O fermento granulado é um produto leve com baixo teor de umidade que pode ser conservado à temperatura ambiente o que o torna mais prático que o fermento fresco facilitando transporte armazenamento aumentando a vida útil e diminuindo os riscos de contaminação por outros microrganismos.

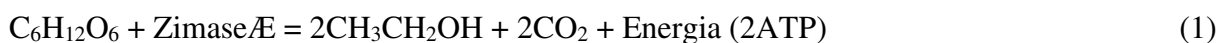
2.2.4 - Fermentação alcoólica

Fermentação é o processo de oxidação-redução intramolecular, anaeróbico e exotérmico, pelo qual, micro-organismos catalisam a conversão de uma substância em determinado produto; portanto, a fermentação alcoólica pode ser considerada a oxidação anaeróbica da glicose por ação de leveduras com a produção final de álcool etílico, anidrido carbônico e outros produtos secundários.

A fermentação alcoólica era conhecida e utilizada pelos povos antigos para produção de bebidas a partir de caldos açucarados obtidos pelo esmagamento de frutas

A oxidação da glicose pelas leveduras se desenvolve segundo o esquema apresentado por Meyerhooff, em uma sequência de reações em 14 fases envolvendo 15 enzimas e 3 coenzimas. Essas reações incluem transferência de fosfato, oxidação e redução, descarboxilação e isomerização, além de outras (SILVA, 2009).

De acordo com PANTOJA (2006), a equação global de desdobramento da glicose em álcool e CO₂, em um processo de fermentação ocorre naturalmente com geração espontânea de energia, conforme a Equação (1).



Em que a relação estequiométrica mostra que 1 mol de glicose (180g) produz simultaneamente 2 mols de etanol (46g) e 2 mols de dióxido de carbono (44g) com saldo positivo de energia proveniente das células, o que confere o poder combustível do álcool.

Do ponto de vista bioquímico, a fermentação é um processo catabólico anaeróbico que não envolve cadeia respiratória nem citocromos. O processo da fermentação alcoólica se caracteriza como via catabólica na qual ocorre a degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula de micro-organismos (levedura e bactérias), até a formação de etanol e CO₂ ocorrendo liberação de energia química e térmica (VENTURINI FILHO, 2003).

2.2.6 Legislação vigente

Compete à Agência nacional do petróleo, gás natural e biocombustíveis (ANP) toda a regulamentação sobre o bioetanol. “A DIRETORA GERAL da AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS (ANP), no uso das atribuições legais, tendo em vista as disposições da Lei nº 9.478, de 06 de agosto de 1997, e suas alterações, e com base na Reunião de Diretoria nº 239, de 9 de abril de 2015, Considerando que compete à ANP implementar a política nacional do petróleo, gás natural e biocombustíveis, com ênfase na garantia do suprimento de derivados de petróleo, gás natural seus derivados e biocombustíveis, em todo o território nacional; considerando que cabe à ANP proteger os interesses dos consumidores quanto à preço, qualidade e oferta de produtos, bem como especificar a qualidade dos derivados de petróleo, gás natural e seus derivados e dos biocombustíveis; considerando o interesse do governo de incrementar a participação dos

biocombustíveis na matriz energética nacional; considerando a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, que define os Biocombustíveis como os combustíveis derivados de biomassa renovável para, dentre outras utilizações, uso em motores à combustão interna; Considerando o percentual obrigatório de adição do Etanol Anidro Combustível à gasolina; e Considerando ser essencial a adoção de dispositivos regulatórios que evitem a comercialização de Etanol Anidro Combustível como Etanol Hidratado Combustível, com vistas a reprimir práticas fraudulentas no mercado”. Essa regulamentação é regida resolução ANP nº 19, de 15.4.2015 DOU 16.4.2015 republicada no DOU 17.4.2015 republicada no DOU 20.4.2015.

2.3 Trabalhos relacionados à produção de biocombustíveis

Os trabalhos com o desenvolvimento de biocombustíveis vêm fortemente ganhando preferência dentre os pesquisadores, principalmente com a preocupação mundial com o aquecimento global e a possível escassez de combustíveis fósseis além da conscientização mundial em relação à sustentabilidade.

Pereira (2014) produziu etanol a partir da fermentação da farinha de *Cyperus esculentus* via rota enzimática e ácida. Onde avaliou as concentrações de *Saccharomyces cerevisiae* e tempos de fermentações na produção de etanol e obteve o teor alcoólico por meio da NBR 13920 e analisou a rentabilidade das rotas enzimática e ácida.

Reis (2013) aperfeiçoou o processo de produção de bioetanol a partir de polpa de alfarroba. Onde aplicou um método físico-químico -a foto catálise- para degradar os polifenóis existentes na polpa de alfarroba e quantificou o seu efeito avaliando o impacto da fotocatalise no rendimento da hidrólise enzimática da polpa de alfarroba.

Santos (2012) produziu etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* a partir de biomassa lignocelulósica (bagaço de cana-de-açúcar). Onde foram avaliadas duas linhagens de *Zymomonas mobilis* a AG11 e a CP4 onde ocorreu uma otimização no processo de hidrólise.

Rabelo (2010) trabalhou com a avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço da cana de açúcar para a produção de álcool de segunda geração, onde foi testado a eficiência do hidróxido de cálcio e peróxido de hidrogênio alcalino no pré-tratamento.

Bragatto (2010) trabalhou com o estudo do potencial da casca de *Eucalyptus* spp para a produção de bioetanol, onde foi avaliada a composição química da casca e desenvolvido uma metodologia para extrair os carboidratos e produzido o bioetanol.

Muniz (2009) trabalhou com o processamento de vagens de algaroba (*prosopis juliflora*) para produção de bioprodutos, onde fez uso da fermentação semi-sólida da farinha de algaroba, além do bioetanol com estudos da influência da quantidade de fermento utilizada e a variação da quantidade de substrato.

Silva (2009) trabalhou com a otimização do processo de produção da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares onde este estudo avaliou a matéria-prima (vagem de algaroba), os procedimentos operacionais e o sistema de aproveitamento aplicando ao resíduo durante as principais etapas de fabricação da aguardente de algaroba.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área experimental

O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de engenharia Bioquímica e laboratório de Medidas físicas pertencente ao complexo de laboratórios de Engenharia de Alimentos (LEA) do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais – CTRN, *Campus Campina Grande*, Campina Grande-PB.

3.2 Experimento

Foram utilizadas vagens de algaroba maduras e íntegras adquiridas em fazendas na cidade de Sumé e transportadas em sacos de nylon até as dependências da UFCG onde passaram pelo processo de expurga a fim de eliminar insetos e seus ovos, logo em seguida foram armazenadas em tonéis. A extração do caldo foi feita em prensa manual a uma pressão média de 15 toneladas o caldo extraído foi então fermentado. Os experimentos foram realizados em triplicata, o delineamento utilizado foi o inteiramente causalizado (DIC), com o fatorial de 2 x 3, onde o primeiro fator foi dois tipos de fermento (fermento fresco e fermento granulado) e o segundo fator foi a concentração de sólidos solúveis (20, 18,16) °Brix. A comparação entre os tratamentos foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA), regressão para os dados quantitativos, onde foram ajustadas equações de acordo com a obtenção de maior valor do R^2 . Os resultados foram comparados pelo teste de Turkey a 5% de significância a fim de observar se houve diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados estatísticos foram tratados pelo programa ASSISTAT versão 7.7 beta.

3.3. Descrição do processo e obtenção do fermentado (vinho) de algaroba

3.3.1. A matéria-prima

A matéria-prima contendo o substrato para o processo do fermentado foram vagens de algaroba (*Prosopis juliflora* S.w. D.C.). Essas vagens foram coletadas no município de Sumé, PB a 264 km de João Pessoa, PB. Na Figura 3.1, observa-se a coleta do material para pesquisa.



Figura 3. 1: Processo de coleta das vagens de algaroba

As vagens foram coletadas nas imediações das árvores das algarobeiras, evitando aquelas que apresentavam algumas características indesejáveis como pragas e/ou doenças. Em seguida as mesmas foram conduzidas para o Laboratório de Engenharia de Alimentos (LEA) para os devidos procedimentos.

3.3.1.1 Recepção

As vagens foram colhidas e em seguida levadas em sacos de nylon para o Laboratório de Medidas Físicas LEA/CTRN/UFCG, Campus de Campina Grande, PB, figura 3.2.



Figura 3. 2: Vagens de algaroba acondicionadas em saco de nylon.

3.3.1.2 Expurgo

As vagens passaram pelo processo de expurga com o agente químico fosfina a fim de evitar sua deterioração por insetos, o processo de expurga foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante como mostra a figura 3.3.



Figura 3. 3: Processo de expurga das vagens de algaroba.

As vagens foram colocadas em tonéis revestidos de sacos de polietileno juntamente com a fosfina e deixadas em repouso por 72 horas, após esse período os tonéis foram abertos para que o gás resultante do processo fosse eliminado e em seguida fechado novamente e estocado.

3.3.1.3 Seleção, lavagem e quebra:

Foi feita uma seleção quanto à aparência tendo por finalidade aperfeiçoar a uniformização das amostras, como também remover as sujidades grosseiras aderidas à superfície, além de retirar vagens danificadas como mostra a figura 3.4, em seguida foram lavadas com solução contendo cloro.



Figura 3. 4: Seleção das vagens de algaroba.

Após a lavagem as vagens foram quebradas manualmente com auxílio de um alicate, a quebra se deu com o intuito de aumentar a área de contato da vagem com a água e facilitar a extração dos açúcares.

3.3.1.4 Hidratação e prensagem:

Após a fragmentação as vagens foram hidratadas na proporção de 1:2, ou seja, a cada 1 quilo de vagem 2 litros de água em seguida aquecida até 60°C, após essa etapa ficou em repouso por 30 minutos e posteriormente levadas à prensa. O caldo extraído foi armazenado em recipientes de PVC e acondicionado em freezer.



Figura 3. 5: Hidratação e prensagem das vagens

3.3.2. Planejamento fatorial

Para esse estudo, foi utilizado o planejamento fatorial 2 x 3 em triplicata, onde todas as variáveis são quantitativas, sendo as variáveis independentes: o tipo de fermento (fresco e granulado a 25 g L⁻¹) e sólidos solúveis totais (°Brix), e as dependentes: produtividade de álcool etílico (g L⁻¹), percentual de rendimento teórico. (Y_{p/s}), percentual de rendimento em biomassa (Y_{x/s}) e percentual de conversão, totalizando assim 6 experimentos.

Tabela 3 1 Matriz de planejamento fatorial 2 x 3, da fermentação alcoólica do caldo da algaroba.

Ensaio	Tipo de fermento	°Brix
1	Fresco	20
2	Fresco	18
3	Fresco	16
4	Granulado	20
5	Granulado	18
6	Granulado	16

3.3.2.1. Análises estatísticas

Para a constituição dos resultados das análises estatísticas, foi utilizado o software ASSISTAT versão 7.7 beta. Os resultados foram comparados pelo teste de Turkey a 5% de significância a fim de observar se houve diferença significativa.

3.3.3. Adição de inóculo

Foi utilizado na fermentação alcoólica para a produção do fermentado, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico comercial fresco, marca *Levapan*) e (fermento biológico granulado *Aidapan*).

Antes da inoculação foram ajustados os caldos para as concentrações de sólidos solúveis totais de 16, 18 e 20%, e a concentração de fermento de 25 g L⁻¹ de acordo com o planejamento fatorial aplicado.

3.3.4. Fermentação alcoólica e estudo cinético

Após a inoculação dos caldos, foi realizada a fermentação alcoólica, para a obtenção do fermentado de algaroba em biorreatores de polietileno, conforme Figura 3.6, utilizados para fermentação, em seis bateladas com a capacidade máxima de 3 L cada uma, dispostos de um sistema, de descarga no fundo do recipiente, deixando a parte da massa celular separada do fermentado no final da fermentação. A etapa do processo das análises da fermentação foi realizada no tempo zero, dando-se continuidade cada duas em duas horas até o final do experimento.

No período de 2 em 2 h foram determinados o pH, temperatura, teor alcoólico, e sólidos solúveis. No decorrer de cada cinética foram coletadas alíquotas em torno de 60 mL que foram armazenadas no freezer a uma temperatura de -15 °C, para depois serem analisadas quanto ao teor de biomassa.



Figura 3. 6: Processo de fermentação alcoólica das vagens de algaroba, através da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

3.3.4.1 Determinação do pH

Para a determinação do pH foi utilizado 10 mL da amostra em triplicata e transferida para um tubo de ensaio a uma temperatura de 26 °C. O método foi o potenciométrico, com o pHmetro digital da marca Tecnal modelo TEC-2, onde o mesmo foi calibrado, inicialmente, com as soluções tampões de pH 7,0 e pH 4,0 (BRASL, 2005).

3.3.4.2 Determinação da Temperatura

Para a determinação da temperatura foi utilizado termômetro digital tipo espeto da marca HG modelo AF1104.

3.3.4.3 Determinação do Teor Alcoólico (°GL)

Para a determinação da concentração de etanol, foi utilizado ebuliômetro, em seguida os resultados foram corrigidos com régua de conversão que acompanha o equipamento conforme Figura 3.7.

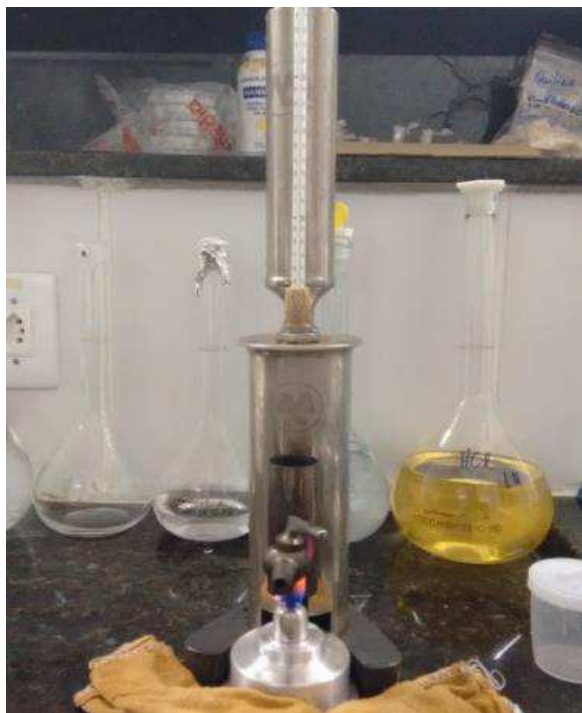


Figura 3. 7: Ebuliômetro

3.3.4.4 Determinação de sólidos solúveis totais (°Brix)

A determinação de sólidos solúveis totais foi realizada por densimetria, utilizando-se um sacarímetro de brix imergindo o mesmo em uma proveta graduada contendo 250 mL de caldo de algaroba e corrigindo-se a leitura obtida para a temperatura do caldo a 25 °C, conforme a metodologia descrita por Brasil (2005).

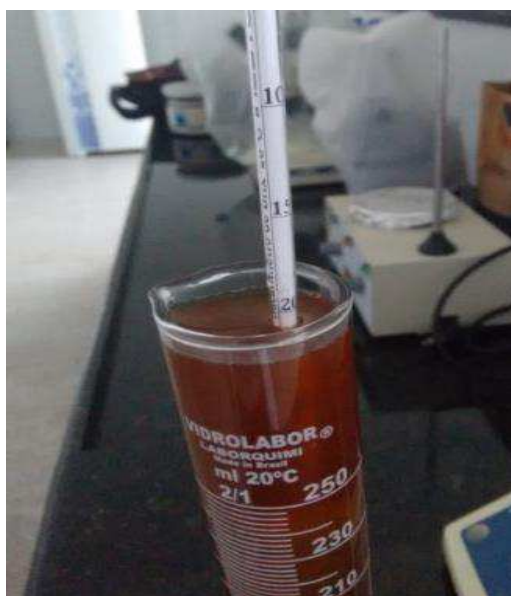


Figura 3. 8: Sacarímetro imerso em caldo de algaroba

3.3.4.5 Concentração de biomassa (g L⁻¹)

A concentração celular (biomassa) foi determinada adotando-se o método de massa seca descrito por Florentino (2007), que consiste em separar as células do meio, secá-las e pesá-las.

A princípio, os tubos de eppendoff, com a capacidade de 2 mL cada, conforme Figura 3.3.45, foram preenchidos com o fermentado de algaroba e em seguida foram colocados no centrifugador por cerca de 3 min, com uma rotação média de 3.000 rpm. Em seguida foi realizado o processo de lavagem do material (repetido por três vezes). Ao término das lavagens, o material foi levado para estufa a 105°C por 24 h, em seguida pesado. O cálculo para determinar a biomassa foi feito por diferença entre a massa inicial (M1) e a massa final em gramas (M2), dividida pelo volume (V) da amostra utilizado (2 mL), multiplicado por 1000 para obter o valor em g L⁻¹, conforme Equação 2.



Figura 3. 9: eppendoff na estufa a 105°C

$$\text{Concentração de biomassa} = \frac{M1 - M2}{V} \times 1000 \quad (\text{g L}^{-1}) \quad (2)$$

Em que:

M1 - Massa inicial da amostra, g

M2 - Massa final da amostra, g

V- volume do eppendoff, mL

3.4 Cálculo de produtividade, rendimento teórico, rendimento em biomassa, percentual conversão e produção de álcool por quilo de vagem.

3.4.1 Cálculo da produtividade ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)

Para saber a quantidade de álcool produzido em um determinado tempo, em hora, foi utilizada a seguinte Equação (3).

$$\text{Produtividade } (\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}) = \frac{P(\text{g/L})}{T(\text{h})} \quad (3)$$

Em que:

P - concentração de etanol (g L^{-1})

T - tempo de fermentação (h)

3.4.2. Rendimento do produto ($Y_{p/s}$)

Para determinar a conversão do substrato (açúcar) do fermentado em produto (etanol) foi utilizada a Equação (4).

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (4)$$

Em que:

S - concentração final de substrato (g L^{-1})

S_0 - concentração inicial de substrato (g L^{-1})

P - concentração final de produto (g L^{-1})

P_0 - concentração inicial de produto (g L^{-1})

3.4.3. Rendimento em biomassa ($Y_{x/s}$)

Para calcular a quantidade de biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumida, foi utilizada a Equação (5).

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (5)$$

Em que:

X - concentração final de biomassa (g L^{-1})

X_0 - concentração inicial de biomassa (g L^{-1})

S - concentração final de substrato (g L^{-1})

S_0 - concentração inicial de substrato (g L^{-1})

3.4.4. Percentual de conversão (%)

O percentual de conversão no fermentado para produção do etanol antes da destilação foi calculado pela Equação (6)

$$\text{Conversão (\%)} = \frac{P}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad (6)$$

Em que:

P - concentração de etanol experimental

S₀ - concentração inicial de substrato (°Brix)

0,511 - fator de conversão de açúcar em álcool

3.4.5 Produção de etanol por quilograma de vagem

A produtividade de etanol por quilograma de vagem foi calculada pela equação (7)

$$Pq = \frac{42 \times P}{S_0} / 100 \quad (7)$$

Em que:

Pq – Produção por quilograma (L Kg⁻¹)

P - concentração de etanol experimental

S₀ - concentração inicial de substrato (°Brix)

42 - concentração de substrato por litro de caldo proveniente de um quilo de vagem

3.5 Produção do bioetanol

Para a produção do bioetanol foi replicado em dorna de aço inoxidável com capacidade para 50 litros de mosto, o experimento que obteve o melhor resultado na produção de álcool (Y_{p/s}). Após o término da fermentação foi retirado o fermentado (vinho) com a separação da biomassa e destilado em micro destilador de álcool da fabricante Nova Orgânica.

3.5.1 Caracterização do bioetanol

O bioetanol foi caracterizado de acordo com a resolução ANP nº 19, de 15.4.2015 DOU 16.4.2015 republicada no DOU 17.4.2015 republicada no DOU 20.4.2015

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O processo fermentativo apresentou excelente característica, do ponto de vista visual, apresentando formação de bolhas de CO₂ poucos minutos após a incubação, mostrando a fácil adaptação do fermento ao meio. Essa característica foi mais acentuada nos ensaios contendo o fermento granulado (Figura 4.1), onde as bolhas possuíam maiores dimensão e velocidade, após um período aproximado de duas horas o processo mostrou uma grande evolução do ponto de vista visual com formação de bolhas maiores e com maior velocidade.



Figura 4. 1: Fermentação do caldo de algaroba por fermento fresco e granulado respectivamente.

4.1 Tempo de fermentação

O processo fermentativo teve um tempo médio de 15 ± 3 horas uma fermentação relativamente rápida, o ensaio E1 (fermento fresco e 20 °Brix) teve uma duração média de 18 horas sendo o ensaio com maior tempo de fermentação, os ensaios E2 (fermento fresco e 18°brix) e E3 (fermento fresco e 16°brix) tiveram uma duração média de 16 horas mostrando uma queda no tempo de fermentação em relação a “E1” fato esse que pode ser explicado pela diminuição na quantidade de substrato, fato que não ocorreu quando entre E2 e E3, para o ensaio E4 (fermento granulado e 20 °Brix) o tempo médio de fermentação foi de 14 horas, 4 horas a menos que E1 que possui mesma quantidade de substrato evidenciando a diferença de comportamento entre fermentos E5 (fermento granulado e 18°Brix) e E6 (fermento granulado

e 16°Brix) tiveram um tempo médio de fermentação de 12 horas comportamento semelhante a E2 e E3, mas com 4 horas a menos. Como pode ser visto na Figura 4.2.

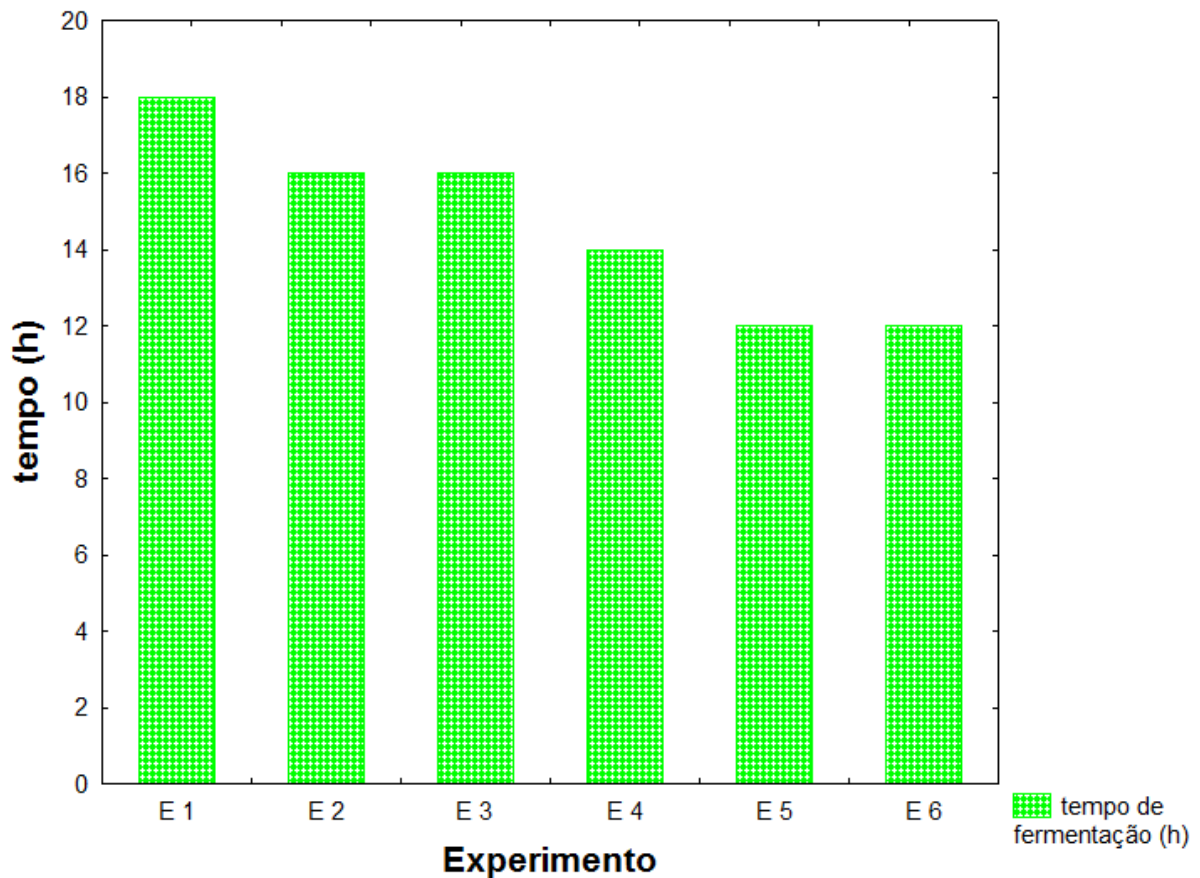


Figura 4. 2 Tempo de fermentação dos experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix), E2 (fermento fresco e 18 °Brix), E3 (fermento fresco e 16 °Brix), E4 (fermento Granulado e 20 °Brix), E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 °Brix) respectivamente.

O fermento granulado teve menor tempo de fermentação fato esse que pode ser atribuído à melhor adaptação ao meio e a maior quantidade e qualidade de células por unidade de massa no fermento.

Muniz (2009) obteve um tempo médio de 18 horas para a fermentação do caldo de algaroba onde variou a quantidade de fermento e a quantidade de substrato (°Brix). Parente (2014) obteve um tempo médio de 30 horas para a produção da aguardente de abacaxi.

4.2. Cinética de fermentação

O controle de todas as variáveis do processo de fermentação alcoólica é necessário para um melhor entendimento e possíveis ajustes no processo. No estudo cinético da fermentação alcoólica foram determinadas, periodicamente e a cada duas horas, as principais

variáveis envolvidas no processo fermentativo ($^{\circ}$ Brix, pH, teor alcoólico, concentração celular e temperatura), para cada ensaio contido na matriz de planejamento (E1-E6).

4.2.1 Evolução dos valores do teor alcoólico ($^{\circ}$ GL)

A evolução dos valores do teor alcoólico foi verificada a cada duas horas para todos os ensaios de fermentação mostrando o perfil cinético para cada ensaio possibilitando um melhor entendimento do processo como pode ser visto na figura 4.3.

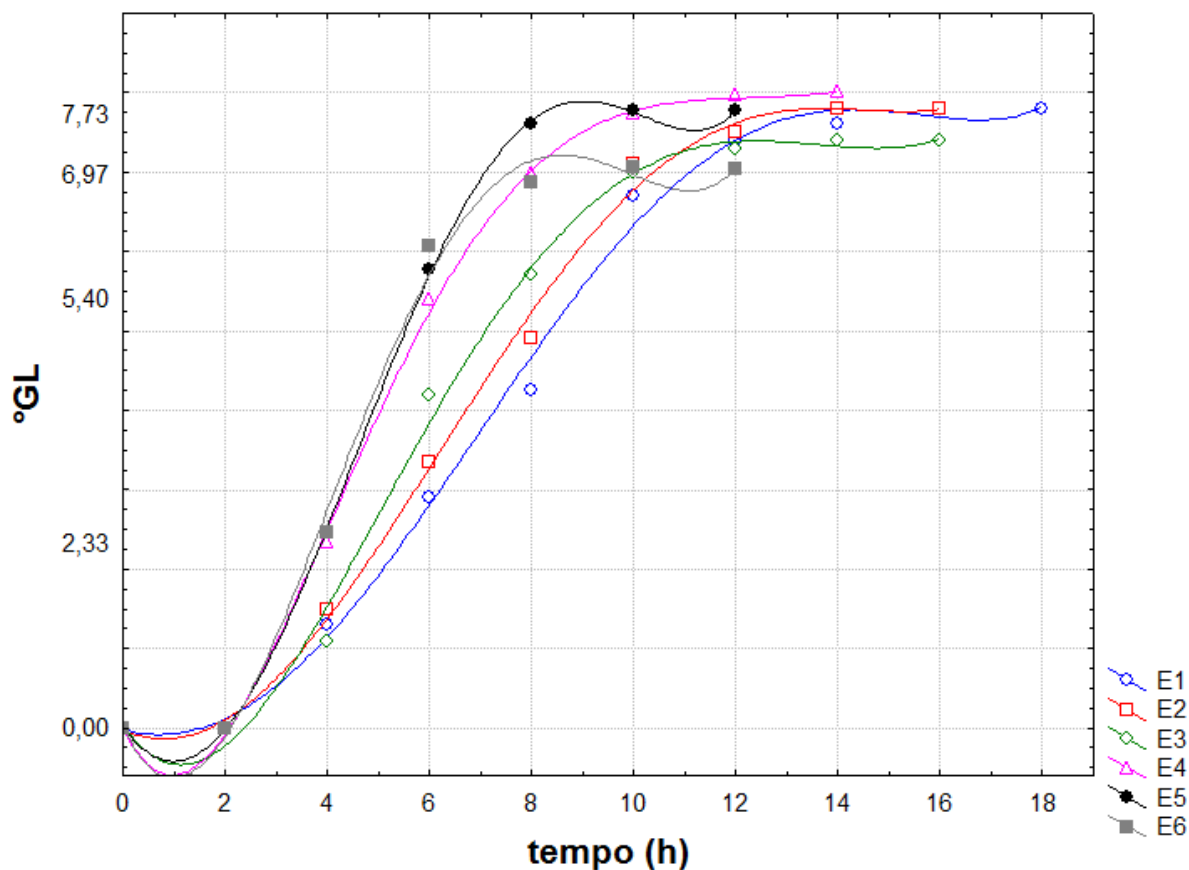


Figura 4. 3. Crescimento do teor alcoólico ($^{\circ}$ GL) em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 $^{\circ}$ Brix), E2 (fermento fresco e 18 $^{\circ}$ Brix), E3 (fermento fresco e 16 $^{\circ}$ Brix), E4 (fermento Granulado e 20 $^{\circ}$ Brix), E5 (fermento Granulado e 18 $^{\circ}$ Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 $^{\circ}$ Brix).

O primeiro ensaio E1 (fermento fresco e 20 $^{\circ}$ Brix) não teve produção significativa nas duas primeiras horas de fermentação, já a partir da quarta hora houve um crescimento exponencial até 12 horas e, após esse período, teve uma desaceleração na produção até chegar a uma constante evidenciando o fim do processo fermentativo com 18 horas de processo e teve uma produção média de 7,8 $^{\circ}$ GL, os demais ensaios tiveram um comportamento similar, para E2 a desaceleração ocorreu na décima hora de fermentação e a estabilidade na décima

sexta hora, tendo uma produção média de 7,8 °GL, E3 teve comportamento idêntico a E2, mas com uma produção média de 7,4 °GL, no quarto ensaio E4 não houve produção significativa de álcool nas duas primeiras horas de fermentação, assim como nos outros ensaios, mas após esse período o crescimento se deu de forma exponencial e mais acentuada que em E1, E2 e E3 sofrendo uma desaceleração com 8 horas de processo fermentativo e chegando à estabilidade com 14 horas e uma produção média de 8,0 °GL, E5 e E6 tiveram um comportamento semelhante a E4, mas chegaram à estabilidade com 12 horas de fermentação e tiveram uma produção média de 7,76 e 7,03 °GL, respectivamente.

Os dados obtidos foram tratados com software computacional gerando equações matemáticas de quinta ordem que possibilitam estimar os valores de °GL para qualquer tempo da fermentação, as equações obtidas foram do tipo $E_{1-6} = A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$, com seus respectivos coeficientes Tabela 4.1.

Tabela 4. 1. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o crescimento do teor alcoólico em relação ao tempo.

	A	B	C	D	E	F
E1	-0,0252	-0,1636	0,1134	0,0039	-0,001	3,25E-05
E2	-0,0235	-0,293	0,1909	-0,0051	-0,0007	3,16E-05
E3	0,0445	-0,9589	0,5058	-0,0502	0,0018	-1,80E-05
E4	0,0151	-1,369	0,8666	-0,115	0,0062	-0,0001
E5	0,0035	-0,8671	0,4481	0,0003	-0,0059	0,0003
E6	0,0181	-1,3963	0,8279	-0,0835	0,0012	9,77E-05

Os dados obtidos foram semelhantes ao estudo realizado por Parente (2014) obteve valores médios de 8,84°GL na produção de aguardente de abacaxi. Valores próximos ao de Muniz (2009) que variaram de 7,35 a 8,0 na fermentação alcoólica do caldo de algaroba.

4.2.2 Evolução dos valores de sólidos solúveis totais (°Brix)

A evolução dos valores dos sólidos solúveis totais foi verificado a cada duas horas para todos os ensaios de fermentação mostrando o perfil cinético para cada ensaio possibilitando um melhor entendimento do processo como pode ser visto na figura 4.4.

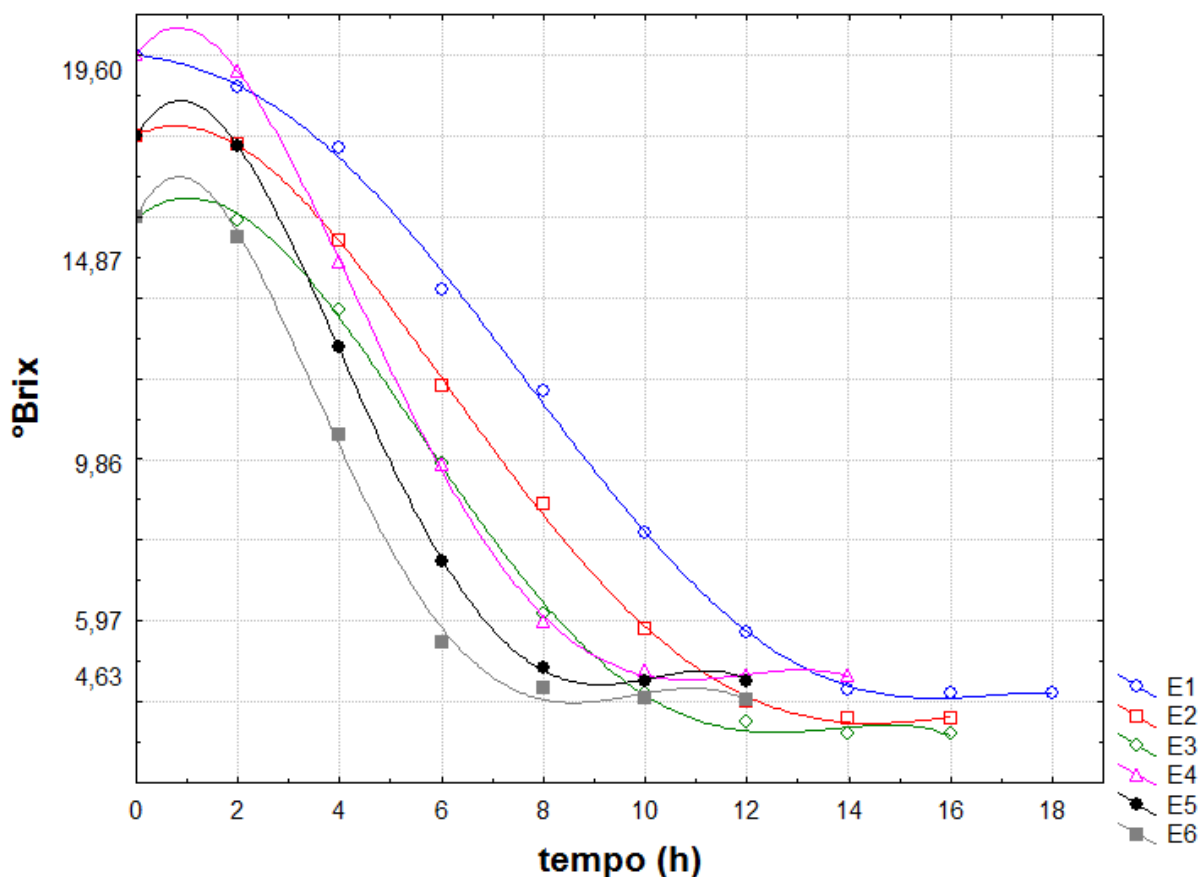


Figura 4. 4. Decaimento da concentração de substrato (°Brix) em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix), E2 (fermento fresco e 18 °Brix), E3 (fermento fresco e 16 °Brix), E4 (fermento Granulado e 20 °Brix), E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 °Brix).

Todos os ensaios de fermentação tiveram uma pequena queda nos valores de °Brix nas duas primeiras horas, e, logo após esse período tiveram uma queda acentuada evidenciando o período de adaptação sofrido pelas leveduras ao meio. Os ensaios contendo o fermento granulado (E4, E5 e E6) sofreram uma queda mais acentuada em relação ao tempo do que os ensaios contendo fermento fresco (E1, E2 e E3), conseqüentemente tiveram um menor tempo de fermentação (Figura 4.4). Para E1 o decaimento acentuado se deu até a décima segunda hora do processo, após esse período houve uma desaceleração gradual até chegar a uma constante de 4,2 °Brix na décima oitava hora do processo. Já em E2 o início da desaceleração também teve início na décima segunda hora do processo. Mas alcançando uma constante de 3,6 °Brix na décima sexta hora de processo. Para E3 o início da desaceleração foi na décima hora atingindo a constante de 3,2 °Brix na décima sexta hora de processo. Para E4, E5 e E6 a desaceleração teve início na oitava hora de processo e alcançando a estabilidade nas décima

segunda, décima segunda e décima quarta horas respectivamente, com valores de 4,63; 4,53 e 4,06 °Brix, respectivamente.

Os dados obtidos foram tratados com software computacional gerando equações matemáticas de quinta ordem que possibilitam estimar os valores de °Brix para qualquer tempo da fermentação, as equações obtidas foram do tipo $E_{1-6} = A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$, com seus respectivos coeficientes Tabela 4.2.

Tabela 4. 2. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o decaimento da concentração de substrato (°Brix) em relação ao tempo.

	A	B	C	D	E	F
E1	20,0001	-0,1581	-0,0822	-0,0166	0,002	-5,09E-05
E2	18,0142	0,6184	-0,4302	0,0293	-0,0004	-1,00E-05
E3	15,9594	1,0197	-0,558	0,0381	-6,92E-05	-3,61E-05
E4	19,9998	1,7355	-1,2306	0,142	-0,0058	6,68E-05
E5	17,9961	2,1088	-1,4125	0,1582	-0,0047	-4,82E-05
E6	15,9816	2,5885	-1,8865	0,2804	-0,016	0,0003

Segundo Aquarone (1983) o valor final do °Brix deve ser zero ou próximo a zero fato que não foi observado onde foi obtida uma média final de 4,3 °Brix, o mesmo fato foi observado por: SANTANA et al. (2008) utilizaram, em estudo referente à otimização por análise de superfície de resposta da hidrólise do amido de mandioca por *a*-amilase fúngica (*A. niger*), por Muniz (2009), por Silva (2009).

4.2.3 Evolução dos valores de pH

O pH inicial foi corrigido para 4,30 para todos os ensaios com ácido sulfúrico (H₂SO₄) 10%. A evolução dos valores do pH foram verificadas a cada duas horas para todos os ensaios de fermentação mostrando o perfil cinético para cada ensaio possibilitando um melhor entendimento do processo como pode ser visto na figura 4.5.

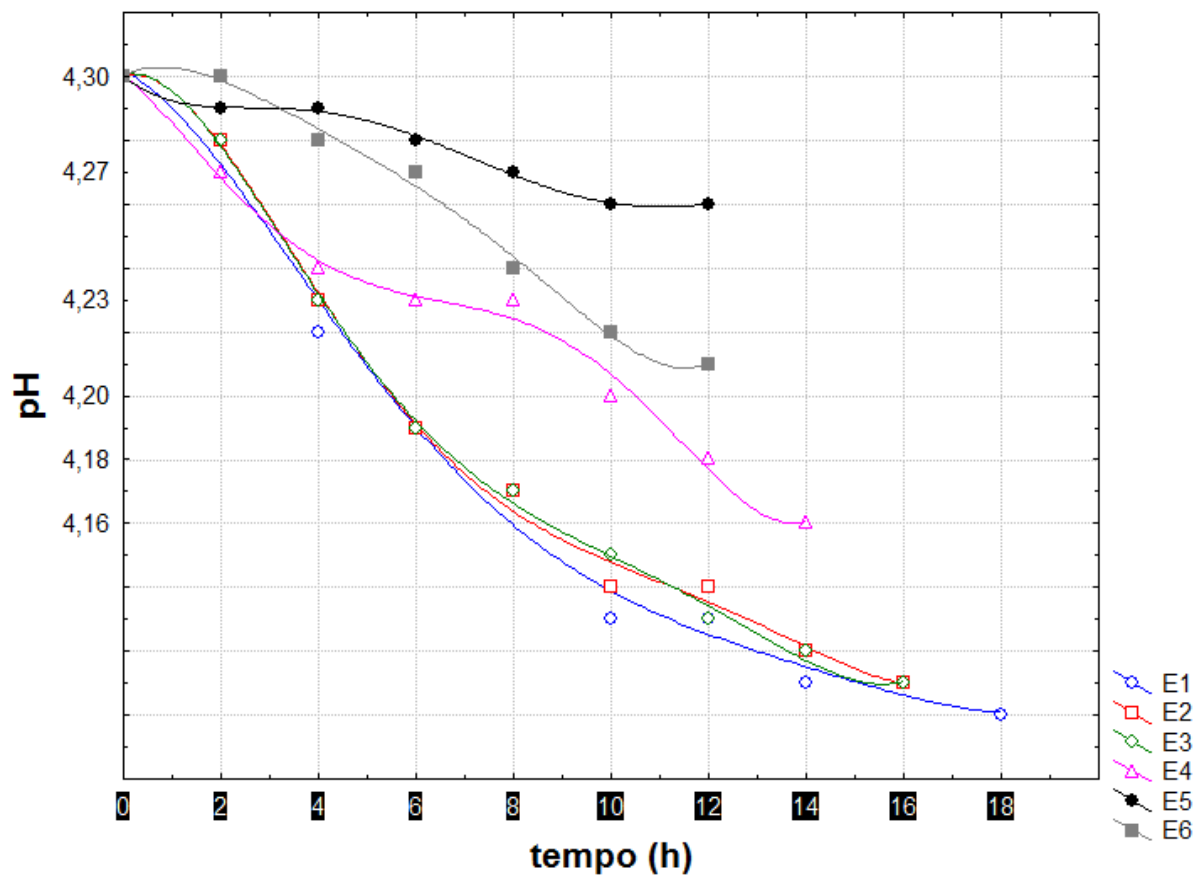


Figura 4. 5. Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix), E2 (fermento fresco e 18 °Brix), E3 (fermento fresco e 16 °Brix), E4 (fermento Granulado e 20 °Brix), E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 °Brix).

Os ensaios contendo o fermento fresco (E1, E2 e E3) apresentaram o mesmo comportamento diferentemente dos ensaios contendo o fermento granulado (E4, E5 e E6), que apresentaram comportamento avulso com valores finais de: 4,10; 4,11; 4,11; 4,16; 4,26 e 4,21, respectivamente.

Os dados obtidos foram tratados com software computacional gerando equações matemáticas de quinta ordem que possibilitam estimar os valores de pH para qualquer tempo da fermentação, as equações obtidas foram do tipo $E_{1-6} = A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$, com seus respectivos coeficientes Tabela 4.3.

Tabela 4. 3. Valores de A, B, C, D, E e F da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4 + Ft^5$ Para o comportamento do pH em relação ao tempo.

	A	B	C	D	E	F
E1	4,3018	-0,0075	-0,0048	0,0007	3,64E-05	6,81E-07
E2	4,3003	0,003	-0,0096	0,0015	-8,89E-05	1,90E-06
E3	4,3005	0,0033	-0,0102	0,0016	0,0001	2,40E-06
E4	4,3004	-0,0122	-0,0042	0,0014	0,0001	4,11E-06
E5	4,2999	-0,0123	0,0058	-0,0012	9,47E-05	-2,60E-06
E6	4,3002	0,0075	-0,006	0,0012	-0,0001	3,91E-06

Apesar da diminuição dos valores do pH este se manteve dentro da faixa considerada ideal para o processo fermentativo que é de 4,0 a 4,5 esse comportamento também foi observado por Bortolini et al. (2001) em trabalhos com fermentados com kiwi verificaram que a faixa encontrada para o pH foi entre 3,82 a 4,45.

4.2.4 Evolução dos valores Temperatura

A evolução dos valores da temperatura foi verificada a cada duas horas para todos os ensaios de fermentação mostrando o perfil cinético para cada ensaio possibilitando um melhor entendimento do processo como pode ser visto na figura 4.6.

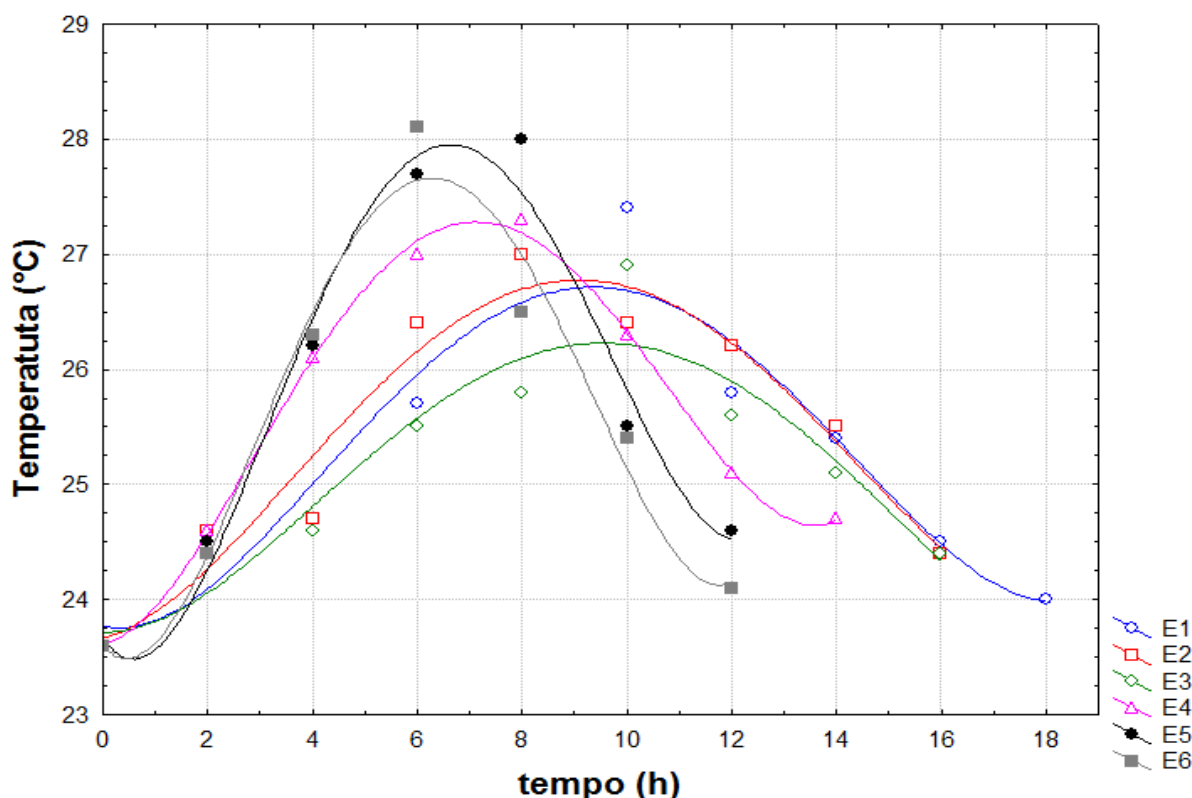


Figura 4. 6. Comportamento da temperatura em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix), E2 (fermento fresco e 18 °Brix), E3 (fermento fresco e 16 °Brix), E4 (fermento Granulado e 20 °Brix), E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 °Brix).

A temperatura teve um comportamento semelhante em ambos os ensaios com um rápido crescimento e logo após uma queda acentuada com picos de temperatura nos ápices do processo fermentativo, todos os ensaios tiveram início com 23,6 °C com picos de temperatura em 27,4; 27,0; 26,9; 27,3; 27,9 e 28,0 °C respectivamente com um aumento médio de 3,5 °C ao término do processo fermentativo a temperatura média foi de 24,4 °C.

Os dados obtidos foram tratados com software computacional gerando equações matemáticas de quarta ordem que possibilitam estimar os valores da temperatura para qualquer tempo da fermentação, as equações obtidas foram do tipo $E_{1-6} = A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4$, com seus respectivos coeficientes Tabela 4.4.

Tabela 4. 4. Valores de A, B, C, D e E da equação do tipo $A + Bt + Ct^2 + Dt^3 + Et^4$ Para o comportamento da temperatura em relação ao tempo.

	A	B	C	D	E
E1	23,7692	-0,0973	0,1612	-0,0167	0,0005
E2	23,6674	0,1168	0,1191	-0,0139	0,0004
E3	23,716	-0,007	0,1113	-0,0115	0,0003
E4	23,611	0,1064	0,2577	-0,038	0,0014
E5	23,6636	-0,6581	0,6472	-0,0915	0,0036
E6	23,5931	-0,4977	0,6166	-0,0928	0,0038

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

4.2.5 Evolução dos valores de biomassa (células)

O crescimento celular foi verificado a cada duas horas para todos os ensaios de fermentação, mostrando o perfil cinético de cada ensaio possibilitando um melhor entendimento do processo como pode ser visto na figura 4.7.

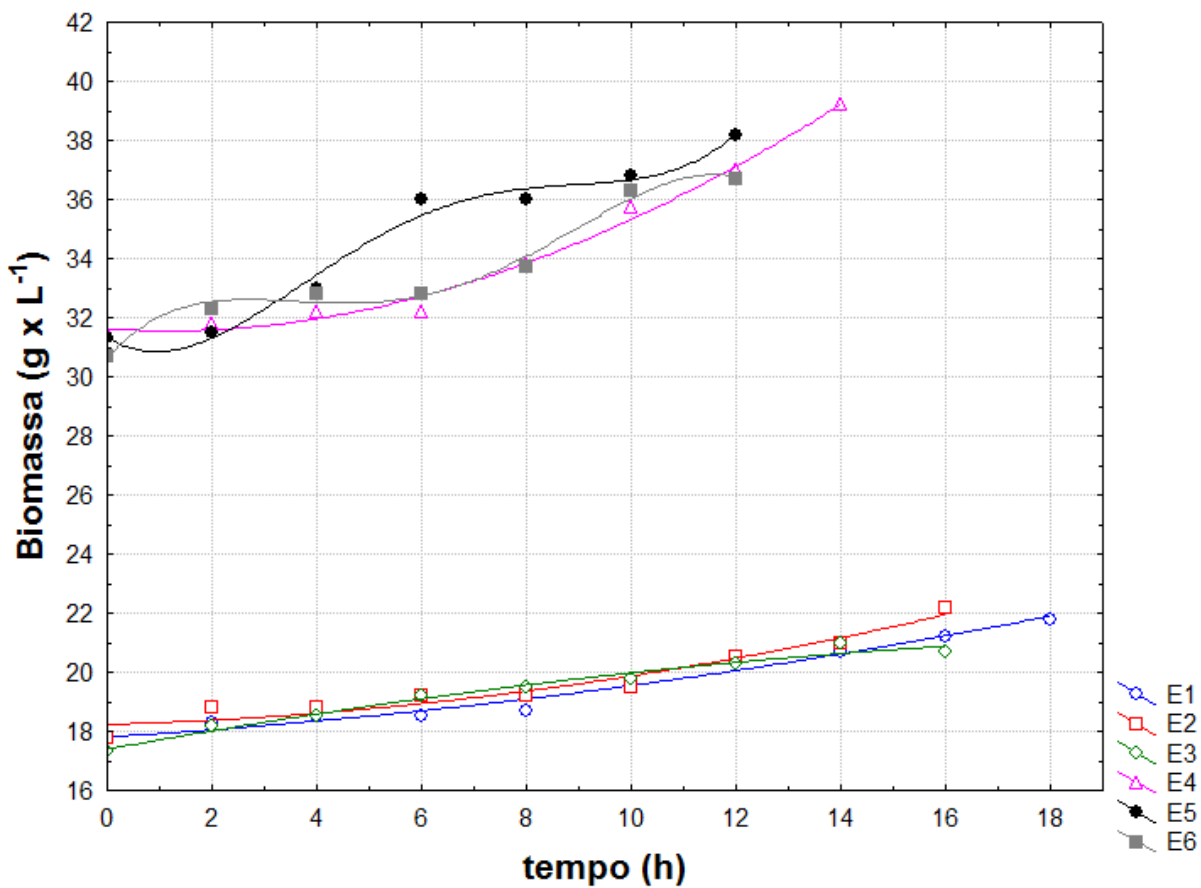


Figura 4. 7. Comportamento do crescimento da biomassa em relação ao tempo para os experimentos E1 (fermento fresco e 20 °Brix), E2 (fermento fresco e 18 °Brix), E3 (fermento fresco e 16 °Brix), E4 (fermento Granulado e 20 °Brix), E5 (fermento Granulado e 18 °Brix) e E6 (fermento Granulado e 16 °Brix).

Os ensaios que continham o fermento fresco (E1, E2 e E3) apresentaram um comportamento semelhante com uma concentração inicial média de $17,6 \text{ gL}^{-1}$, apresentando um leve crescimento ao decorrer do processo fermentativo com um crescimento médio de $3,96 \text{ gL}^{-1}$. Já os ensaios contendo o fermento granulado (E4, E5 e E6) apresentaram um comportamento avulso, tendo início com uma concentração média de $31,2 \text{ gL}^{-1}$ com um crescimento mais acentuado em relação a E1, E2 e E3 de $6,8 \text{ gL}^{-1}$.

Esse comportamento pode ser explicado pela alta densidade celular do fermento granulado e à grande quantidade de água e impurezas presentes no fermento fresco.

Os dados obtidos foram tratados com software computacional gerando equações matemáticas de segunda ordem para os experimentos contendo fermento fresco (E1, E2 e E3), de terceira ordem para E4 (fermento granulado e 20°Brix), de quarta ordem para E5 (fermento granulado e 18°Brix) e E6 (fermento granulado e 16°Brix) que possibilitam estimar os valores da biomassa para qualquer tempo da fermentação, as equações obtidas foram do tipo $E_{1-3} = A$

+ Bt + Ct²; E₄ = A + Bt + Ct² + Dt³; E₅₋₆ = A + Bt + Ct² + Dt³ + Et⁴ com seus respectivos coeficientes Tabela 4.5.

Tabela 4. 5. Valores de A, B, C, D e E da equação do tipo A + Bt + Ct² + Dt³ + Et⁴ para o crescimento da biomassa em relação ao tempo.

	A	B	C	D	E
E1	17,8127	0,108	0,0066		
E2	18,2339	0,0494	0,0114		
E3	17,3897	0,3266	-0,0068		
E4	31,6288	-0,126	0,0539	-0,0004	
E5	31,3357	-1,1264	0,725	-0,0924	0,0036
E6	30,6374	1,9689	-0,6685	0,0873	-0,0035

Segundo silva (2007) a *Saccharomyces cerevisiae* tem maior rendimento em biomassa no caldo da algaroba que em meios comuns (caldo de cana de açúcar). Kalanty (2012) relata que o fermento granulado possui maior vida útil, tem menor umidade aumentando o número de células por unidade de massa.

4.3. Cálculo de produtividade, rendimento teórico, rendimento em biomassa, percentual conversão e produção de álcool por quilo de vagem.

4.3.1 Produtividade (g L⁻¹ h⁻¹)

Os valores de produtividade (g L⁻¹ h⁻¹) foram calculados pela equação (3) e tratados pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta (2016) aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. 6 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para a produtividade (g L⁻¹ h⁻¹).

A (fermento)	B(°Brix)		
	B1 (20)	B2 (18)	B3 (16)
A1 (fresco)	0,3493 bC	0,3940 bA	0,37401 bB
A2 (granulado)	0,4620 aC	0,5237 aA	0,4743 aB
dms para colunas = 0,0064		dms para linhas = 0,0078	

De acordo com os resultados obtidos, o melhor valor de °Brix para a produtividade foi 18°Brix e o melhor tipo de fermento foi o fermento granulado, doutro modo os piores resultados foram para 20°Brix e fermento fresco.

Silva (2009), Parente (2014) obtiveram valores muito superiores aos encontrado nesse trabalho, 3,69 e 2,94, respectivamente. ALMEIDA et al. (2006) realizaram o estudo cinético

da fermentação alcoólica na produção do fermentado de fruto de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC). Obtendo uma produtividade de 1,75 (g L⁻¹.h⁻¹).

4.3.2 Rendimento teórico (Y_{p/s})

Os valores do rendimento teórico (Y_{p/s}) foram calculados pela equação (4) e tratados pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta (2016) aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. 7 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o rendimento do produto (Y_{p/s}).

A (fermento)	B (°Brix)		
	B1 (20)	B2 (18)	B3 (16)
A1 (fresco)	0,4905 bC	0,5416 bB	0,5781 bA
A2 (granulado)	0,5205 aC	0,5767 aB	0,5894 aA
dms para colunas = 0,0098		dms para linhas = 0,0119	

De acordo com os resultados obtidos, o melhor valor de °Brix para o rendimento foi 16°Brix e o melhor tipo de fermento foi o fermento granulado doutro modo os piores resultados foram para 20°Brix e fermento fresco.

Parente (2014) obteve resultados semelhantes na produção de aguardente de abacaxi (0,405 a 0,504), onde os melhores resultados foram para 17 °Brix. Fato também relatado por Silva (2009) onde obteve 0,442 para 17°Brix. ALMEIDA et al. (2006) realizaram o estudo cinético da fermentação alcoólica na produção do fermentado de fruto de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC). O fermentado foi produzido em reator batelada (duplicata) na temperatura de 30 ± 2°C obtendo Y_{p/s} = 0,461.

4.3.3 Rendimento em biomassa (Y_{x/s})

Os valores do rendimento em biomassa (Y_{x/s}) foram calculados pela equação (5) e tratados pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta (2016) aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. 8 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o rendimento da biomassa (Y_{x/s}).

A (fermento)	B (°Brix)		
	B1 (20)	B2 (18)	B3 (16)
A1 (fresco)	0,263 bA	0,3003 bA	0,26 bA
A2 (granulado)	0,4983 aA	0,507 aA	0,501 aA
dms para colunas = 0,14347		dms para linhas = 0,21507	

De acordo com os resultados obtidos, o °Brix não apresentou diferença significativa no rendimento em biomassa, o fermento que apresentou o melhor desempenho foi o fermento granulado.

4.3.4 Percentual de conversão

Os valores para o percentual de converção foram calculados pela equação (6) e tratados pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta (2016) aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. 9 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para o percentual de conversão em produto.

A (fermento)	B (°Brix)		
	B1 (20)	B2 (18)	B3 (16)
A1 (fresco)	75,9947 bC	84,8010 aB	90,5080 aA
A2 (granulado)	78,2773 aC	84,4383 aB	86,0237 bA
dms para colunas = 1.0694		dms para linhas = 1.3090	

De acordo com os resultados obtidos, o melhor valor de °Brix para o rendimento foi 16°Brix e o melhor tipo de fermento foi o fermento fresco e os piores resultados foram para 20°Brix e fermento fresco.

Esses resultados são maiores que os 72,00% encontrados por SILVA (2002) quando estudou a extração do caldo de algaroba para produção de aguardente, Muniz (2009) obteve 74,3% de conversão em seu estudo de fermentação de caldo de algaroba. Porém é inferior aos valores encontrados por Fontan (2011) obteve alto valor no percentual de conversão (94,0%) na produção de vinho de melancia.

4.3.5. Produção de álcool por quilo de vagem (L Kg⁻¹)

Os valores para a produção de álcool por quilo de vagem (L Kg⁻¹) foram calculados pela equação (7) e tratados pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta (2016) aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. 10 Médias de interação fator 1 (Fermento) x fator 2 (°Brix), (A x B) para a produção média de álcool por quilograma de vagem.

A (fermento)	B (°Brix)		
	B1 (20)	B2 (18)	B3 (16)
A1 (fresco)	0,1632 bC	0,1820 aB	0,1942 aA
A2 (granulado)	0,1680 aC	0,1812 aB	0,1846 bA
dms para colunas = 0.0023		dms para linhas = 0.0029	

De acordo com os resultados obtidos, o melhor valor de °Brix para o rendimento foi 16°Brix e o melhor tipo de fermento foi o fermento fresco em contrassenso os piores resultados foram para 20°Brix e fermento fresco.

A produção média de álcool por quilograma de cana de açúcar é de 0,085 a 0,09 (L Kg⁻¹).

4.4 Características do bioetanol

O bioetanol produzido foi caracterizado pela metodologia especificada pela Agência Nacional de Petróleo, Biocombustíveis e gás natural (ANP), e posteriormente comparados com os parâmetros por ela estabelecidos.

Tabela 4. 11 Características físico-químicas do bioetanol confrontadas com a legislação vigente.

Característica	Unidade	Limite			Resultado
		EAC	EHC	EHC P2	
Aspecto	-	Límpido e isento de impurezas (LII)			(LII)
Cor	-	4	5		5
Acidez total, máx. (em miligramas de ácidoacético)	mg/L	30			28,2
Condutividade elétrica, máx.	µS/m	300			282,33
Massa específica a 20°C.	kg/m ³	791,5 max	805,2 a 811,2	799,7 a 802,8	809
Teor alcoólico	% massa	99,3 min.	92,5 a 94,6	95,5 a 96,5	94,2
Potencial hidrogeniônico (pH)			6 a 8		6,28
Teor de etanol, mín.	% volume	98	94,5	96,3	95,5
Resíduo por evaporação, máx.	mg/100mL	5			-

O bioetanol obtido foi um produto incolor livre de impurezas com acidez titulável de 28,2 mg de ácido acético, condutividade elétrica de 282,33µS/m, com massa específica de 809 Kg m⁻³, teor alcoólico de 95,5°GL, pH de 6,28 e não apresentou resíduo por evaporação em 100ml. Atendendo aos parâmetros preestabelecidos pela ANP.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos conclui-se que:

- ✓ O fermento granulado diminui em média quatro horas o processo de fermentação se comparado ao fermento fresco.
- ✓ O experimento E6 (fermento granulado e 16°Brix) teve o melhor rendimento em produto.
- ✓ O experimento E5 (fermento granulado e 18°Brix) teve o melhor rendimento em biomassa e em produtividade.
- ✓ A concentração de sólidos solúveis totais não apresenta influência significativa na multiplicação da biomassa.
- ✓ O experimento E3 (fermento fresco e 16°Brix) teve o maior percentual de conversão e produção de álcool por quilo de vagem.
- ✓ O bioetanol produzido atende à legislação vigente.

6. REFERENCIAS

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

ARRUDA, D.T. de. **Viabilidade técnico-econômica da produção de etanol e subproduto (Ração) a partir da algaroba no semi-árido da Paraíba**. 1994. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa 1994.

AZEVEDO, G. de. **Algaroba**. Rio de Janeiro. Ed. Serviço de Informação Agrícola. 843. Ministério da Agricultura. 1960. 34p.

BECKER, R.; GROSJEAN, O. K. A compositional study of pods of two varieties of mesquite (*Prosopis glandulosa*, *P. velutina*). **J. Agric. Food Chem.** V.28, f.22-26, 1980.

BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de Eucalyptus spp para a produção de bioetanol**. 2010. 154 p Tese (Doutorado em ciência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz” / Universidade de São Paulo. 2010.

BORGES, I. F., **Obtenção e Caracterização do Melado de Algaroba (*Prosopis juliflora* SW DC) e sua Utilização em uma formulação Alimentícia**. 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004.

BORTOLINI, F.; SANT’ANNA, E.S.; TORRES, R.C. Comportamento das fermentações alcoólicas e acéticas de fermentados de kiwi (*Actinidia deliciosa*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.2, n.2, p.30-42, 2001.

CAMPELO, R. **Algarobeira: alternativa para o semi-árido brasileiro**. Maceió, AL: UFAL, 1987. 25f. (UFAL. Informe Técnico).

DEL VALLE, F.R.; ESCOBEDO, M.; MUÑOZ, M.J. Chemical and nutritional studies on mesquite beans (*Prosopis juliflora*). **Journal of Food Science**, v.48, p.914-919, 1983.

FELKER, P.; BANDURSKI, R.S. Protein and amino acid composition of tree legume seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture** v.28, f.791-797, 1977.

FIGUEIREDO, A.A. “**Lebensmitte lelremiscere relevante ineraltroffe der sceroten der algarobeira (*Prosopis juliflora* DC)**”. 1975. Tese (Doutorado em Lebensmittelwissenschaft und Technologie) Julius Maximilians. Universitat Wurzburg. Alemanha. 105f.

FIGUEIREDO, A.A.; ASCHERI, J.L.R.; CARVALHO, C.W. Produção de expandidos à base de farinha mista de algaroba e arroz e de algaroba e milho. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Estratégia para o Desenvolvimento, 2004, Recife. **Anais...Recife: SBCTA, 2004. CD-Rom**.

FRANCO, A.A.; FARIA, S.M.; MOREIRA, V.C.G. Nodulation and nitrogen fixation in *Prosopis juliflora* (SW) DC. In: The Current State of Knowledge on *Prosopis Juliflora*.

International Conference on Prosopis, 1988, Rome. **Anais**. Rome: FAO, 1988. p.299-306.

FREIRE, S. **Engenheiro desenvolve aguardente de árvore do semi-árido**, Folha de São Paulo, São Paulo. 13 Jan. 2004. Agrofolha, f.B12.

GAVA, AJ.; SILVA, C.A.B.;FRIAS, J.R.P. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo, Nobel, 2009. 511p.

GOMES. J.J. **Características tecnológicas da algarobeira (*Prosopis juliflora* SW DC): Contribuição para seu uso racional**. 1999. 118f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Departamento de Engenharia Agrícola. Campina Grande. PB 1999.

GROSSI, J.L.S.; FIGUEIREDO A.A. Elaboração e composição de uma geléia formulada com polpa de vagens de algarobeira (*Prosopis juliflora* DC). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16, 2000, Fortaleza. **Anais...** Disponível em:<<http://acd.ufrj.br/algaroba/main.html>>. Acesso em: 23 de junho 2014.

KALANTY, Michael. **Como assar pães: as cinco famílias**. São Paulo: Editora Senac, 2012. 532 p.

LIMA. D.F. Avaliação nutricional e bioquímica de *Prosopis juliflora* e seu aproveitamento na alimentação humana. In: **2º Simpósio Brasileiro sobre algaroba**. 1987. Mossoró, RN, Brasil. p.61-65. Coleção Mossoroense. N° 357.

LIMA, U.A. de. Produção de etanol. In: LIMA, U.A. de. AQUARONE, E.; BORZANI, W.**Biotecnologia. Tecnologia das fermentações**. São Paulo: 1975. v.1. cap. 3, f.48-69.

LIMA, P.C.F. **Comportamento silvicultural de espécies de *Prosopis*, em Petrolina – PE, região semi-árida brasileira**. 110 f. Tese (Doutorado) – Escola de Florestas, Universidade Federal do Paraná, PR, 1994.

MUNIZ, M. B. **Processamento das vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*) pra produção de bioprodutos**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande – PB 2009.

NOBRE, F.V. **Algaroba, importante forrageira para o Nordeste**. Natal. RN. 2ª ed. 1982. 41p. (EMPARN. Boletim Técnico, 5).

OLIVEIRA, E. G. **Isolamento de leveduras selvagens de vagens da algarobeira**. Maceió, AL 2003, 12p. (Informativo do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas – UFAL) 2003.

PANDEY, A. Solid state fermentation, **Biochemical Engineering Journal**, v.13, n.2/3, p.81-84, 2003.

PANTOJA, L. **Aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia por fermentação alcoólica utilizando leveduras imobilizadas**. 2006. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus 2006.

PARENTE, G. D. L. **Cinética da fermentação e da destilação na produção de aguardente de abacaxi**. 2014(Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2014.

PEREIRA, S. C. L. **Estudo Comparativo de álcool utilizando a *Cyperus esculentus* via rota enzimática e ácida**. 2014. 101 p. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, 2014.

PINHEIRO, K. M.; SILVA, T. G. F.; CARVALHO, H. F. S.; SANTOS, J. E. O.; MORAIS, J. E. F.; ZOLNIER, S.; SANTOS, D. C. Correlações do índice de área do cladódio com características morfogênicas e produtivas da palma forrageira. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.939-947, 2014

RABELO, S. C. **avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço da cana de açúcar para a produção de álcool de segunda geração**. 2010. 454 p Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

REIS, B. M. M. **Produção de bioetanol a partir de polpa de Alfarroba: destoxificação de polifenóis por fotocatalise** 2013. 63 p Dissertação (Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente) - Universidade de Lisboa, Lisboa. 2013.

SANTANA, J.C.C.; EHRHARDT, D. D., LOPES, F.L.G.; TAMBOURGI, E.B. **Avaliação estatística da hidrólise enzimática e produção de álcool combustível a partir do amido de mandioca**. Campinas-SP. DESQ, Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP 2007.

SANTOS, D. S. **Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica**. 2012. 218 p Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2012.

SILVA, C.G.M. **Processo biotecnológico para conversão de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw D.C.) em etanol**. Tese (Doutorado em Nutrição). 2007, 104f. Universidade Federal de Pernambuco. Recife 2007.

SILVA, A.M.A.; PEREIRA J.A.A.; COSTA, P.M.A.; MELLO, H.V. Valor nutritivo da algaroba (*Prosopis juliflora* S.w. D.C.), na alimentação de suínos. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.18, n.2, p.184-195, 1989.

SILVA, J.H.V. da; SILVA, E.L. da; JORDÃO FILHO, J.; TOLEDO, R.S.; ALBINO, L.F.T.; RIBEIRO, M.L.G.; COUTO, H.P. Valores energéticos e efeitos da inclusão da farinha da integral da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora*) em rações de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2255-2264, 2002.

SILVA, C.G. Avaliação nutricional do resíduo da vagem da algaroba (*Prosopis juliflora* Sw DC) após a extração do caldo para fabricação de aguardente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, Ciencia e Tecnologia de Alimentos: Estratégia para o Desenvolvimento. Centro de Convenções de Pernambuco. **Anais**. Recife. 2005.

SILVA, C. G. Otimização do processo de produção da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia de Processo) – Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande – PB 2009.

SILVA, J.H.V.; OLIVEIRA, J.N.C.; SILVA, E.L.; FILHO, J.J.; RIBEIRO, M.L G. Valores energéticos e efeitos da inclusão da farinha da integral da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora Sw D.C.*) em rações de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.31, n.6, p.2255-2264, Maio/Junho, 2002.

STEIN, R.B.S. **Avaliação de métodos para determinação da digestibilidade aparente utilizando farelo de vagem de algaroba (*Prosopis juliflora S.W. D.C.*) em eqüinos.** 78 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP. 2002.

SUASSUNA, J. **Algarobeira – produção e produtividade.** Recife, 2007, 6p. (Boletim da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA 2007

VENTURINI FILHO, W.G. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas.** Volume 3. Fundação Cargill. 2003.

VILELA, A. F. **Estudo da adequação de critérios de boas práticas de fabricação na avaliação de fábricas de cachaça de alambique.** 2005. 96f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2005.

APÊNDICE (Tabelas com os valores em triplicata e médios de: pH, Temperatura, °Brix, °GL e Biomassa. Para os ensaios E1 (fermento fresco e 20°Brix), E2 (fermento fresco e 18°Brix), E3 (fermento fresco e 16°Brix), E4 (fermento granulado e 20°Brix), E5 (fermento granulado e 18°Brix) e E6 (fermento granulado e 16°Brix)).

Tabela A 1: Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E1 (fermento fresco e 20 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,3	4,3	23,6	23,4	23,6	20	20	20
2	4,28	4,3	4,27	24,6	24,6	24,7	19,2	19	19,5
4	4,22	4,21	4,22	24,6	24,8	24,7	17,5	17,7	18,6
6	4,19	4,2	4,17	25,6	25,7	25,8	14,2	14,3	14,2
8	4,15	4,17	4,17	26,3	26,5	26,5	11,7	11,6	11,8
10	4,13	4,13	4,14	27,4	27,4	27,6	8,2	8,3	8,1
12	4,13	4,12	4,13	25,9	25,8	25,8	5,7	5,8	5,6
14	4,11	4,1	4,12	25,4	25,4	25,4	4,4	4,3	4,2
16	4,11	4,09	4,13	24,5	24,6	24,5	4,1	4,2	4,2
18	4,1	4,12	4,1	24	24,2	24	4,2	4,2	4,1

Continuação da tabela A1

Tempo	°GL			Biomassa		
0	0	0	0	18,5	15,5	19
2	0	0	0	14	20,5	20,5
4	1,3	1,3	1,2	20	16	19,5
6	2,97	2,9	2,86	20,5	16,5	18,5
8	4,25	4,22	4,26	19,5	18,5	18
10	6,7	6,8	6,3	19,5	18	21
12	7,6	7,4	7,4	18	20	23,5
14	7,6	7,7	7,6	21,5	20	20,5
16	7,8	7,8	7,8	20	18,5	25
18	7,8	7,7	7,8	20,5	21,5	23,5

Tabela A 2 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E1 (fermento fresco e 20 °Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
	4,3	23,6	20	0	17,7
	4,28	24,6	19,2	0	18,3
	4,22	24,7	17,7	1,3	18,5
	4,19	25,7	14,2	2,9	18,5
Médias	4,17	26,5	11,7	4,25	18,7
	4,13	27,4	8,2	6,7	19,5
	4,13	25,8	5,7	7,4	20,5
	4,11	25,4	4,3	7,6	20,7
	4,11	24,5	4,2	7,8	21,2
	4,1	24	4,2	7,8	21,8

Tabela A 3 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E2 (fermento fresco e 18 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,3	4,3	23,6	23,4	23,6	18	18	18
2	4,43	4,35	4,3	24,6	24,6	24,7	17,8	17,6	17,8
4	4,27	4,21	4,23	24,7	24,8	24,7	15,3	15,4	15,5
6	4,19	4,2	4,17	26,5	26,4	26,3	11,9	11,8	11,8
8	4,17	4,22	4,17	27	27,2	27	8,6	8,9	8,9
10	4,15	4,14	4,14	26,4	26,6	26,4	5,8	5,9	5,8
12	4,14	4,14	4,13	26,3	26,2	25,8	4	4,1	3,9
14	4,12	4,1	4,12	25,5	25,6	25,4	3,6	3,7	3,6
16	4,11	4,11	4,13	24,4	24,4	24,5	3,6	3,6	3,6

Continuação tabela A 3

Tempo	°GL			Biomassa		
0	0	0	0	17,5	17	19
2	0	0	0	18	19,5	19
4	1,5	1,5	1,52	19	19	18,5
6	3,35	3,33	3,38	19,5	18,5	19,5
8	4,9	4,88	5	19	18,5	20
10	7,3	7,1	7	20,5	20	18
12	7,6	7,5	7,4	22,5	18	21
14	7,8	7,7	7,8	18,5	21,5	23
16	7,8	7,8	7,8	21,5	20,5	24,5

Tabela A 4 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E2 (fermento fresco e 18 °Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
Médias	4,3	23,6	18	0	17,8
	4,35	24,6	17,8	0	18,8
	4,23	24,7	15,4	1,5	18,8
	4,19	26,4	11,8	3,35	19,2
	4,17	27	8,9	4,9	19,2
	4,14	26,4	5,8	7,1	19,5
	4,14	26,2	4	7,5	20,5
	4,12	25,5	3,6	7,8	21
	4,11	24,4	3,6	7,8	22,2

Tabela A 5 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E3 (fermento fresco e 16 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,3	4,3	23,6	23,6	23,7	16	16	16
2	4,3	4,28	4,2	24,3	24,4	24,4	15,9	15,8	15,9
4	4,27	4,21	4,23	24,3	24,6	24,7	13,7	13,6	13,7
6	4,16	4,2	4,19	25,5	25,7	25,5	9,9	10	9,8
8	4,17	4,5	4,17	25,7	25,9	25,8	6,2	6,4	6,2
10	4,15	4,16	4,14	27,1	26,8	26,9	4,2	4,1	4,3
12	4,12	4,14	4,13	25,4	25,6	25,8	3,4	3,5	3,5
14	4,12	4,1	4,12	25,1	25,1	24,9	3,2	3,3	3,2
16	4,11	4,1	4,12	24,4	24,2	24,5	3,2	3,2	3,2

Continuação tabela A 5

Tempo	°GL			Biomassa		
0	0	0	0	18,5	16,5	17
2	0	0	0	17,5	18,5	18,5
4	1,1	1,3	1,1	19	18	18,5
6	4,25	4,2	4,2	21,5	20	16
8	5,6	5,7	5,9	21	18	19,5
10	7	6,8	7,2	20	19,5	20
12	7,3	7,2	7,3	21	21	19
14	7,4	7,6	7,4	20,5	20,5	22
16	7,4	7,4	7,4	20	20	22

Tabela A 6 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E3 (fermento fresco e 16 °Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
Médias	4,3	23,6	16	0	17,3
	4,28	24,4	15,9	0	18,2
	4,23	24,6	13,7	1,1	18,5
	4,19	25,5	9,9	4,2	19,2
	4,17	25,8	6,2	5,7	19,5
	4,15	26,9	4,2	7	19,8
	4,13	25,6	3,5	7,3	20,3
	4,12	25,1	3,2	7,4	21
	4,11	24,4	3,2	7,4	20,7

Tabela A 7 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E4 (fermento granulado e 20 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,4	4,3	23,6	23,5	23,6	20	20	20
2	4,36	4,35	4,35	24,6	24,6	24,7	19,5	19,7	19,6
4	4,34	4,39	4,33	26,1	26,2	26	14,7	15	14,9
6	4,24	4,25	4,2	27,2	27,1	26,8	9,8	9,9	9,9
8	4,24	4,25	4,22	27,2	27,3	27,3	6	5,9	6
10	4,2	4,22	4,18	26,3	26,2	26,3	4,8	4,8	4,7
12	4,15	4,14	4,19	25,2	25	25,1	4,6	4,6	4,7
14	4,13	4,1	4,12	24,9	24,5	24,7	4,6	4,7	4,6

Continuação da tabela A 7

Tempo	°GL			Biomassa		
0	0	0	0	31	31	32,5
2	0	0	0	32	30,5	33
4	2,4	2,2	2,4	34	30,5	32
6	5,6	5,2	5,4	33	32	31,5
8	7,1	6,8	7	34,5	33	34
10	7,7	7,9	7,6	34	36	37
12	8	8,1	7,8	40	34,5	36,5
14	8,1	7,9	8	40,5	37	40

Tabela A 8 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E4 (fermento Granulado e 20 °Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
Médias	4,37	23,6	20,00	0,00	31,5
	4,35	24,6	19,60	0,00	31,8
	4,35	26,1	14,87	2,33	32,2
	4,23	27	9,87	5,40	32,2
	4,24	27,3	5,97	6,97	33,8
	4,2	26,3	4,77	7,73	35,7
	4,16	25,1	4,63	7,97	37
	4,12	24,7	4,63	8,00	39,2

Tabela A 9 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E5 (fermento granulado e 18 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,4	4,3	23,6	23,6	23,6	18	18	18
2	4,37	4,36	4,37	24,4	24,4	24,7	17,7	17,8	17,7
4	4,34	4,39	4,33	26,4	26,2	26	12,7	12,8	12,8
6	4,3	4,32	4,29	27,9	27,5	27,8	7,4	7,6	7,4
8	4,28	4,28	4,29	28,1	28	27,8	4,8	4,9	4,8
10	4,27	4,25	4,28	25,6	25,5	25,5	4,5	4,6	4,5
12	4,27	4,27	4,25	24,8	24,4	24,5	4,5	4,5	4,6

Continuação da tabela A9

Tempo	°GL			Biomassa			
0	0	0	0	0	30	31	33
2	0	0	0	0	34	29	31,5
4	2,6	2,4	2,4	2,4	33,5	32,5	33
6	5,9	5,6	5,8	5,8	34,5	35	38,5
8	7,6	7,7	7,5	7,5	36	36	36
10	7,8	7,9	7,6	7,6	37,5	36	37
12	7,8	7,7	7,8	7,8	38,5	36	40

Tabela A 10 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E5 (fermento Granulado e 18 °Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
Médias	4,37	23,6	18	0	31,3
	4,37	24,5	17,73	0	31,5
	4,35	26,2	12,77	2,47	33
	4,3	27,73	7,47	5,77	36
	4,28	27,97	4,83	7,6	36
	4,27	25,53	4,53	7,77	36,8
	4,26	24,57	4,53	7,77	38,2

Tabela A 11 Variação dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E6 (fermento granulado e 16 °Brix).

Tempo	pH			Temperatura			°Brix		
0	4,4	4,4	4,3	23,6	23,5	23,6	16	16	16
2	4,37	4,37	4,37	24,4	24,4	24,4	15,5	15,4	15,6
4	4,34	4,39	4,33	26,4	26,2	26,4	10,5	10,6	10,7
6	4,3	4,32	4,3	28	28,2	28	5,4	5,4	5,6
8	4,26	4,26	4,26	26,4	26,5	26,6	4,4	4,2	4,4
10	4,23	4,23	4,22	25,5	25,3	25,4	4,2	4,1	4
12	4,21	4,2	4,21	24,1	24,2	24,1	4,2	4	4

Continuação tabela A 11

Tempo	°GL			Biomassa		
0	0	0	0	30,5	30,5	31
2	0	0	0	32,5	33	31,5
4	2,5	2,5	2,4	32,5	32,5	33,5
6	6,2	6	6	32,5	31	35
8	6,8	6,8	7	33	33	35
10	7,1	7	7,1	30,5	38	40,5
12	7,1	7	7	33,5	38,5	38

Tabela A 12 Médias dos parâmetros pH, Temperatura, °Brix, °GL e biomassa em relação ao tempo Para E6 (fermento Ganulado e 16°Brix).

	pH	Temperatura	°Brix	°GL	Biomassa
Médias	4,37	23,60	16,00	0,00	30,70
	4,37	24,40	15,50	0,00	32,30
	4,35	26,30	10,60	2,47	32,80
	4,31	28,10	5,47	6,07	32,80
	4,26	26,50	4,33	6,87	33,70
	4,23	25,40	4,10	7,07	36,30
	4,21	24,10	4,07	7,03	36,70

Tabela A 13 Massa dos eppendorf vazios e com a biomassa respectivamente para E1 (fermento fresco e 20 °Brix) E2 (fermento fresco e 18 °Brix) E3 (fermento fresco e 16 °Brix).

EXPE.	M1	M2	EXPE.	M1	M2	EXPE.	M1	M2
E1 T0 I	0,904	0,941	E2 T0 I	0,916	0,951	E3 T0 I	0,918	0,955
E1 T0 II	0,901	0,932	E2 T0 II	0,914	0,948	E3 T0 II	0,901	0,934
E1 T0 III	0,907	0,945	E2 T0 III	0,893	0,931	E3 T0 III	0,912	0,946
E1 T1 I	0,907	0,935	E2 T1 I	0,923	0,959	E3 T1 I	0,917	0,952
E1 T1 II	0,89	0,931	E2 T1 II	0,919	0,958	E3 T1 II	0,898	0,935
E1 T1 III	0,92	0,961	E2 T1 III	0,903	0,941	E3 T1 III	0,907	0,944
E1 T2 I	0,897	0,937	E2 T2 I	0,893	0,931	E3 T2 I	0,907	0,945
E1 T2 II	0,913	0,945	E2 T2 II	0,884	0,922	E3 T2 II	0,909	0,945
E1 T2 III	0,915	0,954	E2 T2 III	0,895	0,932	E3 T2 III	0,901	0,938
E1 T3 I	0,897	0,938	E2 T3 I	0,899	0,938	E3 T3 I	0,908	0,951
E1 T3 II	0,922	0,955	E2 T3 II	0,905	0,942	E3 T3 II	0,909	0,949
E1 T3 III	0,907	0,944	E2 T3 III	0,913	0,951	E3 T3 III	0,907	0,939
E1 T4 I	0,907	0,946	E2 T4 I	0,919	0,953	E3 T4 I	0,902	0,944
E1 T4 II	0,904	0,941	E2 T4 II	0,891	0,928	E3 T4 II	0,899	0,935
E1 T4 III	0,913	0,949	E2 T4 III	0,915	0,959	E3 T4 III	0,91	0,949
E1 T5 I	0,902	0,941	E2 T5 I	0,92	0,961	E3 T5 I	0,898	0,938
E1 T5 II	0,901	0,937	E2 T5 II	0,918	0,958	E3 T5 II	0,896	0,935
E1 T5 III	0,906	0,948	E2 T5 III	0,918	0,954	E3 T5 III	0,918	0,958
E1 T6 I	0,905	0,941	E2 T6 I	0,916	0,961	E3 T6 I	0,92	0,962
E1 T6 II	0,89	0,93	E2 T6 II	0,888	0,924	E3 T6 II	0,923	0,965
E1 T6 III	0,898	0,945	E2 T6 III	0,9	0,942	E3 T6 III	0,921	0,959
E1 T7 I	0,901	0,944	E2 T7 I	0,922	0,959	E3 T7 I	0,919	0,96
E1 T7 II	0,907	0,947	E2 T7 II	0,901	0,944	E3 T7 II	0,898	0,94
E1 T7 III	0,915	0,956	E2 T7 III	0,909	0,955	E3 T7 III	0,921	0,965
E1 T8 I	0,906	0,946	E2 T8 I	0,894	0,937	E3 T8 I	0,917	0,963
E1 T8 II	0,908	0,945	E2 T8 II	0,893	0,934	E3 T8 II	0,903	0,948
E1 T8 III	0,911	0,961	E2 T8 III	0,909	0,96	E3 T8 III	0,923	0,962
E1 T9 I	0,921	0,96	-	-	-	-	-	-
E1 T9 II	0,926	0,969	-	-	-	-	-	-
E1 T9 III	0,914	0,961	-	-	-	-	-	-

Em que:

M1: é a massa do eppendorf vazio.

M2: é a massa do eppendorf contendo a biomassa.

T: é o tempo decorrido no processo (T0 = 0 hora, T1 = 2 horas, T2 = 4 horas, T3 = 6 horas, T4 = 8 horas, T5 = 10 horas, T6 = 12 horas, T7 = 14 horas, T8 = 16 horas, T9 = 18 horas,).

Tabela A 14 Massa dos eppendorf vazios e com a biomassa respectivamente para E4 (fermento granulado e 20 °Brix) E5 (fermento granulado e 18 °Brix) E6 (fermento granulado e 16 °Brix).

EXPE.	M1	M2	EXPE.	M1	M2	EXPE.	M1	M2
E4 T0 I	0,923	0,985	E5 T0 I	0,905	0,971	E6 T0 I	0,915	0,976
E4 T0 II	0,922	0,984	E5 T0 II	0,928	0,99	E6 T0 II	0,903	0,962
E4 T0 III	0,923	0,988	E5 T0 III	0,898	0,958	E6 T0 III	0,909	0,971
E4 T1 I	0,902	0,966	E5 T1 I	0,898	0,966	E6 T1 I	0,902	0,967
E4 T1 II	0,905	0,966	E5 T1 II	0,892	0,95	E6 T1 II	0,896	0,962
E4 T1 III	0,915	0,981	E5 T1 III	0,89	0,953	E6 T1 III	0,918	0,981
E4 T2 I	0,909	0,977	E5 T2 I	0,925	0,992	E6 T2 I	0,918	0,983
E4 T2 II	0,907	0,968	E5 T2 II	0,902	0,967	E6 T2 II	0,903	0,968
E4 T2 III	0,92	0,984	E5 T2 III	0,906	0,972	E6 T2 III	0,924	0,991
E4 T3 I	0,92	0,986	E5 T3 I	0,919	0,988	E6 T3 I	0,915	0,98
E4 T3 II	0,916	0,98	E5 T3 II	0,92	0,99	E6 T3 II	0,9	0,962
E4 T3 III	0,905	0,968	E5 T3 III	0,921	0,998	E6 T3 III	0,896	0,966
E4 T4 I	0,909	0,978	E5 T4 I	0,894	0,966	E6 T4 I	0,908	0,974
E4 T4 II	0,913	0,979	E5 T4 II	0,901	0,973	E6 T4 II	0,923	0,989
E4 T4 III	0,917	0,985	E5 T4 III	0,893	0,965	E6 T4 III	0,916	0,986
E4 T5 I	0,909	0,977	E5 T5 I	0,921	0,996	E6 T5 I	0,916	0,977
E4 T5 II	0,922	0,994	E5 T5 II	0,91	0,982	E6 T5 II	0,906	0,982
E4 T5 III	0,902	0,976	E5 T5 III	0,916	0,99	E6 T5 III	0,928	1,009
E4 T6 I	0,918	0,998	E5 T6 I	0,914	0,991	E6 T6 I	0,899	0,966
E4 T6 II	0,906	0,975	E5 T6 II	0,903	0,975	E6 T6 II	0,921	0,998
E4 T6 III	0,907	0,98	E5 T6 III	0,9	0,98	E6 T6 III	0,925	1,001
E4 T7 I	0,914	0,995	-	-	-	-	-	-
E4 T7 II	0,906	0,98	-	-	-	-	-	-
E4 T7 III	0,911	0,991	-	-	-	-	-	-

Em que:

M1: é a massa do eppendorf vazio

M2: é a massa do eppendorf contendo a biomassa

T: é o tempo decorrido no processo (T0 = 0 hora, T1 = 2 horas, T2 = 4 horas, T3 = 6 horas, T4 = 8 horas, T5 = 10 horas, T6 = 12 horas, T7 = 14 horas, T8 = 16 horas, T9 = 18 horas,).