



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS

NATASHA LORENN FERREIRA DA SILVA

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO DE
AGUARDENTE BIDEDESTILADA DE UMBU (*Spondias tuberosa* Arruda)

SUMÉ-PB
2015

NATASHA LORENNNA FERREIRA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO
DE AGUARDENTE BIDEDESTILADA DE UMBU (*Spondias tuberosa* Arruda)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

SUMÉ-PB

2015

S586d

Silva, Natasha Lorena Ferreira da.

Desenvolvimento do processo fermentativo para produção de aguardente bidestilada de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). / Natasha Lorena Ferreira da Silva. - Sumé - PB: [s.n], 2015.

65 f.

Orientador: Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Bioprocesso. 2. Aguardente. 3. Fruta - Umbu. I. Título.

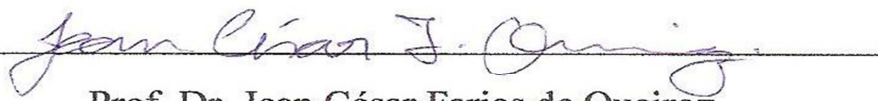
CDU: 663.241(043.3)

NATASHA LORENN FERREIRA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO DE
AGUARDENTE BDESTILADA DE UMBU (*Spondias tuberosa* Arr.)**

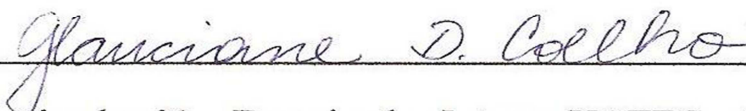
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:



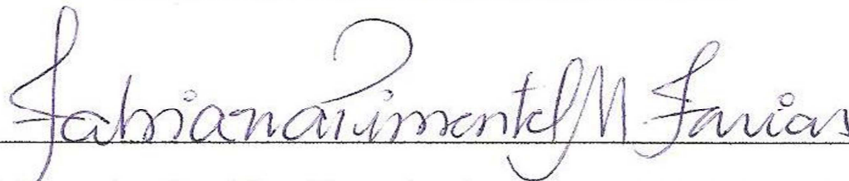
Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

Orientador



Prof. Examinador 01 – Examinador Interno UATEC - CDSA

Profa. Dra. Glauciane Danusa Coelho



Prof. Examinador 02 – Examinador Interno UATEC - CDSA

Profa. Dra. Fabiana Pimentel Macêdo de Farias

Aprovada em, 23 de março de 2015.

SUMÉ - PB

Ao meu avô Severino (Seu Maguinho) que é meu exemplo de vida, um homem analfabeto que está sempre me incentivando a estudar e correr atrás dos meus objetivos, a ele e que dedicou sua vida desde o dia em que nasci para ajudar na minha educação e criação. Não há palavras que expressem o amor e a importância que este homem tem em minha vida!

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida, protegendo, abençoando e guiando os meus passos e os daquele que amo, por me dar forças e coragem para não desistir;

Aos meus amados e queridos pais Natanael e Malba pelos ensinamentos, valores, carinho, atenção, proteção, incentivo, amor, paciência e por sempre alimentar meus sonhos a cada vez que me diziam e mostravam o tamanho do potencial que existe em mim. Vocês não imaginam o tamanho da gratidão e importância que exercem em minha vida;

Ao meu irmão que apesar de chato, implicante e folgado (às vezes é legal) é fundamental para a minha vida sem você nossa casa não teria a mesma graça, meu amor por você é imenso;

Ao meu amado noivo Oristácio Jr. que em todos os melhores e piores momentos ao longo desses seis anos de convivência esteve presente sem medir esforços para me ajudar, só tenho a agradecer por todo companheirismo, amizade, fidelidade, carinho, paciência, cuidado, presença, compreensão, a todas as vezes que você pensou na minha felicidade como prioridade, você foi e sempre será fundamental e insubstituível em todas as conquistas da minha vida, eu amo você;

À minha família materna por toda alegria que me proporcionam em especial meus avós Marta e Sebastião, minhas tias Aparecida, Adriana e meu Tio Selismã, meus primos Mizaél, Micael, Maria Eduarda, Gustavo, Guilherme, Gilsinho, sei que torceram e torcem por mim;

À minha tia Aparecida que foi extremamente fundamental para realização deste trabalho, pois sem a matéria prima nada disso teria acontecido;

À minha querida e tão especial titia Fátima por todo carinho, amor, incentivo que a senhora tem por mim, sei que é uma das pessoas que mais acredita nos meus sonhos e torce verdadeiramente pelo meu sucesso minha eterna gratidão;

Aos meus avós Francisca e Nelson (*in memoriam*) por todo amor, carinho e paciência para comigo;

Aos meus sogros Arislêda e Tata toda sua família, por todo carinho, sei que sempre acreditaram em mim e torcem pelo meu sucesso;

Às minhas amigas lindas Jéssyca, Mayara, Walesca e Bruna (S.S.S Prin's) e Maíra por todo companheirismo, amizade, alegrias, risadas, consultorias de moda, incentivo e credibilidade, a distância não nos abala, vocês são show;

Às gatas do 102 (Jéssica, Ana Carla, Alda, Halynne, Denise e Emília), pois foi ao lado de vocês que a maior parte deste trabalho foi escrito, sem a alegria de vocês teria sido bem mais difícil;

Aos meus colegas do CDSA, Gérsia, Analu, Yuri, Édipo, Manu, Lúcia, Bella, Felipe sem vocês tudo seria mais difícil, todas as noites em claro, todos os trabalhos, todas as provas, todos os estresses, vocês foram fundamentais;

Ao meu orientador Jean, pela atenção e orientação para a elaboração deste trabalho;

Ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido – CDSA

A Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

À todos os professores do CDSA pelos ensinamentos e dedicação;

À todos os funcionários em geral do CDSA por todo apoio direto ou indiretamente, sem vocês nada aconteceria;

À todos que direto ou indiretamente contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho;

À todos os que torcem por mim!

Meus sinceros agradecimentos, muito obrigada!!!

“A gente insiste em viver para os resultados. Com isso, não percebemos a graça escondida nos preparos. Queremos a meta final, e cegamente nos encaminhamos para ela, mas na pressa de chegar deixamos de olhar para os lados, e com isso não percebemos que o caminho é belo e que há matrizes interessantes a serem observadas. Tenho aprendido que preparar a felicidade já é um jeito de ser feliz.”

(Padre Fábio de Melo)

RESUMO

O umbu está entre as espécies de frutas comestíveis do bioma Caatinga, os quais poderiam servir de fonte de renda alternativa para o homem do semiárido. A fermentação pode ser um processo viável de aproveitamento deste fruto, fazendo com que o mesmo seja utilizado na produção de uma aguardente característica da região do semiárido, gerando renda para o agricultor. Observando a produção de aguardente de frutas, em outras regiões, como uma forma utilizada para processamento de frutos, surgiu à ideia de produzir aguardente de umbu. O presente trabalho objetivou desenvolver o bioprocesso de fabricação de uma aguardente a partir do fruto do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda). Alguns parâmetros como pH, Temperatura, porcentagem da polpa para produção do meio de cultura, agitação, grau Brix e aeração foram avaliados visando a padronização do processo. Também foram analisados dois tipos de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, Safbrew T-58 e fermento seco biológico como agente fermentador, sendo a levedura comercial que apresentou melhores resultados para fermentação do mosto de umbu. Do mesmo modo foram avaliados três processos fermentativos visando a melhor forma de produção da bebida, dentre estes estavam: descontínuo (batelada), descontínuo alimentado e descontínuo alimentado por “steps”, onde o processo descontínuo alimentado por “steps” mostrou-se mais eficaz na produção de aguardente de umbu, com um rendimento 11% superior. Após a fermentação o vinho foi bidestilado para conceder maior qualidade ao produto, resultando em uma aguardente com teor alcóolico de 41° GL e sabor característico do umbu.

Palavras Chave: Aguardente de Fruta; Caatinga; Fermentação Descontínua Alimentada; Bioprocesso.

ABSTRACT

Umbu is among the species of edible fruits of the Caatinga biome, which could serve as an alternative income source for man's semiarid region. Fermentation may be a viable process for use of the fruit, causing it to be used in the production of a characteristic brandy of semiarid region, generating income for the farmer. Observing the production of fruit brandy, in other regions, as a form used for processing of fruit, the idea of producing umbu brandy. This study aimed to develop the bioprocess manufacturing a brandy from the fruit umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda). Some parameters such as pH, temperature, percentage of pulp for production of the medium, Brix grade and aeration were assessed for the standardization of its process. Also analyzed two types of *Saccharomyces cerevisiae* yeast, Safbrew T-58 and commercial yeast as fermentation agent, and the commercial yeast that showed better results for fermentation of umbu wort. Similarly was evaluated three fermentation processes to the best way to drink production, among them were batch, fed batch and fed batch by steps, where the fed batch process driven by steps was more effective in the production of umbu brandy, with a 11% higher yield. After fermentation, the wine was twice distilled to provide more quality to the product, resulting in a brandy with alcohol content of 41° GL and characteristic of umbu flavor.

Keywords: Brandy Fruit; Caatinga; Feed Batch Fermentation; Bioprocess.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esquema do processo de destilação, em destilador de vidro, mostrando como se dá um processo de destilação simples; | 24 |
| Figura 2. Frutos do umbuzeiro coletados para produção da aguardente de umbu; | 33 |
| Figura 3. Refratômetro utilizado para determinar o grau Brix do meio de cultura e do mosto no experimento; | 36 |
| Figura 4. Aparelho medidor de pH utilizado para ajuste do pH do meio de cultura; | 37 |
| Figura 5. Levedura utilizada como inóculo no primeiro processo em batelada; | 38 |
| Figura 6. Fermento comercial utilizado como inóculo; | 38 |
| Figura 7. Aparelho de biorreator completo utilizado no experimento do Centro de Desenvolvimento sustentável do Semiárido CDSA/UFCG; | 39 |
| Figura 8. Módulo de controle Controlador, responsável pela agitação do mosto no biorreator e controle das variáveis do processo, o mesmo excuta as funções definidas pelo operador no computador que está interligado ao aparelho; | 40 |
| Figura 9. Cuba de vidro, módulo que conduz o cultivo, com capacidade para 1,2 L; | 41 |
| Figura 10. Manta aquecedora: auxilia no controle da temperatura da cuba de vidro; | 42 |
| Figura 11. Tampa da cuba e seus compartimentos; | 42 |
| Figura 12. Computador acoplado ao módulo de controle; | 43 |
| Figura 13. Servo motor utilizado para promover a agitação mecânica através de pás do mosto dentro da cuba de vidro; | 43 |
| Figura 14. Alambique artesanal utilizado no experimento; | 45 |
| Figura 15. Gráfico da concentração celular e °Brix em função do tempo para o processo descontínuo (Batelada) utilizando a levedura Safbrew T-58. | 49 |
| Figura 16. Gráfico da concentração celular e °Brix em função do tempo | 52 |

| | |
|---|-----------|
| para o processo descontínuo(Batelada), utilizando fermento biológico seco. | |
| Figura 17. Gráfico representativo da relação entre concentração celular, massa celular e °Brix; | 54 |
| Figura 18. Gráfico representativo da relação entre concentração celular, massa celular e °Brix. O gráfico mostra a relação dos parâmetros analisados mediante a injeção de meio, de modo escalonado, a cada 24h, até atingir o volume total da cuba de fermentação; | 56 |
| Figura 19. Gráfico da Glicose em função do tempo; | 57 |
| Figura 20. Fluxograma do processo produtivo da aguardente de umbu. | 60 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1. Limites máximos dos componentes secundários existentes na aguardente, segundo a legislação brasileira; | 29 |
| Tabela 2. Proporção de polpa e água destilada para preparo dos meios de cultura em cada tipo de processo; | 34 |
| Tabela 3. Distribuição da concentração do mosto para as etapas do processo descontínuo alimentado; | 35 |
| Tabela 4. Concentração celular e grau Brix para o processo em batelada, utilizando a levedura Safbrew – T58; | 50 |
| Tabela 5. Concentração celular e grau Brix para o processo em batelada, utilizando fermento seco biológico; | 51 |
| Tabela 6. Massa e concentração celular para o processo descontínuo alimentado; | 53 |
| Tabela 7. Massa e concentração celular para o processo descontínuo alimentado por “steps”. Os valores 1,5; 2,5; 3,5; 4,5; 6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 correspondem a segunda coleta do dia referente; | 55 |
| Tabela 8. Rendimento alcóolico e graduação alcóolica obtidos processos fermentativos tipo batelada de acordo com a levedura utilizada; | 58 |
| Tabela 9. Relação entre os processos fermentativos de acordo com graduação alcóolica e rendimento alcóolico, expressando o melhor processo fermentativo para a produção de aguardente de umbu; | 59 |
| Tabela 10. Parâmetros fermentativos estabelecidos como ideais para realização do processo de produção da aguardente de umbu após a análise dos processos; | 59 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CDSA – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

pH – Potencial Hidrogeniônico

T_{maxi} – Temperatura máxima inicial de crescimento

T_{maxf} - Temperatura máxima final de crescimento

T_{opt} - Temperatura ótima de crescimento

Lag - Fase de adaptação do microrganismo

Log – Fase exponencial de crescimento microbiano

cm – Centímetros

Kg – Quilograma

BioLab – Laboratório de Biologia do CDSA

PB – Paraíba

Km – Quilômetro

g – Grama

L – Litro

mL – Mililitro

°GL - Escala Gay Lussac

rpm – Rotações por minuto

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 15 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 15 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 15 |
| 3. REFERENCIAL TEÓRICO | 16 |
| 3.1 Histórico da Fermentação | 16 |
| 3.2 Condução da Fermentação Alcoólica | 16 |
| 3.2.1 Processo Descontínuo (Batelada) | 17 |
| 3.2.2 Processo Descontínuo Alimentado Linear..... | 18 |
| 3.3 Fatores que Influenciam a Fermentação | 19 |
| 3.3.1 pH..... | 19 |
| 3.3.2 Temperatura | 20 |
| 3.3.3 Microrganismo Responsável pela Fermentação | 20 |
| 3.4 Microbiologia da Fermentação Alcoólica..... | 21 |
| 3.4.1 Crescimento da Levedura | 21 |
| 3.4.2 Nutrientes | 22 |
| 3.4.3 Oxigênio..... | 22 |
| 3.4.4 Contaminação Bacteriana..... | 23 |
| 3.5 Histórico da Destilação | 23 |
| 3.6 Histórico da Cachaça No Brasil..... | 25 |
| 3.7 Legislação | 27 |
| 3.8 Umbu | 29 |
| 4. METODOLOGIA..... | 33 |
| 4.1 Obtenção dos Frutos | 33 |
| 4.2 Preparo da Polpa de Umbu | 33 |
| 4.3 Preparo do Meio de cultura..... | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.1 Preparo do Meio de Cultura para o Processo em Descontínuo Alimentado | |
| Linear | 34 |
| 4.3.2 Preparo do Mosto para o processo em Descontínuo Alimentado por “Steps” | 35 |
| 4.3.2.1 Cálculo da Vazão de alimentação | 35 |
| 4.4 Ajuste do Grau Brix - Chaptalização | 35 |
| 4.5 Ajuste de pH | 36 |
| 4.6 Esterilização do Meio de Cultura..... | 37 |
| 4.7 Preparo do Inóculo..... | 37 |
| 4.8 Biorreator | 38 |
| 4.8.1 Módulo de Controle..... | 39 |
| 4.8.2 Cuba de Vidro..... | 40 |
| 4.8.2.1 Controle da Temperatura | 41 |
| 4.8.3 Computador | 42 |
| 4.8.4 Compressor de Ar..... | 43 |
| 4.9 Agitação do Sistema | 43 |
| 4.10 Coleta das Amostras | 44 |
| 4.11 Concentração e Massa Celular..... | 44 |
| 4.12 Teor de Glicose | 44 |
| 4.13 Processo de Destilação..... | 45 |
| 4.13.1 Densímetro de Álcool..... | 46 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 47 |
| 5.1 Preparo do Meio de Cultura..... | 47 |
| 5.2 Processo de Fermentação Desncontínua (Batelada), Utilizando a Levedura Safbrev T-58 | 47 |
| 5.3 Processo de Fermentação desncontínua (Batelada), Utilizando Fermento Biológico Seco (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) | 50 |
| 5.4 Processo de Fermentação Descontínua Alimentada Linear..... | 53 |
| 5.5 Processo de Fermentação Descontínua Alimentada por “Steps”..... | 54 |
| 5.6 Avaliação do Processo Fermentativo..... | 57 |

| | |
|---|-----------|
| 5.7 Parâmetros do Processo Fermentativo do Umbu | 59 |
| 5.8. Fluxograma da Produção da Aguardente de Umbu | 60 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 61 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 62 |

1. INTRODUÇÃO

Existem relatos de que a bebida alcoólica teve origem na Pré-História, mais precisamente durante o período Neolítico quando houve a aparição da agricultura e a invenção da cerâmica. A partir de um processo de fermentação natural ocorrido há aproximadamente 10.000 anos o ser humano passou a consumir e a atribuir diferentes significados ao uso do álcool. (LIMA et al., 2001).

A existência de bebidas fermentadas e destiladas tem um passado distante, visto que, muitos povos contribuíram para que fosse possível atingir às tecnologias e a qualidade vistas hoje em dia. Essas bebidas fermento/destiladas eram oriundas principalmente da flora de cada localidade e apresentavam muitos fins, havia casos de serem utilizadas como remédio ou veneno (FEITOSA, 2005). Logo, com o correr do tempo todos os povos baseados na sua agricultura, elaboraram suas bebidas destiladas principalmente de cereais e frutas e não mais com o intuito medicinal, mas sim para fazer parte do grupo dos vinhos e cervejas.

O Brasil tem uma bebida genuinamente brasileira que é reconhecida e apreciada em todo o mundo, a aguardente de cana-de-açúcar denominada de cachaça, é o destilado mais consumido no país e o terceiro em escala mundial, perdendo apenas para a Vodca e Whisky. A produção de cachaça no Brasil atinge cerca de 1,5 bilhões de litros por ano (CARDOSO, 2003), sendo os maiores produtores os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (LIMA, 2001). Porém vale ressaltar que em todos os estados do país ocorre a produção da aguardente de cana-de-açúcar, mesmo até naqueles onde a produção de cana de açúcar não é favorável.

Atualmente o mercado Brasileiro vem acompanhando uma crescente evolução em tecnologia e estrutura para absorver a demanda internacional e oferecer o mais original e saboroso destilado. O mercado consumidor de cachaça está cada vez mais exigente, sendo necessária uma produção de maior qualidade e padronização do produto. A cachaça deixou para trás aquela conotação pejorativa, para penetrar nos salões de festas, nos melhores bares, restaurantes, hotéis e *delicatessens*.

Do ponto de vista da legislação brasileira, a aguardente de cana, popularmente conhecida como pinga, deve conter entre 38 e 54% de álcool (expresso em volume). E

deve ser composta de água e etanol em grandes proporções, além de vários outros componentes (ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos e álcoois superiores) produzidos em pequenas quantidades ao longo da fermentação. Estes componentes são apresentados de forma minoritária, porém extremamente diversificados, são os principais responsáveis pelo sabor e aroma da bebida que tanto é apreciado nacional e internacionalmente (FEITOSA, 2005).

De acordo com a flora de cada região muitas outras aguardentes de sabores diversificados são produzidas no país, engrandecendo ainda mais o paladar dos consumidores e especialistas e conseqüentemente a culinária local, além de ser uma fonte de renda para pequenos produtores e uma representação do quão grandiosa e diversa é a cultura do povo brasileiro. No nordeste muitos frutos nativos são encontrados, e apresentam um futuro promissor devido a seu aroma e sabor diferenciados. Ainda que muitos desses sejam explorados de maneira extrativista devido à falta de informação sobre o seu potencial econômico e emprego comercial (VERRUMA et al., 2012).

Conhecida como a árvore sagrada do sertão, o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) é uma frutífera tropical nativa do semiárido brasileiro é o melhor exemplo de uma espécie do bioma Caatinga (FEITOSA, 2005), essa espécie apresenta uma grande importância para este bioma, visto que, consegue se desenvolver sob as condições desfavoráveis do semiárido, produz uma grande quantidade de frutos que de acordo com Feitosa (2005) são ricos em carboidratos e vitamina C (ácido ascórbico), se mostra com teores elevados de vitamina A, B1 e sais minerais (INES, 2008), de fácil propagação, é uma das maiores fontes de renda de pequenos produtores no período de safra e apresenta grandes perspectivas de inserção nos mercados interno e externo de frutas exóticas, especialmente na forma de polpa, sucos e sorvetes (CARVALHO et al., 2008). Porém, esta apresenta uma sazonalidade significativa quanto ao uso do mesmo como matéria prima, dificultando assim a sua utilização.

Este trabalho busca o desenvolvimento do processo fermentativo para produção de um artigo já existente e consumido de forma abundante no país, mas que seja característico da região semiárida do nordeste visto, a utilização de um fruto típico da caatinga.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver o processo de fabricação de uma aguardente a partir do fruto do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda), árvore nativa do bioma Caatinga no Cariri Paraibano.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar parâmetros, como pH, agitação, grau Brix e temperatura, para produzir aguardente de umbu;
- Testar, dois tipos de cepas da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) com a finalidade de identificação da melhor levedura para a produção de aguardente, a partir do umbu;
- Avaliar o melhor processo fermentativo (Batelada, Descontínuo alimentado e Descontínuo alimentado por “steps”) para o desenvolvimento da aguardente de umbu;
- Realizar destilação e determinar o melhor rendimento entre os processos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Histórico da Fermentação

Em termos gerais a fermentação consiste na utilização de micro-organismos na transformação da matéria orgânica catalisada por enzimas (ALTERTHUMM, 2001). Os processos de fermentação já eram utilizados pelo homem há cerca de 5.000 anos A.C para a produção de vinhos, queijos, bebidas alcoólicas e derivados do leite. Muitas bebidas eram fabricadas pelos antigos egípcios, germanos e israelitas (INES et al., 2008). Há registros que comprovam que os povos sumérios, egípcios antigos, assírios e babilônicos utilizavam esta tecnologia para produção de bebidas alcólicas por meio da fermentação de cereais (SILVA et al., 2006). A cevada já era usada na fermentação para a obtenção de uma bebida semelhante à cerveja pelos egípcios, em 4.000 A.C essa mesma levedura já era utilizada na panificação. (BADOTTI et al, 2008).

Os primeiros estudos envolvendo a fermentação alcoólica ocorreram durante o século XVIII onde Black postulou que o álcool etílico e o gás carbônico eram os únicos produtos formados do açúcar durante o período de fermentação alcoólica (VILLEN, 2009). No entanto, o estudo inicial quantitativo sobre a fermentação alcoólica possivelmente foi Antoine Lavoisier em 1789. Porém a partir de 1857 Louis Pasteur trouxe uma explicação mais nítida sobre a fermentação alcoólica conferindo as leveduras como agentes responsáveis pela mesma. Pesquisas posteriores mostram que Aquarone em 1998 afirmou que extratos livres de células de levedura eram dotados da capacidade de promover a fermentação alcoólica (SCHMIDELL et al., 2001).

Atualmente as indústrias alimentícias, químicas e farmacêuticas utilizam muitos produtos derivados de processos fermentativos e essa demanda crescente faz com que ocorra uma evolução tecnológica e desenvolvimento de pesquisas na área (LIMA et al., 2001).

3.2 Condução da Fermentação Alcoólica

As fermentações podem ocorrer por meio de processos contínuos, semicontínuos, descontínuos (batelada), descontínuos alimentados ou por variações destes e todos podem ser realizados com ou sem reciclo de células ou fermento (SCHMIDELL et al., 2001), neste trabalho só serão abordados as fermentações descontínua e descontínua alimentada linear e por “Steps” . No início da fermentação a

quantidade de células é inferior a quantidade encontrada no final do processo. (AQUARONE et al., 1983; LIMA, 2001).

3.2.1 Processo Descontínuo (Batelada)

Pode ser descrito genericamente da seguinte forma: Após o preparo do meio de cultura adequado que irá atender às necessidades de nutrição e desenvolvimento do microrganismo utilizado na fermentação, bem como acumular o produto final desejado, o meio de cultivo será inserido em um biorreator para em seguida ser realizado o inóculo com o microrganismo que será o agente responsável pelo processo biológico. Após um determinado tempo de fermentação o processo é encerrado e então o caldo fermentado deve ser retirado do biorreator para que as operações unitárias necessárias para a recuperação do produto final e de interesse sejam executadas (SCHMIDELL et al., 2001).

O processo descontínuo geralmente é considerado como um sistema fechado, havendo apenas exceções para a aeração e entrada de ácido e base com a finalidade de controle do pH. Durante o processo o inóculo passa por fases que podem ser representadas pela curva de crescimento microbiano (GALLO, 1989).

Apresenta uma manutenção e assepsia mais facilitada, visto que, o reator e o conteúdo do mesmo só passam por esterilização no início e ao fim de cada batelada, o inóculo passa por uma série de controles necessários para que se tenha certeza que só o microrganismo responsável pelo processo biológico está presente, ou seja, o inóculo deve estar totalmente livre de contaminantes e o sistema total deve ser passível a esterilização (SILVA et al., 2006). Portanto além de apresentar menor risco de contaminação, também se mostra flexível no que diz respeito à operação e também permite um melhor controle quanto à estabilidade genética do microrganismo (CARVALHO et al., 2001).

A quantidade de biomassa neste tipo de fermentação pode ser controlada de acordo com a quantidade de substrato inicial que é limitante para o crescimento do microrganismo e a eficácia da conversão do substrato no produto final (VILLEN, 2009). Essa quantidade de biomassa se utilizada de maneira errônea pode levar a baixos rendimentos e uma produtividade diminuída, pois como o substrato é adicionado inicialmente e de uma só vez durante o processo pode acontecer efeitos de inibição,

repressão ou desvio do metabolismo celular a produtos que não são de interesse. Logo, a maior desvantagem neste caso é que quando o bioproduto desejado está ligado ao crescimento celular a produção só ocorre de forma eficiente em apenas uma fase do ciclo de fermentação (MIRANDA et al., 2007), resultando em uma menor produtividade que em processos em que esta fase de produção é prolongada. De um modo geral, normalmente os processos de fermentação ocorrem em batelada (AQUARONE et al., 1983).

3.2.2 Processo Descontínuo Alimentado Linear

Temos como definição de fermentação descontínua alimentada a técnica onde um ou mais nutrientes ou aditivos são acrescentados ao processo durante o cultivo e em que os produtos ali permanecem até o final da fermentação, este também é reconhecido como processo “Melle-Boinot”. A adição de mosto pode ser contínua ou intermitente (CARVALHO e SATO, 2001). Portanto, a diferença deste para o processo descontínuo convencional é a adição de substâncias ao longo da fermentação, e todo conteúdo só é retirado ao fim do processo distinguindo da fermentação contínua.

A vazão de alimentação desse processo pode ser crescente, decrescente ou constante, essa depende de fatores como exigências, limitações e os objetivos ao fim da operação. O processo pode ser classificado como fermentação descontínua alimentada simples ou repetida. Na metodologia simples o meio de cultura contendo as substâncias necessárias para que a fermentação prossiga é adicionado de forma complementar ao meio já existente e nada é retirado até o fim do cultivo, aqui a duração da fermentação é limitada pelo volume do reator (CARVALHO e SATO, 2001). Enquanto na metodologia da fermentação descontínua repetida parte do meio de cultura é retirado em um certo período da fermentação e mais meio então é adicionado (SCHMIDELL et al., 2001).

Da mesma maneira que os demais processos fermentativos, a fermentação descontínua alimentada apresenta suas vantagens e desvantagens, entre as vantagens oferecidas destacam-se, produção elevada do número de células, fator extremamente relevante quando se fala em produtos associados ao crescimento (BORZANI et al., 2001), vantagem conferida devido ao longo tempo de fermentação. A adição de substrato é mais bem controlada durante a esta fermentação devido a mesma ser de acordo com as necessidades do processo, este é um importante parâmetro e deve ser

intimamente controlado, visto que, o mesmo está relacionado com a inibição e o aumento da eficiência do processo. A maior limitação desse processo é a não redução de efeitos inibitórios devido ao acúmulo de etanol no sistema (SCHMIDELL et al., 2001).

O processo de fermentação em batelada alimentada é antigo e muito eficiente para várias metodologias, inclusive para a conversão de açúcares em álcool. Muitos trabalhos mostram uma superioridade na produtividade em Etanol entre 10 a 14% quando o sistema tem adição de substrato ao longo do processo e de maneira decrescente quando comparados ao cultivo descontínuo (CARVALHO e SATO 2001).

3.3 Fatores que Influenciam a Fermentação

De acordo com Lima 2001, vários são os fatores que afetam a fermentação, dentre os quais destacam-se os físicos como por exemplo temperatura e pressão osmótica; químicos que podem ser citados, pH, oxigenação, nutrientes, minerais, inibidores; e os microbiológicos, linhagem, espécie, concentração da levedura e contaminação bacteriana. No entanto, neste trabalho serão apresentados os considerados de maior relevância durante o experimento, são eles, pH, temperatura e micro-organismo responsável pela fermentação.

3.3.1 pH

Este é um parâmetro de relevância especial, visto que, a levedura responsável pelo processo biológico que irá resultar da fermentação só ocorre de forma confiável se a acidez do meio de cultura estiver em condições ótimas para o seu desenvolvimento, ou seja, o pH deve estar em uma faixa ideal para que a levedura fermente. Uma mudança no pH pode alterar as cargas dos grupos químicos que estão localizados ao lado das cadeias de proteínas, em função disso tem-se uma modificação da rede de cargas de toda estrutura da macromolécula, resultando na perda ou redução da capacidade catalítica da proteína (SOUZA, 2009).

Geralmente a fermentação alcoólica tem início com valores baixos de pH e finalizam com valores maiores. Sendo que estas apresentam desenvolvimento e uma ampla faixa de pH, estando dentro da normalidade e condições para o desenvolvimento ideal da levedura e prevenção de contaminações sendo utilizados valores entre 4 e 5 (LIMA et al., 2001), é possível perceber que as fermentações alcoólicas apresentam melhor rendimento em meio mais ácido, visto que, se esta faixa for aumentada até 7 o

rendimento na produção de álcool diminui e a produção de ácido acético é aumentada (SOUZA, 2009).

3.3.2 Temperatura

A temperatura é um outro parâmetro de grande importância pois é uma das condições ambientais que afetam a atividade do microrganismo, influenciando no crescimento, capacidade fermentativa, viabilidade celular e metabolismo dos mesmos (BATISTA, 2001). Também há a necessidade da manutenção de uma faixa de temperatura específica para assegurar a fermentação. Caso a temperatura se eleve de forma intensa a atividade da levedura cessará e haverá degradação de outros compostos orgânicos presentes (SILVA et al., 2006).

As leveduras em geral são micro-organismos mesófilos, e atuam em uma faixa ótima de temperatura entre 25° a 35°C (BRAGA, 2006). À medida que a temperatura aumenta a velocidade da fermentação também, ou seja, ambas (temperatura e velocidade de fermentação) são diretamente proporcionais, no entanto com esta ação promove uma maior facilidade de contaminação bacteriana e ao mesmo tempo a levedura fica mais sensível a toxicidade do álcool, levando a formação de metabólitos não desejáveis (LIMA, 2001).

3.3.3 Microrganismo Responsável pela Fermentação

Na fermentação alcoólica a população de micro-organismos geralmente é constituída por uma grande variedade de leveduras, sendo que espécies das cepas de *Saccharomyces cerevisiae* são predominantes (LIMA et al, 2001), a esta levedura apresenta uma eficiência elevada na fermentação de açúcares. As leveduras são agentes biológicos ativos responsáveis pela fermentação alcoólica, devido a isso a escolha da linhagem adequada é de fundamental importância para o sucesso da fermentação. São definidos como fungos especializados, monocelulares, desclorofilados (ALTERTHUMM, 2001).

Saccharomyces cerevisiae é um microrganismo muito estudado cientificamente devido a sua ampla utilização pela indústria biotecnológica (ANDRIETTA, 2005). *S. cerevisiae* é um microrganismo uniforme, unicelular e que possui geralmente uma forma elipsoidal. Em aerobiose e nas condições ótimas de cultura e nutrição, sua biomassa é dobrada a cada 90 minutos. Esta levedura se reproduz de forma assexuada

através de brotos (divisão mitótica) ou sexuada por esporulação (meiose, segregação e formação de haploides) e cruzamento com formação de diploides (INÊS et al., 2008). Trata-se de um organismo vivo que apresenta diversas habilidades metabólicas, que podem ser responsáveis pela alteração da estequiometria da fermentação, em resposta a alterações nas meio como já citadas anteriormente, e em função disso tem-se impactos importantes no rendimento do processo (BASSO, 2004). Os representantes deste gênero são os micro-organismos que mais apresentam características favoráveis para conversão de açúcares em álcool.

Dessa forma, a escolha do agente fermentador correto fornece alta eficiência na produção de álcool, baixa produção de metabólitos secundários e alta tolerância a diversos fatores estressantes, a escolha da levedura adequada ao processo requer conhecimento, instalações próprias, técnica e bom senso, dependendo ainda das finalidades para as quais se destina a cachaça elaborada. No entanto, vários são os fatores que influenciam no crescimento da levedura, pH, temperatura, componentes do meio de cultura, disponibilidade de oxigênio entre outros (AMORIM, 2005).

3.4 Microbiologia da Fermentação Alcoólica

Os micro-organismos apresentam comportamentos diferenciados de acordo com a função dos mesmos para cada tipo de meio de cultura e condições de cultivo, de modo para a fermentação alcóolica há características microbianas já descritas na literatura.

3.4.1 Crescimento da Levedura

Quando se fala em crescimento celular, refere-se ao aumento populacional do microrganismo devido à multiplicação e não propriamente ao crescimento em tamanho celular, onde este indica a viabilidade (AMORIM, 2005). O crescimento dos micro-organismos é dividido em quatro fases características de pontos distintos durante a vida destes, sendo estas, lag ou adaptação, log ou exponencial, estacionário e declínio ou morte ou lise.

A fase lag ou adaptação é caracterizada pela adaptação da levedura ao meio de cultura desde o momento em que estas são inoculadas, onde começam os ajustes as condições físicas e nutricionais (NÓBREGA, 2009). Acontece um período de latência, no entanto existe uma intensa atividade metabólica. Ao longo do período de adaptação a levedura começa a sintetizar as enzimas e metabolizar os nutrientes (BASSO, 2004). A

duração desta fase depende da linhagem da levedura, idade das células antes da inoculação, e dos meios de cultura, tanto do qual a levedura foi cultivada, quanto do novo meio onde a mesma foi inoculada (ROSA et al., 2007).

Terminada a fase de adaptação tem início a fase Log ou exponencial de crescimento, aqui ocorre um aumento exponencial do número de células, esta fase tem intensa multiplicação e tem duração até o momento em que ocorra limitação de nutrientes ou acúmulo de metabólitos (BRAGA, 2006). Relativamente à quantidade de açúcar no meio e a de levedura determinam a duração desta fase, aqui que ocorre a produção do álcool no caso da fermentação alcoólica.

Durante a fase estacionária as leveduras se reproduzem em menor escala e os nutrientes já estão escassos, a partir de então as células começam a sofrer lise e as sobreviventes começam a nutrir-se do resto das que sofreram a morte.

Eventualmente o número de células que morrem excede o número das que estão vivas e então começa a fase de declínio ou morte, onde ocorre a perda irreversível da capacidade de se reproduzir (BASSO, 2004).

3.4.2 Nutrientes

Durante o processo de fermentação alcoólica as células das leveduras expõem necessidades nutricionais, e os nutrientes afetam de forma direta a multiplicação e o crescimento celular e também a eficiência da conversão de açúcar em álcool (AMORIM, 2005).

Várias são as fontes de nutrientes necessárias para o crescimento e desenvolvimento da levedura, assim, carbono, nitrogênio e fósforo são fundamentais a fermentação (SCHMIDELL, 2001). O meio de cultivo, além de carbono, hidrogênio e oxigênio deve fornecer também em mesma quantidade nitrogênio, fósforo, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em menores quantidades (LIMA et al., 2001).

3.4.3 Oxigênio

O comportamento dos micro - organismos apresenta diferenças quando se trata da ausência ou presença de oxigênio, onde este apresenta influencia relevante na transformação do açúcar em álcool.

Muitos micro-organismos exigem a presença de oxigênio para sua sobrevivência, estes são denominados de aeróbios, outros não conseguem sobreviver na presença de oxigênio, são totalmente intolerantes e descritos como anaeróbios, e existem os que se desenvolvem tanto na presença como na ausência de oxigênio livre estes são os facultativos (BATISTA, 2001). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem comportamento facultativo quanto a utilização do oxigênio, a mesma pode seguir rotas metabólicas diferenciadas tanto na ausência quanto na presença de oxigênio (LIMA et al., 2001).

Embora pareça contraditório, sabe-se que hoje a completa falta de oxigênio não é benéfica ao processo de produção de álcool. Níveis mais altos de rendimentos alcoólicos foram obtidos em culturas nas quais havia certa quantidade de oxigênio disponível (SOUZA, 2009).

3.4.4 Contaminação Bacteriana

Bactérias e leveduras contaminantes, quando encontradas em altas concentrações, podem prejudicar significativamente a produtividade da cachaça, por competir pelos nutrientes e ocasionar a formação de compostos secundários indesejáveis, condição que leva a redução da viabilidade de *Saccharomyces cerevisiae* afetando a eficiência fermentativa, o que justificaria a adoção de boas práticas industriais, mesmo em escala artesanal (OLIVA-NETO, 1995 *apud* ROSA et al., 2007).

3.5 Histórico da Destilação

Um recurso utilizado para purificação e separação de líquidos que apresentam volatilidades diferentes é a destilação, fenômeno no qual pode ser fundamentado no equilíbrio líquido-vapor de misturas (MORAIS e DOS ANJOS, 2007). A destilação pode ser considerada um processo elaborado e desenvolvido por alquimistas Alexandrinos nas técnicas de se operar sobre a matéria, e isto pode ser visto em textos alquímicos Alexandrinos encontrado nos dias de hoje, em que muitos instrumentos ali descritos são comparados pelos cientistas atuais com os aparatos utilizados para a destilação (BOZA e HORII, 1999). Muito embora semelhanças sejam encontradas tanto nas Figuras como nos textos o processo de destilação executado naquela época tinha uma finalidade e um contexto bem diferente do atual (FARIA et al., 2003).

Uma técnica muito antiga e ainda hoje utilizada como um dos principais métodos de purificação em laboratórios e indústrias, a destilação nada mais é que a separação de substâncias de acordo com o seu ponto de ebulição, ou seja, a sua volatilidade. Uma das classes das bebidas alcoólicas são as bebidas destiladas, que são geradas a partir da separação do etanol do caldo fermentado durante a fermentação alcoólica, durante a destilação também são retiradas impurezas voláteis que acompanham o etanol (AQUARONE et al., 1983).

As ideias e as práticas dos alquimistas alexandrinos seriam incorporadas e transformadas na formulação da alquimia árabe. Vale ressaltar que foi na língua árabe que surgiu os termos alambique (“al ambic”) e álcool (“al cóhool”) (BOZA e HORII, 1999). Os primeiros estudos científicos a respeito da destilação apareceram anteriormente a idade média, por volta dos anos 800, com o alquimista Árabe Jabir ibn Hayyan (Geber), onde este foi também o inventor do alambique, artefato utilizado até os tempos atuais para a destilação de bebidas alcoólicas (BELTRAN, 1996). Muitos autores acreditam que Ibn Yasid foi o responsável pela descoberta da destilação para a obtenção do álcool. A destilação também é utilizada como método de purificação que foi disseminada por toda a indústria química moderna e é utilizada em quase todos os processos químicos industriais. Essa tecnologia foi difundida por todo o mundo e cada país produziu seu destilado de forma que caracterize a cultura dos mesmos (MAIA e CAMPELO, 2006). A Figura 1 mostra basicamente como ocorre o processo de destilação laboratorial.

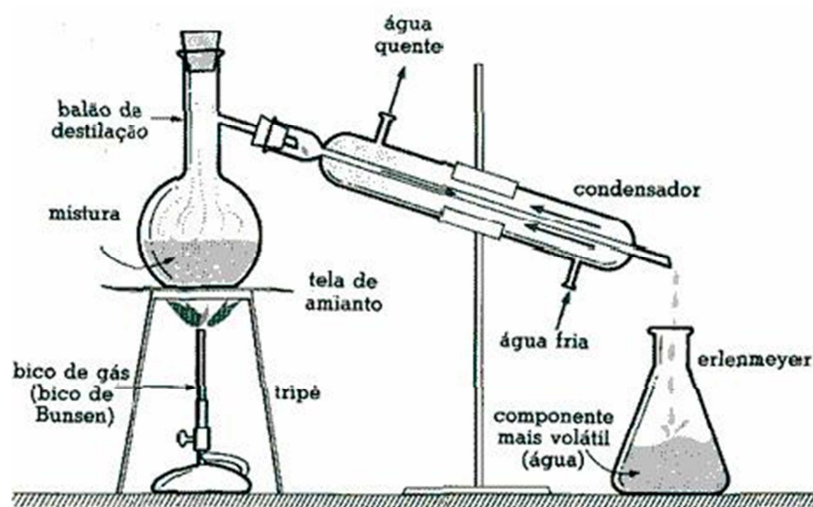


Figura 1. Esquema do processo de destilação, em destilador de vidro, mostrando como se dá um processo de destilação simples (Fonte: ALVARENGA, 2013).

O produto da destilação é dividido em três partes: Cabeça, coração e cauda. A cabeça é a primeira fração do destilado, está presente ali 5 a 10% das substâncias de maior volatilidade e toxicidade ao organismo humano como, por exemplo, o metanol (CARDOSO et al., 2003). O coração pode-se dizer que é a aguardente propriamente dita, ou seja, a melhor parte do destilado contém cerca de 80% do destilado total. E por fim a cauda que corresponde a terceira e última fração do destilado, que contém muita água, pouca quantidade de álcool e as substâncias que apresentam um maior ponto de ebulição (ALVARENGA, 2013).

Aguardentes ou cachaça apresentam um elevado teor de substâncias que são tóxicas ao organismo humano, como por exemplo o metanol, de modo que aguardentes que são bidestiladas apresentam superioridade nas que passam por processo de destilação simples.

A bidestilação, como o próprio nome diz, consiste em realizar duas destilações sucessivas, podendo esta ser efetuada tanto em alambiques como em colunas. Este processo permite a obtenção de uma aguardente de qualidade superior em relação a qualquer outra proveniente de uma única destilação, apresentando baixa acidez, sabor e aroma agradáveis. Esta melhoria na qualidade da aguardente bidestilada é possível pela separação ou mesmo o bloqueio de certas frações indesejáveis, ricas em compostos de maior toxicidade, como é o caso dos aldeídos, metanol, ácido acético e carbamato de etila (uretana), entre outros compostos voláteis prejudiciais ao organismo humano (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO, 2013).

3.6 Histórico da Cachaça No Brasil

No Brasil a história da cachaça está associada à própria história do país. A cultura da cana de açúcar teve início em 1532 e tornou-se uma grande riqueza em seus primeiros anos de colonização (VERRUMA – BERNARDI et al., 2012). Inicialmente o açúcar era o principal produto para a exportação (VOLPE, 1997 *apud* RIBEIRO, 1997) e junto desde surgiu um novo produto que também passou a marcar a cultura brasileira, a cachaça. A bebida tem origem da fermentação e destilação do caldo de cana de açúcar. Foi descoberta acidentalmente no período colonial entre 1538 e 1545 na capitania de São Vicente pelos negros escravos durante o processo de fermentação da cana de açúcar (GALLO, 1989). Os escravos notaram que a borra separada do processo de concentração da garapa para a cristalização do açúcar, fermentava naturalmente quando deixada de um dia para o outro, resultando um líquido de sabor e odor diferentes. E quando submetida à destilação, em pequenos alambiques de barro, gerava

em um líquido transparente, brilhante e ardente quando ingerido (VENTURINI FILHO, 2010). A produção dessa bebida foi aumentada de forma tão abundante que a mesma tornou-se moeda para a compra de escravos na África (FEITOSA, 2005).

A nomenclatura de aguardente foi devido à semelhança com água e sua ardência quando ingerida, outro nome também designado foi cachaça por ser originário da borra ou cachaza onde este servia de alimento para os porcos (cachaços), e ainda levando em conta que durante a destilação esse líquido gotejava (pingava) também foi denominado de pinga. (MOREIRA et al., 2012).

Inicialmente a produção da cachaça era rural e artesanal com volume pequeno de produção, as fabricas eram rudimentares e apresentavam tecnologia precária, onde os produtores de cana de açúcar e sua família eram os responsáveis pelo produto, em função disso o mesmo apresentava características de sabor e aroma variados não apresentando nenhum tipo de padrão (AQUARONE et al., 1983). O envelhecimento da cachaça se deu com uma grande quantidade de produção e um menor consumo, logo os estoques das safras remanescentes resultavam em um envelhecimento do produto melhorando ainda mais as suas características (GABRIEL, 2010).

Em 1756, a aguardente de cana de açúcar foi um dos produtos que mais auxiliaram com impostos direcionados para a reconstrução de Lisboa, que fora destruída por um grande terremoto em 1755 (VENTURINI FILHO, 2010). No final século XVIII durante o movimento da Inconfidência Mineira, a aguardente de cana de açúcar se transformou em um símbolo dos ideais de liberdade e de resistência à dominação portuguesa. Com o passar dos tempos, as técnicas de produção da cachaça foram melhoradas e padronizadas e a qualidade do produto aumentou de forma relevante, fazendo com que esta bebida fosse apreciada por todos, sendo consumida, inclusive, em banquetes promovidos pelas altas castas da sociedade (FEITOSA, 2005).

Fatos como o crescimento da população, do consumo e da produção doméstica, incentivaram a procura de melhores e mais modernas técnicas de produção e renovação na indústria de aguardentes (GABRIEL, 2010). A necessidade de melhorias na produção necessitou de conhecimentos técnicos e científicos, da cultura da cana desde o engarrafamento da aguardente tanto quanto à extração do caldo, purificação, fermentação, desinfecção, técnicas de destilação, busca de leveduras apropriadas e

selecionadas foram fundamentais para a modernização e lugar de destaque para essa bebida nos dias atuais (AQUARONE et al., 1983).

Atualmente tanto no mercado nacional quanto no internacional a cachaça tem amplo reconhecimento sendo aprovada nos mais exigentes paladares, tanto as produzidas de maneira artesanais quanto industriais. A cada dia a cachaça tem ganhado destaque por sua qualidade e empreendedorismo de muitos produtores.

3.7 Legislação

No Brasil, o órgão responsável pela legislação de bebidas alcoólicas é o MAPA (Ministério da Cultura Pecuária e Abastecimento). O decreto 6.871 de 4 de julho de 2009, regulamenta a lei 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Segue a definição de aguardentes e cachaça, conforme o Decreto 6.871:

Art. 51. A aguardente de bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do rebaixamento do teor alcoólico do destilado alcoólico simples ou pela destilação do mosto fermentado.

§ 1º A aguardente terá a denominação da matéria prima de sua origem.

§ 2º A aguardente que contiver açúcares em quantidade superior a seis gramas por litro e inferior a trinta gramas por litro será denominada de aguardente adoçada.

§ 3º Será considerada aguardente envelhecida a bebida que contiver no mínimo cinquenta por cento de aguardente envelhecida por período não inferior a um ano, podendo ser adicionada de caramelo para correção da cor.

§ 4º A aguardente de melão é a bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado alcoólico simples de melão ou, ainda, pela destilação do mosto fermentado de melão, podendo ser adoçada e envelhecida.

§ 5º Aguardente de cereal é a bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado

alcoólico simples de cereal ou pela destilação do mosto fermentado de cereal, podendo ser adoçada e envelhecida.

§ 6º Aguardente de vegetal a bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado alcoólico simples de vegetal ou pela destilação do mosto fermentado de vegetal, podendo ser adoçada e envelhecida.

§ 7º Aguardente de rapadura é a bebida com a graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado alcoólico simples de rapadura ou pela destilação do mosto fermentado de rapadura, podendo ser adoçada e envelhecida.

§ 8º Aguardente de melado é a bebida com a graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado alcoólico simples de melado, podendo ser adoçada e envelhecida.

Art. 52. Aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida de destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado d caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até seis gramas por litro, expressos em sacarose.

Art. 53. Cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de trinta e oito a quarenta e oito por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até seis gramas por litro.

§ 1º A cachaça que contiver açúcares em quantidades superior a seis gramas por litro e inferior a trinta gramas por litro será denominada de cachaça adoçada.

§ 2º Será denominada de cachaça envelhecida a bebida que contiver, no mínimo cinquenta por cento de aguardente de cana envelhecida por período não inferior a um ano, podendo ser adicionada de caramelo para correção da cor.

De modo de acordo com a legislação brasileira, a aguardente, aguardente de cana e cachaça são denominações que apresentam significados distintos. Diferentemente

da cachaça e da aguardente decana que só são provenientes exclusivamente a cana-de-açúcar, a aguardente pode ser advinda de qualquer matéria prima que contenha carboidratos em sua composição.

Porém ainda existe uma diferenciação da aguardente de cana para a cachaça, onde a aguardente de cana pode ser proveniente da diluição do destilado simples, a cachaça deve ser obtida da destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar. E ambas devem possuir teor alcoólico entre 38 a 54% v/v a 20°C e a cachaça de 38 a 48% v/v a 20°C (NOGUEIRA FILHO, 2013).

A fermentação do caldo de cana não é exclusivamente alcoólica, ocorrendo normalmente outras fermentações que geram produtos chamados secundários e que são constituídos principalmente de ácidos, aldeídos, ésteres e álcoois superiores. São estes produtos que tornam a aguardente de cana diferente de uma simples solução alcoólica, sendo responsável pelo seu odor e sabor típicos (FARIA, et al., 1989 apud FERNANDES, 2011).

Atualmente a cachaça e a aguardente devem seguir os padrões de identidade e qualidade segundo características físicas e químicas estabelecidas pela legislação brasileira, descritos na Tabela 1. A soma dos componentes secundários (componentes voláteis “não álcool”) não poderá ser inferior a 200 mg e nem superior a 650 mg por 100 mL de álcool anidro (VENTURINI FILHO, 2010).

| COMPONENTES SECUNDÁRIOS | UNIDADE | LIMITE MÁXIMO |
|---|------------------------|---------------|
| Acidez volátil | Mg/100mL Álcool anidro | 150 |
| Aldeídos totais | Mg/100mL Álcool anidro | 30 |
| Ésteres totais | Mg/100mL Álcool anidro | 200 |
| Soma de álcoois superiores: álcool isobutílico, isomílico, butanol e 1-propanol | Mg/100mL Álcool anidro | 200 |
| Soma de Furfural e Hidroximetilfurfural | Mg/100mL Álcool anidro | 360 |

Tabela 1. Limites máximos dos componentes secundários existentes na aguardente, segundo a legislação brasileira. Fonte: VENTURINI FILHO, 2010

3.8 Umbu

Uma das melhores espécies que representam o bioma caatinga, o umbuzeiro (*Spodians Tuberosa* Arruda) também conhecido como árvore sagrada do sertão, como

destacado por Euclides da Cunha durante a guerra de Canudos (CARVALHO et al., 2008), é uma das principais fruteiras nativas do trópico semiárido. Não existem relatos da presença desta espécie em nenhum outro lugar do planeta, onde sua maior incidência é na depressão sertaneja do Nordeste Brasileiro (LIMA FILHO e SANTOS, 2009).

Essa espécie apresenta um grande potencial frutífero e econômico, visto que, o mesmo é fonte de complementação de renda para muitos produtores em períodos de safra, chegando a garantir cerca de 40 a 50% da renda total de produtores (NASCIMENTO et al., 2000). Porém o umbuzeiro tem sido explorado de forma extrativista, ação esta que reduziu a sua densidade na Caatinga dada à falta de informação que possibilite sua exploração comercial.

A árvore é uma anacardiácea do gênero das Spodians, tem altura média que varia de 4 a 6m, com copa uniforme e arredondada, pode atingir um diâmetro de 10 a 15m (CARVALHO, 2005), o caule apresenta de três a cinco ramificações principais, se faz presente na árvore uma casca morta de espessura média de dois a cinco milímetros, áspera e dura de coloração cinza claro a negro, e uma casca viva de espessura média entre dois a doze milímetros de cor avermelhada na parte interna (NASCIMENTO et al., 2000), que por incisão apresenta exsudato transparente e resinoso (LIMA FILHO e SANTOS, 2009).

Quanto ao fruto, tem diâmetro de dois a quatro centímetros pesando de dez a vinte gramas (CAVALCANTI et al., 2000), este quando maduro apresenta coloração amarela esverdeada, com pericarpo coriáceo e polpa succulenta (CARVALHO, 2005). O endocarpo ou caroço tem tamanho variado e textura denso-fibrosa é muito resistente e contém a semente propriamente dita, contém orifícios por onde ocorre a penetração da água e a saída dos cotilédones e eixo embrionário na ocasião de germinação das sementes (LARCHER, 2000).

Essa espécie apresenta uma grande vantagem, consegue sobreviver no clima quente e seco do semiárido, ainda mostra capacidade de mesmo com escassez de água produz muitos frutos em tempos de safra (LIMA FILHO, 2011), característica essa que é proveniente de um sistema de raízes especializadas por reter água e armazenar nutrientes responsáveis pela nutrição e desenvolvimento da planta. Composta por raízes longas que são formadas sobre a superfície do solo apresentando xilopódios ou túberas que são estruturas com aproximadamente 20 cm de diâmetro e são geralmente

encontradas em profundidades de 10 a 30 cm do solo (CARVALHO et al., 2008). São associados a ferramentas utilizadas pelo famoso cangaceiro lampião para o armazenamento de alimentos e água durante a escassez destes (BARBOSA et al., 2003), esse sistema radicular pode chegar a ter 367 túberas com um peso médio de 383,5 kg por planta (LIMA FILHO e SANTOS, 2009).

O umbuzeiro utiliza uma estratégia bem interessante e eficiente para manter-se vivo em tempos de seca, este promove a abscisão de suas folhas para que assim a superfície respiratória seja diminuída e conseqüentemente haverá economia de água (CAVALCANTI et al., 2002). Lima Filho (2009) mostrou resultados que comprovam essa senescência em tempos de seca, relativos ao ciclo produtivo 1994-1995. Indicam que as folhas do umbuzeiro entram em processo de senescência logo no início da estação seca, quando a planta fica totalmente desfolhada e em dormência vegetativa até a ocorrência das primeiras chuvas.

A queda total das folhas do umbuzeiro ocorre aproximadamente após dois meses das últimas chuvas. Com base em Cavalcanti e colaboradores (2000), o umbuzeiro inicia seu ciclo reprodutivo ainda na ausência de chuvas e no momento em que a temperatura e a umidade relativa do ar alcançarem seus períodos mais agudos. A floração começa a ocorrer antes que as folhas reapareçam, e este fato pode estar interligado com a duração e intensidade da deficiência hídrica, que a planta sofreu durante o período anterior de seca, fato este que ocorre em outras espécies do bioma Caatinga (BARBOSA et al., 2003).

Logo após as primeiras inflorescências irão surgir às primeiras folhas, onde estas quando atingirem a maturidade fisiológica irão provavelmente produzir fotossintatos que são necessários ao crescimento e desenvolvimento dos frutos (LIMA FILHO, 2008). Segundo Cavalcanti e colaboradores (2005), o período de frutificação do umbuzeiro é em torno de dois meses e meio.

Outras estratégias também são utilizadas pela espécie para garantir sua sobrevivência no clima hostil do semiárido nordestino, sendo estas, diminuição da abertura do poro estomático nas primeiras horas da manhã como mecanismo de defesa da perda de água (CAVALCANTI et al., 2005), floração antecedente a emissão de folhas fato este que promove uma alta taxa de aproveitamento de água para ser utilizada na produção dos frutos (CARVALHO, 2005). A junção do mecanismo de redução de

abertura estomática com os xilopódios favorece e é responsável pela manutenção de um balanço hídrico interno favorável a sobrevivência da espécie em condições de deficiência hídrica (LIMA FILHO e SANTOS, 2009). Além de todas essas vantagens essa árvore nativa consegue sobreviver com outras espécies de forma saudável (LARCHER, 2000), não havendo assim necessidade de desmatamento de área para o seu plantio.

O umbuzeiro, cujo fruto e raiz são ricos em vitamina C e sais minerais (LIMA FILHO, 2011), apresenta utilidade tanto para a alimentação do homem quanto para a de animais, e seu uso tem grande importância para as populações rurais do Semiárido, principalmente nos anos de seca. Seus frutos são vendidos pelos pequenos agricultores para consumo ao natural ou na forma de polpa, suco, doce, umbuzada, licor, xarope de umbu, pasta concentrada, umbuzeitona, batida, umbu cristalizado (BARBOSA et al., 2003), entre outros, fazendo com que esta espécie a cada dia agregue valor ao seu fruto que pode torna-se uma grande aposta para período de seca que está comumente surgindo não só no nordeste.

4. METODOLOGIA

Todos os procedimentos descritos neste trabalho foram realizados nos laboratórios do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA/UFCG): Laboratório de Biotecnologia, Laboratório de Microbiologia, Laboratório de Biologia Molecular, Laboratório de Alimentos e Laboratório de Biologia do CDSA – BioLab.

4.1 Obtenção dos Frutos

Os frutos do umbuzeiro (Figura 2) foram coletados durante o mês de abril de 2014 em várias localidades da zona rural do município de Sumé/ PB, com distância aproximada de 266 Km de João Pessoa, capital do estado, com o auxílio de produtores locais. Cerca de 4Kg da matéria prima foi utilizada durante todo o trabalho.



Figura 2. Frutos do umbuzeiro coletados para produção da aguardente de umbu.

4.2 Preparo da Polpa de Umbu

Após higienização (utilizando sabão e água corrente) dos frutos com água corrente foi realizado o trabalho de produção da polpa, com o auxílio de uma faca de cozinha simples, todo o mesocarpo do umbu foi retirado sem que houvesse nenhum cozimento impedindo que qualquer propriedade do fruto fosse alterada, de maneira que prejudicasse ou influenciasse de qualquer modo a matéria prima, que é a base para a produção da aguardente. Para a trituração do umbu, um liquidificador foi utilizado, posteriormente uma quantidade mínima de água foi adicionada, apenas para facilitar e permitir que a trituração fosse efetivada, visando deixar a polpa o mais natural possível, de forma que a aguardente fique com as características mais autênticas da sua matéria prima. Por fim, a polpa foi congelada em recipientes plásticos, para promover a sua conservação garantindo qualidade ao produto, que foi utilizado durante todo o período

de produção da aguardente de umbu. Basicamente a cada 1500 g de fruto foram adicionados 0,1L de água durante a produção da polpa que foi utilizada durante o experimento.

4.3 Preparo do Meio de cultura

O preparo do meio de cultura consiste em adicionar uma quantidade de polpa de umbu e diluir a mesma em água destilada. A proporção de polpa e de água variou conforme o processo utilizado (batelada, descontínuo alimentado e descontínuo alimentado em “steps”), como demonstrado na Tabela 3. No estudo empregou-se três processos fermentativos, que apresentaram resultados diferentes entre si e cada um com sua relevância. Durante cada processo fermentativo a concentração de polpa e água destilada para produção do meio de cultura foi modificada a cada processo, visando melhorias no mesmo para a obtenção de melhores resultados.

| Processo | Quantidade de Polpa (L) | Volume de água destilada (L) |
|--|--------------------------------|-------------------------------------|
| Batelada utilizando SAFBREW T-58 | 0,4 | 1 |
| Batelada utilizando fermento biológico seco | 0,4 | 0,6 |
| Descontínuo alimentado | 0,6 | 0,4 |
| Descontínuo alimentado por “Steps” | 0,72 | 0,28 |

Tabela 2. Proporção de polpa e água destilada para preparo dos meios de cultura em cada tipo de processo.

4.3.1 Preparo do Meio de Cultura para o Processo em Descontínuo Alimentado

Neste processo fermentativo a quantidade de meio de cultivo produzida foi maior devido à necessidade de utilizar mosto para a alimentação.

O aparelho Biorreator foi acionado e alimentação do mosto ocorreu de forma ininterrupta durante 5h. A tabela 3 apresenta a distribuição do meio de cultura durante o processo descontínuo alimentado, visto a injeção deste ao longo do processo.

| Quantidade de Meio de cultura (L) | Destino |
|--|------------------------------|
| 0,2 | Inóculo |
| 0,2 | Início da fermentação |
| 0,8 | Alimentação |
| 1,2 | Total |

Tabela 3. Distribuição da concentração do mosto para as etapas do processo descontínuo alimentado.

4.3.2 Preparo do Mosto para o processo em Descontínuo Alimentado por “Steps”

Todo o método para preparação do mosto durante o processo descontínuo alimentado foi repetido. Vale ressaltar que a única diferença para o método descrito anteriormente é a forma de alimentação que ocorre de maneira escalonada, ou seja, por “steps” e não mais de maneira ininterrupta. O fracionamento se deu a partir do tempo e volume. O bombeamento de meio de cultura foi realizado a cada 24h em um volume de 200 mL.

4.3.2.1 Cálculo da vazão de alimentação

A vazão de alimentação para este processo foi calculada de acordo com a fórmula descrita abaixo:

$$Q_v = \frac{V}{t}$$

Onde: Q_v é vazão de alimentação; V é volume; t é Tempo.

4.4 Ajuste do Grau Brix - Chaptalização

O grau Brix que corresponde à unidade numérica de sólidos solúveis (entende-se também como quantidade de carboidratos) apresentou valor aproximado a 4% na polpa in natura, esse valor foi ajustado para 23% por meio de adição de açúcar (chaptalização). E com auxílio de um refratômetro (Figura 3) esse valor foi confirmado.



Figura 3. Refratômetro utilizado para determinar o grau brix do meio de cultura e do mosto no experimento.

4.5 Ajuste de pH

O ajuste de pH foi realizado de duas maneiras: Após o preparo do meio de cultura, ou seja, quando a fermentação teve início o pH já estava ajustado de maneira ideal para desenvolvimento do processo e controlado pelo biorreator, havendo a injeção por bombeamento de ácido (ácido clorídrico) e base (bicarbonato de sódio) quando o sistema julgou necessário de acordo com o determinado pelo operador no momento da configuração do aparelho.

O pH do umbu é naturalmente ácido com valores em torno de 1,5 – 2,5, portanto o ajuste para o primeiro caso se deu com adição de aproximadamente 20g de bicarbonato de sódio para que o potencial hidrogeniônico fosse ajustado para $4,5 \pm 0,1$, valor ideal para desenvolvimento da levedura. A aferição do pH foi realizada em aparelho medidor de pH denominado também de pHmetro (Figura 4), previamente calibrado.

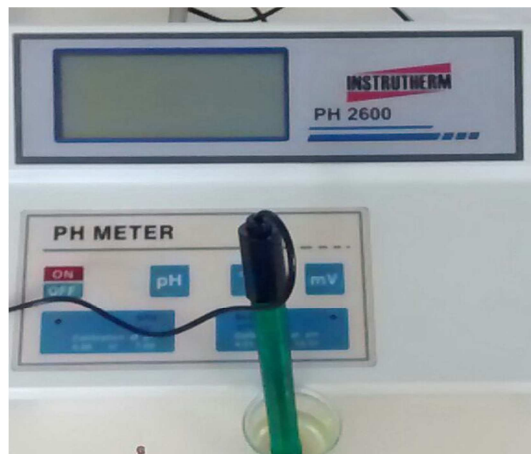


Figura 4. Aparelho medidor de pH utilizado para ajuste do pH do meio de cultura.

4.6 Esterilização do Meio de Cultura

Após preparo do meio de cultura este foi adicionado a cuba de vidro e seus componentes e sensores acoplados, e então levado para a autoclave por 20 minutos a 121°C, 1 atm, em seguida a cuba foi retirada da autoclave e colocada para resfriar em temperatura ambiente.

4.7 Preparo do Inóculo

Foram utilizadas duas cepas para o inóculo visando a busca de melhores resultados na conversão de açúcares em álcool. O primeiro inóculo foi preparado com a propagação da cepa Safbrew T-58 (*Saccharomyces cerevisiae*) (Figura 5) e o segundo foi utilizada com fermento seco biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) (Figura 6).

Inicialmente foi adicionado a 10g de levedura em 0,2 L de meio de cultura em um recipiente próprio para o inóculo, em seguida foi realizada uma leve agitação. Todo o processo foi realizado em câmara de fluxo laminar, previamente higienizada para que não houvesse nenhum tipo de contaminação. Por fim o inóculo foi adicionado ao biorreator por meio de uma entrada apropriada e controle do aparelho.



Figura 5. Levedura utilizada como inóculo no primeiro processo em batelada.



Figura 6. Fermento comercial utilizado como inóculo no segundo processo em batelada (Fonte: Google Imagens).

4.8 Biorreator

Por definição um biorreator é um “tanque” que apresenta a capacidade de promover a multiplicação de células com higiene e segurança ocorrendo também a formação de um produto. Durante os processos neste aparelho ocorrem uma série de reações químicas que são catalisadas por biocatalisadores.

O aparelho utilizado para a produção experimental da aguardente de umbu foi o biorreator da marca Tecnal Biotec-C (Figura 7). Este instrumento é composto basicamente por quatro módulos, o módulo de controle, cuba de vidro, computador e compressor. Todos esses componentes serão detalhados a seguir.



Figura 7. Aparelho biorreator completo utilizado no experimento do Centro de Desenvolvimento sustentável do Semiárido CDSA/UFCG (Fonte: Analu Freitas)

4.8.1 Módulo de Controle

Este módulo é o responsável por controlar todas as atividades configuradas para o biorreator, possibilita monitorar as variáveis de interesse do processo fermentativo e fazer ajustes ou correções para manter as condições ideais de cultivo do micro-organismo. Estas correções são feitas automaticamente mediante os algoritmos de controle disponíveis. Este módulo de controle (Figura 8) tem possibilidade de monitorar e realizar o controle da agitação, da temperatura, do pH e do oxigênio (Manual de instruções Tec-Bio-Flex).

O processo de fermentação é completamente monitorado e controlado através do aparelho, o qual permite o acompanhamento em tempo real das variáveis do processo. Assim, o operador pode monitorar as variáveis de interesse do sistema e fazer correções para seguir o comportamento desejado.

O módulo de controle apresenta os seguintes componentes:

- Uma chave geral;
- Dois fusíveis de 10A;
- Um cabo de energia;
- Um transmissor de sinal para oxigênio dissolvido;

- Bombas peristálticas com chaves seletoras de sentido de rotação (Para a adição de ácido, base, nutrientes e solução antiespumante são utilizadas bombas peristálticas);
- Um painel de sensores com um cabo de sensor de pH, um cabo de sensor de oxigênio dissolvido, sensor de temperatura, conector de sensor de nível de espuma e cabos para conexão de servo-motor
- Uma entrada de comunicação USB;
- Conector para módulo de aeração com chave liga/desliga;



Figura 8. Módulo de controle Controlador, responsável pela agitação do mosto no biorreator e controle das variáveis do processo, o mesmo excuta as funções definidas pelo operador no computador que está interligado ao aparelho. (Fonte: Analu Freitas).

4.8.2 Cuba de Vidro

É um vaso de vidro como mostra a Figura 6. Onde ocorre a fermentação propriamente dita, o controle da temperatura foi realizado através de camisa de termostatização, como demostra a Figura 9.

A tampa da cuba apresenta controle de temperatura por serpentina, entradas para sensores e agitação por servo motor, a Figura 10 descreve a tampa e seus componentes abaixo listados:

- Conexão do condensador de refluxo;
- Poço da resistência elétrica;
- Entrada/Saída serpentina;
- Saída de amostragem;

- 4 entradas simples;
- Entrada para sensor de pH;
- Entrada para sensor de oxigênio dissolvido;
- Poço sensor de temperatura;
- Seis *nipples* de fechamento da tampa.

4.8.2.1 Controle de Temperatura

A temperatura foi definida no computador que está acoplado ao módulo de controle e então o aparelho monitora e configura o processo para tal, o controle da temperatura do sistema se dá por meio de uma serpentina que utiliza água com temperatura inferior ao sistema, visto que esse é exotérmico, logo, produz calor. Água de refrigeração também será utilizada para as conexões da água que passa pelo corpo do condensador. Uma manta aquecedora (Figura 9) é utilizada como resistência para não haver perda de temperatura em vasos de paredes de vidro como o nosso caso.



Figura 9. Cuba de vidro, módulo que conduz o cultivo, com capacidade para 1,2 L. (Fonte: Manual de Instruções Tec-Bio-Flex).



Figura 10. Manta aquecedora: auxilia no controle da temperatura da cuba de vidro. (Fonte: Manual de Instruções Tec-Bio-Flex).

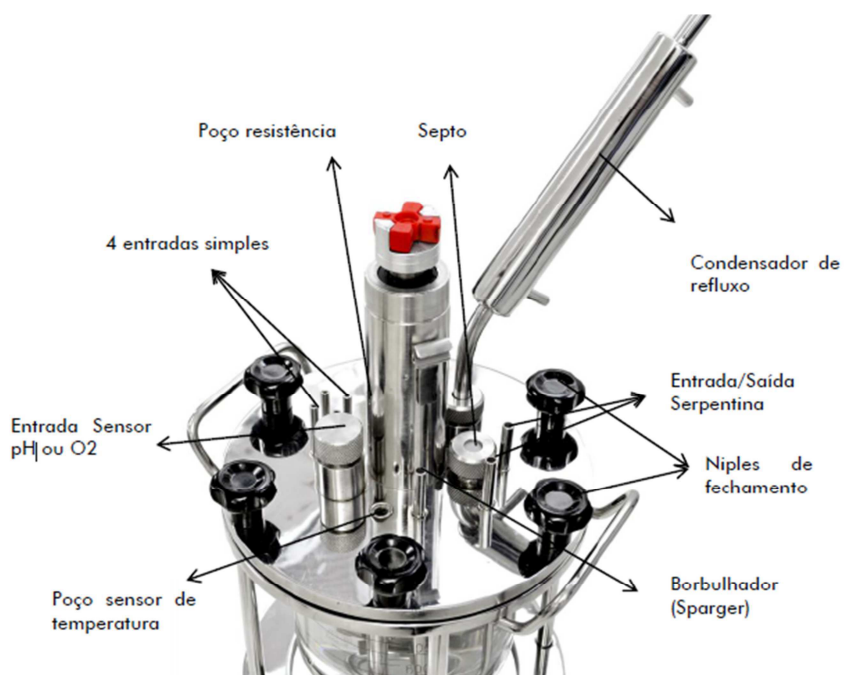


Figura 11. Tampa da cuba e seus compartimentos (Fonte: Manual de Instruções Tec-Bio-Flex).

4.8.3 Computador

A interface do usuário com o módulo de controle é realizada através de um computador, com tela *touchscreen* (Figura 12), destinado para a configuração e estabelecimento das variáveis definidas pelo usuário, efetuadas, controladas e mantidas pelo módulo de controle.



Figura 12. Computador acoplado ao módulo de controle. Fonte: Manual Tec-Bio-Flex

4.8.4 Compressor de Ar

Compressor de Ar é um equipamento destinado a produzir e armazenar ar comprimido, sua característica básica é de converter movimentos mecânicos gerados por energia elétrica, ou eventualmente, alguma outra forma de energia em ar comprimido.

O ar gerado por esse aparelho foi utilizado para a oxigenação do sistema quando necessário.

4.9 Agitação do Sistema

Durante todo o processo houve agitação mecânica de 200 rpm efetuadas por pás agitadas controladas por servo motor (Figura 13).



Figura 13. Servo motor utilizado para promover a agitação mecânica através de pás do mosto dentro da cuba de vidro (Fonte: Manual Tec-Bio-Flex).

4.10 Coleta das Amostras

Diariamente a coleta das amostras foi realizada para que os parâmetros de grau Brix, massa seca e glicose (descontínuo alimentado) fossem avaliados. Com auxílio de uma seringa, conectada a saída de amostragem, foram retirados 10 mL de mosto fermentado diariamente. Em seguida essa amostra foi filtrada por meio de uma bomba a vácuo e um filtro de papel. O filtrado foi usado para aferição do Brix no aparelho de refratômetro.

4.11 Concentração e Massa Celular

Para avaliar a massa das células e verificar a viabilidade das mesmas, foi utilizado uma bomba a vácuo e um filtro de papel cortado em forma de disco facilitando o encaixe com a bomba, estes eram pesados para que fosse possível determinar o peso apenas das células, após a filtração o conteúdo retido no papel filtro foi pesado em balança analítica para avaliar a concentração celular. A concentração celular e massa celular foram calculadas de acordo com as equações abaixo:

$$C_C = P_T - P_P$$

$$C_{CF} = C_C * 100$$

$$M_C = C_{CF} * V$$

Onde:

C_C = Concentração celular;

C_{CF} = Concentração celular final;

M_C = Massa celular;

V = Volume;

P_T = Peso total;

P_P = Peso do papel.

4.12 Glicose

Para o processo descontínuo alimentado por “steps” foi avaliado o teor de glicose do mosto. A cada 24 horas uma amostra era retirada para que fossem realizadas

as análises necessárias, dentre elas o nível de glicose. Com o auxílio de um glicosímetro (Accu-Chek[®] Performa – Roche) uma gota de mosto foi adicionada ao aparelho e aferido o valor diário de glicose no mosto.

4.13 Processo de Destilação

Após o fim das fermentações, foram realizados processos de destilação para que o álcool convertido pela levedura seja completamente retirado do mosto fermentado, finalizando o processo de produção da aguardente de umbu. A destilação foi realizada em um alambique artesanal (Figura 14), desenvolvido no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido – CDSA.



Figura 14. Alambique artesanal utilizado para destilação do caldo fermentado. (Fonte: Analu Freitas)

Após a retirada do caldo fermentado, o mesmo foi levado para destilação, processo que consiste em separar o álcool convertido pela levedura das demais substâncias ali presentes por meio de segregação por diferença de temperatura, de acordo com a volatilidade das substâncias.

Inicialmente o conteúdo a ser fermentado foi inserido na panela do sistema, em seguida a mesma foi fechada e aquecida no fogão, a medida que a temperatura aumentou os líquidos ali existentes começaram a evaporar por ordem crescente de acordo com o ponto de ebulição. Ao evaporar o vapor passa pelo condensador que apresenta paredes frias pois ao seu redor passa água fria, ao entrar em contato com essas paredes frias da serpentina de cobre o vapor é condensado e volta ao estado líquido.

Ao final deste processo teve início a segunda destilação, ou seja, a aguardente é bidestilada) que foi onde a graduação alcóolica foi ajustada para 40%, a cabeça e cauda foram eliminadas, visto que estas não apresentam nenhum interesse.

4.13.1 Densímetro de Álcool

O densímetro é um equipamento relativamente simples e que serve para medir a densidade (ou massa específica) de determinada solução, através deste foi possível verificar a graduação alcóolica da aguardente experimental. Inicialmente o coração da aguardente foi colocado em uma proveta para que fosse possível a aferição do teor alcóolico, em seguida o densímetro de álcool foi inserido na proveta contendo a aguardente, de acordo com a densidade do álcool, em escala Gay Lussac (°GL), foi possível mensurar o teor alcóolico do experimento.

O rendimento alcóolico foi calculado de acordo com a quantidade de mosto destinado para destilação e a aguardente obtida ao final do processo, por exemplo, se 1L de mosto foi destilado e obtido 0,3 L de aguardente, o rendimento alcóolico final foi equivalente a 30%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Preparo do Meio de Cultura

A Polpa produzida apresentou consistência líquido-pastosa, cloração esverdeada, odor agradável e característico da matéria prima (umbu) utilizada. Ao final do congelamento a polpa apresentou-se totalmente sólida, sem alteração de cor e odor. Para a utilização da polpa após o congelamento a mesma passou por processo de descongelamento em forno micro-ondas por cerca de 30 min.

Após o preparo do meio de cultura, obteve-se uma solução líquida que apresentou condições não ideais, porém passíveis a ajustes para o cultivo da levedura e desenvolvimento da mesma. O meio de cultura apresentou valores de grau Brix e pH de 4% e 1,5-2,5, respectivamente. Após os ajustes, descritos na metodologia, os valores de Brix e pH chegaram a 23% e $4,5 \pm 0,1$, respectivamente, tornando as condições do meio de cultura apropriados ao cultivo e consequentemente à fermentação.

5.2 Processo de Fermentação Descontínua (Batelada), Utilizando a Levedura Safbrew T-58

Neste processo foram determinados alguns parâmetros, de modo que estes foram utilizados nos demais, em função dos resultados apresentados para a batelada, como pH, Temperatura, grau Brix inicial do meio de cultura, agitação e aeração na fase inicial para propagação celular.

Para o estabelecimento do pH foi utilizado o que estava descrito na literatura, ou seja, valores já definidos como ótimos para desenvolvimento de leveduras foram testados e confirmados. O pH que favorece a levedura e inibe o crescimento de bactérias contaminantes, este está em torno 4,0 a 5,0 (Meneses, 1980 *apud* Pacheco, 2010), o valor utilizado para esse experimento correspondente a $4,5 \pm 0,1$, resultado em um meio de cultura apresentando características ótimas para desenvolvimento da levedura.

A temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 1$ utilizada também foi de acordo com o descrito na literatura, sendo esta suficiente para o desenvolvimento de todos os processos. Como características dos micro-organismos mesófilos, as leveduras em geral apresentam a capacidade de se desenvolver em elevadas temperaturas. Segundo Pacheco, (2010) a faixa ótima de crescimento das leveduras para produção de álcool encontra entre 25° a 36° C, temperaturas inferiores a estas retardam a fermentação, e superiores causam

morte celular inviabilizando o processo. De modo estas leveduras do gênero *S. cerevisiae* apresentam uma ampla faixa de temperaturas ótimas, a mesma pode trabalhar sem que haja grandes perdas na produtividade.

Para o grau Brix, foram utilizados dois processos em batelada para a determinação do parâmetro. No primeiro não houve ajuste sendo utilizado apenas os carboidratos provenientes da própria matéria prima, no entanto o rendimento alcóolico obtido foi baixo e o processo não obteve sucesso, visto a necessidade nutricional da levedura não ser atingida. Então foi percebida a necessidade de ajuste no grau Brix do meio de cultura para um segundo processo, na tentativa de êxito.

A porcentagem da polpa foi determinada de acordo com os resultados obtidos nos experimentos, de modo que durante este experimento inicial foi utilizado 0,4L de polpa para um litro de água, visando à produção do meio de cultura, no entanto o processo apresentou resultado inferior ao desejado, de modo, que esta concentração foi alterada durante processo de batelada utilizando fermento seco biológico (Figura 6).

Agitação de 200 rpm foi suficiente e eficaz durante todos os processos, visto que, rotações menores não obtiveram sucesso devido a viscosidade do mosto, tendo também utilização das chicanas. Quanto a aeração de 0,8L/h foi suficiente e eficaz para propagação das células ambos processos em batelada, após 24h de aeração a mesma foi interrompida para que a fermentação fosse iniciada, visto que este é um processo anaeróbio.

A Figura 15 mostra a relação entre a concentração celular e o Brix, dois parâmetros aferidos neste trabalho. Nesta figura observa-se a influência de ambos no desenvolvimento do processo como um todo e no desenvolvimento dos mesmos individualmente.

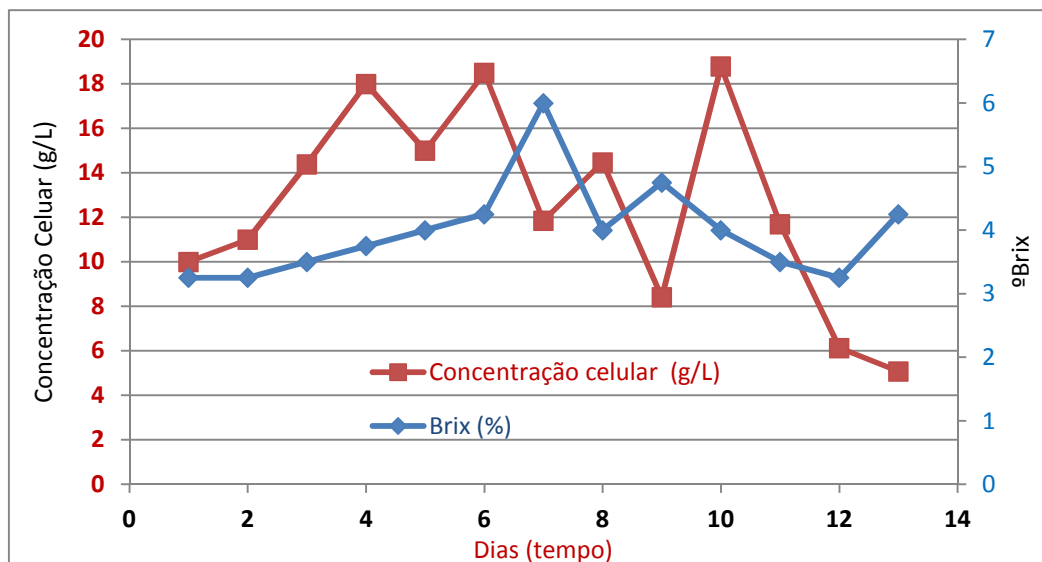


Figura 15. Gráfico da concentração celular e grau Brix em função do tempo para o primeiro processo descontínuo (Batelada).

O comportamento inesperado da elevação do grau Brix pode ser explicado devido à morte celular, visto que, com a lise das células as mesmas liberam componentes intracelulares que causam influências no grau Brix do mosto. O resultado desta fermentação mostrou a necessidade de ajuste por chaptalização do grau Brix devido ao rendimento alcoólico baixo de 14% ao fim do processo de destilação, o crescimento celular ocorreu em pequena escala, fato este que pode ser interligado a falta de substrato no meio de cultura.

A Safbrew T-58 (*Saccharomyces cerevisiae*), apresentou resultados de rendimento alcóólico e graduação alcóolica inferiores ao esperado, no entanto esta é uma levedura destinada para fermentação de cerveja (Fermentis) expondo ótimos resultados para o citado destino, podendo ser esta a causa da mesma apresentar rendimento inferior frente a destilação de aguardente. Em relação a graduação alcóolica foi possível obter um valor que estava de acordo com a legislação para produção de aguardente de fruta que deve estar entre 38 a 54% v/v (ABRABE, 2014), durante este processo foi alcançado um rendimento alcóólico de 38 °GL expressos em volume.

No processo em batelada, o mais utilizado pela indústria, obtivemos, neste modelo experimental em biorreator de bancada, crescimento celular que chegou a uma concentração até 18,79 g/L e variação do °Brix de 3,25 a 6, como demonstrado na Tabela 4.

| Dias | Brix (%) | Concentração celular (g/L) |
|------|----------|----------------------------|
| 1 | 3,25 | 10 |
| 2 | 3,25 | 11 |
| 3 | 3,5 | 14,39 |
| 4 | 3,75 | 18 |
| 5 | 4 | 15 |
| 6 | 4,25 | 18,5 |
| 7 | 6 | 11,85 |
| 8 | 4 | 14,48 |
| 9 | 4,75 | 8,41 |
| 10 | 4 | 18,79 |
| 11 | 3,5 | 11,69 |
| 12 | 3,25 | 6,13 |
| 13 | 4,25 | 5,08 |

Tabela 4. Concentração celular e grau Brix para o processo em batelada, utilizando a levedura Safbrew T-58.

Após a destilação o volume de aguardente de umbu (fração correspondente ao coração) foi 0,14L e rendimento alcóolico obtido foi de 14%. De acordo com os resultados obtidos foi visto a necessidade da otimização do processo, e para tal um segundo processo em batelada com a utilização de novos valores para os parâmetros que não apresentaram sucesso durante esta batelada. Portanto, durante a batelada utilizando a levedura Safbrew T-58 foram definidos os seguintes parâmetros: pH, concentração de polpa e de água destilada para produção do meio de cultura, temperatura, aeração e agitação. Sendo estes utilizados durante os demais processos fermentativos.

5.3 Processo de Fermentação Descontínua (Batelada), Utilizando Fermento Biológico Seco (*Saccharomyces cerevisiae*)

Durante o segundo processo em batelada foi realizado chaptalização, ou seja, ajuste de grau Brix com a utilização de açúcar. O meio de cultura após chaptalização apresentou grau Brix de 21%, mostrando eficiência na fermentação. A fermentação ocorreu de maneira facilitada e ideal para o desenvolvimento do microrganismo e praticamente todo o açúcar foi fermentado, atingindo o final da fermentação com estabilização de grau Brix em um valor baixo. Este resultado não corresponde a resultados obtidos por Nogueira e Venturini Filho (2005), que mostra °Brix ideal para o desenvolvimento do processo em torno de 14 a 16 °Brix justificando que valores acima dificultam o processo fermentativo, sendo que o açúcar restante não é usado na fermentação. Logo, o resultado para grau Brix obtido neste trabalho mostra que contrariamente a Nogueira (2005) o °Brix mais elevado é eficiente no processo de

fermentação. Oliveira 2010 utilizou da técnica de chaptalização para correção do °Brix do mosto na produção de bebida alcóolica de cagaita (*Eugenia dysenterica*), visto que da mesma forma que o umbu esta apresenta grau Brix de 4,15 %, onde este valor é insuficiente para a condução da fermentação, devido à falta de nutrientes no meio interferindo no rendimento final do produto, a correção foi realizada de modo que o °Brix do mosto atingisse 20% e ao final o processo obteve sucesso.

Durante a batelada utilizando fermento seco biológico o volume de água destilada utilizado para preparação do meio de cultura foi modificado, visando melhorias no processo. Aqui foi utilizado 0,4L de polpa de umbu para 0,6L de água destilada, comparando com o processo anterior foi possível perceber melhorias nos resultados com o meio de cultura nesta concentração.

Diante do resultado das destilações, foi notória a superioridade do fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*) em relação a levedura Safbrew T-58 diante do rendimento alcóolico e da graduação alcóolica. Oliveira (2010) confirma o sucesso da utilização do fermento biológico seco para produção de aguardente de cagaita que obteve rendimento de 57% em etanol. Para produção artesanal de aguardente de banana, a utilização da mesma levedura também mostrou resultados favoráveis quanto ao rendimento alcóolico apresentando valor de 66,52% (GUIMARÃES, 2010).

Com relação à graduação alcóolica o fermento biológico seco também apresentou superioridade sobre a Safbrew T-58 (*Saccharomyces cerevisiae*) para fermentação de mosto de umbu visando produzir aguardente, atingindo o valor de 41 °GL expressos em volume, estando de acordo com a legislação brasileira.

A tabela 5, mostra os valores da concentração celular e grau Brix obtidos durante o processo descontínuo utilizando o fermento seco biológico, e demonstrado graficamente na figura 16.

| Dias | Brix (%) | Concentração Celular (g/L) |
|------|----------|----------------------------|
| 1 | 21 | 38 |
| 2 | 12 | 45,64 |
| 3 | 6,5 | 38,44 |
| 4 | 6,25 | 39,06 |
| 5 | 6,25 | 34,54 |

Tabela 5. Concentração celular e grau Brix para o processo em batelada utilizando fermento biológico seco.

O comportamento celular em função do grau Brix neste processo apresenta-se como desejado, ou seja, de acordo com o tempo de fermentação é possível perceber que o substrato é consumido de forma esperada de acordo com a literatura para o processo, havendo quedas e pequenas elevações na concentração celular.

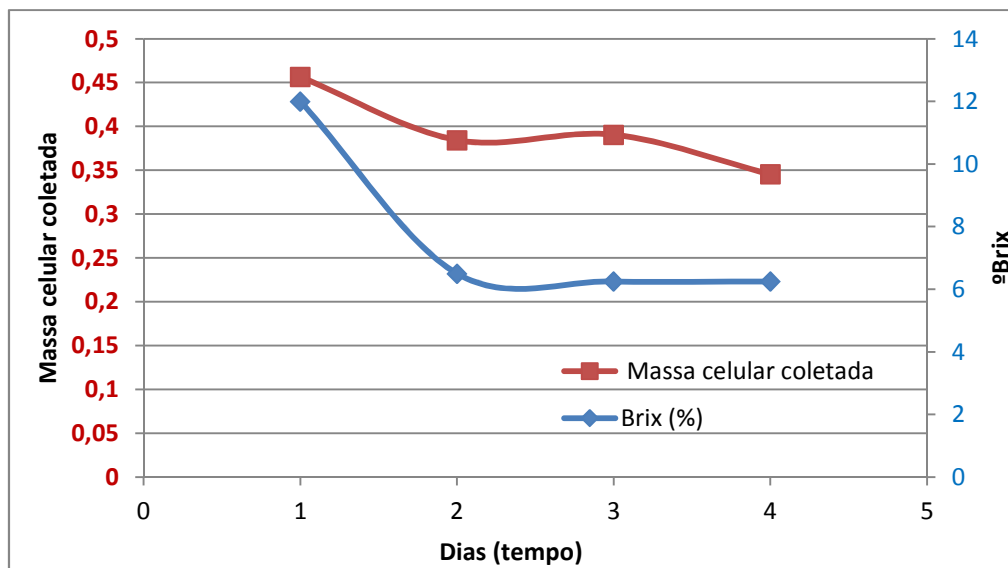


Figura 16. Gráfico da concentração celular e °Brix em função do tempo para o processo descontínuo (Batelada) utilizando fermento biológico seco.

Após o processo em batelada obtivemos, por meio de destilação, um rendimento de 0,5L de destilado total e de 0,3L de aguardente pronta, equivalendo a um rendimento de 30%. Logo, por meio dos resultados apresentados nesta batelada é possível afirmar que com a chaptalização o processo foi otimizado.

Quando comparado com a produção de aguardente de frutas em batelada que foram obtidos a partir da banana e manga com rendimentos superiores a 60%, (ALVARENGA, 2013) mostrando mais do dobro do rendimento obtido neste experimento, é possível perceber que para produção da aguardente de umbu este processo não é indicado.

Diante do exposto, os parâmetros citados acima (fermento biológico seco e 21% grau Brix) além dos definidos no primeiro processo em batelada, foram considerados padronizados de acordo com os resultados, logo, os mesmos não foram modificados para os processos descontínuos alimentados.

5.4 Processo de Fermentação Descontínua Alimentada Linear

Para que o rendimento atingido pela aguardente fosse otimizado, foi então realizado outro processo fermentativo em busca de melhores resultados. O processo descontínuo alimentado apresentou rendimento superior à batelada, de modo, o processo de produção da aguardente foi otimizado.

O cálculo descrito na metodologia para obtenção da concentração celular apresenta importância devido à variação de volume no processo descontínuo alimentado. Os resultados obtidos estão descritos abaixo na Tabela 6, para o processo fermentativo descontínuo alimentado linear.

| Dias | Turno | Massa Celular coletada | Concentração Celular (g/L) | Massa Celular (g) |
|-------------|--------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| 1 | Tarde | 0,7410 | 74,10 | 29,64 |
| 1 | Manhã | 0,5520 | 55,20 | 22,08 |
| 2 | Tarde | 0,5190 | 51,90 | 31,14 |
| 2 | Manhã | 0,3819 | 38,19 | 22,91 |
| 3 | Tarde | 0,4143 | 41,43 | 33,14 |
| 3 | Manhã | 0,2759 | 27,59 | 22,07 |
| 4 | Tarde | 0,2737 | 27,37 | 27,37 |
| 4 | Manhã | 0,3061 | 30,61 | 30,61 |
| 5 | Tarde | 0,2825 | 28,25 | 33,90 |
| 5 | Manhã | 0,3448 | 34,48 | 41,37 |

Tabela 6. Massa e concentração celular para o processo descontínuo alimentado. Os valores referem-se às coletas realizadas (manhã e tarde) na tentativa de monitoramento mais preciso.

A injeção de meio de cultura na fermentação descontínua alimentada linear ocorreu de forma ininterrupta, ou seja, todo o meio de cultura que foi adicionado a cuba foi injetado sem pausas, essa ação foi realizada no dia da montagem do experimento, após a inoculação. Apresentou duração de 5h e vazão de alimentação correspondente a 0,1L/h. Não foi possível realizar avaliação para outras vazões de alimentação, visto que existe uma limitação do aparelho, que apresenta apenas uma velocidade de injeção e a densidade do meio também se mostra um fator limitante.

O cálculo da vazão foi realizado conforme descrito na metodologia apresentando resultado de 0,1L/h.

Para esse processo o comportamento do grau Brix foi de acordo com o esperado, de fato ocorreu um decréscimo no valor deste parâmetro em função do consumo do substrato pela levedura, garantindo resultado satisfatório que corresponde a este

parâmetro, como mostrado na Figura 17. Asquieri et al (2004) mostrou em seus estudos na produção de aguardente de jabuticaba que o mesmo comportamento foi verificado, comprovando a competência do processo e dos parâmetros utilizados que apresentam influencia no grau Brix do mosto.

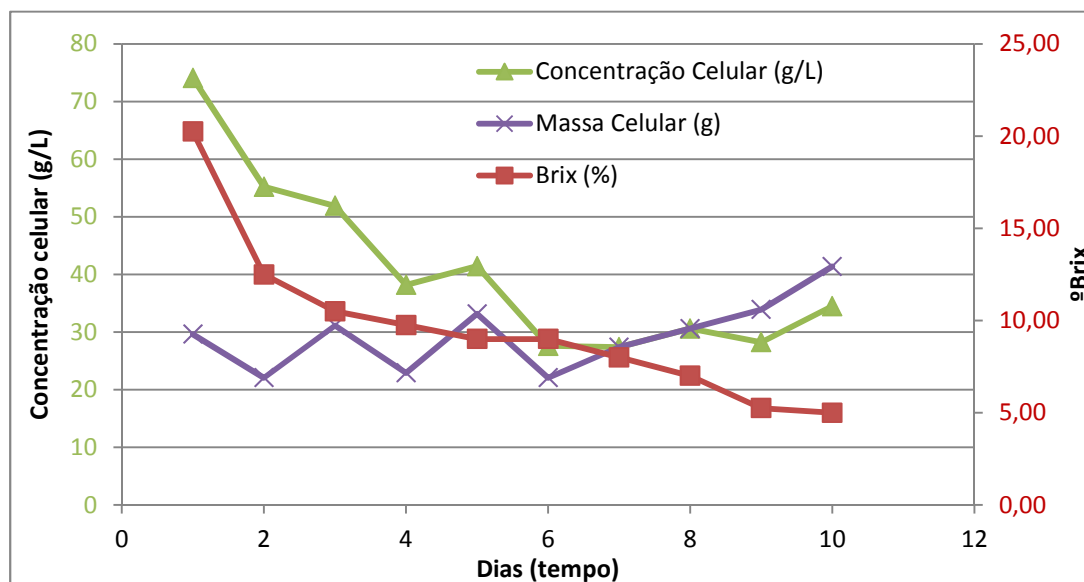


Figura 17. Gráfico representativo da relação entre concentração celular, massa celular e °Brix. O gráfico mostra a relação dos parâmetros analisados mediante a injeção de meio, de modo linear, no início do processo.

Os parâmetros concentração celular, massa celular e grau Brix só apresentam relação significativa entre si para os processos descontínuos, visto a variação de volume. A Figura 17 demonstra o comportamento dos mesmos relacionados entre si.

Durante este processo foi alcançado um rendimento alcóolico de 29% e uma graduação alcóolica equivalente a 40 °GL expressos em volume, resultados menores em relação a batelada utilizando fermento seco biológico, no entanto o objetivo do trabalho ainda era aumentar o rendimento e com isso foi realizado outro processo fermentativo visando melhoria.

5.5 Processo de Fermentação Descontínua Alimentada por “Steps”.

Abaixo segue a tabela 7 apresentando os valores obtidos para Massa celular coletada, Concentração celular (g/L) e Massa celular (g) durante o processo descontínuo alimentado por “Steps”, durante este foram realizadas duas coletas de amostras diárias, uma anterior e outra posterior a injeção de meio de cultura, sendo as injeções denominadas manhã e tarde respectivamente, visando a análise de alterações nos

parâmetros estudados em função da alimentação com meio de cultura (nutrientes) e consequentemente aumento do °Brix

| Dias | Turno | Brix (%) | Massa Celular coletada | Concentração Celular (g/L) | Massa Celular (g) |
|-------------|--------------|-----------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| 1 | Manhã | 14,75 | 0,7655 | 76,55 | 30,62 |
| 1 | Tarde | 17,75 | 0,7135 | 71,35 | 42,81 |
| 2 | Manhã | 10,75 | 0,6220 | 62,20 | 37,32 |
| 2 | Tarde | 14,25 | 0,6609 | 66,09 | 52,87 |
| 3 | Manhã | 16,00 | 0,6598 | 65,98 | 52,78 |
| 3 | Tarde | 18,75 | 0,6520 | 65,20 | 65,20 |
| 4 | Manhã | 10,75 | 0,6813 | 68,13 | 68,13 |
| 4 | Tarde | 16,00 | 0,8875 | 88,75 | 106,50 |
| 5 | Manhã | 18,00 | 0,8325 | 83,25 | 99,90 |
| 5 | Tarde | 14,75 | 0,6370 | 63,70 | 76,44 |
| 6 | Manhã | 17,00 | 0,6249 | 62,49 | 74,98 |
| 6 | Tarde | 16,75 | 0,7922 | 79,22 | 95,06 |
| 7 | Manhã | 15,75 | 0,5023 | 50,23 | 60,27 |
| 7 | Tarde | 15,50 | 0,4613 | 46,13 | 55,35 |
| 8 | Manhã | 15,50 | 0,4240 | 42,40 | 50,88 |
| 8 | Tarde | 13,75 | 0,3734 | 37,34 | 44,80 |
| 9 | Manhã | 15,00 | 0,4090 | 40,90 | 49,08 |
| 9 | Tarde | 14,50 | 0,3627 | 36,27 | 43,52 |
| 10 | Manhã | 14,75 | 0,3708 | 37,08 | 44,49 |
| 10,5 | Tarde | 15,00 | 0,3110 | 31,10 | 37,32 |

Tabela 7. Massa e concentração celular para o processo descontínuo alimentado por “steps”. Os valores das coletas representam leituras realizadas antes (Manhã) e após (Tarde) a injeção de novo meio de cultura, de modo escalonado, ao meio dia.

A Figura 18 mostra um processo coerente com esse tipo de fermentação, onde é caracterizado pelo crescimento celular ao longo do tempo, levando ao aumento da concentração celular na cuba de fermentação, porém a mesma apresenta decréscimo durante o período correspondente a alimentação, esse comportamento ocorre pelo fato que a concentração celular não depende somente da massa do microrganismo, mas também da variação de volume do mosto decorrente da adição de meio de cultura a cuba de fermentação (SCHMIDELL et al., 20011). A vazão de alimentação para esse processo fermentativo variou com o tempo de 24h, em função disso apresentou-se de forma intermitente.

Para o crescimento celular foi obtido um pico no início da fermentação. Por característica da fermentação descontínua o número de células é crescente após o período de alimentação, visto o aumento de nutrientes. Fato este que é apresentado na Figura 18. Como resultado da alimentação se dar por "steps" (pulsos/fracionamento) o teor de substrato (Brix) no meio de cultura inicialmente apresentou-se baixo, de acordo com um tempo estipulado (24h) a alimentação foi realizada havendo então picos neste parâmetro e em função disso um novo aumento no crescimento celular.

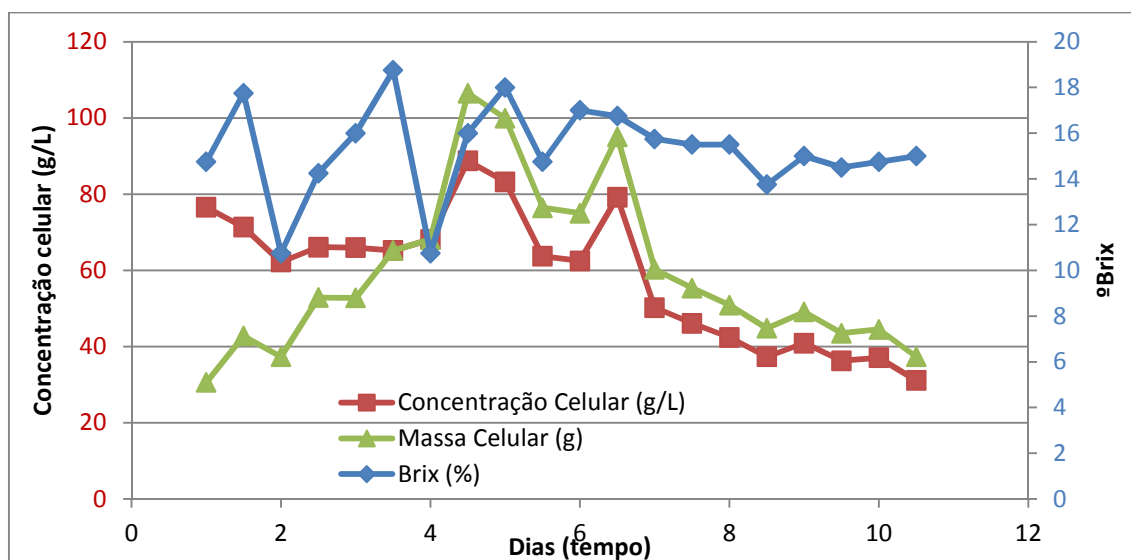


Figura 18. Gráfico representativo da relação entre concentração celular, massa celular e °Brix. O gráfico mostra a relação dos parâmetros analisados mediante a injeção de meio, de modo escalonado, a cada 24h, até atingir o volume total da cuba de fermentação.

Durante este processo foi possível melhorar ainda mais os parâmetros de rendimento apresentando valores de 33,3% e graduação alcóolica correspondente a 40 °GL, valor satisfatório para o nosso estudo inicial.

Para este processo a concentração de polpa de umbu e água destilada foi modificada, visando uma menor diluição da matéria prima, e uma elevação no rendimento alcóolico. Durante este processo foi utilizado 0,72L de polpa para 0,28L de água. Esta modificação apresentou êxito no processo, visto ao aumento no rendimento alcóolico como objetivado.

No processo descontínuo alimentado por "steps" um parâmetro diferente dos demais processos foi avaliado, visando novos resultados e mais parâmetros para posteriores avaliações e estudo como mostra a figura 19.

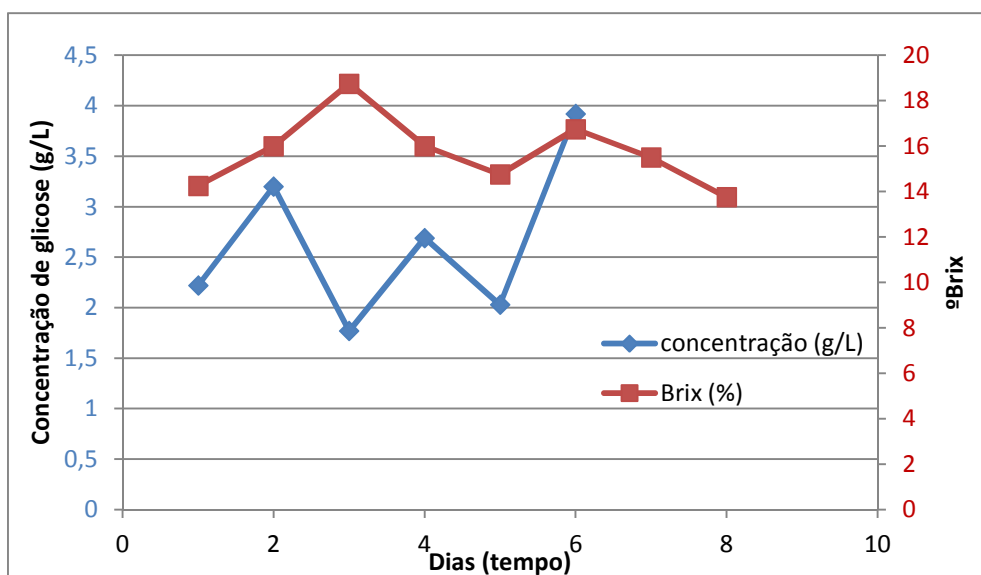


Figura 19. Gráfico da concentração de glicose em função do Brix no processo descontínuo alimentado por “steps”.

Os picos de concentração de glicose existentes na Figura 19 são correspondentes à elevação da glicose proveniente das alimentações neste processo, e as quedas no valor deste parâmetro foram verificadas de acordo com o consumo da glicose pela levedura. O aumento final de glicose deve ter ocorrido por morte celular, seguido de rompimento de membrana e extravasamento da glicose sem consumo. Oliveira (2010) apresentou resultados semelhantes quanto ao consumo de glicose para produção de bebida alcoólica fermentada da cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC). Alvarenga (2013) expõe elevação no teor de glicose ao final da fermentação para produção de aguardente de cana-de-açúcar, utilizando como justificativa o rompimento da membrana plasmática da levedura fazendo com que haja migração de glicose para o mosto durante o processo de fermentação, corroborando com os nossos resultados.

5.6 Avaliação do Processo Fermentativo

As fermentações tipo batelada duraram em média 9 dias, enquanto que os processos descontínuos obtiveram duração média de 10 dias. As mesmas foram conduzidas até que o valor do grau Brix atingisse estabilidade, em função do não consumo do substrato pela levedura.

Nos processos fermentativos de batelada, durante os dias iniciais de fermentação (três primeiros dias), houve uma produção intensa de bolhas, que podiam ser visualizadas em outro compartimento do sistema, designado para a visualização da produção de gás carbônico, indicando conversão de substrato em CO₂ e álcool, visto

que, estes são produtos da fermentação, no entanto após o quarto dia de fermentação essas bolhas só podiam ser observadas esporadicamente, e após isso a ausência de bolhas pode ser percebida, Guimarães (2003) também observou bolhas semelhantes em seu trabalho, chegando a mesma conclusão sobre a conversão de substrato em CO₂.

Para os processos de fermentação descontínua a produção de bolhas apresentou intensidade durante todo o período de alimentação, com fim da mesma foi possível observar tais bolhas durante aproximadamente cinco dias (120 h), e em seguida estas foram sendo reduzidas até cessar completamente alimentação. No descontínuo alimentado a cada alimentação as bolhas eram produzidas de forma abundante indicando produção de CO₂, conforme o decorrer do processo estas eram reduzidas sinalizando necessidade de nova alimentação, até que o processo chegou ao final com base no estacionamento do valor do grau Brix e redução na produção de bolhas.

Para determinar à levedura que apresentou melhores resultados de conversão, ambas as utilizadas foram testadas em processo batelada, visto que, é o mais utilizado pela indústria. De modo que os melhores resultados para rendimento e teor alcóolico foram expressos quando o fermento biológico seco foi o agente fermentador. A Tabela 8 evidencia tais resultados.

| Processo | Levedura | Rendimento Alcólico (%) | Gradação Alcólica (°GL) |
|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Primeiro processo em batelada | Safbrew T-58 | 14 | 39 |
| Segundo processo em batelada | Fermento Seco Biológico | 30 | 41 |

Tabela 8. Comparativo do rendimento alcóolico e gradação alcóolica obtidos processos fermentativos tipo batelada de acordo com a levedura utilizada.

Como já mencionado anteriormente durante os experimentos foram testados quatro processos fermentativos, onde um destes apresentou melhores resultados quanto ao rendimento e o teor alcóolico. A Tabela 9 evidencia estes resultados, indicando qual destes é o processo mais indicado na produção artesanal de aguardente de umbu, sendo este o valor destacado.

| Processo Fermentativo | Gradação alcóolica (°GL) | Rendimento alcóolico (%) |
|--|--------------------------|--------------------------|
| Descontínuo utilizando a levedura Safbrew T-58 | 39 | 14 |
| Descontínuo utilizando fermento seco biológico | 41 | 30 |
| Descontínuo alimentado | 40 | 29 |
| Descontínuo alimentado por “steps” | 40 | 33,3 |

Tabela 9. Relação entre os processos fermentativos de acordo com gradação alcóolica e rendimento alcóolico, expressando o melhor processo fermentativo para a produção de aguardente de umbu.

Portanto de acordo com os resultados obtidos para rendimento alcóolico e gradação alcóolica, é possível perceber que o processo fermentativo mais indicado para produção de aguardente de umbu é o descontínuo alimentado por “Steps” diante deste experimento.

5.7 Parâmetros do Processo Fermentativo do Umbu

Após análises dos processos fermentativos as melhores condições de cultivo foram determinadas, como mostra a Tabela 10.

| Parâmetros | Valores estabelecidos |
|----------------------|-----------------------|
| pH | 4,5 |
| Temperatura | 28 ° |
| Porcentagem de polpa | 40% |
| Agitação | 200 rpm |
| Grau Brix | 21% |
| Aeração | 0,8 L/h |

Tabela 10. Parâmetros fermentativos estabelecidos como ideais para realização do processo de produção da aguardente de umbu após a análise dos processos.

5.8. Fluxograma da Produção da Aguardente de Umbu

A figura 20, abaixo, mostra o fluxograma do processo de produção da aguardente de umbu, desde o início caracterizado pela coleta dos frutos até o momento da destilação, em que é obtido o produto final.

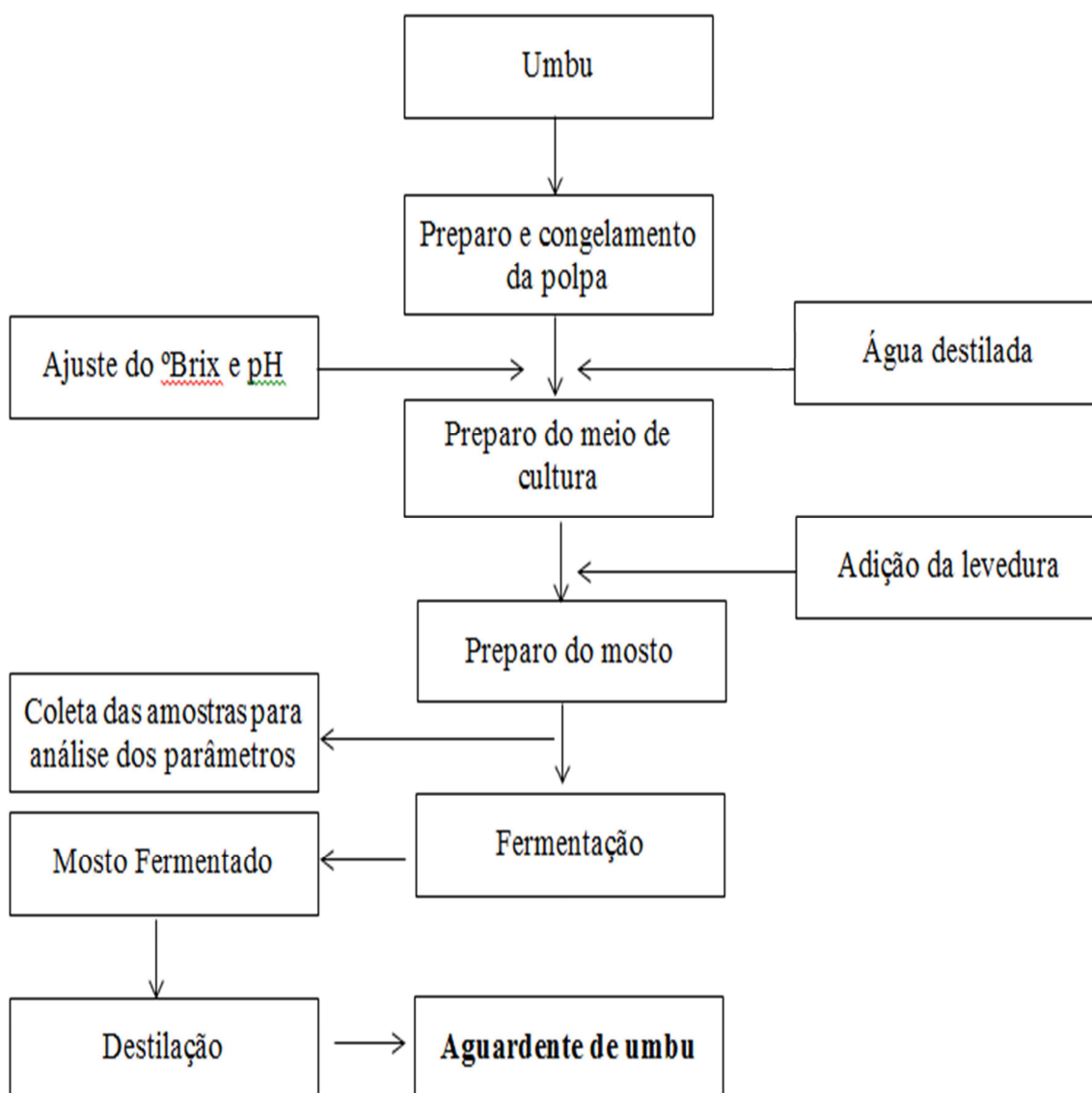


Figura 20. Fluxograma do processo produtivo da aguardente de umbu. A Figura mostra o esquema produtivo que trata desde a aquisição do fruto, passando pelos principais processos envolvidos na produção e avaliação da aguardente de umbu.

Estudos mais abrangentes para esta bebida devem ser realizados, para melhores resultados quanto ao rendimento. No que se refere à composição físico-química. A qualidade do produto final depende do sucesso em todas as etapas de produção.

6. CONCLUSÕES

- O fermento seco biológico mostrou-se 16% mais eficiente que a Safbrew T-58 na fermentação em batelada do mosto de umbu;
- O valor de pH correspondente a $4,5 \pm 1$ foi suficiente para um desenvolvimento ótimo da levedura em todos os processos;
- O grau Brix de 21% foi ideal para desenvolvimento da levedura durante a fermentação do mosto de umbu;
- A temperatura de $28^\circ \pm 1$ foi definida como ideal para desenvolvimento da levedura em todos os processos;
- Agitação de 200 rpm foi suficiente para mistura adequada em todos os processos fermentativos;
- O processo descontínuo alimentado por “steps” foi dentre os analisados o que apresentou melhores resultados, com rendimento de aguardente de 33,3%;
- A aguardente produzida está de acordo com a legislação quanto ao teor alcóolico, apresentando 40° GL;
- A utilização de umbu (*Spondias tuberosa* Arr.) no processo fermentativo é uma alternativa viável, diante do rendimento e graduação alcóolica apresentados após todo processo, sendo matéria-prima de grande potencial para fabricação de aguardente;
- Há a necessidade de mais testes, principalmente com ampliação de escala, para que seja possível a obtenção de um rendimento mais elevado.

7. REFERÊNCIAS

- ABRABE. Associação Brasileira de Bebidas. Disponível em: <www.abrabe.org.br>. Acesso em 28 de outubro de 2014.
- ALTERTHUMM, F. Elementos de microbiologia. In: BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. L.; AQUARONE, E. Biotecnologia industrial: fundamentos. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. cap. 1, p. 1-31.
- ALVARENGA, R. M. Avaliação De Parâmetros da Fermentação e da Destilação para Adequação dos Teores de Compostos Secundários em Aguardente de Banana e manga. Araraquara. 2013
- AMORIM, H. V. Fermentação Alcoólica: Ciência e Tecnologia. Piracicaba. São Paulo 2005. Fermentec, 448p.
- ANDRIETTA, S. R. Processos de fermentação alcoólica utilizando leveduras flocculantes, 2005. Disponível em: <http://www.stab.org.br/agenda/eventos/palestra_downloads/11_silvio_roberto_adrietta.pps#285,30, Nível de desenvolvimento> Acesso em: 05/janeiro/2015.
- AQUARONE, E., LIMA, U. A., BORZANI, W. Alimentos e bebidas produzidas por fermentação, v.5, capítulo 4, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 1983.
- ASQUIERI, E. R. et al. Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. Alimentaria, n. 355, p. 97-109, 2004.
- BADOTTI, F.; DARIO, M. G.; ALVES JÚNIOR, S. L.; CORDIOLI, M. L. A.; MILETTI, L. C.; ARAUJO, P. S.; STAMBUK, B. U. Switching the mode of sucrose utilization by *Saccharomyces cerevisiae*. Microbial Cell Factories, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2008.
- BARBOSA, D. C. A.; BARBOSA, M. C. A.; LIMA, L. C. M. Fenologia de espécies lenhosas da Caatinga. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.). Ecologia e conservação da Caatinga. Recife: Universitária UFPE, 2003. p. 657-693. 2003
- BASSO, L. C. Fisiologia e ecologia microbiana, I Workshop Tecnológico sobre produção de etanol, projeto programa de pesquisa em políticas públicas, ESALQ/US, 2004.
- BATISTA, A.S. *Saccharomices cerevisiae* em milho armazenado e o efeito na redução de aflatoxinas. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, Brasil, 2001.
- BELTRAN, Maria H. R. "Destilação: a arte de 'extrair virtudes'. Química Nova na Escola 4 (1996): 24-27.
- Biotecnologia Industrial: Fundamentos, v.1, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001
- BORZANI, W. SCHMIDELL, W., LIMA, U., AQUARONE, E. Biotecnologia Industrial Fundamentos. v.1. São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001
- BOZA, Y; HORII, J. A destilação na obtenção de aguardente de cana-de-açúcar. Boletim da SBCTA, Campinas, v. 33, n.1. p. 98 – 105, 1999.
- BRAGA, V. S. A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para produção de cachaça. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2006.
- CARDOSO, D. R.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W.; NASCIMENTO, R. F. D. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana: parte II. Química Nova, v. 26, p. 165-169, 2003.

- CARVALHO, J.C. M.; SATO, S. Fermentação Descontínua Alimentada. In: Schmidell, Wilibaldo et al. (coord.). *Biotechnology Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Editora Edgard Blücher, p 205-222 (*Biotechnology Industrial v.2*), 2001.
- CARVALHO, P.C.L. Variabilidade morfológica, avaliação agronômica, filogenia e citogenética em *Spondias* (*Anacardiaceae*) no Nordeste do Brasil. 2006. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2005
- CARVALHO, P.C.L.; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C.A.S. Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeira no Estado da Bahia. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v. 30, n 1, p .140-147, 2008.
- CAVALCANTI, N. de B.; LIMA, J. L. S.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. de L. Ciclo reprodutivo do imbuzeiro (*Spondias tuberosa*, Arr. Cam.) no Semiárido do Nordeste brasileiro. *Revista Ceres, Viçosa, MG*, v. 47, n. 272, p. 421-439, 2000.
- CAVALCANTI, N. de B.; REZENDE, G. M.; BRITO, L. T. de L. Levantamento da produção de xilopódios e os efeitos de sua retirada sobre a frutificação e persistência de plantas nativas de imbuzeiros (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). *Ciência Agrotécnica, Lavras*, v. 26, n. 5, p. 927-942, 2003.
- CAVALCANTI, N. de B.; REZENDE, G. M.; BRITO, L. T. de L. Período de ocorrência da frutificação do imbuzeiro na região semiárida de Pernambuco. *Caatinga, Mossoró*, v. 18, n. 2, p. 129-135, 2005.
- Ecofisiologia do umbuzeiro: In: LEDERMAN, E.; LIRA JÚNIOR, J. S. de; SILVA JÚNIOR, F. da. (Ed.). *Spondias no Brasil: umbu, cajá e espécies afins*. Recife: IPA: UFPE, 2008. p. 31-39.
- Faculdade de Farmácia da UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais. 2011. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/BUOS8MXMYN/1/tese_raquel_alvarenga.pdf>. Acesso em: 21 de fevereiro de 2015
- FARIA, J. B.; FERREIRA, V.; LOPEZ, R.; CACHO, J. The sensory characteristic defect of “cachaça” distilled in absence of cooper. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2003.
- FEITOSA, P.C.L. A cachaça como identidade cultural. 2005.55p. Monografia [Especialista em Turismo Cultural e Lazer] Universidade de Brasília. Centro de Excelência em Turismo. Brasília, 2005.
- FERNANDES, F, de, S. Avaliação do Nível de Contaminação Microbiana Durante A Produção Artesanal de Cachaça. Trabalho de Conclusão de Curso submetido à coordenação do curso de química industrial da universidade estadual de Goiás como parte dos requisitos para a obtenção do título de bacharel em Química Industrial. Anápolis, GO, Brasil, 2011.
- FILHO, V. E. MOUCHREK; SANTOS DOS. A.ARAÚJO. et al.; Produção, processamento e análise bromatológica do vinho obtido de caju. *Cad. Pesq. São Luís*. V.13, n. 1, p. 46-59, janeiro/junho 2005.
- FILHO, W, G, VENTURINI; NOGUEIRA, A, M, PARENTE. *Aguardentes e Cachaça*. Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP, Brasil, 2013.
- FILHO, WALDEMAR G. VENTURINI; NOGUEIRA, A. M. PARENTE. *Aguardentes e Cachaça*. Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu, Botucatu, agosto, 2010.
- GABRIEL, A. V. M. D. Influência do tipo de fermento e do envelhecimento sobre a qualidade da cachaça artesanal orgânica. Tese de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Araras, SP, Brasil, 2010.
- GALLO, C. R. Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica. Tese de Doutorado. Universidade de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, Brasil, 1989.

Google Imagens. Disponível em: < <http://www.oetker.com.br> > Acesso em: 10/02/2015

GUIMARÃES FILHO, OSWALDO. Avaliação da produção artesanal de aguardente de banana utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. CA – 1174. Tese de Doutorado. Lavras: UFLA, 2003.

INÊS, A.; TENREIRO, T.; TENREIRO, R.; MENDES -FAIA, A. Revisão: As bactérias do ácido láctico do vinho- Parte I. Ciência e Técnica Vitivinícola, v. 23, p. 81-96, 2008.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos, SP: RiMa, 2000. 531 p.

LIMA FILHO, J. M. P. Ecofisiologia do Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam). 1ª Edição. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 24 p. (Embrapa Semiárido. Documentos, 240).

LIMA FILHO, J. M. P.; SANTOS, C. A. S. Avaliações fenotípicas e fisiológicas de espécies de *Spondias* tendo como porta-enxerto o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). Revista Caatinga, Mossoró, v. 22, n. 1, p. 59-63, 2009.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001.

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. Tecnologia da cachaça de alambique. Belo Horizonte: SEBRAE-MG, 2006.

Manual de instruções Tec-Bio-Flex. TECHNICAL Equipamentos para laboratório. Piracicaba/SP.

MIRANDA, M. B.; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; HORII, J.; ALCARDE A. R. Qualidade química de cachaças e aguardentes brasileiras. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 4, p. 897-901, 2007.

MORAIS, A. R.; DOS ANJOS, J. P. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. Ciência e Agrotecnologia, v.31, p. 1805-1810, 2007.

MOREIRA, R. F. A.; NETTO, C. C.; DE MARIA, C. A. B. A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. Química Nova, v. 35, p. 1819-1826, 2012.

NASCIMENTO, C. E. de S.; SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, V. R. de. Produção de mudas enxertadas do umbuzeiro (*spondias tuberosa*. Arr.). Petrolina: Embrapa Semi-árido, 2000. 13.

NOBREGA, I. C. C., PAIVA, J. E. Apostila de tecnologia de produtos agropecuários. Parte I: Tecnologia pós-colheita da cana-de-açúcar. Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Tecnologia Rural. Recife, PE, 2009.

NOGUEIRA, A. M. P., VENTURINI FILHO, W. G. Aguardente de cana. Universidade Estadual Paulista - UNESP. Faculdade de ciências agrônômicas. Botucatu, SP, Brasil, 2005.

OLIVEIRA, MARA ELISA SOARES de. Elaboração de bebida alcóolica fermentada da cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC) empregando leveduras livres e imobilizadas. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2010.

PACHECO, THALYTA FRAGA. Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre em escoamento ascendente. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, programa de pós graduação em engenharia química. 2010.

RIBEIRO, J. C. G. M. Fabricação artesanal da cachaça mineira. Belo Horizonte: Editora Perform, 1997.

ROSA, C. A., GOMES, F. C. O., SILVA, C. L. C., BADOTTI, F., VIANA, C. R., ARAÚJO. R. A. C. Cachaça: os segredos da fermentação. Revista Ciência Hoje, v. 41, n. 243, p. 67 -69, Nov. 2007.

SCHMIDELL, W.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; LIMA, U. D. A. Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001.

- SILVA, C. L. C.; ROSA, C. A.; LIMA, A. B. R. A.; OLIVEIRA, E. S. Qualidade química e sensorial de cachaças produzidas com quatro linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (floculantes, não produtoras de H₂S e de referência) Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 24, n. 2, p. 406-422, 2006.
- SOUZA, C. S. Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009.
- VENTURINI FILHO, W. G. Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia, v. 1, capítulo 12, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2010.
- VERRUMA-BERNARDI, M. R.; PARAZZI, C.; BORGES, M. T. M R.; MACEDO, V. M.; FERREIRA, K. S.; DELIZA, R. Efeito do envelhecimento de aguardentes nas características sensoriais e preferência. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 14, n. 2, p. 219-224, 2012.
- VILLEN, R. A. Mauá: Biotecnologia – Histórico e Tendências. Escola de Engenharia de Mauá. Apostila, 2009.