



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

ÉDER DO NASCIMENTO SOUSA

AVALIAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO NA OBTENÇÃO DO DESTILADO
DE MANGABA (*Hancornia speciosa*)

SUMÉ-PB

2018

ÉDER DO NASCIMENTO SOUSA

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO NA OBTENÇÃO DO DESTILADO
DE MANGABA (*Hancornia speciosa*)**

Monografia apresentada ao curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes

SUMÉ-PB

2018

S725a Sousa, Éder do Nascimento.

Avaliação do processo fermentativo na obtenção do destilado de mangaba (*Hancornia speciosa*). / Éder do Nascimento Sousa. - Sumé - PB: [s.n], 2018.

50 f.

Orientador: Professor Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes.

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

1. Processo fermentativo. 2. Destilado de mangaba. 3. Análise cinética. 4. Batelada I. Título.

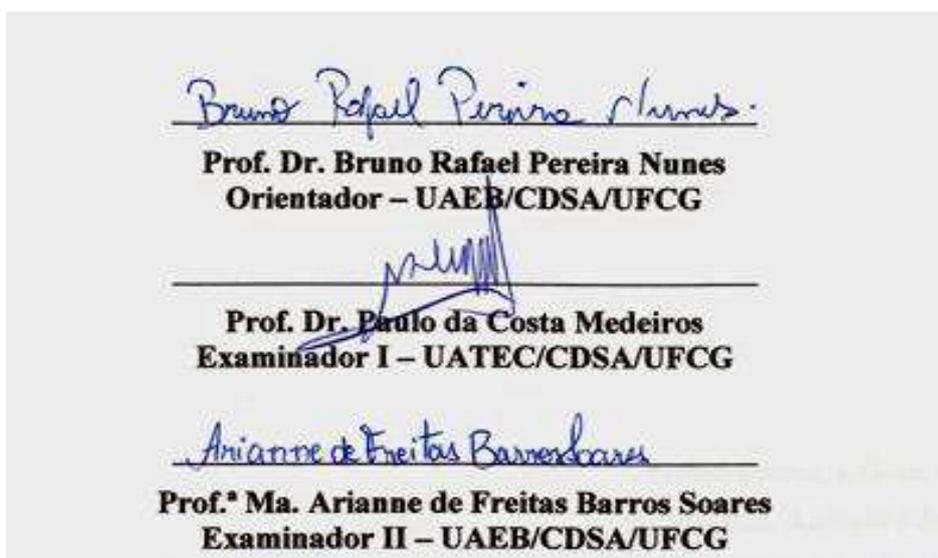
CDU: 66.048(043.1)

ÉDER DO NASCIMENTO SOUSA

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO NA OBTENÇÃO DO
DESTILADO DE MANGABA (*Hancornia speciosa*)**

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

BANCA EXAMINADORA:



Trabalho aprovado em: 08 de agosto de 2018.

SUMÉ - PB

Primeiramente, a **Deus**, meu Senhor.
Aos meus pais, **Antônia e José**, por todo
amor e carinho. Sem vocês, isso não seria possível.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar comigo, desde bem antes desta jornada. Sem ele, essa conquista não seria possível.

Aos meus pais, Antônia Maria e José Rosimarcos, que desde o início se empenharam em tornar esse sonho uma realidade. Com amor, carinho e compreensão que recebi, não há palavras suficientes para expressar minha eterna gratidão. Amo vocês!

A minha irmã Vitória, por sempre estar comigo e pelo imenso companheirismo.

A minha namorada, Jéssica, por sempre estar comigo, mesmo nos momentos mais difíceis. O amor e carinho que recebi foi mais do que eu poderia imaginar. Amo você!

A minha avó materna Maria (in memoriam) e paterna Marina (in memoriam) por todo amor e força que recebi durante esta jornada acadêmica.

As minhas tias, pelo carinho e ajuda em fazer possível este momento.

A toda minha família, pelo incentivo e carinho dado ao longo desses anos. Ajudaram a construir a pessoa que sou hoje.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Rafael Nunes, pela oportunidade, ajuda e disposição. Muito obrigado!

Ao professor Jean por me ajudar, tanto durante o curso, quanto neste presente trabalho. Muito obrigado!

A minha amiga Bernadete, pela ajuda na realização deste presente trabalho.

A minha amiga Elizabete, pela imensa ajuda durante todos esses anos de curso.

Aos meus amigos Luan, Lucas, Wagner, Júlio César, por fazerem parte desta minha jornada, contribuindo tanto na parte acadêmica quanto nos bons momentos.

A todos os professores que contribuíram durante toda a graduação, em especial agradeço a Aldinete, Fabiana, Mérgia, Bruno, Jean, Ranoel, Aldre, Alex, Ana Verônica, por toda ajuda e conhecimento cedido durante o curso.

A todos os meus colegas de curso, pela enorme ajuda nessa caminhada. Sem vocês, esse momento não seria possível.

A todas as pessoas que trabalham no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) que direta ou indiretamente fizeram parte da minha vida durante toda a graduação.

Ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) e a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) por tornar possível minha graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

“Grandiosidade vem de pequenos começos”

[Sir Francis Drake](#)

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo a produção de um fermentado de mangaba, por meio de reator batelada sem agitação, realizando seu estudo cinético e, por fim, desenvolver o destilado a partir deste fermentado. Foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a produção do fermentado alcoólico, em razão da sua alta capacidade fermentativa. A fermentação foi realizada durante um período de 7 dias (120 horas) sendo analisados o teor de sólido solúveis totais, expressos em graus Brix, pH e concentração de células, em um intervalo de 2 horas, nas primeiras 24 horas, e posteriormente, uma vez por dia. Os resultados obtidos ao final desse processo foram: teor de sólidos solúveis de 6,7 °Brix, teor alcoólico de 10,54% ABV, pH de 4,84 e concentração de células de 86,23 g/L. A análise cinética do fermentado mostrou um rendimento de 84,01%, com uma produtividade no valor de 0,866 g/L.h. Com o processo de fermentação concluído, foi realizado o processo de destilação, sendo obtido um destilado com graduação alcoólica final de 41% (v/v), mostrando que os processos de fermentação e destilação são viáveis na busca por alternativas que diminuam o desperdício de frutos e proporcionem a geração de renda para o produtores por meio da geração de produtos com valor agregado.

Palavras-chave: Batelada. Mangaba. Análise Cinética. Destilação.

ABSTRACT

The objective of this work was to produce a fermented mango, by means of reactivating the beating without agitation, performing its kinetic study and, finally, developed or destroyed from this fermentation. A *Saccharomyces cerevisiae* yeast was used to produce the alcoholic fermentation, due to its high fermentation capacity. The fermentation was carried out over a period of 7 days (120 hours), applying the theory of soluble solids at different levels, expressed in degrees Brix, pH and the concentration of cells, in a 2 hour interval, in the first 24 hours, and later, once a day. The results obtained in this process were: soluble solids content of 6.7 ° Brix, alcohol content of 10.54% ABV, pH of 4.84 and cell concentration of 86.23 g / L. Fermentation kinetic analysis showed a yield of 84.01%, with a yield of 0.866 g / Lh. With fermentation process, the distillation process was carried out, being recovered with an alcoholic strength of 41% (v / v), showing that the fermentation and distillation processes are viable in the search for alternatives that decrease its fruit and provide a generation of value-added products.

Key words: Batch. Mangaba. Kinetic analysis. Distillation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Variação de Cs, Cx, Cp com o tempo em um processo descontínuo	28
Figura 2 -Processo de aquecimento do mosto.	36
Figura 3 - Reator utilizado no processo fermentativo sem agitação	38
Figura 4 -Fermenado obtido ao fim do processo fermentativo. A do centro e a direita, corresponde a primeira fermentação. A esquerda, a segunda.	43
Figura 5 -Aguardente de mangaba com graduação alcoólica de 41% (v/v), obtida no processo de bidestilação.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABV	Álcool por volume
atm	Atmosfera
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
CO₂	Dióxido de carbono
g/L	Gramas por litro
h	Horas
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
Kg	Kilograma
M	Molaridade
mL	Mililitro
NaOH	Hidróxido de sódio
L	Litro
pH	Potencial Hidrogeniônico
PET	Poli Tereftalato de Etila
P	Produtividade
P = P(t)	Concentração de produto
Q_e	Concentração de etanol experimental
Q_t	Concentração de etanol máxima teórica
R	Rendimento
S = S(t)	Concentração de substrato
X = X(t)	Concentração de microrganismo
t	Tempo
Y_{X/S}	Fator de conversão de substrato em concentração celular (g/g)
Y_{X/P}	Fator de conversão de concentração celular em produto (g/g)
Y_{P/S}	Fator de conversão de substrato em produto (g/g)
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
°C	Grau Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 MANGABEIRA: DESCRIÇÃO BOTÂNICA	15
3.2 PROCESSOS FERMENTATIVOS	16
3.2.1 Características Gerais	16
3.2.2 O microrganismo	16
3.2.3 O meio de cultura	18
3.2.4 Modos de condução do processo fermentativo	18
3.2.5 Etapas de recuperação do produto	19
3.3 PARÂMETROS CINÉTICOS	20
3.4 FERMENTADO E DESTILADO DE FRUTAS	23
3.5 DESTILAÇÃO	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 MATÉRIA PRIMA.....	28
4.2 MICRORGANISMO	28
4.3 MOSTO: PREPARO E ALTERAÇÕES	28
4.3.1 Preparo do mosto	28
4.3.2 Filtração e Aquecimento	28
4.3.3 Correção da quantidade de açúcar (Chaptalização)	29
4.3.4 Correção do pH	29
4.3.5 Autoclavagem	29
4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E DESTILAÇÃO	30
4.4.1 Processo descontínuo simples	30
4.4.2 Centrifugação	31
4.4.3 Destilação	31
4.5 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS DO PROCESSO FERMENTATIVO	31

4.5.1 Crescimento celular	32
4.5.2 Consumo do substrato.....	32
4.5.3 Produção de etanol	32
4.6 ESTEQUIOMETRIA DA REAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO, DA PRODUTIVIDADE E DOS PARÂMETROS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1 CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO EM BATELADA SEM AGITAÇÃO ..	36
5.2 ANÁLISE DO pH DO PROCESSO FERMENTATIVO	37
5.3 PARÂMETROS CINÉTICOS DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS.....	38
5.4 DESTILADO	40
6 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

O cerrado e a caatinga são dois dos biomas mais importantes que compõem o território brasileiro, representando cerca de 35% de toda a extensão territorial. O potencial de extração desses biomas é sem precedentes, sendo flores, folhas, sementes e frutos apenas algumas das inúmeras fontes de matéria prima que podem servir a população (LIMA & SCARIOT, 2010).

Presente tanto na Caatinga como no Cerrado, está a Mangabeira (*Hancornia Speciosa*) – planta nativa brasileira, que ocorre nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Norte e Nordeste (SANTOS et al, 2012). A mangabeira apresenta um porte não muito alto, copa de forma inconstante, tronco bem envergado, com muitas ramificações e rugoso, ramos lisos e de cor vermelha. Seus frutos são do tipo baga, sendo seus formatos e tamanhos variáveis, podendo ser circulares ou elipsoidais, de cores amarelo ou verde, contendo uma polpa amarela bem doce, que por sua vez é bastante rica em vitaminas (GONÇALVES et al, 2013).

Os frutos, conhecidos como mangaba, são constituídos de 77% de polpa, 12% de semente e 11% de casca. Com um sabor característico e altamente apreciado pela população, contém elevado conteúdo de sólidos solúveis ligado a alta acidez. Os números pertencentes a quantidade de açúcar em relação aos sólidos solúveis totais são próximos de 77% e 59% de açúcares redutores em relação aos totais (SIQUEIRA, 2017).

Com a ocorrência de certa variação de ano após outro, dependendo da época do ano, a frutificação da planta se dá de forma irregular. Ainda assim, a coleta dos frutos se dá em uma época certa, geralmente entre os meses de outubro e abril (LIMA & SCARIOT, 2010). Para se ter uma boa qualidade na colheita dos frutos, avalia-se as condições de desenvolvimento que tem importância na fase pós-colheita. Se colhidos antes de atingirem total maturação, prejudicam seu processo de amadurecimento, comprometendo a qualidade do produto final. A colheita de frutos completamente maduros diminui sua vida útil, causando problemas de transporte e manuseio, por consequência de baixa resistência física, havendo perdas de inúmeras quantidades de frutos (CARNELOSSI et al, 2004).

No ano de 2015, a produção de mangaba atingiu o número de 663 toneladas. Do seu total na produção nacional, os estados da Paraíba e Sergipe representam 53% desse número (SIQUEIRA, 2017).

Devido a sua composição e disponibilidade, o fruto da mangabeira apresenta-se como uma alternativa no desenvolvimento de bioprodutos de alto valor agregado com boas

características sensoriais e com maior tempo de vida de prateleira, podendo ser utilizado como matéria prima em processos de bioconversão, como os processos fermentativos.

Os processos fermentativos vêm sendo utilizados desde a antiguidade, mesmo não havendo o conhecimento científico necessário em relação ao entendimento de como se ocorria a reação. Com o tempo, e com o crescimento cada vez maior nos estudos sobre o tema, foi esclarecido e denominado o termo fermentação, processo no qual acontece a reprodução de um microrganismo, originária de uma fonte rica em nutrientes, com o intuito de adquirir um bioproduto. Vários ramos da indústria se beneficiam da fermentação, causando um impacto significativo na sociedade. Como exemplos, podem ser citados indústrias químicas e farmacêuticas. Na área alimentícia, destacam-se a produção de queijos, iogurtes e bebidas. Mesmo tendo uma enorme variedade de produtos sendo originados por esses processos, um dos principais e mais utilizados sem dúvida é a fermentação alcoólica (DAMASO & COURI, 2018).

A fermentação alcoólica é a conversão de um substrato, o açúcar, através de uma levedura em um metabólito, o álcool etílico. Comumente é utilizada a levedura da espécie *Sacharomyces cerevisiae*, a qual realiza o processo de fermentação de açúcares com o intuito de conseguir energia química suficiente para sobreviver, fazendo com que o etanol seja um produto gerado nesse processo. Para se alcançar um bom desempenho industrial, é necessário que a levedura, um dos principais fatores constituintes de uma fermentação alcoólica, apresente certas qualidades que a validem como apta para o processo, entre eles, um bom rendimento, certa resistência e estabilidade, assim como ter tolerância ao álcool (PASCHOALINI & ALCARDE, 2009).

Diante disso, um fruto que contenha certos níveis de umidade, açúcar e de nutrientes que satisfazem as leveduras são desejáveis como elemento essencial para fabricação de bebidas fermentadas (OLIVEIRA et al, 2012). A indústria de alimentos está na procura de novidades na área de bebidas e sabores, buscando sempre um melhor produto e sua expansão diante da população. Assim, a otimização de produtos é de suma importância para a manutenção e o aumento do setor do mercado de bebidas (PINTO et al, 2014). O uso de frutas como o principal elemento para a produção de bebidas alcoólicas é uma alternativa a reduzir as perdas consideráveis de frutos na lavoura. Além de surgir como uma alternativa ao consumidor, que está na busca de produtos e sabores diversificados (VIEIRA, 2012).

A destilação é o fenômeno referente a separação de componentes de uma mistura devido a uma diferença de pressão de vapor. Toda substância com determinado ponto de ebulição é volátil e possui um determinado valor de pressão de vapor, que por sua vez é dependente da temperatura (SILVEIRA et al, 2012). Um processo de destilação separa os componentes com

base em sua volatilidade. Os compostos mais voláteis, como metanol e o acetaldeído, são destilados primeiramente, na fração “cabeça”, já os menos voláteis, como os álcoois superiores, são destilados posteriormente nas frações “coração” e “cauda”. A parte de interesse fica por conta do coração, correspondente a cerca de 85% do volume total do destilado (CANCELIER et al, 2013).

Com isso, o presente trabalho teve como objetivo a produção de uma bebida fermentada a partir da polpa de mangaba, em razão de ser uma fruta com um alto teor de açúcar, sendo também feito o estudo cinético durante o processo de fermentação alcoólica, e logo após realizar a destilação do produto fermentado para obtenção da aguardente, afim de se atingir um produto de ótimo interesse comercial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento cinético no desenvolvimento de uma bebida fermentada a partir da polpa da mangaba, conduzindo o processo em batelada sem agitação, para posterior produção de destilado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a evolução dos parâmetros cinéticos: teor de sólidos solúveis, concentração de células e concentração de etanol ao longo de todo processo fermentativo;
- Determinar o rendimento e a produtividade do fermentado alcoólico;
- Promover a destilação do produto do processo fermentativo e analisar o destilado com relação ao teor alcoólico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 MANGABEIRA: DESCRIÇÃO BOTÂNICA

A mangabeira faz parte do grupo das Eudicotiledoneas, pertencente a ordem das Gentianales, constituinte da família Apocynaceae e à espécie *Hancornia Speciosa*. Árvore de porte não muito alto, tendo sua altura variando, geralmente, de 4 a 7 m, podendo chegar, em alguns casos, até os 15 m. Apresenta crescimento lento e copa espalhada, frequentemente mais ramificada que alta. O tronco, geralmente solitário, é reto ou não uniforme, com diâmetro variando de 0,2 a 0,3 m, possuindo ramos pendentes, em grande quantidade, separados e com bom desenvolvimento (LÉDO et al, 2015).

As folhas são comuns, intercalares e opostas, com formas e tamanhos não definidos, contendo ou não pelos e curto-pecioladas. As flores são hermafroditas, alvas, em forma de sino alongada (PEREIRA et al, 2016).

O fruto da mangabeira é do tipo baga – fruto internamente carnoso, cujo todo tecido essencial é carnoso (PAULA, NOGUEIRA & ANGELO, 2016) - com suas variações em formato, tamanho e cores, geralmente, elipsoidais ou arredondados, amarelados e esverdeados, contendo uma pigmentação vermelha ou não contendo pigmentação alguma, de polpa amarela doce. Possui sementes achatadas e discóides, contendo uma cor castanho-clara (SIQUEIRA, 2017).

O fruto da mangabeira contém ótimo aroma e sabor, além de ser rica em diversas fontes de energia como a provitamina A, vitaminas B1, B2, C, sem falar de ferro, fósforo e cálcio. O alto teor de ferro faz com que a mangaba seja uma das frutas mais ricas neste nutriente, além de ser fonte de ácido ascórbico (SILVA, 2017).

Por ser observada de formas variadas, algumas espécies foram associadas para o gênero *Hancornia*, mas trabalhos de identificação concluíram, pelo estado único de gênero, as demais como apenas semelhantes. A espécie tem seis variedades botânicas, que cada uma é única em razão de algumas diferenças morfológicas, principalmente de folha e flor. São elas: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri*, *H. speciosa* var. *pubescens* (SILVA, 2013).

Na região nordeste, a colheita dos frutos se dá a partir do mês de dezembro, indo até o mês de maio. O estado dos frutos colhidos depende do seu estado de desenvolvimento, o qual tem influencia na sua vida útil pós-colheita. O momento de colheita tem como base a coloração do fruto, na alternância da cor verde para o amarelo claro. Havendo a colheita antes desse estágio de desenvolvimento, não ocorre a maturação dos frutos. Sabe-se que a colheita deve ocorrer quando os frutos atingirem total maturação, contendo traços avermelhados em cima da

coloração verde-amarelada. Dessa forma, é possível consumir em até dois dias em temperatura ambiente, observando-se o amolecimento da polpa e a produção de um aroma característico (SILVA, 2018).

O estado de Sergipe é onde ocorre a maior produção do fruto, destacando-se não apenas na região nordeste, bem como no Brasil (SOUZA, 2016). Na região nordeste, o fruto mangaba é um dos mais procurados na indústria de frutas nativas da região, com uso destinado a produção de sucos, polpas congeladas e sorvetes (LIMA & SCARIOT, 2010).

3.2 PROCESSOS FERMENTATIVOS

3.2.1 Características Gerais

A fermentação alcoólica realiza a modificação da matéria orgânica através de um processo biológico e anaeróbio. Compreende um conjunto de reações enzimáticas em que uma molécula orgânica é deteriorada em compostos mais básicos (SILVA & OLIVEIRA, 2017).

O êxito de um processo fermentativo está diretamente relacionado com a perfeita descrição de quatro passos básicos: o microrganismo, o meio de cultura, a forma de condução do processo fermentativo e as etapas de recuperação do produto (SCHMIDELL et al, 2001).

3.2.2 O microrganismo

Microrganismos que chamam a atenção para serem utilizados em meio industrial podem ser adquiridos de diversas maneiras, como por segregação a partir de recursos naturais, compra em coleções de cultura, obtenções de mutantes naturais, obtenção de microrganismos recombinantes por técnicas de engenharia genética e outras (SCHMIDELL et al, 2001).

Isso condiz com outros autores a respeito da obtenção de leveduras, em especial a *Saccharomyces cerevisiae*. Serra et al, (2016) relata que linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* capazes de produzir etanol e outros compostos químicos de interesse a partir dos açúcares presentes na biomassa da cana-de-açúcar tem sido obtida por meio de engenharia metabólica. Rubio, (2017) diz que a biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* é de fácil obtenção em indústrias de fermentação.

As leveduras são organismos ativos que são encarregados pela realização da fermentação alcoólica, sendo a utilização da correta linhagem de extrema importância para o

sucesso da fermentação. São fungos com características específicas, indo desde sua necessidade de desenvolvimento por fontes de nutrientes – substratos- mais simples (carbono, sais minerais) até dos meios das mais variáveis complexidades (PACHECO, 2010).

Trata-se de um organismo vivo, com várias especificidades metabólicas, podendo mudar a estequiometria da fermentação em razão das alterações no meio, com grande influência no rendimento do processo. É um microrganismo facultativo, que em aerobiose, modifica certa quantidade do açúcar em biomassa, CO₂ e água. Em relação a anaerobiose, transforma os açúcares em etanol e CO₂ (BARROS, 2013).

Saccharomyces cerevisiae mostra-se como a espécie mais utilizada no ramo comercial dentre as leveduras e possui um enorme emprego no Brasil, especialmente na indústria do etanol. Desde muito tempo, essa levedura tem sido usada em processos fermentativos dos tipos mais diversificados, do ramo alimentício ao de bebidas, provando seu valor, em razão do seu poder de transformar rapidamente açúcar em etanol, ácidos orgânicos e gás carbônico (NEVES, 2003).

Não há outro organismo que tenha sido mais correlacionado com o avanço e o conforto da espécie humana do que essa levedura e a espécies mais próximas a ela. O principal caminho metabólico relacionado a fermentação alcoólica em leveduras é a glicólise, pela qual uma molécula de glicose sofre oxidação e duas moléculas de piruvato são criadas. Em situação anaeróbica, o piruvato é diminuído logo depois a etanol com a liberação de uma molécula de gás carbônico. Em tese, o rendimento se dar em forma de 0,511g de etanol e de 0,489 de gás carbônico para 1g de glicose metabolizada (CASTANHEIRA, 2013).

Dentre os microrganismos que fazem parte na produção de álcool, é necessário se fazer uso de linhagens que tenham certas especificações para uma boa condução do processo fermentativo, das quais podem ser citadas:

- Velocidade de fermentação: necessário realizar uma ótima conversão de açúcar em álcool por unidade de tempo;
- Resistência ao Álcool: leveduras que são mais resistentes a altos níveis de teor alcoólico são mais atraentes do ponto de vista industrial, por tornar possível a obtenção de fermentado com maior teor alcoólico possível, havendo redução de custos no processo de destilação;
- Eficiência de Conversão: mostra o poder da levedura de converter açúcar em álcool. As leveduras que não utilizam de quantidade satisfatória de substrato para transformação em etanol não são aptas a fermentação alcoólica;

- Resistência ao pH e antissépticos: é necessário que a levedura suporte o baixo pH do meio e antissépticos, já que um dos métodos usados para reduzir as infecções do mosto é a redução do pH ou a introdução de antissépticos (LIMA; BASSO; AMORIM; 2001).

3.2.3 O meio de cultura

Para que o microrganismo possa agir de forma satisfatória e realizar a fermentação sem maiores contratempos, o meio de cultura deve conter algumas especificações gerais que devem ser consideradas, como por exemplo:

- Ser de menor custo possível;
- Prover as necessidades nutricionais do microrganismo;
- Ajudar no controle do processo, evitando alterações drásticas do pH, ou surgimento de excesso de espuma;
- Não causar danos na recuperação do produto;
- Os componentes devem possibilitar alguma forma de tempo de armazenagem, com o intuito de estarem disponíveis todo o tempo;
- Ter sua composição levemente fixa (SCHMIDELL et al, 2001).

3.2.4 Modos de condução do processo fermentativo

São basicamente quatro, os tipos de condução em que um reator pode vir a ser operado, sendo eles: descontínuo, descontínuo alimentado, contínuo e semicontínuo. Eles podem ser operados com ou sem recirculação de células, ou em um ou mais reatores, como é o caso do processo contínuo. Explanando melhor cada um, temos:

- Descontínuo simples: inserção de um microrganismo responsável pelo processo fermentativo em um meio de cultura que satisfaça sua nutrição, em um biorreator adequado, aguardando o fim do processo (SCHMIDELL et al, 2001);
- Descontínuo com recirculação de células: após o término do processo descontínuo (ou batelada), ocorre a separação das células por centrifugação, ou até aguardar a sedimentação dentro do próprio biorreator, mandando, assim, só o líquido fermentado para a recuperação do produto. Evita-se então a formação

de um novo inóculo para cada batelada, havendo diminuição de custos e redução de tempo para a formulação de altas concentrações de células no reator (ALVARENGA, 2009);

- Semicontínuo: incremento do mosto e remoção do produto são realizadas intermitentemente (DARÉ, 2008);
- Descontínuo alimentado: técnica em processos microbianos, onde ocorre a inserção de nutrientes no fermentador ao decorrer do cultivo, em que os produtos continuam até o término do processo. Nesse processo, a alteração de volume pode ou não acontecer, estando sujeito a concentração de substrato no meio de alimentação e do nível de evaporação do sistema (MATSUDO, 2006).
- Contínuo: tem como base uma alimentação contínua de meio de cultura a uma certa vazão constante, em que o volume da reação esteja constante por meio da remoção contínua do meio fermentado (SCHMIDELL et al, 2001).

O processo descontínuo é o que se tem mais segurança quando há problema de manutenção e condições de assepsia, pois ao término do processo de batelada presume-se que o reator precise ser esterilizado igualmente com um novo meio de cultura, recebendo um novo inóculo, podendo sofrer todos os controles necessários. Além da diminuição de riscos com contaminação, é um processo que mostra grande versatilidade de operação, em razão de poder utilizar os fermentadores para a produção de diferentes produtos, além da possibilidade de realizar fases contínuas no mesmo local e opção de controle mais próximo da estabilidade genética do microrganismo (CRUZ, 2015).

3.2.5 Etapas de recuperação do produto

Métodos envolvidos nos principais processos de recuperação do produto são: alguns tipos de filtração, centrifugação, extração, desidratação, entre outros (DAMASO & COURI, 2018).

O advento da filtração está no gradiente de pressão entre o lado interno do filtro e sua parte externa, de maneira que o permeado percorra pelos poros do elemento filtrante (ATALA, 2004). O líquido faz sua passagem pelos orifícios, enquanto o restante sólido é retido, devido ao tamanho de suas partículas em comparação a esses pequenos espaços. O objeto filtrante usualmente utilizado para esse procedimento é chamado de papel de filtro, geralmente vindo no formato circular. A escolha do meio filtrante é tomada de acordo com aspectos do caso em que se trabalha; vale citar: resistência química – não é permitida filtração em papel de soluções muito ácidas, pois o filtro de papel seria totalmente comprometido, assim como também o tamanho dos orifícios – o qual deve ser selecionado de acordo com o tamanho dos grãos do sólido que se tem interesse em filtrar (CONSTANTINO et al, 2004).

Em relação aos sistemas de filtração com papel de filtro em laboratório, são definidos como:

- Filtração por ação da gravidade: se baseia em um funil preso a uma haste fixa com um papel de filtro circular dobrado com formato de cone onde a amostra é vertida, com um béquer para recolher o produto filtrado;
- Filtração a vácuo: a diferença primordial em relação ao anterior, é que o funil é colocado junto a uma rolha de borracha que fica acoplada a um kitassato, que é conectado a uma bomba a vácuo que realiza a sucção. A filtração a vácuo, além de realizar uma filtração com mais rapidez, é recomendada quando a fase líquida da mistura tem viscosidade elevada (BASTO & AFONSO, 2015).

Já a centrifugação é um procedimento laboratorial em que se usa a pressão feita pela força centrífuga em tubo propício, baseado em duas câmeras separadas por elemento filtrante (CAMPOS & PERES, 2003). É uma técnica com uso específico para separar partículas em um meio heterogêneo de acordo com seu tamanho, densidade e formato das partículas, através de uma força centrífuga exercida resultante, superior a força gravitacional, que desloca as partículas radialmente em relação ao eixo da rotação. A separação de materiais biológicos dispersos na suspensão se processa, prioritariamente, na ordem de densidade dos mesmos. Os mais pesados são primeiramente sedimentados. Ou seja, se dirigem a parte mais ao fundo do tubo, enquanto as mais leves vão no sentido contrário, formando o sobrenadante (SOUZA, 2016).

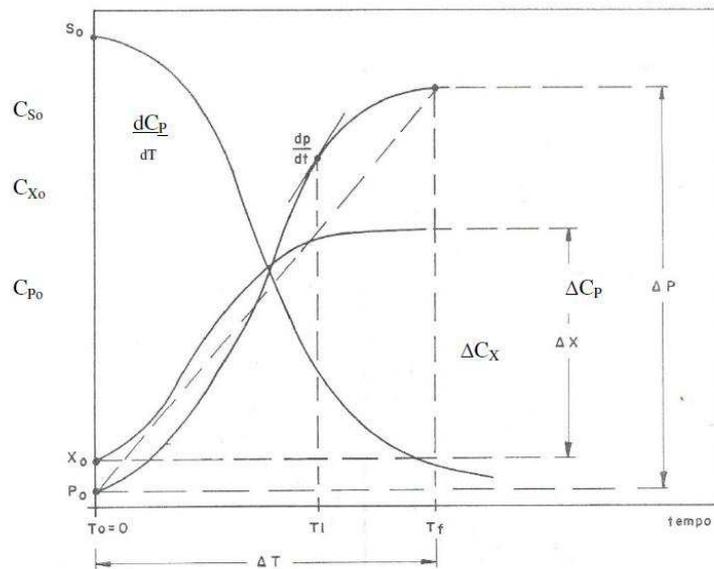
3.3 PARÂMETROS CINÉTICOS

A análise cinética de um processo fermentativo basicamente tem início no estudo da evolução dos valores de concentração de um ou vários componentes do sistema de cultivo, em razão do tempo de fermentação. São definidos como componentes, o microrganismo (ou biomassa), os produtos do metabolismo e os nutrientes ou substratos que fazem parte do meio de cultura (SCHMIDELL et al, 2001).

Em uma dada fermentação, acontecem muitas transformações simultâneas, onde células crescem, se desenvolvem e morrem, substâncias das mais variadas são consumidas pelos microrganismos e produtos resultantes do metabolismo são lançados no meio. Se tratando da fermentação alcoólica, os mais importantes fatores a serem estudados são as alternâncias das concentrações de células, de substrato e de concentração de etanol com o tempo. Algumas outras substâncias como o CO_2 ou outros nutrientes, podem ser estudadas em algum momento (DARÉ, 2008).

Levando em conta as variáveis de concentração de substrato (C_s), concentração de microrganismos (C_x) e concentração de produto (C_p) que está no meio em um instante t , a Figura 1 representa o comportamento de um processo fermentativo descontínuo, onde ocorre consumo de substrato com simultânea formação de produto e geração de células (DARÉ, 2008).

Figura 1 – Variação de C_s , C_x e C_p , com o tempo em um processo descontínuo



Em que:

S: substrato;

X: microrganismos;

P: produtos.

Tomando como base a Figura 1, é possível determinar as velocidades médias de transformações num período:

$$r_s = \frac{\Delta C_s}{dt} \quad (1)$$

$$r_p = \frac{\Delta C_p}{dt} \quad (2)$$

$$r_x = \frac{\Delta C_x}{dt} \quad (3)$$

A velocidade média de transmissão do processo ajuda no entendimento do fenômeno e na caracterização de equipamentos em questão, como tamanho do fermentador. Em alguns casos é de primordial interesse a medição de velocidades instantâneas no processo fermentativo, em que se utiliza as equações:

$$r_s = - \frac{dCs}{dt} \quad (4)$$

$$r_p = \frac{dCp}{dt} \quad (5)$$

$$r_x = \frac{dCx}{dt} \quad (6)$$

A cinética dos processos fermentativos pode ser classificada em função da formação do produto. Na fermentação alcoólica, a formação do produto está diretamente relacionada ao consumo do substrato (DARÉ, 2008). Ainda segundo o mesmo autor, o estudo cinético dos processos fermentativos requer o entendimento e o uso de parâmetros que facilitem a análise da produção de células e produção da substância desejada, como o etanol. Fazem parte desses parâmetros, a velocidade específica de crescimento celular (μ_x), a velocidade específica de consumo do substrato (μ_s) e a velocidade específica de formação de produto (μ_p):

$$\mu_x = \frac{Rx}{Cx} \quad (7)$$

$$\mu_s = \frac{Rs}{Cs} \quad (8)$$

$$\mu_p = \frac{Rp}{Cp} \quad (9)$$

O rendimento do produto ($Y_{p/s}$) e o fator de conversão de substrato em biomassa ($Y_{x/s}$) foram calculados por meio das equações a seguir:

$$Y_{p/s} = \frac{Pt - P0}{S0 - St} \quad (10)$$

$$Y_{x/s} = \frac{Xt - X0}{S0 - St} \quad (11)$$

Em que:

P_0 e P_t = concentrações (g/L) inicial e final do etanol;

X_t e X_0 = as concentrações (g/L) inicial e final de células, e

S_0 e S_t = as concentrações (g/L⁻¹) inicial e final de sacarose, respectivamente (FONTAN et al, 2011).

3.4 FERMENTADO E DESTILADO DE FRUTAS

Segundo o art. 44 do decreto n. 6871, de 4 de junho de 2009, do ministério da agricultura, Pecuária e do abastecimento (MAPA), que regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, a respeito de padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas, fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% em volume, a 20 graus Celsius, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura (FILHO & GASTONI, 2010).

Asquieri et al., (2008) realizaram um estudo das características físico-químicas e sensoriais de um fermentado de jaca, após um período de armazenamento do mesmo durante 11 meses, avaliando sua aceitação por meio de escala hedônica de nove pontos. Os resultados obtidos foram comparados aos estabelecidos pela legislação para vinhos de uva e apenas o teor de cloretos se mostrou acima do normal, os outros valores foram corroborados aos de outros fermentados de fruta. O fermentado de jaca apresentou resultados próximos aos estabelecidos para vinho de mesa do tipo meio-seco, atingido um grau alcoólico de 13°GL. A análise sensorial obteve um índice de aceitação de 78%, calculado pela porcentagem de notas superiores a 5, revelando uma boa aceitação por parte dos provadores.

Muniz et al., (2002) desenvolveram e caracterizaram bebidas fermentadas de pinha (*Annona squamosa L.*), seriguela (*Spondia purpúrea L.*) e mangaba (*Hancornia speciosa Gom.*) Utilizando leveduras comerciais. A partir das polpas dos frutos foram obtidos mostos com teores de sólidos solúveis de 16 °Brix. Foram utilizadas leveduras secas ativas, estirpe *S. cerevisiae var. bayanus* e fermentados entre 18 e 21°C. Foram monitorados pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis totais, açúcares totais e teor alcoólico, como também avaliação de características químicas, físico-químicas e sensoriais. Foram obtidos valores, quanto ao teor alcoólico, de 8,4°GL (ata), 9,8°GL (mangaba) e 10,0°GL (seriguela). Os resultados da análise sensorial demonstraram melhor desempenho da bebida fermentada de mangaba, tanto para a aceitação global quanto para a intenção de compra, sendo a mais indicada para a obtenção da bebida fermentada.

Paula et al., (2012) tiveram como objetivo realizar um fermentado de umbu. A polpa utilizada nos experimentos foi submetida a análises físico-químicas e microbiológicas. Nos estágios iniciais da produção da bebida, foi feita uma chaptalização com sacarose até se atingir um 20,5 ° Brix. A levedura usada foi a *Saccharomyces cerevisiae*. O teor alcoólico desse fermentado foi de 11,20°GL. Suas características físico-químicas estavam dentro dos parâmetros da legislação vigente.

Pereira et al., (2014) formularam um fermentado misto com polpas de açaí e cupuaçu, avaliando seus aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. O fermentado foi observado

diariamente avaliando-se a acidez total titulável, os sólidos solúveis totais (°Brix) e grau alcoólico (°GL) durante um período de 10 dias. Após o término, o produto alcançado foi submetido as análises físico-químicas e sensoriais. A respeito dos dados físico-químicos, os obtidos estavam dentro dos parâmetros da regulação vigente. Quanto aos parâmetros cinéticos, foi visto que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentou desempenho satisfatório no processo de fermentação alcoólica. A avaliação sensorial indicou que o produto foi bem aceito, além de um alto percentual de intenção de compra (96%).

Os vinhos ou fermentados de frutas são conhecidos por três classes de acordo com a quantidade açúcares residuais. Na primeira, fazem parte os vinhos do tipo seco, com até 5 g/L, a segunda entre 5 e 20 g/L são os considerados meio seco e a terceira é a classe dos vinhos suaves, com valor superior a 20 g/L (NETO et al, 2006).

O decreto n° 6.871, de 4 de junho de 2009, mais precisamente no artigo 57, dá a definição de aguardente de fruta como sendo a bebida com graduação alcoólica de 36 a 54% em volume, a 20°C, alcançada através do destilado alcoólico simples de fruta ou também da destilação do mosto fermentado de fruta. Nesse mesmo documento, também é dito que o processo de destilação deve ser feito de maneira a preservar o aroma e sabor dos elementos essenciais do mosto fermentado (BRASIL, 2009).

Aguardentes são bebidas acentuadamente alcoólicas, atingidas pela fermentação e posterior destilação de mostos açucarados, advindos do caldo e de macerados vegetais. Podem ser encontrados aguardentes das mais variadas frutas, como laranja, uva e banana, como também de cereais, a exemplo do arroz e cevada (SOUZA, 2014).

Asquieri et al. (2008) tiveram como objetivo produzir uma aguardente de jabuticaba a partir do subproduto da fabricação do fermentado de jabuticaba (casca e borra) e analisar suas características físico-químicas e uma comparação com os padrões de aguardente de fruta conhecidos perante a legislação brasileira. O teor alcoólico encontrado (39°GL) assim como densidade ($0,95 \text{ cm}^3 \cdot \text{G}^{-1}$) e acidez volátil ($30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) ficaram dentro dos parâmetros da legislação. O mesmo não se pôde dizer do teor de ésteres ($357 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$).

Matos (2015) produziu uma aguardente de banana a partir de sobras de produtores ou descartes em feira local. Utilizou-se leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus* previamente disponíveis na UFPR, assim como leveduras isoladas e identificadas de banana (*Pichia* sp. e *Hanseniaspora* sp.). Com essas leveduras foram produzidas 15 diferentes aguardentes, tendo como diferentes especificações produção de mosto com banana sem casca, outra fermentação apenas com a casca da banana, etc. Nas aguardentes de banana foram identificados álcoois como metanol, etanol, álcool-n-

propílico, entre outros. A aguardente de banana produzida com a casca da fruta e com levedura *Pichia* sp. mostrou uma maior quantidade de compostos aromáticos característicos da fruta.

Faria et al. (2014) buscaram desenvolver um destilado através do fermentado do suco natural da laranja, fazendo-se uso também da levedura *Saccharomyces cerevisiae* como agente fermentador. Avaliaram grau brix, teor de acidez, temperatura ideal, como também grau alcoólico. Apesar de nos primeiros testes o valor desse grau alcoólico não ser o desejado, pois ficou abaixo do que se considera aguardente, testes posteriores foram capazes de atingir um teor alcoólico de 44°GL.

3.5 DESTILAÇÃO

A fase de destilação se baseia em aquecer o fermentado para isolar e reunir o etanol e outros componentes voláteis oriundos da fermentação. A relevância dessa etapa dá-se ao isolamento dos elementos voláteis formados por água, metanol, álcool superiores, etanol, ésteres e outros dos elementos não voláteis ou fixos, sendo eles células de leveduras, minerais, parte de ácidos orgânicos e inorgânicos (CORREA, 2015).

O método da destilação baseia-se na desigualdade entre o ponto de ebulição da água (100°C) e o do álcool (78,4°C). Então, o ponto de ebulição de uma solução hidroalcoólica fica bem no meio entre o ponto da água quanto do álcool e vai tender cada vez mais este quanto maior for o nível alcoólico da solução (RIZZON & MENEGUZZO, 2008). Necessita ser realizada de maneira que o destilado contenha o aroma e o sabor dos elementos naturais voláteis presentes no mosto fermentado ou feitos durante a destilação (SILVA et al, 2017).

O aperfeiçoamento das condições da operação de destilação é de extrema importância no sucesso da bebida de boa qualidade, já que além de isolar, escolher e concentrar pela utilização do calor nos componentes do fermentado, ainda realizam algumas reações químicas causadas pelo calor. Dessa forma, a destilação pode expandir ou reduzir a concentração de elementos voláteis do fermentado e dar origem a novos elementos no destilado (SOUSA, 2015).

A destilação geralmente é realizada em colunas de destilação ou alambiques. A primeira é de grande uso principalmente no ramo industrial, entre os produtores de maior porte, operando de forma contínua. Já o último é de grande importância para os produtores de menor escala, trabalhando no modo descontínuo. O material mais comumente utilizado em alambiques é o cobre, pois possui boa condução térmica, é resistente a corrosão e influencia positivamente na qualidade da bebida (CORREA, 2015).

O método de operação é de extrema importância para o equipamento, de modo que o alambique possa ser conduzido de maneira a gerar produtos de qualidade acima da média, por meio de destilação lenta e do fracionamento ou corte do destilado. O fracionamento pode ser realizado com base em inúmeros fatores, como volume total da fração coletada, relacionado à concentração do álcool e particularidades sensoriais de cada fração. Essas frações são geralmente conhecidas como cabeça (graduação alcoólica de 78%), coração (57%) e cauda (27%) (SOUSA, 2015).

A cabeça é constituída por parte do destilado que sai inicialmente com uma graduação alcoólica de 75°GL a 70°GL, fazendo parte de 2% a 4% do volume completo do líquido da caldeira. O coração do destilado faz parte da fração que sai logo em seguida do alambique, com graduação alcoólica de 70°GL a 40°GL. Volumetricamente, representa 70% a 80% do destilado. É considerada a parte primordial do destilado, pois contém a maior quantidade de álcool etílico sem ter a presença (em grande parte) de impurezas ou componentes não alcoólicos. A cauda é constituída por elementos, na qual o ponto de ebulição é superior a 100°C, reunidos ao fim da destilação. Dos componentes presentes nessa faixa, o furfural e o lactato de etila são os mais conhecidos. Constitui entre 10% e 20% do volume completo do dest

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da UFCG, entres os meses de maio e julho de 2018.

4.1 MATÉRIA PRIMA

Para a realização do trabalho foram utilizados cerca de 8,0 kg de polpa de mangaba, obtidos em estabelecimento comercial residido na cidade Campina Grande/PB, tendo em vista a dificuldade em obter o fruto *in natura* durante o decorrer da pesquisa. O material foi conservado em congelador até o trabalho ter início.

4.2 MICRORGANISMO

O microrganismo utilizado no presente trabalho foi a levedura *Sacharomyces cerevisiae* – fermento biológico, responsável por metabolizar os açúcares anaerobicamente.

4.3 MOSTO: PREPARO E ALTERAÇÕES

4.3.1 Preparo do mosto

A polpa da fruta foi processada em um liquidificador doméstico (da marca Arno), com o uso de 500 mL de água mineral para cada kg de polpa, adquirindo-se o mosto. A preparação do mosto se deu em duas etapas. Inicialmente, foram utilizados 4 kg de polpa, para obtenção dos dados cinéticos. Posteriormente, procedeu-se da mesma forma com os 4 kg restantes. Na segunda fermentação não foi realizado o acompanhamento dos parâmetros, apenas foram reproduzidos todos os métodos utilizados na primeira fermentação.

4.3.2 Filtração e Aquecimento

Com o mosto obtido, foi feita uma filtração através de um filtro de pano, para impedir que partículas maiores estivessem presentes no meio reacional. Após devidamente filtrado, foram transferidos para dois béqueres de 5000 mL. Em seguida, foram aquecidos, em chapa aquecedora, Figura 2, até que ocorresse à fervura.

Figura 2 – Processo de aquecimento do mosto.



Fonte: Autoria própria, 2018.

4.3.3 Correção da quantidade de açúcar (Chaptalização)

A chaptalização é um processo no qual, para atingir o grau alcoólico desejado (na faixa de 17° ou 18° Brix), se faz necessária a adição de açúcar ao mosto para permitir a correção deste componente (RIZO et al, 2000). Foi realizada a análise dos sólidos solúveis totais de cada um dos béqueres contendo o mosto, através do refratômetro ABBE de bancada modelo Q767B da marca Quimis, sendo verificado teores iniciais de 5 e 6 °Brix, para a primeira e segunda fermentação, respectivamente. Após isso, foi realizada a chaptalização, havendo o acréscimo de açúcar cristal no mosto, alcançando-se um teor de sólidos solúveis totais de 17° Brix.

4.3.4 Correção do pH

Por meio da utilização do pHmetro digital PH 2600 da marca Instrutherm, foi realizada a visualização do pH do mosto de mangaba já chaptalizado, sendo registrado pH igual a 3,43 no béquer 1 e 3,47 no béquer 2. Fazendo-se uso da solução de hidróxido de sódio, (NaOH) a 0,2M, para haver a regulação do pH do mosto, atingiu-se o valor de pH 6,35 (inserção de 150 mL de NaOH) no béquer 1 e o valor de 5,86 (inserção de 130 mL de NaOH) no béquer 2.

4.3.5 Autoclavagem

O volume de 5L (obtido mediante os 4 kg de polpa com o acréscimo de 2 L de água) do mosto foi autoclavado à 121°C e 1 atm, por 15 minutos, em Erlenmeyers. Após o resfriamento, notou-se que o mosto estava muito espesso, impedindo de utilizá-lo prontamente na

fermentação. Com isso, foi preciso novamente filtrar em filtro de pano todo o mosto, de modo a deixá-lo em condições ideais para fermentação. Em seguida, realizou-se novamente a autoclavagem em condições similares à aplicada anteriormente. Após o resfriamento, foi possível dar início à fermentação.

4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E DESTILAÇÃO

4.4.1 Processo descontínuo simples

Para a condução desse processo, foi utilizado como reator uma garrafa PET, com capacidade de 10 L, Figura 3.

Figura 3 – Reator utilizado no processo fermentativo sem agitação.



Fonte: RAMOS, 2018

O inóculo foi feito em uma câmara de fluxo laminar, adicionando um volume de 5 L do mosto com 27 g da levedura ($5,4 \text{ g.L}^{-1}$).

Acoplada ao reator, estava uma mangueira ligada a uma pisseta, contendo água com solvente, advindo das corridas realizadas do HPLC, de modo que o processo fosse realizado em anaerobiose e com a liberação de gás carbônico (CO_2).

O mosto permaneceu no reator por 7 dias, em temperatura ambiente. Durante este período foram determinadas as concentrações de células e de sólidos solúveis totais, em °Brix, e o pH, sendo realizadas as análises, após a coleta de alíquotas de 10 mL do mosto, por meio de uma torneira fixada no reator. Inicialmente, as amostras foram coletadas a cada 2 horas, durante 24 horas. Posteriormente, foram retiradas amostras de 10 mL do mosto, diariamente.

4.4.2 Centrifugação

Após o término do processo fermentativo, foi aplicada a centrifugação ao fermentado, com o uso da centrífuga da marca Logen Scintific. O processo foi realizado com objetivo de atingir um produto livre de impurezas, promovendo a sedimentação das partículas mais espessas, como as leveduras restantes no mosto fermentado. Logo após o processo, o fermentado foi armazenado em garrafas PET de 1,5 L, e colocadas em geladeira.

4.4.3 Destilação

A destilação foi realizada com o auxílio de um destilador artesanal, formado por: sistema de aquecimento, com uma chapa da marca Logen, uma panela de pressão com capacidade para 4,5L, um balde de resfriamento com uma mangueira conectada a torneira e uma serpentina de condensação feita com tubo de cobre, um Becker, para a coleta do destilado, e um densímetro alcoômetro (Alcoolômetro Gay-Lussac-Incoterm) para determinação do teor alcoólico.

No início do processo, o fermentado com um volume de 3L passou por uma primeira destilação, obtendo-se um volume de 1,1L de destilado. Na segunda destilação do volume de 1,1L, foi separado nas frações de cabeça, coração e cauda. Foram coletados os 10% iniciais, referentes a cabeça, correspondente a 55mL. A fração coração foi obtida de acordo com o teor alcoólico desejado do destilado, sendo essa correspondente a 41%, com um volume final de 800mL. O restante, a cauda, foi descartado.

4.5 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS DO PROCESSO FERMENTATIVO

Para a obtenção dos parâmetros cinéticos do processo fermentativo, amostras de 10mL foram retiradas do reator em intervalos de tempo definidos. Foram retiradas 12 amostras em um intervalo a cada 2 horas nas primeiras 24 horas de fermentação, e logo após, havendo coleta uma vez por dia, até o fim do processo.

4.5.1 Crescimento celular

A concentração de células foi determinada a partir da filtração a vácuo das amostras em papel em filtro, sendo os papéis previamente submetidos a secagem em estufa a 50°C por 24 horas para determinação da sua massa, (M_1). O papel filtro contendo as células retiradas também passou por um processo de secagem em estufa a 55° por 24 horas. Após a secagem, com o auxílio de uma balança analítica foi possível determinar a massa do conjunto (papel + células), (M_2). Os cálculos para obter a massa celular em gramas por litro para cada amostra filtrada foram realizados através da Equação 12, utilizada por Neves (2003).

$$X(g.L^{-1}) = (M_2 - M_1) \times 100 \quad (12)$$

4.5.2 Consumo do substrato

Para determinação do teor de sólidos solúveis totais (TSS) expressos em °Brix, foi utilizado o refratômetro de bancada (Abbe EEQ90006B), previamente calibrado. A partir do resultado obtido, foi calculada a concentração de sacarose do mosto expressa em $g.L^{-1}$ com base na Equação 13 abaixo utilizada por Fontan et al, (2011).

$$sacarose (g.L^{-1}) \equiv 10,13 \times TSS + 1,445 \quad (13)$$

Como o teor inicial de sólidos solúveis totais das amostras foi reduzido, e mesmo supondo que no meio há a presença de outros açúcares, como glicose e frutose, considerou-se a sacarose como substrato principal. Essa consideração é realizada quando não é possível quantificar os outros açúcares e pelo fato da sacarose se encontrar em maior concentração no mosto, devido a adição de grande quantidade deste açúcar na etapa de chaptalização.

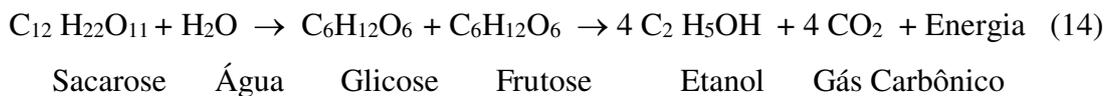
4.5.3 Produção de etanol

A determinação do teor de etanol do fermentado foi realizada utilizando-se dados coletados com o refratômetro, que mede o °Brix. A partir desta medida foi estimada a concentração de álcool etílico por meio da conversão do valor em °Brix, apresentado pelo refratômetro, para %ABV (mL de álcool por 100 mL de solução), utilizando-se a ferramenta disponível em <<http://onebeer.net/refractometer.shtml>>

O cálculo se baseia nas relações entre a quantidade de sólidos solúveis, presentes no início (17 °brix) e ao término do processo de fermentação (6 °brix), e a densidade do meio. Para um menor teor de sólidos solúveis, a solução apresenta uma menor densidade, o que indica um maior teor de etanol.

4.6 ESTEQUIOMETRIA DA REAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO, DA PRODUTIVIDADE E DOS PARÂMETROS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A fermentação alcoólica pode ser representada pela equação química abaixo:



A partir da estequiometria da reação, e conhecendo-se a densidade do etanol, é possível determinar a concentração de etanol máxima teórica (Q_t). Com os dados coletados durante o processo, pode-se determinar a concentração de etanol experimental (Q_e). Os resultados, expressos em ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), foram encontrados por meio da utilização das Equações 14 e 15

$$Q_t = \text{sacarose} \frac{\text{g de sacarose}}{\text{L de mosto}} \times 0,682 \frac{\text{mL de etanol}}{\text{g de sacarose}} \times 0,789 \frac{\text{g de etanol}}{\text{mL de etanol}} \quad (15)$$

$$Q_e = \text{etanol} \frac{\text{mL de etanol}}{100 \text{ mL de mosto}} \times 0,789 \frac{\text{g de etanol}}{\text{mL de etanol}} \times \frac{1000 \text{ mL de mosto}}{1 \text{ L de mosto}} \quad (16)$$

Para determinar o rendimento (R) e a produtividade (P) foram utilizadas as equações 16 e 17, respectivamente. O rendimento é expresso em (%) e a produtividade em ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

$$R = \frac{Q_e}{Q_t} \times 100 \quad (17)$$

$$P = \frac{Q_e}{t} \quad (18)$$

Q_e = concentração (g.L⁻¹) de etanol experimental,

Q_t = concentração (g.L⁻¹) de etanol máxima teórica (estequiométrica), e

t = tempo de fermentação (h).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os processos fermentativos utilizando a polpa de mangaba como substrato foram realizados em um reator operando em batelada, sem agitação. O fermentado obtido durante a

primeira fermentação apresentou uma boa recuperação do produto, e apresentou uma tonalidade mais escura. Já na segunda fermentação, realizada para produzir mais fermentado para realização do destilado, apresentou cor mais clara e elevada turbidez, com significativa diminuição volumétrica devido ao aumento da massa celular.

Essa redução no volume do fermentado obtido na segunda fermentação, bem como uma maior turbidez, podem ter relação com uma possível entrada de oxigênio no reator. A fermentação alcoólica é impedida na presença de elevadas concentrações de oxigênio, processo conhecido como “Efeito Pauster” (GUIDINI, 2013). Na fase anaeróbia do metabolismo das leveduras, é que ocorre predominantemente a fermentação do açúcar em etanol e gás carbônico. Contudo, uma maior presença de oxigênio é fator primordial para a predominância do metabolismo respiratório, o que permite a maximização da reprodução das células e minimização da formação de etanol (MENDES et al., 2013)

Figura 4 – Fermentado obtido da primeira (centro e direita) e segunda (esquerda) fermentação.



Fonte: Autoria própria, 2018.

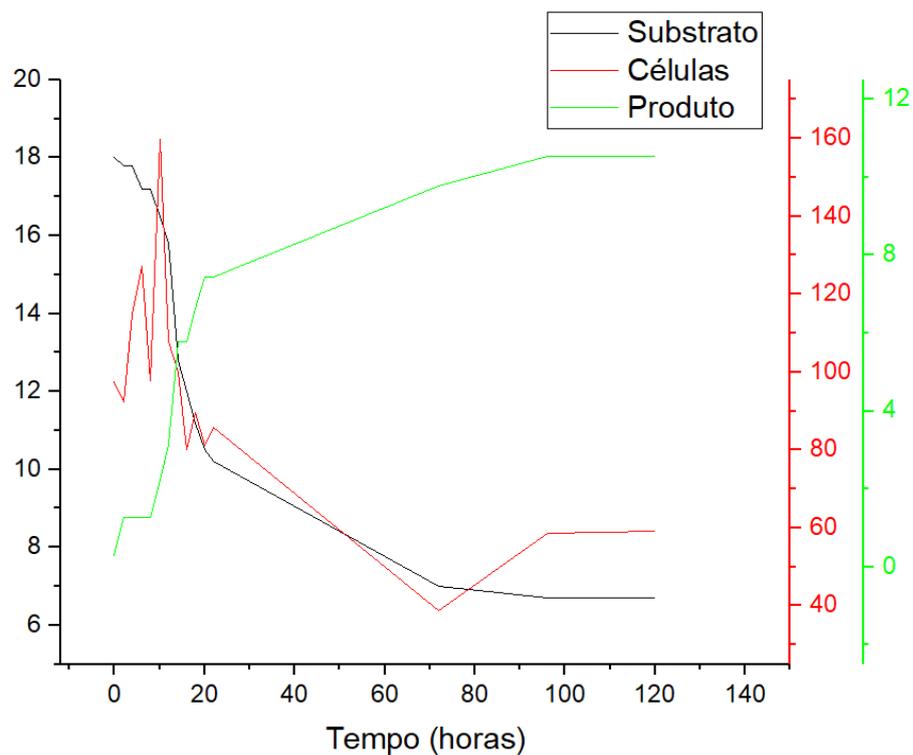
O estudo cinético de um processo de biotransformação é fundamental, porque permite a aquisição de conhecimento básico do processo. A cinética de biotransformação está associada à velocidade de consumo de substrato e de surgimento de produto e mais especificamente se tratando de processos fermentativos utilizando leveduras, também com a velocidade de

crescimento celular e o efeito que essas sofrem por interferência das condições do meio em processo (FERRARI, 2013).

5.1 CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO EM BATELADA SEM AGITAÇÃO

No Gráfico 1 é possível observar o comportamento do crescimento celular (g/L), do consumo de substrato (°Brix) e da produção de etanol (%ABV) em função do tempo da fermentação, para o processo em batelada.

Gráfico 1- Perfil cinético da produção do fermentado em função do tempo no processo de fermentação alcoólica realizado no reator sem agitação.



Fonte: Dados da pesquisa

Nas primeiras horas da fermentação, houve pouco crescimento celular e este aconteceu de forma irregular, com isso, é possível considerar que até oitava hora houve a adaptação do microrganismo ao meio, variando a concentração celular durante esse período de 97,38 g/L a 97,73 g/L. Entre 8 e 18 horas, ocorreu um grande aumento na concentração, sendo este período caracterizado como a fase exponencial de crescimento, com a concentração celular decaindo durante esse período de 97,38 g/L a 89,47 g/L. A glicose se metaboliza junto a etanol, quando

as células se mostram com uma enorme velocidade, com um tempo de geração entre 1 e 7 horas (MULLER et al, 2007).

Após esse período, houve uma redução acentuada da massa celular e isso pode ser atribuído a taxa de morte celular. Houve redução de concentração celular de 89,47 g/L a 38,83. Nessa fase, há mais células mortas no meio do que células ativas. Essa fase se perpetua até que a população seja reduzida a uma pequena fração de células da fase anterior, ou até mesmo que desapareça completamente (SCHIMDELL et al, 2001). Entre 70 e 75 horas, a concentração celular sofreu um aumento. Brito (2015) afirma que esse pequeno crescimento pode ter ocorrido devido ao consumo de algumas frações de células em fase de morte celular, por células vivas ainda presentes no mosto, sendo assim utilizadas para multiplicação.

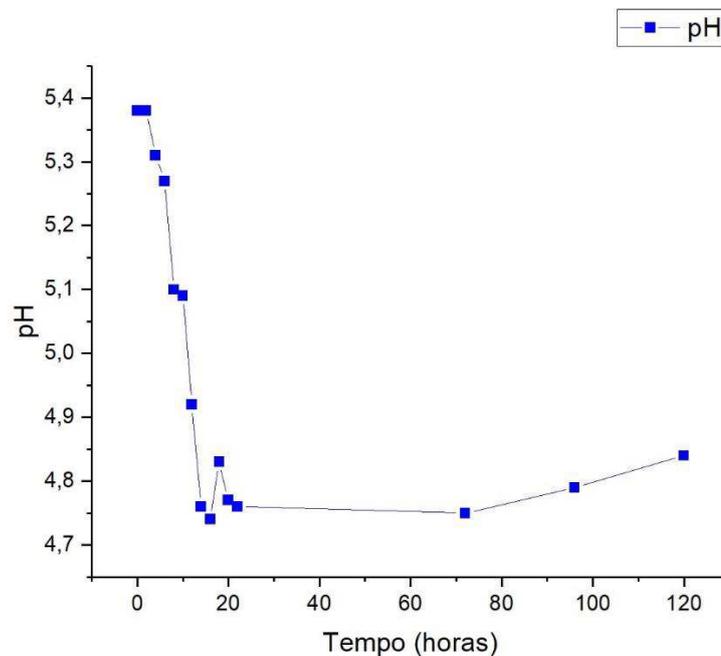
É perceptível e compreensível a queda acentuada da concentração de substrato. Com a ação dos microrganismos inoculados no meio, ocorre a conversão desse substrato em etanol e também em dióxido de carbono. Apesar de uma certa variação nas primeiras horas da fermentação, o teor de sólidos solúveis expresso em °Brix apresentou um decréscimo mais acentuado a partir das 10 horas do processo, permanecendo este comportamento durante o restante da fermentação. Isso fez com que houvesse um considerável desprendimento de gás carbônico no sistema, levando a uma maior formação de produto. O processo fermentativo foi finalizado quando o mosto manteve um valor de grau °Brix constante de 6,7 após um período de 120 horas (7 dias) de fermentação.

O teor alcoólico se manteve constante por um breve período de tempo no início da fermentação, havendo um leve decréscimo logo depois. A partir das 10 horas de fermentação, o etanol começou a ser produzido, tendo um acréscimo significativo até o valor ficar estável em 10,54 % ABV, próximo das 100 horas de fermentação.

5.2 ANÁLISE DO pH DO PROCESSO FERMENTATIVO

O pH considerado ideal em uma fermentação deve se encontrar próximo de 4,5 (BARBOSA et al, 2017). Já o pH ideal para a produção de etanol deve estar entre os valores de 4,5 e 5,0 (ARRUDA et al, 2007). No Gráfico 2 são apresentados os valores de pH, por tempo de fermentação, para o processo fermentativo em batelada sem agitação.

Gráfico 2 – Comportamento do pH durante o processo fermentativo do mosto de mangaba realizado em batelada sem agitação.



Fonte: construído com os dados da pesquisa.

Pela análise do gráfico 2, é observado um decréscimo considerável do valor do pH. A partir da vigésima hora de fermentação, o pH se mantém constante, porém, não por todo o processo. Depois de 70 horas de fermentação, o pH aumentou um pouco e terminou o processo com valor final de 4,84, um pouco acima do valor ideal em fermentação, mas com valor na faixa satisfatória para produção de etanol. Esse valor foi superior aos valores obtidos em outros trabalhos similares. MUNIZ et al., (2002) encontraram, por exemplo, pH final em mosto de mangaba no valor de 3,08. PAULA et al., (2012) encontraram pH final de 3,10 em fermentado de umbu.

5.3 PARÂMETROS CINÉTICOS DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS

Nas tabelas a seguir, são apresentados os dados obtidos referentes a concentração de etanol experimental (Q_e), concentração de etanol máxima teórica (Q_t), rendimento, produtividade e fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) para o reator e as condições utilizadas nesse processo fermentativo.

Tabela 1- Valores de concentração teórica e experimental de etanol, expressas em g/L para o reator.

Concentração de etanol experimental (Q_e) - (g/L)	Concentração de etanol máxima teórica (Q_t) - (g/L)
83,16	98,89

Fonte: Construída com dados da pesquisa

Tabela 2-Parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica

Rendimento (%)	Produtividade (g/L.h)	$Y_{P/S}$
84,01	0,866	0,70

Fonte: Construída com dados da pesquisa.

O valor de rendimento do processo obtido foi de 84,01%, o que, baseado em resultados obtidos por outros autores, pode ser considerado um bom rendimento, tendo em vista que isso indica que mais de 80% da sacarose disponível foi transformada em álcool etílico. Já a produtividade alcançada foi de 0,866 g/L.h, e esse valor pode ser considerado baixo, e indica que houve a necessidade de um tempo maior para atingir a produção desejada. Quanto maior for esse tempo, a produtividade tende a diminuir.

SOARES et al, (2014) ao estudarem o uso de *Hanseniaspora* sp no fermentado do suco de melão, encontraram valores de rendimento igual a 90,54% e produtividade de 7,563 g/L.h., sendo estes valores maiores que os encontrados neste trabalho. OLIVEIRA et al, (2014) ao desenvolverem bebidas fermentadas de seriguela e cupuaçu, encontraram valores de rendimento um pouco menores que os apresentados na fermentação do mosto de mangaba, em estudo, sendo de 54% (cupuaçu) e 68% (seriguela) e produtividades semelhantes as encontradas nessa pesquisa, com valores de 0,59 g/L.h (cupuaçu) e 0,68 g/L.h (seriguela).

O rendimento em produto ($Y_{P/S}$) do processo fermentativo utilizando polpa de mangaba foi de 0,70. Esse resultado pode ser compreendido por uma série de fatores que influenciam o processo, como a inibição dos microrganismos devido ao alto teor de etanol no fim do processo, por exemplo. Outros fatores de extrema importância são a produção de níveis consideráveis de álcoois superiores, acetaldeídos e ésteres, como também crescimento significativo de leveduras, que absorvem grande maioria da sacarose presente no mosto.

Soares et al, (2014) obtiveram um valor um pouco abaixo quando realizaram o fermentado do suco de melão, sendo este ($Y_{P/S}$) de 0,46. Fontan et al, (2011) ao produzirem um

fermentado alcoólico de melancia, obtiveram um valor de 0,65, resultado bem próximo ao valor encontrado no presente trabalho.

Essas variações apresentadas nos valores dos parâmetros cinéticos podem ser explicadas por diversos fatores, dentre eles o tipo de levedura utilizada no processo, modo de operação do reator, temperatura, tempo de operação, substrato utilizado e outros (ALMEIDA et al., 2006).

5.4 DESTILADO

Ao final do processo fermentativo, o produto final foi somado com o obtido da segunda fermentação, cujo intuito era justamente acrescentar em volume o produto final para que pudesse ser realizada propriamente a destilação do fermentado de mangaba. Na primeira destilação, a aguardente obtida estava consideravelmente turbida, sendo necessário que houvesse uma nova destilação, mais conhecida como bidestilação. A bidestilação é um processo que consiste em promover duas destilações em sequência, podendo ser efetuadas no mesmo alambique. Com essa técnica, é possível a obtenção de uma bebida mais padronizada com qualidade diferenciada das aguardentes feitas com apenas uma destilação (MORO, 2016).

Ao fim da bidestilação, com as partes de cabeça, coração e calda devidamente separadas, foi obtido um volume de 800 mL de destilado com graduação alcoólica de 41% (v/v) e cor transparente, Figura 5.

Figura 5 – Aguardente de mangaba com graduação alcoólica de 41% (v/v), obtida no processo de bidestilação.



Fonte: Autoria própria, 2018

Os valores obtidos mostram que o teor alcoólico desta aguardente está dentro da faixa ideal requerida pela legislação brasileira de bebidas (BRASIL, 2009). Valores próximos foram encontrados também em trabalhos semelhantes desenvolvidos por outros autores. Moro, (2016) produziu aguardentes de banana e abacaxi e obteve, respectivamente, os teores alcoólicos de 42% (v/v) e 40,4% (v/v). Matos (2015) produziu uma aguardente também de banana, mas com um grau alcoólico de 36°GL. Asquieri et al, (2009) produziram uma aguardente de jabuticaba através da casca e da borra do fermentado de jabuticaba, com um teor alcoólico de 39°GL. Estes resultados mostram que a aplicação dos processos de fermentação e de destilação podem ser utilizados para evitar o desperdício de frutos, que muitas vezes não tem o descarte adequado, além da possibilidade de obtenção de produtos com valor agregado.

6 CONCLUSÃO

Ao fim do processo, foi visto que o teor alcoólico do fermentado de mangaba foi de 10,54%ABV. Em relação ao seu rendimento e produtividade, foi verificado que o primeiro, com valor de 84,01%, atingiu um rendimento satisfatório. Já o segundo, no valor de 0,866 g/L.h, pode ser considerado baixo, já que se faz necessário um tempo maior para atingir a produção desejada.

A bidestilação do fermentado de mangaba tornou possível a produção da aguardente de mangaba com graduação alcoólica de 41% (v/v), sendo este valor considerado dentro dos limites desejados pela legislação vigente.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.M.; TAVARES, D.P.S.A.; ROCHA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.C.; SILVA, F.L.H.; MOTA, J.C. Cinética da produção do fermentado do fruto do mandacaru. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 35-42, 2006.

ALVARENGA, V. O. **Engenharia Bioquímica** . 2009. 45 p. Artigo (Apostila de Engenharia Bioquímica)- Universidade Católica de Goiás, Goiânia - GO, 2009. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/doc/125558506/Apostila-Eng-Bioquimica>>. Acesso em: 08 jul. 2018.

ARRUDA, A.R; CASIMIRO, A. R.S; GARRUTI, D. S; ABREU, F. A. P. **Caracterização físico-química e avaliação sensorial de bebida fermentada alcoólica de banana**. Revista ciência agrônômica, Ceará, v. 38, n. 4 , p. 377-384, 2007.

ATALA, D. I. P. **Montagem, Instrumentação, Controle e Desenvolvimento Experimental de um Processo Fermentativo Extrativo de Produção de Etanol** . 2004. 152 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2004.

BARBOSA, P. S. *et al.* Análise e Quantificação do Teor Alcoólico do Fermentado Artesanal de Jabuticaba. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente** , Ariquemes - RO, p. 16-32, jan. 2017.

BARROS, E. M. **Isolamento e Identificação de Uma Levedura Obtida do Suco de Caju Para a produção de Etanol** . 2013. 54 p. Monografia (Bacharel em Engenharia Química)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BASTOS, A. R.; AFONSO, J. C. Separação sólido-líquido: centrífugas e papéis de filtro. *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 5, 749-756, 2015 2015.

CANCELIER, A. *et al.* **Influência de parâmetros de processo na obtenção de bebida fermento-destilada de uva-japão (*Hovenia dulcis Thunberg*)**. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 16, n. 1, p. 59-67, 2013. DOI: 10.1590/S1981-67232013005000003.

CARNELOSSI, M. A. G. *et al.* **Conservação pós-colheita de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. *Ciência e Agrotecnologia*, v.28, p.1119-1125, 2004.

CASTANHEIRA, D. D. **Estudos sobre a produção de etanol em células de *Saccharomyces cerevisiae* com maior atividade da enzima H⁺ - ATPase de membrana citoplasmática** . 2013. 70 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)- Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto (MG), 2013.

CORRÊA, A. C. **Qualidade da bebida destilada a partir a do mosto combinado de malte de cevada e caldo de cana-de-açúcar** . 2015. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2015.

CRUZ, M. L. **Avaliação das Condições de Processo na Resistência da Levedura ao Teor Final de Etanol na Fermentação Alcoólica** . 2015. 85 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2015.

DARÉ, R. M. **Avaliação De Coeficientes de Rendimento e Modelagem do Processo Fermentativo de Produção de Metanol** . 2008. 67 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2008.

PAULA, Breno de et al. **Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu**. *Cienc. Rural* [online]. 2012, vol.42, n.9, pp.1688-1693. ISSN 0103-8478. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000900027>.

FARIA, B.V.R.; FÉLIX, L.G.S.; PEREIRA, A.F.C.; PEREIRA, L.P.; SOUZA, M.; SILVA, W.C.R.; WALTER, M.E.; "ESTUDO DA VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE AGUARDENTE A PARTIR DO SUCO DE LARANJA", p. 607-612 . In: . São Paulo: Blucher, 2014. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/chemeng-cobec-ic-07-eb-114

FERRARI, F. C. S. **Fatores Operacionais e Cinética do Processo Fermentativo Para Otimização da Produção de Etanol em Escala Industrial** . 2013. 74 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária)- Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2013, 2013.

GONÇALVES, L.G.V.; ANDRADE, F.R.; MARIMON Junior, B.H.; schossler, T.R.; LENZA, E. e MARIMON, B.S. (2013) - **Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil**. *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 36, n. 1, p. 31–40.

GUIDINI, C. Z. **Fermentação Alcoólica em Batelada Alimentada Empregando *Saccharomyces cerevisiae*** . 2013. 127 p. Dissertação (Doutora em Engenharia Química)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2013.

IMA, U. A., BASSO, L. C., AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Coord.). *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*, v.3, capítulo 1, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001

LÉDO, Ana da Silva et al. **Coleção Plantar** : A Cultura da Mangaba. 1º. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2015. 84 p.

Letícia de Paula Silva Oliveira; DANILO CESAR de LUNA ALVES CAMPELO; IRANILDO CRUZ FILHO; Olga Martins Marques et al. Desenvolvimento de Bebidas Fermentadas *de seriguela e cupuaçu: estudo* cinético, análises cromatográfica e sensorial. In: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, . **Resumos... Campinas, GALOÁ, 2018. Disponível em: <<https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2014/papers/desenvolvimento-de-bebidas-fermentadas-de-seriguela-e-cupuacu%3A-estudo-cinetico%2C-analises-cromatografica-e-sensorial?lang=pt-br>>. Acesso em: 04 ago. 2018.**

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A. *Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 68.p.

M.G. Constantino, Fundamentos de Química Experimental. São Paulo: EDUSP, (2003).

MATOS, M. E. **Produção de Aguardente de Banana por leveduras Isoladas e Selecionadas Para Síntese de Compostos Voláteis Característicos do Aroma Natural de Banana** . 2015. 160 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MATSUDO, M. C. Cultivo de *Spirulina platensis* por processo descontínuo alimentado repetitivo utilizando uréia como fonte de nitrogênio. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. São Paulo, 2006.

MORO, K. I. B. **Desenvolvimento e Caracterização de Aguardente de Frutas a Base de Banana (*Musa sp.*) e de Suco de Abacaxi (*Ananas comusus (L) MERRIL*)** . 2016. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, 2016.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P.; NASSU, R. T.; FREITAS, C. A. S. **Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA), Curitiba (PR), v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.

MULLER J. L, POTTI K. L, MACHADO M. S, LACERDA L. V, BRESOLIN T. M. B, Podlech PS. Comparison of *Saccharomyces boulardii* growth in an air-lift fermentor and in a shaker. Food Sci. Technol.

NEVES, L. C. M. **Obtenção da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase utilizando *Saccharomyces cerevisiae* W303-181**. São Paulo, 2003. 284p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

NUNES, T. P.; JÚNIOR, A. M. O. Avaliação de mangaba liofilizada através de parâmetros físico-químicos. Scientia Plena, v.8, p.1-5, 2012.

OLIVEIRA, L. A.; LORDELO, F. S.; TAVARES, J. T. Q.; CAZETTA, M. L. **Elaboração de bebida fermentada utilizando calda residual da desidratação osmótica de abacaxi**. Rev. Bras. Tecnol. Agroind., v 06, p. 702–712, 2012.

PACHECO, T. F. **Fermentação Alcoólica com Leveduras de Características Flocculantes em Reator Tipo Torre com Escoamento Ascendente** . 2010. 94 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

PASCHOALINI, G.; ALCARDE, V. E. Estudo do processo fermentativo de usina sucroalcooleira e proposta para sua otimização. Revista de Ciência e Tecnologia, v. 16, n. 32, p. 59- 68, 2009.

PAULA, BRENO DE. **PRODUÇÃO DE FERMENTADO DE UMBU (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.)**. 2011.87F. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2011.

PEREIRA, S. *et al.* (2014). Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 8(1), 1216– 1226.

PEREIRA, A. V. et al. *Hancornia speciosa*: Mangaba. In: VIEIRA, Roberto Fontes; CAMILO, Julcéia; CORADIN, Lidio. **Espécies Nativas da Flora Brasileira** . Brasília: [s.n.], 2016. cap. 5, p. 237-246.

PÉREZ, D. V.; CAMPOS, R. C. (Org.). **Solução do Solo** : Importância e extração por centrifugação. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2003. 36 p.

PINTO, L. I. F.; ARAÚJO, M. M. N.; AMARAL, N. M.; MELO, S. C. P.; ZAMBELLI, R. A.; PONTES, D. F.; "DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA OBTIDA A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS", p. 3984-3990. In: **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]**. São Paulo: Blucher, 2015. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/chemeng-cobeq2014-0795-23768-145007.

PAULA *et al.* (2016). Caracterização morfológica do fruto, semente, fases da germinação e plântula de *Ocotea paranaensis*. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 15. 103-108. 10.5965/223811711522016103.

ASQUIERI, E. R; RABELO, A. M. S; SILVA, A. G. M. Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 881-887, Dec. 2008. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612008000400018&lng=en&nrm=iso>. access on 03 Aug. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000400018>.

ASQUIERI, E. R; SILVA, A. G. M; CANDIDO, M. A. Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 896-904, Dec. 2009. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612009000400030&lng=en&nrm=iso>. access on 03 Aug. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000400030>.

RAMOS, B. F. **Avaliação Cinética da Fermentação do Mosto de Seriguela (Spondias purpurea) em reatores batelada, com e sem agitação, para posterior destilação** . 2018. 56 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Biotecnologia e Bioprocessos)- Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2018.

RIZZON, L. A; MENEGUZZO, J; ABARZUA, C. E. *Elaboração de Vinho Espumante na Propriedade Vitícola*. embrapa, Bento Gonçalves-RS, 2000.

RUBIO, F. T. V. **Biossorção de Compostos Fenólicos De Bagaços de Uva em Saccharomyces cerevisiae: Mecanismos do Processo e Bioacessibilidade** . 2017. 89 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2017.

Santos, J. T. S. *et al.* Avaliação de mangaba liofilizada através de parâmetros físico-químicos. *Scientia Plena*, v.8, p.1-5, 2012.

SCHMIDELL, W., LIMA, U.A., AQUARONE, E., BORZANI, W. *Biotecnologia Industrial*, Volume 2, Engenharia Bioquímica, 1a ed., São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda., 2001, 541 p. il.

SERRA, L. A. et al. Seleção de Linhagens Industriais de *Saccharomyces cerevisiae* para Produção de Ácidos Orgânicos. **III Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia**, Brasília, p. 14-20, jun. 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/149554/1/AnaisIIIEnPI2016.pdf#page=16>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

SILVEIRA, J.C. et al. **Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais**. Enciclopédia Biosfera, v.8, n.15, p.2038-2052, 2012.

SIQUEIRA, A. P. S. **Desenvolvimento fisiológico e avaliação pós-colheita de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2017. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

SILVA, Flávio Santos. **Elaboração de Geleia com Mix de Polpa de Cagaita (*Eugenia dysenterica*) e Mangaba (*Hancornia speciosa*) e avaliação dos parâmetros de qualidade**. . 2017. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Tocantis, [S.l.], 2017.

SILVA, S. M. C. **Caracterização agrônômica de variedades botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado**. 2013. 170 p. Dissertação (Doutorado em Agronomia)- Universidade federal de Goiás, Goiânia - GO, 2013.

SILVA, A. V. C. Época e ponto de colheita. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2018. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/mangaba/arvore/CONT000g307k9os02wx5ok0r2ma0nknv8qzc.html>>. Acesso em: 10 de julho. 2018

SILVA, L. S. J.; FARIA, J. B.; BOLINI, H. M. A. **Avaliação Sensorial de "Cachaça" envelhecida em tonel de carvalho (*Quercus* sp.) Irradiado**. *Joaçaba*, São Paulo, p. 87-104, jul. 2017.

SILVA, M. B.; OLIVEIRA, D. S. Modelagem e Simulação da Produção de Etanol via Fermentação Alcoólica da Glicose. **Unoesc & Ciência- ACET**, Santa Catarina, p. 119-128, dez. 2017.

SOARES, M. V. L. O. et al. Utilização de *Hanseniaspora* sp. no suco de Melão na Fermentação Alcoólica. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis/SC. **Congresso Brasileiro de Engenharia Química ...** Florianópolis: [s.n.], 2014. p. 1-7.

SOUZA, A. B. **Influência da Centrifugação na Recuperação do Ácido Hialurônico a Partir do Caldo Fermentado**. 2016. 73 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

SOUZA, I. A. **Produção de Aguardente de Mandioca Utilizando o Fungo *Aspergillus oryzae* para liquefação e sacarificação de amido**. 2014. 45 p. Monografia (Obtenção de grau de Farmacêutico)- Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

SOUZA, J. C. **Determinação Íons cobre (II) em aguardente de cana-de-açúcar utilizando a combinação spot test - espectroscopia de reflectância difusa** . 2015. 118 p. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2015.

VIEIRA, C. R. *Dossiê Técnico: Produção de fermentados a partir de frutas*, jan. 2012. Disponível em: <<http://sbrt.ibicit.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTY3OQ>>. Acesso em: 30 de maio de 2018.