



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**JULIANE ALMEIDA VEIGA**

**ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA SEIVA  
DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis* Jacq.) PARA  
FINS ALIMENTÍCIOS**

BELÉM – PA

2018

**JULIANE ALMEIDA VEIGA**

**ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA SEIVA  
DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis* Jacq.) PARA  
FINS ALIMENTÍCIOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**ORIENTADOR:** Profa. Dra. Nadia Cristina Fernandes Corrêa

**BELÉM - PA**

**2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo  
(a) autor(a)

---

- V426e Veiga, Juliane Almeida.  
ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA  
SEIVA DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis  
guineensis* Jacq.) PARA FINS ALIMENTÍCIOS / Juliane  
Almeida Veiga. — 2018.  
64 f.: il. color.  
Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Nadia Cristina Fernandes  
Corrêa  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,  
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2018.
1. Aproveitamento de resíduos. 2. Óleo de Palma.
  3. Bebidas Alcoólicas Fermentadas. I. Título.

---

CDD 091

**JULIANE ALMEIDA VEIGA**

**ESTUDO CINÉTICO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA SEIVA  
DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis* Jacq.) PARA  
FINS ALIMENTÍCIOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Data da Avaliação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Conceito: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Profa. Dra..Nadia Cristina Fernandes Corrêa  
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Orientador)

---

Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza  
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro Interno)

---

Profa. Dra. Vanessa Albres Botelho  
(FEA/ITEC/UFPA – Membro Externo)

---

Profa. Dra. Alessandra Santos Lopes  
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Interno – Suplente)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que na sua infinita bondade devolveu-me a esperança de dias melhores.

A Dra. Graça Soutelo e ao Dr. Tarcísio Guerra que foram Anjos enviados em minha vida.

A minha Tia Andréia que sempre foi como uma segunda Mãe é que graças ao seu acreditar eu tive forças para lutar, mesmo quando minha vontade era de desistir.

A minha Mãe que é o meu grande Amor, a minha fortaleza, o motivo do meu sorriso e da minha felicidade.

Aos meus Padrinhos que sempre estiveram comigo fornecendo todo suporte, apoio mental e financeiro, desde criança, até hoje para que pudesse estudar.

Aos meus irmãos (Nanny e Ricardo) por todo Amor, Carinho e Paciência.

A Professora Nádia que me deu a oportunidade de entrar no Mestrado, aceitando orientação, mesmo quando ninguém mais acreditou em mim, e que foi muito paciente e compreensiva com as minhas dificuldades.

A minha Amiga Cleide Araújo que me ajudou a elaborar o projeto para entrar no Mestrado é que teve total paciência comigo naquele momento é até hoje.

A Leyde que me ajudou a montar a Apresentação do Pré- projeto é me fez perder o "medo" de fazer Slides, kkkkkkk.

A minha Querida Amiga Lúcia Alves por toda paciência, mesmo nas mais bobas dúvidas, e amizade oferecida é que levarei para toda a minha vida.

Ao Paulo Chada que foi um excelente Amigo, me acompanhando nos momentos difíceis quando minha vontade era de desistir por não conseguir enxergar uma saída.

A minha Querida Amiga Fernanda Damin que mesmo em outra cidade jamais deixou de me ajudar.

Ao Adriano Marçal que contribuiu muito para que pudesse chegar até aqui. Agradeço por todos os "puxões de orelhas", por todas as "brigas internas" e por todos os sorrisos.

A todos os Amigos de sala de aula, pela paciência e ensinamento nas dificuldades das disciplinas ou até mesmo na condução do trabalho em especial: Cléssia, Trícia, Cleide Gonçalves, Heloisa Battagin, Gisele, Victor, Priscil, Rafaela, Juliana, Helber e Elaine.

A todos os amigos do LAOS pelo acolhimento e momentos felizes em especial: Sara, Fernando, Rômulo, Lily, Ramon, Talita e Alexandre.

Aos meus amigos de graduação em especial Carol e Gyorgy os quais nunca esqueci e que foram muitos importantes durante a minha caminhada.

A professora Consuelo a qual passei a ter grande admiração é que me mostrou que ninguém é tão grande que não possa ensinar é nem tão pequeno que não possa aprender

Ao professor Nelson pela disponibilidade em me ajudar com as dúvidas.

Ao professor Jesus que sempre foi um exemplo de profissional principalmente pela humildade que tem ao ensinar.

A professora Vanessa pela paciência e por todas as contribuições seja na pesquisa ou em assuntos de vida.

A professora Alessandra pela atenção e carinho.

Aos estagiários do J.K em especial Adriana e Júlio pelo acompanhamento durante a condução dos experimentos.

A Biopalma pelo fornecimento da matéria-prima de estudo.

Ao programa PPGCTA-UFPA e corpo docente pelo apoio estrutural e intelectual fornecido durante o desenvolvimento do trabalho.

## RESUMO

A Agroindústria do cultivo do Óleo de Palma gera anualmente milhões de toneladas de biomassa sólida, dentre estas se destacam os troncos. A seiva contida na região central possui maior concentração de açúcares fermentescíveis, tornando-se matéria-prima alternativa para produção de co-produtos como: xarope, bioetanol e bebida alcoólica fermentada. Diante disto, o objetivo da pesquisa foi o estudo cinético da seiva do tronco do Óleo de Palma para possível elaboração de uma bebida fermentada dentro dos padrões alcoólicos exigidos pela legislação brasileira. Apresentando a seiva bruta: teor de umidade de 96,07%, teor de cinzas de 0,78%, pH 5,65, acidez titulável de 2,64%, massa específica de 1,02 g/cm<sup>3</sup>, °Brix de 8,03, concentração de açúcares totais e redutores de 55,89 g/L e 32,71 g/L, respectivamente. Para a realização das cinéticas ajustaram-se as condições da seiva bruta, através do processo de evaporação por concentração, apresentando após tratamento: 14°Brix, pH 4,0, açúcares totais e redutores de 72,51g/L e 55,89 g/L, variando-se apenas a concentração de células iniciais (2,0, 3,5 e 5,0 g/L). A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa entre os teores alcoólicos obtidos. Apresentando o inóculo com 5,0 g/L os melhores parâmetros cinéticos de conversão do substrato em células ( $Y_{X/S}$  0,10), do substrato em produto ( $Y_{P/S}$  0,41), eficiência (77,87%), produtividade (1,72 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>),  $\mu_{\text{máx}}$  (0,07h<sup>-1</sup>) e percentual de EtOH (3,50 °GL (%v/v)).

**Palavras-chave:** Resíduos, Concentração de células, Bebidas alcoólicas fermentadas.

## ABSTRACT

The palm oil agro-industry generates millions of tons of solid biomass, among which trunks stand out. The sap contained in the central region has the highest concentration of fermentable sugars, making it an alternative raw material for the production of co-products such as syrup, bioethanol and fermented alcoholic beverages. Therefore, the objective of the research was the kinetic study of the palm oil trunk sap for possible elaboration of a fermented beverage within the alcoholic standards required by Brazilian legislation. Introducing the raw sap: moisture content of 96.07%, ash content of 0.78%, pH 5.65, titratable acidity of 2.64%, specific mass of 1.02 g/cm<sup>3</sup>, °Brix of 8,03, concentration of total and reducing sugars of 55.89 g/L and 32.71g/L, respectively. To carry out the kinetics, the conditions of the crude sap were adjusted, through the process of evaporation by concentration, after treatment: 14 °Brix, pH 4.0, total and reducing sugars of 72.51 g/L and 55.89 g/L, varying only the concentration of initial cells (2.0, 3.5 and 5.0 g/L). A statistical analysis that there was no explained difference between the alcohol levels obtained. Presenting the inoculum with 5.0 g/L the best kinetic parameters for conversion of substrate into cells ( $Y_{X/S}$  0.10), substrate into product ( $Y_{P/S}$  0.41), efficiency (77.87%), productivity (1.72 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>),  $\mu_{max}$  (0.07 h<sup>-1</sup>) and percentage of EtOH (3.50 °GL (% v/v)).

**Keywords:** Residues, Cell concentration, Fermented beverages, Alcohol content.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Lista de legendas (Construção das cinéticas) .....	34
<b>Tabela 2</b> - Lista de legendas (Cálculo dos Parâmetros cinéticos) .....	36
<b>Tabela 3</b> - Características da seiva bruta .....	39
<b>Tabela 4</b> - Características físicas e físico-químicas da seiva concentrada .....	41
<b>Tabela 5</b> - Formação de EtOH .....	44
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros cinéticos da fermentação.....	45

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Tronco do Óleo de Palma cortado em disco .....	17
<b>Figura 2</b> - Via metabólica de fermentação alcoólica em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
<b>Figura 3</b> - Fases do crescimento microbiano.....	23
<b>Figura 4</b> - <i>Elaeis guineenses</i> Jacq.....	28
<b>Figura 5</b> - Tronco em pedaços reduzidos .....	30
<b>Figura 6</b> - Seiva bruta .....	30
<b>Figura 7</b> - Sistema de destilação. ....	35
<b>Figura 8</b> - Perfis cinéticos da fermentação alcoólica .....	41
<b>Figura 9</b> - Perfis de formação de biomassa.....	43
<b>Figura 10</b> - Teor de sólidos solúveis.....	44
<b>Figura 11</b> - Linearização da curva de $\mu_{\text{máx}}$ na concentração de 2,0 g/L de células .....	46
<b>Figura 12</b> - Linearização da curva de $\mu_{\text{máx}}$ na concentração de 3,5 g/L de células .....	47
<b>Figura 13</b> - Linearização da curva de $\mu_{\text{máx}}$ na concentração de 5,0 g/L de células .....	47
<b>APÊNDICE A CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DOS ART EM GLICOSE..</b>	<b>64</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 Objetivo Geral .....	15
2.2 Objetivos Específicos .....	15
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
3.1 PRODUÇÃO DO ÓLEO DE PALMA .....	16
<b>3.1.1 Tronco</b> .....	16
<b>3.1.2 Seiva</b> .....	17
3.2 CONCENTRAÇÃO POR EVAPORAÇÃO .....	17
3.3 FERMENTAÇÃO .....	18
<b>3.3.1 Fermentação alcoólica</b> .....	19
<b>3.3.2 Fermentação espontânea e inoculada</b> .....	21
3.4 COMPOENTES CINÉTICOS DO PROCESSO FERMENTATIVO .....	22
3.5 PARÂMETROS CINÉTICOS.....	24
3.6 BEBIDAS ALCOÓLICAS FERMENTADAS .....	25
3.7 BEBIDA FERMENTADA DA SEIVA DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA.....	26
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1 OBTENÇÃO DA SEIVA.....	28
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA SEIVA BRUTA.....	31
<b>4.2.1 Massa específica</b> .....	31
<b>4.2.2 Teor de sólidos solúveis (SS - ° Brix)</b> .....	31
<b>4.2.3 Umidade</b> .....	31
<b>4.2.4 Cinzas</b> .....	31
<b>4.2.5 Açúcares Totais</b> .....	31
<b>4.2.6 Açúcares Redutores (ART)</b> .....	32
<b>4.2.7 Potencial Hidrogeniônico (pH)</b> .....	32
<b>4.2.8 Acidez total titulável</b> .....	32
4.3 AJUSTE DA SEIVA .....	32
4.4 PREPARO DO MOSTO .....	33
4.5 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS CINÉTICAS.....	33
<b>4.5.1 Determinação da Biomassa Celular</b> .....	34
<b>4.5.2 Determinação do Substrato (ART)</b> .....	34

<b>4.5.3 Determinação do Produto (EtOH)</b> .....	35
<b>4.6 PARÂMETROS CINÉTICOS</b> .....	36
<b>4.6.1 Fatores de Conversão do <math>Y_{X/S}</math> e do <math>Y_{P/S}</math></b> .....	36
<b>4.6.2 Eficiência e Produtividade</b> .....	37
<b>4.6.3 Velocidade Específica de Crescimento (<math>\mu_{\text{máx}}</math>)</b> .....	37
<b>4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MOSTO</b> .....	37
<b>4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>5.1 CARACTERIZAÇÃO DA SEIVA</b> .....	39
<b>5.2 CARACTERIZAÇÃO DO MOSTO</b> .....	40
<b>5.3 CURVAS CINÉTICAS</b> .....	41
<b>5.4 PARÂMETROS CINÉTICOS</b> .....	45
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	49
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50
<b>APÊNDICE</b> .....	64

## 1 INTRODUÇÃO

Originada da África ocidental o dendezeiro, dendê ou Óleo de Palma (*Elaeis guineensis Jacq*), é a palmeira oleaginosa de maior produtividade no mundo. Sua cultura produz frutos em cachos de onde podem ser extraídos dois tipos de óleos, com composições distintas. Da prensagem do mesocarpo do fruto obtém-se o Óleo de Palma, muito utilizado na indústria alimentícia, é das amêndoas o óleo de palmiste, que tem grande aplicação na área cosmética e farmacêutica (KOK et al., 2011; BERGMANN et al., 2012).

O cultivo do Óleo de Palma gera anualmente milhões de toneladas de biomassa sólida. Dentre estas se destacam os troncos, que após replantio das mudas são descartados ou queimados no meio ambiente. Como forma de reduzir a geração de resíduo a utilização destes pode torna-se alternativa para agroindústria, pois são considerados potenciais poluidores é sua minimização é cada vez mais desejada no contexto atual onde se busca uma produção “mais limpa” (SUKIRI et al., 2014; SHAHIRAH et al., 2015; LAI, et al.,2016).

Vinho e cerveja são as bebidas alcoólicas que mais se tem relato no decorrer da história da civilização humana. O mosto das frutas, por serem substratos ricos em açúcares, é utilizado pelas leveduras, principalmente, *Saccharomyces cerevisiae*, para a elaboração de fermentados com diversos sabores. O metabolismo dessas, não é responsável somente pela produção de etanol (EtOH) mais pela formação de compostos aromatizantes que dão as bebidas aromas específicos (PAULA VALIM et al., 2016).

A seiva contida na região central dos troncos tem sido utilizada em alguns países como matéria-prima alternativa para obtenção de co-produtos como bioetanol e bebidas alcoólicas fermentadas, devido à presença de açúcares fermentescíveis na sua composição (YAMADA et al., 2010; KOSUGI et al., 2010; MURATA et al., 2013; NORHAZIMAH e FAIZAL, 2014; SZYMONA et al., 2014).

No Brasil a denominação de vinho é exclusivamente para bebidas originadas da fermentação alcoólica completa ou parcial da uva, com um mínimo conteúdo em álcool de 7% (v/v) (Brasil, 1988). Qualquer fruto ou partes de vegetais que contenham açúcares como substrato, para as a nutrição das leveduras, podem ser utilizados como matéria-prima para elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas, com teor mínimo alcoólico superior a 0,5% (v/v) e inferior a 54% (v/v) a 20°C (Brasil, 2009).

A cinética do processo fermentativo estuda a velocidade de transformação do substrato em produto, em função do tempo de fermentação, bem como a influência de fatores físicos (temperatura), químicos (pH) e microbiológicos (concentração de microrganismos). Os fatores de conversão do substrato em célula ( $Y_{X/S}$ ) e do substrato em produto ( $Y_{P/S}$ ), eficiência (%), produtividade e velocidade específica de crescimento são importantes, pois através destes pode-se analisar os parâmetros de melhores resultados sobre o processo (Ghosh et al., 2012).

Apesar da grande popularidade em alguns continentes, a bebida alcoólica fermentada da seiva do tronco do Óleo de Palma ainda não é explorada no Brasil. Porém, nos países de maior consumo o processo de obtenção ainda é rústico, sem as devidas condições de higiene e controle do processo fermentativo (STRINGINI et al., 2009 ;ORTEGA e ZONA, 2013).

Deste modo, o objetivo da pesquisa foi à realização de um estudo cinético, utilizando a seiva do tronco do Óleo de Palma, para possível elaboração de uma bebida alcoólica fermentada dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira, como forma de minimizar os resíduos de biomassa de troncos gerados após replantio.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Estudar o processo fermentativo da seiva do tronco do Óleo de Palma para possível elaboração de uma bebida alcoólica fermentada.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as características físicas, físico-química e microbiológica da seiva natural;
- Avaliar a cinética com diferentes concentrações de Células;
- Avaliar os parâmetros cinéticos de conversão do substrato em células ( $Y_{X/S}$ ), do substrato em produto ( $Y_{P/S}$ ), eficiência, produtividade e velocidade específica de crescimento ( $\mu_{máx}$ ), referentes ao percentual de etanol obtido;
- Avaliar a possibilidade de elaboração da bebida alcoólica fermentada de acordo com o teor de etanol exigido pela legislação vigente.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 PRODUÇÃO DO ÓLEO DE PALMA

Malásia e Indonésia, atualmente, são os maiores produtores de Óleo de Palma correspondendo a mais de 85% da produção mundial. O Brasil apresenta condições e climas favoráveis para essa cultura, estima-se que o País tenha cerca de 70 milhões de hectares de terra destinados ao plantio. No entanto, a produção ainda é baixa se comparado com os principais produtores (BERGMANN et al.,2012; LUDIN et al.,2014; KUSS et al.,2015; MONTEIRO DE CARVALHO et al., 2015).

Dentro do cenário nacional destaca-se o estado do Pará com mais de 95% da produção, seguido do estado da Bahia. Após a produção em cachos, em média de 2,5 a 3,0 anos, o Óleo de Palma inicia-se seu ciclo de exploração comercial que dura em torno de 20 a 25 anos. Durante este período ocorre o replantio, cuja finalidade é manter a ótima produção agroindustrial, gerando grande quantidade de resíduos sólidos. Um hectare de plantação pode produzir de 50 a 70 toneladas de resíduos de biomassa (Cachos dos frutos vazios, cascas, fibras e troncos). (NOPARAT, PRASERTAN e THONG, 2012; FAISAL; MAHIDIN, 2013).

Grande parte dos troncos derrubados é descartado até decomposição ou queimados no meio ambiente. A seiva contida na região central contém elevadas concentrações de açúcares fermentescíveis tornando matéria-prima para produção de co-produtos como açúcar de palma, bebida alcoólica fermentada e bioetanol (YAMADA et al.,2010; KOSUGI et al., 2010;; MURATA et al., 2013; NORHAZIMAH E FAIZAL.,2014; SZYMONA et al.,2014)

##### 3.1.1 Tronco

O tronco do Óleo de Palma (Figura 1) é composto por celulose, hemicelulose e lignina, sendo um recurso de biomassa bastante importante podendo ser utilizado na geração de produtos como fertilizantes e bioplásticos (LAI, et al.,2016; SUKIRI et al., 2014). Devido ao seu alto teor de umidade é pouco aproveitado a nível industrial, apenas uma pequena porcentagem é utilizada na fabricação de compensados (SHAHIRAH et al.,2015).

**Figura 1** - Tronco do Óleo de Palma cortado em disco



Fonte: Do autor (2018).

### **3.1.2 Seiva**

A seiva natural das palmeiras caracteriza-se por ser doce, translúcida, com pH quase neutro e isenta de micro-organismos, enquanto flui do vegetal. No entanto, a partir do instante em que se encontra em condições ambientais torna-se um meio propício para o crescimento microbiano devido à presença de açúcares na sua composição (glicose, frutose, galactose e sacarose) (GUPTA, JAIN e SHANKER, 1980; NAKNEAN, JUTASUKOSOL e MANKIT, 2015; YAMADA et., 2010).

A quantidade de açúcares difere de acordo com as regiões. Segundo Yamada et al. (2010) e Adela e Loh (2015) a região interna do tronco apresenta maior concentração de açúcares, comparada as partes intermediárias e externa, sendo a glicose em maior concentração.

Kosugi et al.(2010) estudaram a seiva do tronco do Óleo de Palma para a produção de etanol e ácido láctico e obtiveram como resultado que a concentração de açúcares também difere entre as regiões do tronco, com maior concentração, 98,1g/L, encontrada na parte interna.

## **3.2 CONCENTRAÇÃO POR EVAPORAÇÃO**

O uso do calor na conservação de alimentos tem como objetivo principal a eliminação ou redução da carga microbiana e a inativação de enzimas que são responsáveis pelas alterações sensoriais. A concentração ou evaporação é um

método baseado na remoção de umidade (30% a 60%) e diminuição da atividade de água (CARDOSO E RUBENSAM, 2011).

Nas indústrias de alimentos utiliza-se a evaporação para concentração de produtos como leites condensados, sucos de frutas, extratos de tomate, polpas e doces. Ao final do processo obtém-se uma massa homogênea e concentrada com aumento dos sólidos totais da sua composição. O uso de temperaturas baixas (60 a 65°C) reduz as mudanças nas características sensoriais como cor e aroma dos produtos e a remoção da água promove a conservação, devido à redução da carga microbiana (ORDÓÑEZ et al., 2005).

### 3.3 FERMENTAÇÃO

A fermentação é um processo natural realizado por diferentes micro-organismos que em condições anaeróbias liberam energia mediante a degradação do substrato, auxiliado pela ação de enzimas, com a formação de subprodutos. A energia liberada neste processo é acumulada na forma de ATP (adenosina trifosfato). É considerado um método antigo de preservação de alimentos que permanece até os dias atuais, onde leveduras e bactérias são os micro-organismos mais utilizados e as fermentações alcoólicas, lácticas e acéticas são as mais importantes (MADIGAN et al., 2012; TORTORA, FUNKE E CASE, 2012; VARELA, 2016).

As leveduras *Saccharomyces* são os micro-organismos mais indicados para a fermentação, principalmente para a produção de etanol, devido à boa capacidade fermentativa, tolerância ao meio alcoólico e capacidade de crescer rapidamente em condições anaeróbias. A fermentação depende de fatores físicos (temperatura), químicos (oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) e microbiológicos (linhagem, concentração de levedura e contaminação bacteriana) (DASH et al., 2015).

A temperatura controla o metabolismo das leveduras e acima dos valores requeridos podem afetar o processo, causando enfraquecimento das células ou criando condições para a proliferação de outros micro-organismos ou ainda perdas de álcool por evaporação. Já temperaturas abaixo das indicadas diminuem a atividade das leveduras. Na produção de etanol as temperaturas consideradas ótimas situam-se na

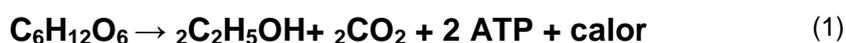
faixa entre 26 a 35 °C (CARDOSO, 2006; CAETANO e MADALENO, 2011; GHOSH, CHAKRABORTY e RAYCHAUDHURI, 2012).

O pH pode estimular ou inibir a atividade das células microbianas. Os micro-organismos atuam nos pH entre 2,2 e 8,0. Para espécie de levedura *Saccharomyces cerevisiae* o pH considerado ideal deve apresentar valor em torno de 4,0 a 4,5 (PELCZAR, CHAN e KRIEG, 1996; LIMA et al., 2001). Madigan et., al(2012) relatam valores de pH entre 3,0 e 10,5, sendo que para leveduras o pH ótimo situa-se abaixo de 6,0.

No processo fermentativo a concentração de micro-organismo (concentração de inóculo) e substrato deve se adequados. Caso contrário, poderá ocorrer a falta de células para a conversão do substrato em produto, afetando o processo, pois elevadas concentrações de açúcares promovem elevados teores alcoólicos, o que pode comprometer a viabilidade da célula ou resultar em fermentações lentas e incompletas (FERRARI, 2013).

### 3.3.1 Fermentação alcoólica

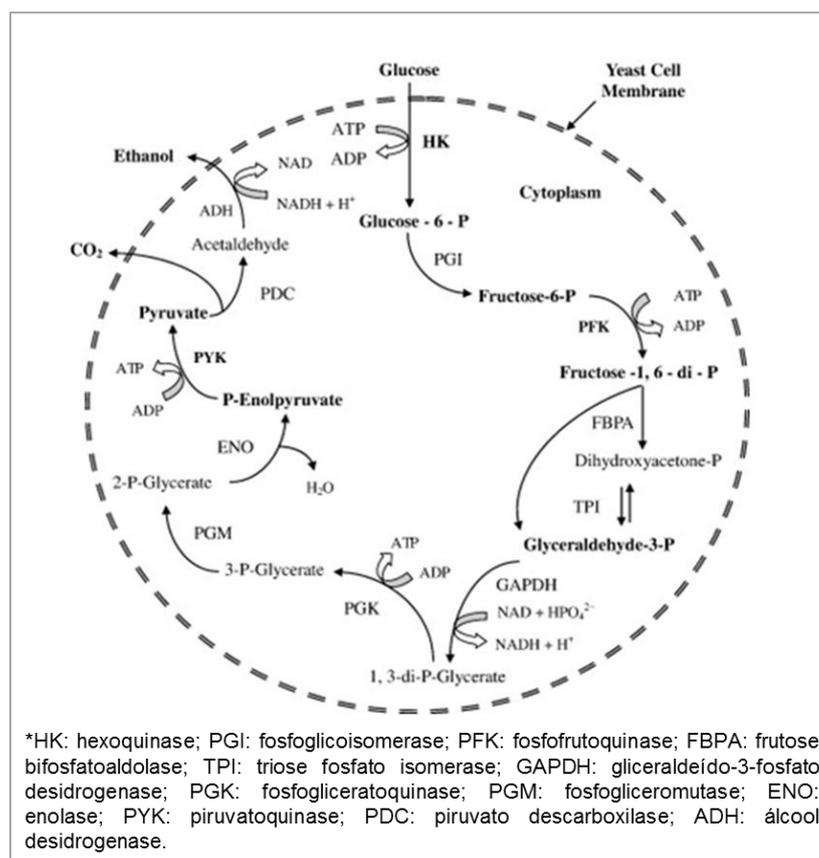
Denomina-se fermentação alcoólica o conjunto de reações bioquímicas realizadas por micro-organismos chamados de leveduras que em condições anaeróbias transformam açúcares em álcool etílico (etanol) e gás carbônico (CO<sub>2</sub>), por 10 sequências de reações enzimáticas, catalisadas por enzimas específica no citoplasma celular do micro-organismo havendo liberação de energia química e térmica (Equação 1) (CAETANO E MADA LENO, 2011).



A via glicolítica (Embden-Meyerhof) é a principal via metabólica de produção de energia tanto nos seres procariontes como nos seres eucariontes. No processo de glicólise ocorre a oxidação da glicose, tendo como componente principal a ser produzido o ácido pirúvico (2 moléculas) com a liberação de energia na forma de ATP (2 moléculas). O objetivo da via glicolítica é gerar energia de forma rápida e regenerar a coenzima NAD<sup>+</sup>. Todas as enzimas que participam da via glicólica estão

no citoplasma da célula na forma livre ou ligada a outras substâncias. Na fermentação alcoólica o piruvato é convertido em acetaldeído, liberando  $\text{CO}_2$ , transformando-se em etanol (Figura 2) (BAI, ANDERSON E MOO, 2008).

**Figura 2** - Via metabólica de fermentação alcoólica em *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: Bai et al.(2008).

O processo consiste em três distintas fases denominadas: fase preliminar, fase tumultuosa e fase complementar. Na fase preliminar ocorre a adaptação dos micro-organismos ao meio, na fase tumultuosa há o aumento no número de células microbianas havendo liberação de  $\text{CO}_2$ , aumento da temperatura e do teor alcoólico e na fase complementar o processo entra em declínio, devido à falta de alimento ocorrendo também a diminuição de  $\text{CO}_2$  (SOUSA E MONTEIRO, 2011).

Como forma de aumentar a eficiência da fermentação é adicionado suplemento nutricional ao meio, nitrogênio, sulfato e fósforo são importantes nutrientes que influenciam na multiplicação e crescimento das células de leveduras aumentando, assim, o rendimento da fermentação alcoólica (PINTO et al., 2013; ZINNAI, 2011; HOSSAIN e JALIL, 2015;;).

Shahirah et al. (2015) estudaram a influência da adição de nutrientes na fermentação para produção de etanol, a partir da seiva do Óleo de Palma e obtiveram como resultado que a adição de nutrientes melhora o rendimento do processo (58,50% a 72,12%) comparado com fermentação sem suplemento (51,8%).

### 3.3.2 Fermentação espontânea e inoculada

A fermentação espontânea é considerada complexa, uma vez que, envolve a ação de vários micro-organismos. Não necessita de inoculação, ou seja, é produzida de maneira natural por leveduras autóctones, muitas vezes referidas como “nativo”, “indígena” ou “leveduras selvagens”, sendo as espécies de *Saccharomyces* as principais (VARELA, 2016).

O mosto açucarado de frutas, por ser um substrato rico, pode promover o crescimento de vários micro-organismos, predominado as espécies das leveduras. A competição por nutrientes e a elevada concentração de etanol faz com que as espécies menos tolerantes sejam eliminadas, prevalecendo as *Saccharomyces* até o fim. Porém, na fase inicial a dominâncias de outras leveduras, tem grande efeito benéfico na composição aromática e propriedades sensoriais dos vinhos proporcionando diversidades de aromas e sabores (HEARD e FLEET, 1985; VARELA, 2016; LLEIXÁ et al.,2016).

A seiva das palmeiras é suscetível à fermentação espontânea, por ser um substrato rico, promovendo a proliferação de vários micro-organismos como as leveduras e bactérias que convertem o substrato doce em metabolitos, principalmente etanol, ácido lático e ácido acético (SANTIAGO-URBINA E RUIZ TERÁN, 2014).

A fermentação inoculada permite a obtenção de um processo mais rápido e uniforme, pois consiste na inoculação de culturas de estirpes para que possam competir com as espécies naturais. O objetivo então, é que a cultura inicialmente inoculada passe a ser dominante até o fim do processo fermentativo (CIANI, 2016).

Alguns destes micro-organismos já foram identificados neste substrato açucarado tais como: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces chevalieri*, *Kloeckera Apiculata*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Acetobacter Aceti*, *Acetobacter rancens*, *Acetobacter suboxydans*, *Leuconostoc dextranicum*, *Micrococcus*sp.,*Pediococcus* sp., *Bacillus*sp e *Sarcinasp* (ZIADI, 2014).

Norhazimah e Faizal (2014) estudaram a produção de bioetanol a partir da seiva do tronco do Óleo de Palma utilizando cepas de leveduras e bactérias, analisando a influência dos parâmetros de temperatura e agitação, sob o rendimento do processo, sendo as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* os micro-organismos mais eficientes.

Kosugi et al.(2010) estudaram a produção de etanol e ácido láctico a partir da seiva do tronco do Óleo de Palma e tiveram como resultado que as leveduras *Saccharomyces*, na presença ou ausência de nutrientes, convertem rapidamente a glicose em etanol. A quantidade de etanol produzido correspondeu a 94,2% do rendimento teórico calculado com base no consumo de açúcares durante o processo.

### 3.4 COMPOENTES CINÉTICOS DO PROCESSO FERMENTATIVO

A cinética fermentativa é determinada pelo estudo do comportamento da velocidade das reações que transformam o substrato em produto, em função do tempo de fermentação. Os componentes que fazem parte deste sistema são os micro-organismos ou biomassas (X), os nutrientes ou substratos (S) e os produtos metabolitos (P) (ALVES, 2010).

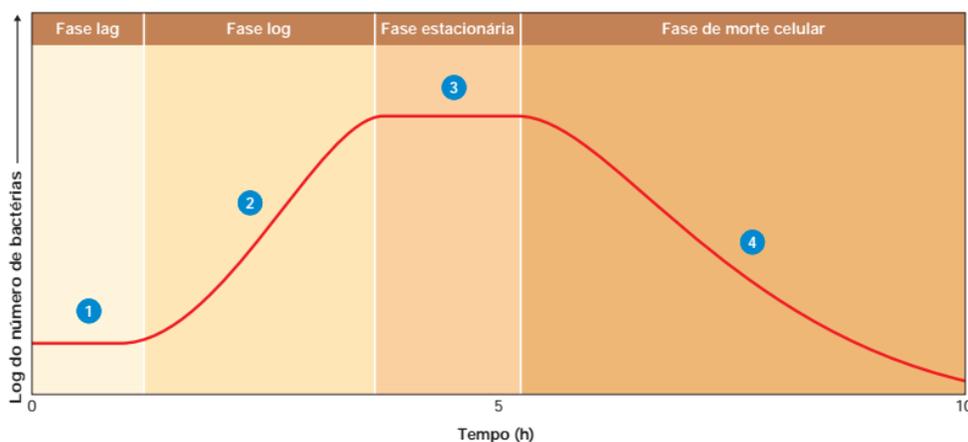
As leveduras são organismos unicelulares, eucarióticos e heterotróficos, com enorme potencial a ser explorado devido à capacidade de converter substratos em produtos de grande interesse biotecnológico, como o álcool, pela via fermentativa. Podem apresentar-se de forma arredondada, elípticas ou esféricas possuindo dimensões variadas com limites de 5 a 15  $\mu\text{m}$  de comprimento e largura de 1 a 5  $\mu\text{m}$ . A escolha da sua linhagem é de extrema importância para a condução de um processo fermentativo (NAGODAWITHANA E STEINKRAUS, 1976; CIANI, 2016 GHOSH, CHAKRABORTY e RAYCHAUDHURI, 2012).

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são organismos com múltiplas habilidades metabólicas como, por exemplo, a capacidade de ajustar-se em condições tanto de aerobiose como de anaerobiose para conversão do substrato em etanol e dióxido de carbono, tornando-se os micro-organismos mais utilizados nos processos fermentativos (KOBAYASHI, SHIMIZU E SHIOYA, 2008)

O crescimento celular, (Figura 3) é composto de quatro fases denominadas de: fase “lag”, fase” log ou exponencial de crescimento, fase estacionária e fase de declínio. Na fase “lag” ocorre a adaptação fisiológica das células ao meio em que se encontra, na fase “log” ou exponencial ocorre exponencialmente o aumento do

número de células com o tempo, na fase estacionária o número de células se mantém constante e por fim, na fase de declínio ocorre a escassez de nutrientes no meio o tornando impróprio para o crescimento microbiano (ALVES, 2010).

**Figura 3** - Fases do crescimento microbiano



Fonte: Tortora, Funke e Case (2012).

O número de células ou concentração de inóculo ( $X$ ) depende da capacidade do micro-organismo de utilizar os nutrientes do meio e sintetizar os compostos necessários para as atividades metabólicas. A presença de micro-organismos como as bactérias podem tornar o meio contaminante para o crescimento das *Saccharomyces*, não apenas pelo consumo de substrato mais também, pela formação de compostos que ocasionam intoxicação, como os ácidos orgânicos, levando a formação de espumas, lentidão do processo e baixo rendimento no teor alcoólico. (AMORIN E OLIVEIRA, 1882; ALTERTHUM et al., 1884; SKINNER E LEATHER, 2004; CARMOLEZ E MUTTON, 2005; NOBRE, HORII E ALCARD, 2007 E AZIADI, 2014)

A concentração de nutrientes ou substrato ( $S$ ), no mosto, pode influenciar na fisiologia do micro-organismo, pois elevadas concentrações podem ocasionar inibição do metabolismo pelo processo conhecido como inibição pelo substrato. A concentração de açúcares pode afetar tanto o crescimento das leveduras quanto a produção de etanol devido ao estresse osmótico na célula, tendo como consequência a perda de água com a migração do interior para o exterior da célula fazendo com que a membrana plasmática sofra um tugar. Este estresse tem efeito sinérgico com o etanol (CERQUEIRA, 2013).

O teor de sólidos solúveis em ° Brix indica o teor aproximado de açúcar no mosto. Durante a cinética de fermentação é comum que haja a redução do teor de sólidos solúveis paralelamente com a redução na concentração de açúcares e formação de etanol, evidenciando o consumo do substrato, pelo micro-organismo, para a formação do produto (PARENTE et al., 2014; ANDRADE, 2013; ALMEIDA et al., 2014; CORAZZA). O teor de sólidos solúveis no mosto para a produção de bebidas fermentadas varia em torno de 14 e 25 °Brix, produzidos fermentados com concentrações de etanol na faixa de 5° a 10° GL (RODRIGUES E NOZAKI, 2011)

O etanol (P) é caracterizado como o principal metabólito primário produzido, pelas leveduras, durante o processo de fermentação alcoólica, sendo os secundários os álcoois superiores, aldeídos e ésteres. Elevados rendimentos em etanol, requerem elevadas concentrações de substratos o que gera alta pressão osmótica do meio sobre as células influenciando o rendimento do processo. A inibição pelo produto é influenciada pelo tipo de micro-organismo, fisiologia, meio de cultura e temperatura de fermentação (SOARES, 2011).

### 3.5 PARÂMETROS CINÉTICOS

Os parâmetros cinéticos podem ser utilizados na análise na escolha de um processo fermentativo. O fator de conversão do substrato em células permite calcular a quantidade de massa celular produzida por grama de substrato consumido ( $Y_{X/S}$ ). Os fatores de conversão são definidos como base no consumo de um material para a formação de outro. O fator de conversão do substrato em produto é definido como a quantidade de substrato consumido por grama de produto produzido ( $Y_{P/S}$ ) (ANDRADE et al. 2013).

A eficiência depende da temperatura, pressão osmótica, pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos e linhagem microbiológica (concentração da levedura e contaminação microbiana). A produtividade calcula a velocidade de transformação do substrato em produto, e  $\mu_{máx}$  a concentração de massa celular contida no meio atingindo seu máximo na fase de crescimento exponencial (HISS, 2001; BORSANI, 2001).

Torna-se praticamente impossível propor um tipo de modelagem cinética precisa para descrever um processo fermentativo, devido à quantidade de

parâmetros envolvidos e a diversidade da composição dos meios fermentativos (SABLAYROLLES E BARRE, 1993).

### 3.6 BEBIDAS ALCOÓLICAS FERMENTADAS

Bebida é o produto de origem vegetal industrializado, destinado à ingestão humana em estado líquido sem finalidade medicamentosa ou terapêutica, classificadas em alcoólicas e não alcoólicas, sendo as alcoólicas divididas em: fermentadas, destiladas e compostas. São diversidades de frutas, seivas, tubérculos, raízes, folhas e sementes utilizadas para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas, devido à presença de açúcares na sua composição (BRASIL, 2009; LIMA E FILHO, 2011).

A cerveja é uma bebida alcoólica fermentada produzida a partir da fermentação de cereais, principalmente a cevada maltada. Existem diferentes cepas para fabricação resultando em diversos aromas e sabores. As cervejas podem ser classificadas de acordo com seu processo fermentativo em cervejas de alta fermentação e de baixa fermentação. As de alta fermentação são aquelas fermentadas pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (18°C entre 4 e 5 dias ) e as de baixa fermentação são fermentadas por *Saccharomyces uvarum* (12°C entre 8 e 9 dias) denominadas de Ale e Lager, respectivamente (MEGA, NEVES E ANDRADE, 2011).

O Fermentado de Fruta, segundo o regulamento técnico para a fixação dos padrões de identidade e qualidade de fermentados de frutas, define-se como sendo uma bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 °GL (%v/v) a 20°C, obtida da fermentação alcoólica do mosto de frutas sãs, frescas e maduras de uma única espécie, do respectivo suco integral, concentrado, ou polpa, que permite como ingrediente opcional a adição de água ou açúcar, exclusivamente a sacarose. Sua denominação segue a palavra “fermentado de”, acrescentada do nome da fruta de origem, como por exemplo, fermentado de laranja, fermentado de maçã, entre outros. Pode ainda ser acrescentado a característica do produto, ou seja, doce, suave, sem álcool e gaseificado. A acidez total mínima deve ser de cinquenta e máxima de 130 miliequivalentes por litro, acidez volátil no máximo de vinte miliequivalentes por litro e extrato seco reduzido no mínimo de 7 gramas por litro (BRASIL, 2008).

Almeida et al. (2006) estudaram a cinética da produção do fermentado de mandacaru utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Levedura comercial) e obtiveram como resultado uma boa conversão de sacarose em etanol. O fermentado apresentou teor alcoólico de 10,4°GL (%v/v) enquadrando-se dentro do requerido pela legislação vigente. Duarte et al. (2010) estudaram diversas cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, a fim de obter um fermentado de Framboesa, e obtiveram melhor resultado utilizando a cepa UFLA FW-15.

Fontan et al. (2011) estudaram a obtenção de fermentado alcoólico de Melancia utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e obtiveram como resultado um bom desempenho do micro-organismo no processo fermentativo. Andrade et al. (2013) estudaram a obtenção do fermentado de Morango, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* S-04, e obtiveram como resultado um fermentado com teor alcoólico de 9,62 °GL (%v/v).

O Cauim é uma bebida obtida da fermentação alcoólica da raiz de mandioca ou do milho, podendo ou não ser misturado com suco de fruta. O Caxiri é uma bebida alcoólica obtida da mandioca, denominada comumente de “cerveja insalivada”, obtida da fermentação natural dos micro-organismos presentes na matéria-prima que possuem atividade monolítica (ALMEIDA, 2009).

O Pajuaru é uma bebida alcoólica derivada do beiju da mandioca de característica forte, misto de azedo e amargo com uma coloração levemente avermelhada. Só pode ser Pajuaru se for com mandioca, se for feito com outro ingrediente, como frutas, ganha o nome de Caiçuma (GOLVEIA, 2018).

A graduação alcoólica nas bebidas Cauim, Caxiri e Pajuaru são de 10 a 11%v/v. No entanto, o processamento com adição de sucos de frutas as classifica como fermentados de frutas, conforme o decreto n°. 6.871, de 4 de junho de 2009 (BRASIL, 2009)

### 3.7 BEBIDA FERMENTADA DA SEIVA DO TRONCO DO ÓLEO DE PALMA

A maioria dos vinhos produzidos comercialmente provém do mosto de uvas fermentadas. Na África do Sul, bebidas produzidas a partir de sucos açucarados de frutas, mel ou seivas das palmeiras são denominadas de “cervejas”, mais comumente chamadas de vinhos. Essas bebidas são de extrema importância

econômica e social, sendo indispensável em cerimônias tradicionais (WYK, 2011; TAPSOBA et al., 2015).

A bebida fermentada da seiva do Óleo de Palma caracteriza-se por ser uma bebida alcoólica de cor branca com aspecto leitoso e floculento, produzido pela fermentação espontânea da seiva de várias plantas da família Palmae, principalmente *Elaeis guineensis* e *Raphia hookeri* com importantes componentes nutricionais, incluindo aminoácidos, proteínas, vitaminas e açúcares. É conhecida em todas as partes da África e com uma diversidade de nomes como “mimbo” nos camarões, “bandji” na Costa do marfim, entre outros (KARAMOKO et al., 2012; OKEKE et al., 2015).

A seiva da palmeira após coletada é armazenada em vasos de barro ou garrafas, de maneira a criar um ambiente de condição anaeróbia promovendo a proliferação microbiana principalmente as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. O potencial alcoólico da bebida aumenta conforme os dias de fermentação, estima-se que o teor alcoólico esteja entre 4% e 8%, pH de 5,8, e o tempo de vida útil do produto seja de 24 horas (DAVIS e JONSON, 1987; STRINGINI et al., 2009; OPARA, AJOCU e MADUMELO, 2014).

Dependendo da localidade a seiva pode ser extraída de várias formas, para obtenção da bebida, sendo a coleta feita em recipientes de plástico, garrafa de vidro ou jarros de barro. No entanto, realiza-se uma série de operações cuja finalidade é estimular o fluxo que incluem: perfuração no tronco e inserção de tubo no orifício. Pode-se obter a seiva perfurando-se o tronco no topo das palmeiras ou através de um corte na extremidade da espádice a partir da inflorescência, ou ainda, obter a partir de palmeiras derrubadas ou cortadas. O vinho pode ser consumido imediatamente ou armazenado para venda (AMOA-AWUA et al., 2007; NAKNEA, MEENUNE E ROUDAUT, 2010; OUOBA et al., 2012; KARAMOKO et al., 2012; SANTIAGO-URBINA et al., 2013).

Os produtores de vinho buscam alternativas com a finalidade de prolongar a vida útil da bebida o que envolve o uso de conservantes tais como sulfito e benzoato, adição de extrato de plantas e processo de pasteurização (OGBILIE E NJOKU, 2007; NAKNEAN, JUTASUKOSOL E MANKIT, 2015).

Dioha et al. (2009) estudaram a preservação do vinho de palma após processo de pasteurização e obtiveram como resultado que tal processo é capaz de preservar a vida útil do produto sem a adição de conservantes químicos. Ghosh, Chakraborty e

Raychaudhuri (2012) estudaram a otimização do processo fermentativo do vinho de Palma a partir da seiva da palmeira *Borassus flabellifer*, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (NCIM 3045) e obtiveram como resultado, nas condições otimizadas (pH 5,5 a 32°C), uma concentração de 82,3 g/L de etanol.

Diante do decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, observa-se a possibilidade de elaboração de bebidas a partir de outros vegetais que não sejam frutas encaixando-se neste contexto a seiva do tronco do Óleo de Palma, uma vez que na sua composição existem substâncias como os açúcares, que podem ser transformadas dando origem ao produto. Um exemplo bem tradicional é a cana de açúcar, onde o mosto do caldo fermentado produz o fermentado de cana (BRASIL, 2009).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 OBTENÇÃO DA SEIVA

O Óleo de Palma (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Figura 4) da variedade Deli Compacta, de localização 1° 11' 2,59" S e 48° 2' 23,15" W, com aproximadamente 25 anos de idade, foi cedido pela empresa Biopalma S/A situada no município de Santa Izabel/PA. Coletou-se na linha 74 da plantação, medindo 7 metros de altura e 1,24 m de diâmetro. Retirou-se aproximadamente 2 metros da região central do tronco que foi cortado em blocos para facilitar o transporte

**Figura 4** - *Elaeis guineensis* Jacq.



Fonte: Do autor (2018).

Os blocos foram enviados para o Laboratório de Operações de Separação (LAOS/ITEC/UFPB), onde foram lavados em água corrente, com o intuito de retirar as sujidades e reduzir a carga microbiana. Em seguida, foram cortados a pedaços menores (Figura 5), com a finalidade de facilitar a extração da seiva. Decorridas tais etapas os mesmos foram acondicionados em embalagem de polietileno e mantidos sob temperatura de congelamento (- 20°) até utilização.

**Figura 5** - Tronco em pedaços reduzidos



Fonte: Do autor (2018).

A seiva foi obtida através da prensagem do tronco. Para tal processo utilizou-se prensa hidráulica de bancada (SIWA) com capacidade de 1L e pressão máxima de 15 T. Após a extração, a mesma foi filtrada a vácuo para retirada de partículas indesejáveis, e o filtrado acondicionado em garrafas de polipropileno de alta densidade com capacidade para 200 mL (Figura 6).

**Figura 6** - Seiva bruta



Fonte: Do Autor, (2018).

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA SEIVA BRUTA

Realizou-se a caracterização a partir das análises físicas e físico-químicas, as quais estão descritas a seguir.

### 4.2.1 Massa específica

Foi determinada por leitura direta das amostras em densímetro digital (Marca: ANTON PAAR: modelo DMA 35).

### 4.2.2 Teor de sólidos solúveis (SS - ° Brix)

Foi determinado por leitura direta das amostras a 20 °C em refratômetro ABBE de bancada (Marca QUIMIS: Modelo Q7678), conforme método 932.12 AOAC (1977).

### 4.2.3 Umidade

Foi determinada de acordo com o método 31.1.02 da AOAC (1977) que consistiu na secagem do material, em estufa de circulação de ar forçada (Marca: QUIMIS: modelo Q-314 M 122), com areia tratada a 105 °C até peso constante.

### 4.2.4 Cinzas

Foi determinada de acordo com o método gravimétrico 938.08 da AOAC (1997) o qual consiste na incineração da matéria utilizada em forno mufla (Marca: QUIMIS: modelo Q-318 M 24) com temperatura de 550 °C até peso constante.

### 4.2.5 Açúcares Totais

Foi determinado pelo método titulométrico com soluções de Fehling, de acordo com o método 920.183b AOAC (1977).

#### **4.2.6 Açúcares Redutores (ART)**

Foi determinado pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), segundo metodologia descrita por Miller (1959). A reação ocorreu entre o reagente DNS com igual volume de amostra, homogeneizados e aquecidos em banho-maria à temperatura de ebulição, durante 5 minutos, seguido por resfriamento em banho de gelo. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (Marca: PHARMACIA BIOTECH 2000: Modelo 08-2106) no comprimento de onda de 540 nm. A calibração foi feita através da curva padrão de glicose, a partir da solução mãe de concentração 1g/L (APÊNDICE A).

#### **4.2.7 Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Foi determinado por leitura direta da amostra em potenciômetro (Marca: pH METER: modelo W3B), previamente calibrado com tampões pH 4,0 7,0 e 10,0 a 20 °C, de acordo com o método 981.12 AOAC (1977).

#### **4.2.8 Acidez total titulável**

Foi determinada por titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, conforme método 1.37. AOAC (1977).

### **4.3 AJUSTE DA SEIVA**

As características iniciais de pH (5,65) e sólidos solúveis (8,03 °Brix) da seiva bruta foram ajustadas para os valores de condições ótimas para o bom desempenho do micro-organismo. Deste modo, corrigiu-se o pH, com uma solução de ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) 50%, até pH 4,0. Aumentou-se o teor de sólidos solúveis para 14 °Brix e conseqüentemente, a quantidade de substrato a ser consumido pelos micro-organismos.

A elevação do teor de sólidos solúveis foi realizada através do processo de evaporação por concentração. Para esta etapa, utilizou-se um volume de 7 litros de seiva bruta acondicionada em bandejas de aço inoxidável, sendo o processo conduzido em estufa, de recirculação de ar forçada, na temperatura de 65 °C durante 5 horas.

O pH foi medido em potenciômetro , o teor de sólidos solúveis em refratômetro e a concentração de açúcares totais e redutores, antes e após etapa de evaporação, determinados segundo o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985 e Vasconcelos et al.,2013, respectivamente.

#### 4.4 PREPARO DO MOSTO

O micro-organismo utilizado foi à levedura *Saccharomyce cerevisiae* (liofilizada) da marca comercial Fleischmann. Em balança analítica, (Marca: SHIMADZU: modelo: AUY220) foram pesadas três diferentes concentrações de células 2,0, 3,5 e 5,0 g/L.

Para a fermentação foram utilizados 0,2 L de seiva concentrada, as quais foram inoculadas com as diferentes quantidades de células de *Saccharomyce cerevisiae*. Os mostos foram incubado a temperatura de 32°C em estufa de recirculação de ar e os ensaios realizados em triplicatas.

#### 4.5 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS CINÉTICAS

O processo foi acompanhando através da retirada de alíquotas, com o auxílio de pipetas automáticas, as quais eram congeladas para determinação de biomassa (1,5 mL), açúcares redutores (1,5 mL) e teor de sólidos solúveis em °Brix (0,5 mL) no intervalo de 1 hora nas primeiras 4 horas de fermentação e no intervalo de 2 horas até o fim dos processos.

O término ocorreu quando se verificou que não havia mais variação do °Brix. Ao final, os mostos fermentados passaram por etapa de centrifugação (Marca SIGMA modelo 6-15H), a 3000 rpm, durante 5 minutos, com a finalidade de separar partículas dispersas no meio para posterior etapa de destilação e determinação do teor alcoólico. As curvas cinéticas foram obtidos através do Software Origin Pro 8. As legendas com as nomenclaturas dos termos utilizados, nas equações, estão expressas na Tabela 1.

**Tabela 1** - Lista de legendas (Construção das cinéticas)

<b>M<sub>1</sub></b>	Massa Inicial (g)
<b>M<sub>2</sub></b>	Massa Final (g)
<b>V</b>	Volume(L)
<b>EtOH</b>	Etanol (g/L)
<b>ρ</b>	Massa específica do EtOH (g/mL)

Fonte: Do autor (2018).

#### 4.5.1 Determinação da Biomassa Celular

Determinou-se conforme metodologia descrita por Florêncio (2006) a qual consistiu na separação, secagem e pesagem das células, após processo fermentativo. Com o auxílio de pipetas automáticas retiravam-se 1,5 mL do mosto fermentado, durante toda a condução do processo, os quais eram transferidos para eppendorfs com capacidade de 2,0 mL e congelados até realização das análises.

Após tais etapas, os mostos fermentados eram descongelados e centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos, sendo retirado o sobrenadante e o precipitado de células lavado por duas vezes com água destilada e posteriormente conduzido a estufa a 60 °C durante 24 horas até obtenção de peso constante. A determinação da biomassa celular foi calculada através da diferença entre a massa final e inicial, pelo volume da amostra, conforme equação 2.

$$\text{Biomassa (g/L)} = \frac{M_2 - M_1}{V} \quad (2)$$

#### 4.5.2 Determinação do Substrato (ART)

Após o descongelamento dos mostos, fermentados, os mesmos foram centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos, sendo o sobrenadante coletado para determinação de açúcares redutores conforme metodologia descrita no item 4.2.6.

### 4.5.3 Determinação do Produto (EtOH)

Utilizou-se uma manta aquecedora (Marca QUIMIS: Modelo Q321A14), a fim de elevar a temperatura do mosto contido no balão de fundo chato (Figura 7). A fração destilada foi coletada em erlenmeyer, e seu teor alcoólico medido utilizando um densímetro digital (marca ANTON PAAR modelo DMA 35). A massa de EtOH e o teor foram calculados através das equações 3 e 4, e os dados ajustando para Gay - Lussac (% v/v) conforme equação 5.

Figura 7 - Sistema de destilação.



Fonte: Do Autor (2018).

$$\text{Massa de EtOH} = \frac{\text{Massa do destilado} \times \text{Teor alcoólico do destilado}}{100} \quad (3)$$

$$\% \text{ EtOH} = \frac{\text{Massa de EtOH} \times 100}{\text{Massa a destilar}} \quad (4)$$

$$\text{EtOH} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \rho \text{ EtOH} \times \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left( \frac{^{\circ}\text{GL}}{100} \right) 1 \left( \frac{\text{L}}{\text{L}} \right) \quad (5)$$

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

## 4.6 PARÂMETROS CINÉTICOS

As legendas com as nomenclaturas dos termos utilizados nas equações dos cálculos cinéticos expressas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Lista de legendas (Cálculo dos Parâmetros cinéticos)

$Y_{X/S}$	Fator de conversão do substrato em célula
$Y_{P/S}$	Fator de conversão do substrato em produto
$X$	Concentração de biomassa final
$X_0$	Concentração de biomassa inicial
$S$	Concentração de substrato final
$S_0$	Concentração de substrato inicial
$P$	Concentração de produto final
$P_0$	Concentração de produto inicial
$T$	Tempo de fermentação

\* $Y_{X/S}$  (g/g);  $Y_{P/S}$  (g/g);  $X$  (g/L);  $X_0$  (g/L);  $S$  (g/L);  $S_0$  (g/L);  $P$  (g/L);  $P_0$  (g/L);  $t$  (h)

Fonte: Do autor (2018).

### 4.6.1 Fatores de Conversão do $Y_{X/S}$ e do $Y_{P/S}$

Os fatores de conversão do substrato em célula e do substrato em produto foram determinados conforme metodologia descrita por Parente et al. (2014) segundo as equação 6 e 7, respectivamente:

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (6)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (7)$$

#### 4.6.2 Eficiência e Produtividade

A eficiência (%) e a produtividade ( $\text{g.L}^{-1}/\text{h}^{-1}$ ), relativos as fermentações alcoólicas, foram calculados pelas equações 8 e 9, respectivamente, segundo Parente et al. (2014).

$$\text{Eficiência(\%)} = \frac{P}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{Produtividade} \left( \frac{\text{g.L}^{-1}}{\text{h}^{-1}} \right) = \frac{P}{t} \quad (9)$$

#### 4.6.3 Velocidade Específica de Crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ )

A construção do gráfico  $\text{Ln}(X/X_0)$ , em função do tempo de fermentação, ajustados aos dados experimentais na fase exponencial de crescimento, e a determinação de  $\mu_{\text{máx}}$ , através dos coeficientes angulares das curvas linearizadas, foram obtidos utilizando o software Origin Pro 8 (Stroppa et al., 2009), conforme a equação 10.

$$\text{Ln} \frac{X}{X_0} = \mu_{\text{máx}} \times t \quad (10)$$

### 4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MOSTO

Para caracterização física e química do mosto foram analisados os parâmetros: pH, açúcares totais, açúcares redutores e teor de sólidos solúveis, conforme metodologias descritas no item 4.2. As análises de bolores e leveduras e coliformes totais e termo tolerantes foram determinadas segundo a Instrução normativa N° 62 do MAPA (BRASIL, 2003).

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados referentes à produção de etanol dos ensaios fermentativos foram analisados estatisticamente através do software Statistica 7.0 Statsoft que permitiu a obtenção dos valores médios que foram comparados usando o teste Tukey.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA SEIVA

Os resultados da caracterização física e físico-química da seiva bruta estão representados na Tabela 3. A matéria-prima em estudo apresentou 96,07 % em teor de umidade. Valor próximo aos determinados por Ikegwu, Okafor e Ochiogu (2014), Umerie (2000) e Chooklin, Kaewsichan e Kaewsichan (2011) de 86,0 %, 93,33 % e 97,06 %, respectivamente, para as seivas do Óleo de Palma da Nigéria e Tailândia obtidas da inflorescência e do tronco.

**Tabela 3** - Características da seiva bruta

<b>Composição</b>	<b>Seiva bruta</b>
Umidade (%)	96,07± 0,22
Açúcares totais (g/L)	55,89±1,83
Açúcares redutores (g/L)	32,71 ± 0,01
Sólidos Solúveis (°Brix)	8,03 ± 0,03
Cinzas (%)	0,78 ± 0,02
pH	5,65 ± 0,03
Acidez titulável (%)	2,64 ± 0,12
Massa específica (g/cm <sup>3</sup> )	1,02 ± 0,00

Fonte: Do autor (2018).

A concentração de açúcares totais foi acima do determinado por Chooklin, Kaewsichan e Kaewsichan (2011) e Gomes (2016), de 19,71g/L e 39,86 g/L, para as seivas do Óleo de Palma do Brasil e da Tailândia, respectivamente. A concentração de açúcares redutores em glicose foi acima do descrito por Gomes (2016), de 5,59 g/L, e também acima do encontrado por Umerie (2000) de 8,42g/L. A origem do vegetal, assim como as condições climáticas da região e o local de extração da coleta podem influenciar na diferença entre os constituintes.

O teor de sólidos solúveis foi acima do descrito por Chooklin, Kaewsichan e Kaewsichan (2011), de 3,4 °Brix, e acima do encontrado por Gomes (2016), de 7,13° Brix. O acompanhamento do teor de sólidos solúveis é de extrema importância no decorrer do processo fermentativo, pois está relacionado com quantidade de açúcares presentes no mosto, e sua redução indica que está havendo o consumo do

substrato pelos micro-organismos presentes no meio. Quando o teor de sólidos não é adequado é necessário recorrer a processos onde se possa aumentá-los como ocorre com a chaptalização (adição de sacarose ao mosto) e a concentração por evaporação (COSTA et al., 2004). O teor de cinzas encontrado foi próximo ao determinado por Gomes (2016) (0,85%) e acima do descrito por Ikegwu, Okafor e Ochiogu, de 0,25%, para a seiva obtida da inflorescência do Óleo de Palma da Nigéria.

O valor de pH determinado foi acima do encontrado por Gomes (2016) (3,94) , próximo ao descrito por Kosugi et al. (2010) (5,0), para a seiva obtida do tronco do Óleo de Palma da Malásia, e abaixo (4,5) do descrito por Umerie (2000) para a seiva obtida da inflorescência do Óleo de Palma da Nigéria. O pH é um parâmetro que pode indicar a acidez ou basicidade de um meio, favorecendo ou inibindo o crescimento microbiano. Valores próximos ao encontrado no estudo, para a seiva bruta, podem tornar o meio propício ao crescimento de micro-organismos não produtores de EtOH sendo necessário o ajuste para valores ótimos ao crescimento das leveduras (CHAKRABORTY e RAYCHAUDHURI, 2012).

A acidez total titulável determinada foi próxima da encontrada por Oze e Ogan (1988), de 2,71%, para a seiva do Óleo de Palma obtida da inflorescência. A massa específica foi próxima à descrita por Kosugi et.al. (2010), Umerie (2000) e Gomes (2016) que obtiveram os valores de 1,07 g/cm<sup>3</sup>, 1,06 g/cm<sup>3</sup> e 1,02 g/cm<sup>3</sup>, para a seiva do Óleo de Palma da Malásia, Nigéria e Brasil, respectivamente. O resultado demonstrou que este parâmetro físico não sofre grande variação mesmo apresentando características geográficas distintas para o cultivo do vegetal.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO MOSTO

A Tabela 4 mostra as características da seiva do Óleo de Palma após etapa de concentração por evaporação. Observa-se que houve aumento no teor de sólidos solúveis, açúcares totais, açúcares redutores e pH se comparada com a seiva bruta (Tabela 3). Em relação à análise microbiológica, obtiveram-se valores de colônias <1 UFC/mL e <3 NPM/mL para bolores e leveduras e micro-organismo termotolerantes e totais, respectivamente. Evidenciando que o processo de concentração, além de promover o aumento do substrato no mosto foi eficaz para a redução da carga microbiana, pois após procedimento esta apresentou resultados satisfatórios.

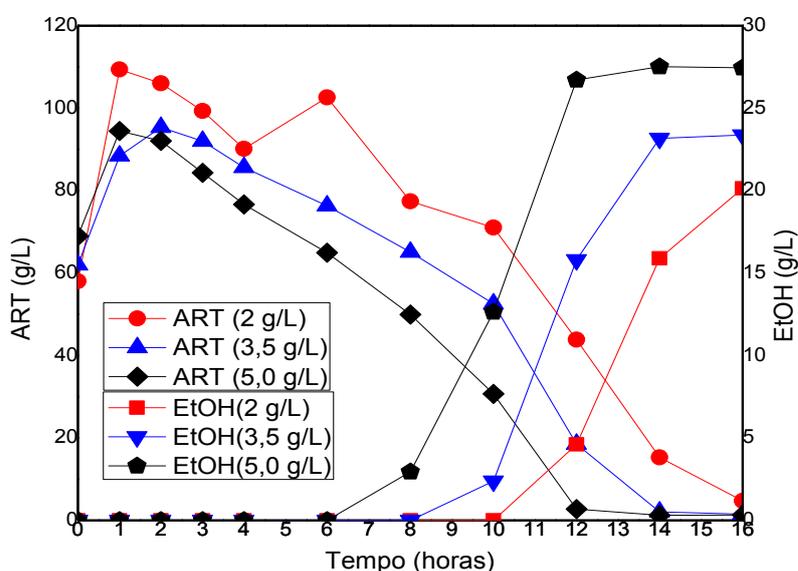
**Tabela 4** - Características físicas e físico-químicas da seiva concentrada

Composição	Seiva Concentrada
Sólidos Solúveis (°Brix)	14,13 ± 0,12
Açúcares Totais (g/L)	72,51 ± 0,50
Açúcares Redutores (g/L)	55,89 ± 1,83
pH	4,0 ± 0,00

Fonte: Do autor (2018).

### 5.3 CURVAS CINÉTICAS

A partir dos perfis cinéticos (Figura 8), é possível observar que ocorre aumento na concentração de ART, para ambas as fermentações, com a adição das células de *Saccharomyce cerevisiae* ao meio. Inicialmente, sem adição, tem-se concentração em 55,89 g/L e ao adicioná-los, obtém-se aproximadamente 58,0 g/L, 62,0 g/L e 69,0 g/L, para os inóculo com 2,0 ,3,0 e 5,0 g/L, respectivamente.

**Figura 8** - Perfis cinéticos da fermentação alcoólica

\*ART: Açúcares Redutores Totais

Fonte: Do autor (2018).

Na concentração com 2,0 g/L de células ,no tempo de 6 horas, também ocorre aumento dos ART é a parti deste tem-se rápida velocidade de consumo , do substrato, com maior intensidade entre 10 e 14 horas (aproximadamente 15 g/L), sendo a formação do produto mais acentuada entre 12 e 16 horas, atingindo

concentração máxima em 20g/L de EtOH, correspondente a 2,96 % (v/v) em °GL, e ART residuais de aproximadamente 4,70 g/L.

Na concentração contendo o inóculo com 3,5 g/L de células, o consumo de ART, pelas leveduras, é mais intenso entre os intervalos de 10 e 14 horas de fermentação, onde também inicia-se a formação acentuada de produto atingindo ao término (14 horas) concentração máxima de 23,37 g/L de EtOH, correspondente a 2,96 % (v/v) em °GL e ART residuais de aproximadamente 1,5 g/L.

Para a concentração de inóculo com 5,0 g/L de células o consumo de ART já é mais intenso nos intervalos entre 8 e 12 horas, onde também se pode evidenciar a formação acentuada do produto, atingindo o término em 12 horas com concentração máxima de 27,45 g/L de EtOH, correspondente a 3,50 % (v/v) em °GL e ART residuais de aproximadamente 1,31 g/L.

A presença de sacarose e amido, na seiva concentrada, pode ter influenciado no aumento dos ART, no mosto, nas primeiras horas das fermentações, em todas as curvas independente da concentração de células, devido a hidrólise da sacarose e amido em glicose e frutose por enzimas denominadas de invertases e amilases, sintetizadas para a quebra do substrato na nutrição e metabolismo das células inoculadas (Kosugi et al., 2010; Naknean et al., 2015; Adela et al., 2015).

As células de *Saccharomyces cerevisiae* são capazes de sintetizar enzimas para a nutrição dentre elas destacam-se as sacarases ou invertases ( $\beta$ -fructofuranosídeo-frutohidrolase, (EC. 3.2.1.26), que pode ser capaz de hidrolisar a sacarose e Amido (açúcar não redutor) em glicose e frutose (açúcares-redutores). São enzimas que podem estar presentes externamente e internamente, sendo suas propriedades muito similares. Apresentam atividade catalítica máxima em pH 3,5 e 5,0 e temperaturas entre 35 °C e 50°C (ALVARADO et al., 1990; REDDY et al., 1988; ARRUDA E VITOLLO, 199).

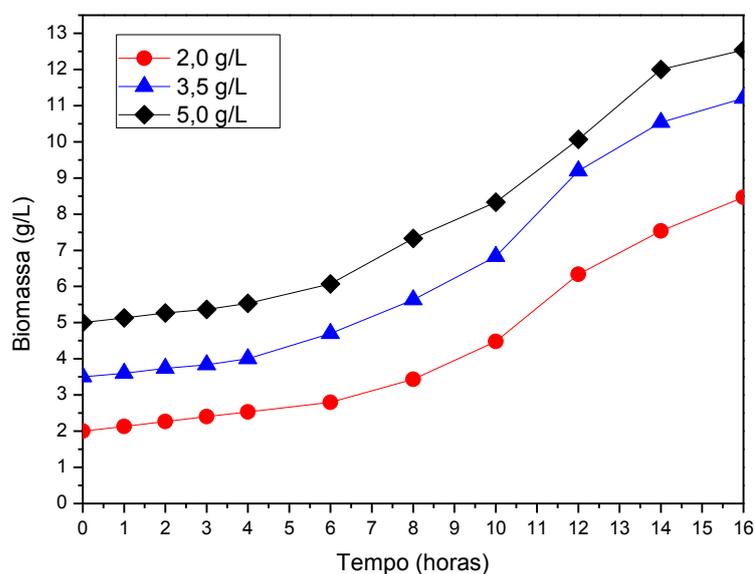
Yamada et al. (2010) estudaram a seiva do tronco do Óleo de Palma como fonte de açúcar para a produção de biotenoil e verificaram, em sua pesquisa, que o armazenamento (- 20° C), por congelamento em um longo período, influenciou no aumento da concentração de ART na seiva, devido à ação das enzimas específicas (Invertases e amilases) que hidrolisaram os açúcares presentes (Sacarose e Amido). O armazenamento das alíquotas a -20 °C, por 4 dias, em ambas fermentações, para posterior análise de ART pode também ter influenciado no aumento, devido a hidrólise da sacarose e amido em glicose e frutose.

Andrade, Pantoja e Maeda (2003) estudaram melhorias para o aumento do rendimento na bebida alcoólica de pupunha, adicionando sacarose a polpa como forma de aumentar o rendimento em teor alcoólico e tiveram como resultado um aumento significativo dos ART primeiras nas 24 horas de processo, devido a hidrólise da sacarose pelas enzimas invertases.

Almeida et al. (2006) estudaram a cinética de fermentação alcoólica do fruto de mandacaru e, ao adicionar sacarose, após 16 horas de fermentação, verificaram o aumento na concentração de açúcares redutores o que pode ter sido ocasionado pela quebra da sacarose em ART, resultando em maior disponibilidade de substrato.

A fase de adaptação ou fase lag, onde houve a síntese das enzimas necessárias para metabolizar os componentes presentes no meio, foi de aproximadamente 4 horas em simultâneo com aumento dos ART resultantes da hidrólise. O inóculo com a maior concentração requereu apenas 12 horas para termino do processo, com formação final de biomassa em 12,0 g/L, evidenciando que elevadas concentrações de células podem proporcionar fermentações mais rápidas (Mohd et al., 2017).

**Figura 9** - Perfis de formação de biomassa

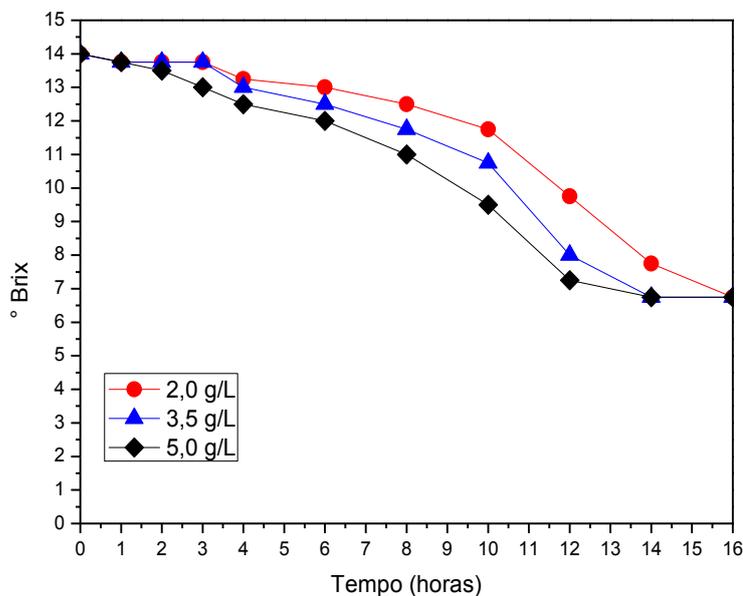


Fonte: Do autor (2018).

O acompanhamento do teor de sólidos solúveis (Figura 10) demonstrou, para ambas as concentrações de células, que o consumo de ART é mais lento nas 4 primeiras horas de fermentação, tornando-se mais rápido ao longo do processo,

sendo o estudo contendo a maior concentração celular(5,0 g/L) o mais rápido com tempo de consumo de 12h, seguido das concentrações de 3,5 e 2,0 g/L com tempos de 16 e 14 horas, respectivamente.

**Figura 10** - Teor de sólidos solúveis.



Fonte: Do autor (2018).

Quanto à formação de EtOH a análise estatísticas apontou que não houve diferença significativa para as concentrações de células, conforme evidenciado na Tabela 5. As concentrações de produtos obtidos estão dentro dos padrões permitidos pela legislação brasileira para elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas (Superior e inferior de 0,5 % (v/v) e 54 % (v/v), respectivamente).

**Tabela 5** - Formação de EtOH

Concentração de Células (g/L)	Etanol produzido (g/L)	°GL(%v/v)
2,0	20,14±4,13	2,55 <sup>a</sup>
3,5	23,37±3,71	2,96 <sup>a</sup>
5,0	27,45±5,43	3,50 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si. De acordo com o Teste de Tukey a 5% de significância. Análises realizadas em triplicata.

Fonte: Do autor (2018).

Os teores de EtOH ,obtidos, embora inferiores aos determinados por Dantas e Silva (2017), para o fermentado de Umbu (12,57°GL), Oliveira et al.(2015),para o fermentado de Laranja (7,3°GL), Perreira et al.(2014),para o fermentado misto de

Polpa de Açaí e Cupuaçu (6, 80 °GL), e Leite et al.(2013), para o fermentado misto de Caju, Umbu e Cajá (10,7°GL), apresentaram-se dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira enquadrando-se na classe das bebidas alcoólicas fermentadas com graduação alcoólica entre 0,5 e 54%

#### 5.4 PARÂMETROS CINÉTICOS

A Tabela 6 mostra os fatores de conversão do  $Y_{X/S}$ , do  $Y_{P/S}$ , eficiência e produtividade. É possível observar que nas maiores concentrações de inóculo se obteve os menores fatores de conversão do  $Y_{X/S}$ , os maiores fatores de conversão do substrato do  $Y_{P/S}$ , maiores eficiências e melhores taxas de produtividades Explicado pelo fato de haver menor disponibilidade de nutrientes do meio, para o metabolismo das leveduras permitindo, assim, melhor desempenho e melhor formação de EtOH.

**Tabela 6** - Parâmetros cinéticos da fermentação

Concentração de Células	$Y_{X/S}$	$Y_{P/S}$	Eficiência	Produtividade
2,0g/L	0,16 g/g	0,31 g/g	56,31%	1,26 g.L <sup>-1</sup> /h <sup>-1</sup>
3,5 g/L	0,12 g/g	0,39 g/g	73,77%	1,46 g.L <sup>-1</sup> /h <sup>-1</sup>
5,0 g/L	0,10 g/g	0,41 g/g	77,87%	1,72 g.L <sup>-1</sup> /h <sup>-1</sup>

Fonte: Do autor (2018).

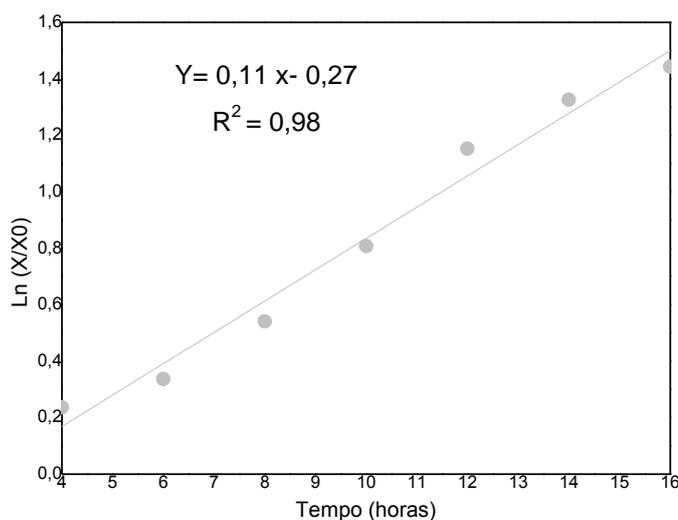
No inóculo com menor concentração o efeito é antagônico, pois embora apresentasse maior fator de conversão do substrato em células, obteve-se menor valor de conversão do  $Y_{P/S}$ , menor eficiência e menor taxa de produtividade. Demonstrando que elevada produção de células não resulta em mais formação de EtOH, explicado pelo fato de que em baixas concentrações de inóculo há maior disponibilidade de nutrientes, o que pode resultar no estresse osmótico das células, afetado a viabilidade do processo e os parâmetros cinéticos e consequentemente a formação de produto (Strehaiano et al.,1983).

Parente et al. (2014) estudaram a cinética de fermentação do Abacaxi Perola, utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada, e obtiveram como resultados 0,072g/g e 0,413g/g em fatores de conversão do  $Y_{X/S}$  e do  $Y_{P/S}$ . Oliveira et al.(2020) estudaram a Produção e Caracterização do fermentado de Manga, para

elaboração de uma nova bebida destilada, utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada, e obtiveram resultados em fatores de conversão do  $Y_{X/S}$  e do  $Y_{P/S}$  de 0,02g/g e 1,19g/g. Valim et al.(2016) estudaram a cinética de fermentação da carambola, utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada, e obtiveram como resultado 0,79 g/g e 0,67 g/g em fatores de conversão do  $Y_{X/S}$  e do  $Y_{P/S}$ . Fontan et al.(2011) estudaram a fermentação alcoólica do fermentado de melancia, utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae*, liofilizada, e obtiveram resultados de fatores de conversão do  $Y_{X/S}$  e do  $Y_{P/S}$  de 0,14 e 0,65. A diferença entre os fatores de conversão, encontrados na literatura, e os determinados neste trabalho, pode está relacionado com as características físicas, químicas e microbiologias das matérias-primas citada e estudada. Também é necessário ressaltar, que nos trabalhos comparativos, não houve aumento da concentração dos ART, durante as fermentações, o que pode ter influenciado no resultado dos parâmetros.

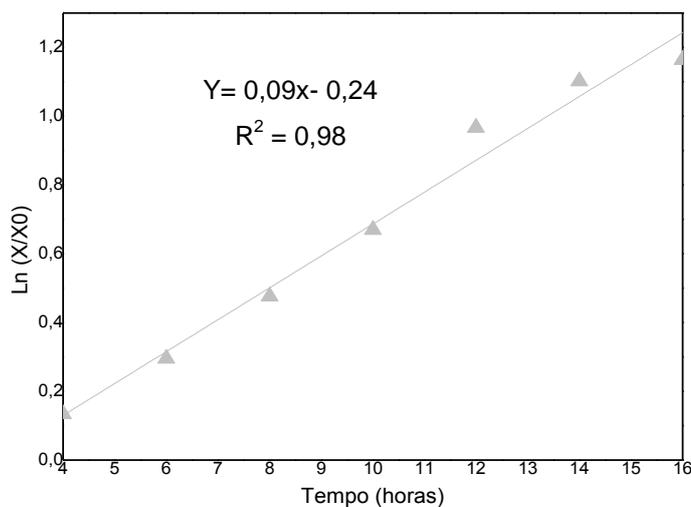
Eficiência e produtividade mostraram-se satisfatórios na concentração de inóculo contendo 5,0 g/L de células, quando comparados com os determinados por Carmo et al.(2011), para o fermentado de Umbu (49,77% e 1,55 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>), Carvalho et al. (2008), para o fermentado de cana (80,40 % e 0,42 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>), Silva (2004), para o fermentado de Caju (55,67% e 1,75 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>), e Bortoline et al.(2001) para o fermentado de Kiwi (55,67% e 0,78 g.L<sup>-1</sup>/h<sup>-1</sup>). As Figuras 11,12 e 13 mostram os valores de  $\mu_{máx}$  obtidos através do coeficiente angular das retas ajustadas à fase exponencial.

**Figura 11** - Linearização da curva de  $\mu_{máx}$  na concentração de 2,0 g/L de células



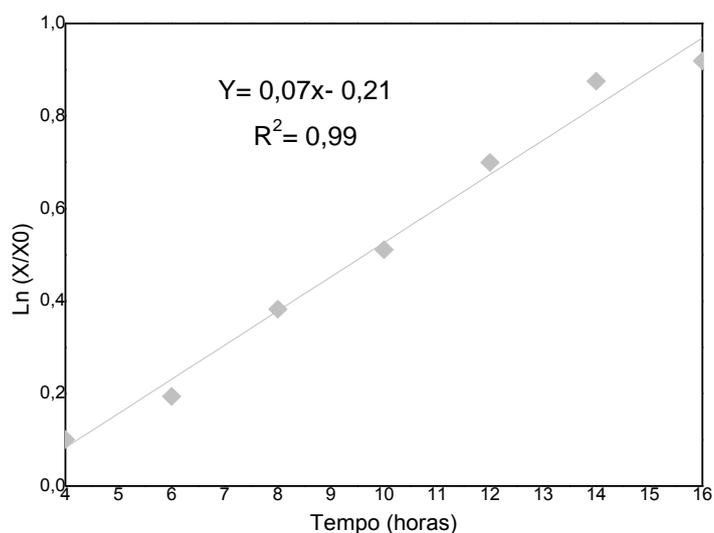
Fonte: Do autor (2018).

**Figura 12** - Linearização da curva de  $\mu_{\text{máx}}$  na concentração de 3,5 g/L de células



Fonte: Do autor (2018).

**Figura 13** - Linearização da curva de  $\mu_{\text{máx}}$  na concentração de 5,0 g/L de células



Fonte: Do autor (2018).

Nas concentrações mais baixas de células (2,0 e 3,5 g/L) a velocidade de crescimento é mais rápida ( $0,11 \text{ h}^{-1}$  e  $0,09 \text{ h}^{-1}$ ), decorrente da quantidade de ART, disponível no meio, para a nutrição dos micro-organismos. No entanto, rápida velocidade de crescimento não resulta em maior eficiência e produtividade, pois elevadas concentrações de substrato pode afetar o processo, devido o estresse osmótico ocasionando fermentações mais lentas. No inóculo com concentração de 5,0 g/L de células a velocidade de crescimento foi mais lenta ( $0,07 \text{ h}^{-1}$ ) gerando maior eficiência e melhor taxa de produtividade de EtOH, apresentando-se abaixo dos

descritos por Lopes et al.(2005) e Alvarado-Gonzales (2019), de  $0,20 \text{ h}^{-1}$  e  $0,16 \text{ h}^{-1}$ , para o fermentado de Manga com encapsulado de Guaraná e fermentado do fruto da Palma Forrageira, respectivamente, e acima do descrito por Oliveira et al.(2020), para o fermentado de Manga ( $0,03 \text{ h}^{-1}$ ). A velocidade específica de crescimento pode ser influenciada por diversos fatores como: nutrição do mosto, condições de cultivo, pH, temperatura, aeração entre outros.

Sultana et.al. (2017) estudando um modelo cinético matemático para a fermentação da seiva do tronco do Óleo de Palma, utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, observaram que as condições físicas, químicas e microbiológicas afetam a cinética, devido à complexidade do processo. O cálculo dos parâmetros bem como suas avaliações, é importante em um estudo fermentativo visto que, podem ser utilizados como indicadores futuros para modelagem e simulação dos processos.

O melhor estudo cinético para a produção da bebida alcoólica fermentada da seiva do Óleo de Palma foi o estudado com o inóculo contendo  $5,0 \text{ g/L}$  de células, pois embora utilize maior concentração de micro-organismos, obtém-se melhores resultados dos parâmetros cinéticos.

## 6 CONCLUSÕES

A seiva bruta do tronco do Óleo de Palma apresentou resultados físicos, físico-químicos e microbiológicos satisfatórios.

Todos os teores de EtOH, obtidos, foram dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira para a produção de bebidas Alcoólicas Fermentadas.

A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa, para a produção de EtOH, entre as cinéticas estudadas.

Os fatores de conversão do substrato em célula ( $Y_{X/S}$ ) e do substrato em produto ( $Y_{P/S}$ ) apresentaram melhores resultados para o inóculo de 3,5 e 5,0 g/L, respectivamente, demonstrando que maior produção de biomassa celular não resulta em maior formação de produto.

Eficiência e produtividade foram mais satisfatórios na cinética com concentração de 5,0 g/L de células.

O valor de  $\mu_{\text{máx}}$  obteve melhor resultado na cinética com maior concentração de células, devido menor crescimento e conseqüentemente maior taxa de produtividade e formação de EtOH.

A cinética mais promissória para elaboração da bebida alcoólica fermentada da seiva do tronco do Óleo de Palma foi a estudada com concentração de células contendo 5,0 g/L, devido apresentar melhores resultados em fatores de conversão do  $Y_{X/S}$ , do  $Y_{P/S}$ , eficiência, velocidade específica de crescimento e melhor produção de EtOH (3,50 % (v/v)).

## REFERÊNCIAS

ADELA, B.N.; LOG, S.K. Optimisation of fermentation conditions for bioethanol production from oil palm trunk sap by *Saccharomyces cerevisiae*. **Malasian Journal of microbiology**, v.11, n.12, p.163-169, 2016.

ALMEIDA, E.G. **Caracterização Físico-química e Microbiológica de Bebidas Fermentadas Produzida Pelos Índios Tapirapé**. 18p. Tese de Doutorado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2009.

ALMEIDA, M.M. et al. Cinética da produção do fermentado do fruto de Mandacaru. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.8, n.1, p.35-42, 2006.

ALTERTHUM, F. et al. Efeito dos microrganismos contaminantes da fermentação alcoólica nas microdestilarias. **Revista STAB**, v. 3, n. 1, p. 42-49, 1984.

ALVARADO, E. et al. Localization of alpha 1-3-linked mannoses in the N-linked oligosaccharides of *Saccharomyces cerevisiae* mnm mutants. **Biochemistry**, v.29, n.10, p.2471-2482, 1990.

ALVARADO-GONZALES, L. et al. Preparation of a Fermented mango-based drink with soursop encapsulation. **Revista Tecnológica Agroalimentaria**, v.3, n.1, 2019.

ALVES, F. **Modelagem e simulação de biorreator operando com fungos trametes versicolor para a produção de enzima lactase**. 2010. 25.p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de processos químicos e bioquímicos) Instituto universitário Mauá de tecnologia, São Caetano do Sul, 2010.

AMOA-AWUA, W. K. et al. Growth of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in palm wine during tapping and fermentation from felled oil palm. *Elaeis guineensis* Ghana. **Journal of Applied Microbiology**, v.102, n. 2, p. 599–606, 2007.

AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J. Infecção na fermentação: como evitá-la. **Álcool e Açúcar**, v. 2, n. 5, p. 12-18, 1982.

ANDRADE, J.S. PANTOJA, L.; MAEDA, R.N. Melhoria do rendimento e do processo de obtenção da bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*). **Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.34-38, 2006.

ANDRADE, M.B. et al. Fermentação alcoólica e caracterização de Fermentado de Morango. In: **BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports. Londrina**, v.2, p. 265-268, 2013.

AOAC. Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis**. 16 ed., 3 ver., Washington, p1141, 1997.

ARRUDA, L.; VITOLLO, M. Characterization of invertase entrapped into calcium alginate beads. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, n..81, p.23-33, 1999.

BAI, F. W. et al.. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances**, v.26, n.1, p.89-105. 2008.

BERGMANN, J.C. et al. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.21, p.411-420, 2013.

BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R.C. Comportamento das Fermentações Alcoólica e Acética de Sucos de Kiwi (*Actinidia deliciosa*); Composição dos Mostos e Métodos de Fermentação Acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p. 236-243, 2001.

BORZANI, W. et al. **Biotechnological industrial: Fundamentos**. São Paulo: Edgard Blücher, v.1, cap.9, p.249-252.

Brasil (2009). Decreto n. 6871 de Junho de 2009. Dispõe sobre a padronização, classificação, registro, fiscalização, produção e fiscalização de bebidas. Órgão Emissor:

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).** Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm).

BRASIL. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 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. **Diário Oficial da União (DOU)**, Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 62 de 26 de Agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília,DF, 2003.

BRASIL. Portaria n. 64 de 23 de abril de 2008. Aprovam os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saque. Brasília: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2008.

BUKAR, B.F.A. et al. Evaluations of some physical properties of oil palms alternative biomass resources. **Wood Material Science e Engineerring**,v.8, n.2, p.119-128, 2012.

CAETANO, A.C.G.; MADALENO.L.L. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. **Ciência & Tecnologia**, v.2, n.1, p.27-31, 2011.

CAMARGO, L.F.R.; MOREIRA, V.; VACARRO, G.L.R. Aplicação das técnicas de planejamento e análise de experimentos no desenvolvimento de novos produtos em uma empresa de saneantes. **Estudos Tecnológicos**, v.5, n.3, p.404-420, 2009.

CARDOSO, M. das G. (Ed.). **Produção de Aguardente de Cana**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 445p.

CARDOSO, S.; RUBESAM, J.A. **Elaboração e Avaliação de projetos para Agroindústrias: Série Educação á distancia**. 1ª Edição. 2011. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CARMO, S.K. et al. Caracterização de Fermentado de Umbu a partir de sua polpa comercial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, n.1, p.15-20, 2012.

CARMOLEZ, M.A.; MUTTON, M.R.J. Influencia de micro-organismos contaminantes sobre o processo fermentativo. **Tecnologia e Pesquisa**, v.23, n. 5, p.6-9, 2005.

CERQUEIRA, D.P. **Fermentação alcoólica de mosto com alta concentração de açúcar**. 2013.24 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

CHOOKLIN,S.; KAEWSICHAN,L.; KAEWSRICHAN, J. Potential utilization of sap from oil palm (*Elaeis guineensis Jacq*) for lactic acid production by lactobacillus casei. **Journal of sustainable energy & environment**.,v.2, p.99-104, 2011.

CIANI, M. et al. Yeast Interactions in Inoculated Wine Fermentation. **Frontiers in microbiology**, v. 7:555, 2016.

COSTA, W. S. et al. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.6, n.2, p.141-147, 2004.

DANTAS, C.E.A; SILVA,J.L.A. Fermentado Alcoólico DE Umbu: produção, cinética de fermentação e caracterização físico-química. **Holos**, v. 2, 2017, p. 108-121.

DASH, P.K. et al. Characterization, identification and comparative evaluation of bioethanol tolerance and production capacity of isolated yeast strains from fermented date palm sap (Toddy). **Malasian Journal of Microbiology**,v.11,n.3, p.223-230, 2015.

DAVIS, T.A.; JOHNSON, D.V.Current utilization and further development of the palmyra palm (*Borassus flabellifer L.*, areeaceae) In tamilnadu state, india,” **Economic Botany**, n.41, 247-266, 1987.

DIOHA, I.J.; OLUGBEMI, O.; ODIN, E.M.; ENEJI, M.A. Zero additives preservation of Raphiapalm wine. **International Journal Biological and Chemical Science**, v.3, n.6, p.1258-1264, 2009.

FAISAL, M. F. M.; MAHIDIN, M. Biomass Residue from Palm Oil Mills in Aceh Province: A Potential Usage for Sustainable Energy. **Advanced Science Engineering**, v.3, n.3, p. 2088 – 5334, 2013.

FERRARI, F.C.S. **Fatores operacionais e cinéticos do processo fermentativo para a otimização da produção de etanol em escala industrial**. (2011). 28p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) -Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

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

FONTAN, R.C.I. Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. **CEPPA**, v. 29, n. 2, p. 203-210, 2011.

GHOSH, S.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. Optimizing process conditions for palm (*Borassus flabellifer*) wine fermentation using Response Surface Methodology. **International Food Research Journal**, v. 19, n.4, p.1633-1639, 2012.

GOLVEIA, C. **Laboratório de Análises de Pesquisa de Bebidas Alcoólicas : Bebidas Alcoólicas Indígenas**. Departamento de Engenharia Química – DEC-CT. 2018. Disponível em < <http://www.ct.ufpb.br/lba/contents/menu/produtos/bebidas-alcoolicas-indigenas>> Acessado em 15/05/2019.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R. B.; ELPO, E.R. Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás de *Cymbopogon citratus*(D.C) stapf (capim-limão). **Acta Scientiarum. Health Science**, v.30, n. 1, p.47-54, 2008.

GOMES, L. **Caracterização e pasteurização da seiva do dendezeiro (*Elaeis guineenses Jacq*)**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciencia e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Pará. Belém-PA, 2016.

GUPTA, R.C.; JAIN V.K.; SHANKER, G. Palm sap as a potential starting material for vinegar production. **Research and industry**,v.25, p. 5–7, 1980.

HASHIM, R. et al. Properties of binderless particleboard panels manufacture from oil palm biomass. **Bio Resources**, v.7,n.1, 2012.

HEARD,G.M.; FLEET, G.H. Growth of Natural Yeast Flora during the Fermentation of Inoculated Wines. **Applied and environmental microbiology**,v.50, n. 3, p.723-728, 1985.

HISS, H. et al. **Cinética de Processos Fermentativos**. Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgard Blücher, v.2, cap. 6, p. 93-122, 2001.

HOSSAIN, N.; JALIL, R. Sugar and bioethanol production from oil palm trunk (OPT). **Asia Pacific Journal of Energy Evironment**,v..2, n..2, p.81-84, 2015.

IKEGWU T.M., OKAFOR G. I., OCHIOGU IS. Effect of Preservation Methods of Oil Palm Sap (*Elaeis guineensis*) on the Reproductive Indices of Male Wistar Rats. **Journal of Medicinal Food**,v.17, n.12, p. 1368-1374, 2014.

JENS, N. **Fermentation Kinetics from: Fermentation Microbiology and Biotechnology CRC Press**. 2011. <Disponível em: <https://www.routledgehandbooks.com/doi/10.1201/b11490-4>.

KARAMOKO, D. et al. The biochemical and microbiological quality of palm wine samples produced at different periods during tapping and changes which occurred during their storage. **Food Control**, v.26, p.504-511, 2012.

KOBAYASHI, M. et al. Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation. **Journal Biosci Bioeng** , v.106, n.4, p.317-323, 2008.

KOK, S; et al. Comparison of nutrient composition in kernel of tenera and clonal materials of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Food Chemistry**, v.129,n.4, p.1343-1347, 2011.

KOSUGI, A. et al. Ethanol and lactic acid production using SAP squeeze from oil palm trunks felled for replanting. **Journal of Bio Science and Bioengineering**. v.110, n.3, p.322-325, 2010.

KUSS, V.V.K. et al. Reyes Potential of biodiesel production from palm oil at Brazilian Amazon. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.50, p.1013-1020, 2015.

LAI, L. W.; YAHYA; S. S. M.; NOR, N. M.; SULONG, M. R. Enzymatic saccharification on ammonia pre-treated oil palm trunk biomass for glucose production: an optimization using response surface methodology. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v.20, n.1, p.21-30, 2016.

LAMAMING, J. et al. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from parenchyma and vascular bundle of oil palm trunk (*Elaeis guineensis*). **Carbohydrate Polymers**.n.134, p.534-540, 2015.

LEITE, C.A. et al. Processamento e avaliação físico-química do fermentado de caju + umbu-cajá. **Revista Verde**, v. 8, n. 1, p. 98 - 103, 2013.

LIMA, U. A. et al. **Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

LLEIXÀ, J. et al. *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* Competition during Microvinification under Different Sugar and Nitrogen Conditions. **Frontiers in Microbiology**, v.7:1959, 2016.

LOPES, R.V.V. et al. Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da Palma Forrageira. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.7, n.1, p.25-32, 2005.

LUDIN, N. A. et al. Malaysian oil palm plantation sector: exploiting renewable energy toward sustainability production. **Journal of Cleaner Production**, v.65, p.9-15, 2014.

MADIGAN, M. T. et al. **Brock Biology of Microorganisms**. Fourteenth edition. Boston: Pearson, 2015.

MBUAGBAW, L.; NOORDUYN, S. G. The palm wine trade: occupational and health hazards. **International Journal of Occupational and Environmental**. v 3, n.4, p.157-164, 2012.

MEGA, J.F; NEVES,E; ANDRADE, C.J. Revisão: A Produção de Cerveja no Brasil. **Revista: Cintino** ,v.1, n.1, p.34-42, 2011.

MERCOSUL. Resolução nº 45 de 1996 do GMC. Regulamento Vitivinícola do Mercosul. In: **LEGISLAÇÃO vitivinícola**. Bento Gonçalves: Ibravin. Disponível: <<http://www.ibravin.org.br/Mercosul>>. 2016.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426- 428.

MOHD, A.S.H. Et al (2017).Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and biophysic reports**.,v. 21:p. 52–61.

MONTEIRO, C.C. et al. Deforested and degraded land available for the expansion of palm oil for biodiesel in the state of Pará in the Brazilian Amazon. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 867–876, abr. 2015.

MURATA, Y. et al. Development of sap compressing systems from oil palm trunk. **Biomass and Bioenergy**.v.51, p. 8-12, 2013.

NAGODAWITHANA,T.W.; STEINKRAUS,K.H. Influence of the rate of ethanol production and accumulation on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in rapid fermentation. **Applied Environmental Microbiology**, v. 31, 1976.

NAKNEAN, P.; JUTASUKOSOL, K.; MANKIT, T. Utilization of chitosan as an antimicrobial agent for

pasteurized palm sap (*Borassus flabellifer* Linn.) during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.2, 731–741. 2015.

NAKNEAN, P.; MEENUNE, M.; ROUDAUT, G. Characterization of palm sap harvested in Songkhla province, Southern Thailand. **International Food Research Journal**, v.17, n.4, p. 977-986, 2010.

NOBRE, T.P., HORII, J., ALCARDE, A.R. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, p. 20-25, 2007.

NOPARAT, P.; PRASERTSAN, P.; SOMPONG, O. Potential for using enriched cultures and thermotolerant bacterial isolates for production of biohydrogen from oil palm sap and microbial community analysis. **Internacional Journal of Hidrogen Energy**, v. 37, p.16412-16420, 2012.

NORHAZIMAH, A.H.; FAIZAL, C.K.M. Bioconversion of oil palm trunks SAP to bioethanol by different strains and co- cultures at different temperatures. **Journal of medical and bioengineering**, v.3, n.4, 2014.

OGBULIE, T.E.; OGBULIE, J.N.; NJOKU, H.O. Comparative study on the microbiology and shelf life stability of palm wine from *Elaeis guineensis* and *Raphia hookeri* obtained from Okigwe, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.7, p. 914 – 922, 2007.

OKEKE, B. C. et al. Wine Production from Mixed Fruits (Pineapple and Watermelon) Using High Alcohol Tolerant Yeast Isolated from Palm Wine. **Universal Journal of Microbiology Research**, v. 3, n.4, p. 41 – 45. 2015.

OLIVEIRA, J.P.M et al. Produção de fermentado alcoólico de laranja. **Revista Verde**, v. 10, n.3, p 35 - 41, 2015.

OLIVEIRA, P.N. et al. Production and Characterization of a new mango distilled beverage. **Sci. Agric**, v.79, n.1, 2022.

OPARA,C.C.; AJOKU,G.; MADUMELO, N.O. Palm Wine Mixed Culture Fermentation Kinetics. **Greener Journal of Physical sciences**,v.3,n.1, p.028-0,37, 2013.

ORDÓÑEZ, J.A.P et al. **Tecnologia de Alimentos**: Componentes dos Alimentos e Processos. Porto Alegre: Artmed, v.1, p.203-204, 2005.

ORTEGA, J.F.; ZONA, S. Sweet sap from palms, a source of beverages, alcohol, vinegar, syrup, and sugar. **Vieraea**. v 14, p. 91-114,2013.

OUOBA,L.et al. The microbiology of bandji, palm wine of *borassus akeassii* from burkinafaso: identification and genotypic diversity of yeasts, lactic acid and acetic acid bacteria. **Journal of Applied Microbiolog**, v. 113, p. 1428–1441,2012.

OZE, M.O.; OGAN, A.Z. Sugars of the unfermented sap and the wine from the oil palm (*Elaeis guineensis*). **Plant Foods Hum Nutri**, v.38, p.121-128, 1988.

PARENTE, G.D.L., DE ALMEIDA, M.M., DA SILVA, J.L., DA SILVA, C.G., & ALVES, M.F. Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi ‘pérola’ e caracterização da bebida. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**,v.9, n.2, p.230-247, 2014.

VALIM, F. et al. Star Fruit Alcoholic Fermented Beverage. **Indian Journal of Microbiology**, v.56, p.476-481, 2016.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia - Conceitos e Aplicações**. 2<sup>a</sup> Ed. Editora Makron Books, São Paulo, 1996.

PEREIRA, A.S. et al. Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de Açaí e Cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1,p. 1216-1226, 2014

PINTO, A. A. et al . Separation of *Saccharomyces cerevisiae* from alcoholic fermentation broth by two commercial hydrocyclones. **Separation and Purification Technology**, v.120, p.69-77, 2013.

REDDY, A. et al Characterization of glycosylation sites in yeast external invertase. **The Journal Biological Chemistry**, n.15, v. 263, p.6978-6985, 1988.

SABLAYROLLES, J. M.; BARRE, P. Kinetics of alcoholic fermentation under anisothermal enological conditions. Prediction from the kinetics under isothermal conditions. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 44, n. 2, 1993.

SANTIAGO- URBINA, J. A.; RUIZ TERÁN, F. Microbiology and biochemistry of traditional palm wine produced around the world. **International Food Research Journal**, v.21,n.4, p.1261-1269, 2014.

SERNER, A.; CABAS, A.; ONAL.M.O. The Effect of Fermentation Temperature on the Growth Kinetics of Wine Yeast Species. **Turk J Agric For**, v.31, p.340-354, 2007.

SHAHIRAH, M. N. N. et al. Influence of nutrient addition on the bioethanol yield from oil palm trunk sap fermented by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.23, p.213-217, 2015.

SILVA, F. A. L. **Exigências nutricionais e operacionais para a produção de etanol pela levedura IQ-Ar/45-1 a partir do melão em batelada alimentada**. 2010. 97 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

SILVA, F.V.M E GIBBS, P.A. **Principles of Thermal Processing: Pasteurization**. Engineering Aspects of Thermal Food Processing. Boca Raton, EUA: Editors: Simpson R, cap.2, p.15, 2009.

SILVA, M. E. **Estudos cinéticos da fermentação alcoólica da produção de vinho e da fermentação acética de produção de vinagre de vinho de caju**. 2004.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Campina Grande, João Pessoa, 2004.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. ed 3. São Paulo, Varela, 2007.

SKINNER, K. A.; LEATHERS, T. D. Bacterial contaminants of fuel ethanol production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 401-408, 2004.

SOARES, T.L.; SILVA, C.F.; SCHWAN, R.F. Acompanhamento do processo de fermentação para a produção de cachaça através de método microbiológicos e físico-químicos com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.1, v.8, p. 184-187.

SOUSA, J. L. U.; MONTEIRO, R.A.B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol. **FAZU em Revista**. n.8, p.100-107, 2011.

STATISTICA. **Programa Statistica for Windows**, versão 7.0 Tulsa, EUA: Stat Solft, Isse, 2000, CO-ROM.

STREHAIANO P, Mota M e Goma G(1983). Effects of inoculum level on kinetics of alcoholic fermentation. **Biotechnology**, v.5, p.135-140.

STRINGINI, M.; COMITINI, F.; TACCARI, M.; CIANI, M. Yeast diversity during tapping and fermentation of palm wine from Cameroon. **Food Microbiology**, v.26, p.415-420, 2009.

STROPPIA, C. T.; ALVES, J. G. L. F.; FIGUEIREDO, A. L. F.; CASTRO, C. C. Parâmetros cinéticos de linhagens de levedura isoladas de alambiques mineiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1978-1983, 2009.

SUKRI, S. S. M. Optimization of Alkaline Pretreatment Conditions of Oil Palm Fronds in Improving the Lignocelluloses Contents for Reducing Sugar Production. **Romanian Biotechnological Letters**, v.19, n.1, p. 9006-9018, 2014.

SULAIMAN, O. et al. The potential of oil palm trunk biomass as an alternative source for compressed Wood. **Bioresources**, v.2, n.7, p. 2688-2706, 2012.

SULTANA S. et al. A mathematical model for ethanol fermentation from oil palm trunk sap using *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Physics: Conference Series**, 890: 012050, 2017.

SZYMONA, K. et al. Valorization of waste oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) biomass through furfurylation. **Materials and Design**, v.53, p.425-428, 2014.

TAPSOBA, F. et al. Diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from *Borassus akeassii* palm wines from Burkina Faso in comparison to other. **International Journal of Food Microbiology**, v.211, n.15, p.128-133, 2015.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 827p. 2012.

UMERIE, S. C. Caramel production from saps of American oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) and wine palm (*Raphia hookeri*) trees. **Bioresource Technology**, n.75, p.167-169, 2000.

VALIM, F. et al. Production of Star Fruit Alcoholic Fermented Beverage. **Rev. Indian J Microbial**, v.4, n.52, p 476-481.

VARELA, C. The Impact of Non-Saccharomyces Yeasts in the Production of Alcoholic Beverages. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, n.23. 9861–9874. 2016.

WYK, B.E.V. The potential of South African plants in the development of new food and beverage products. **South African Journal of Botany**, v.77, p.857-868, 2011.

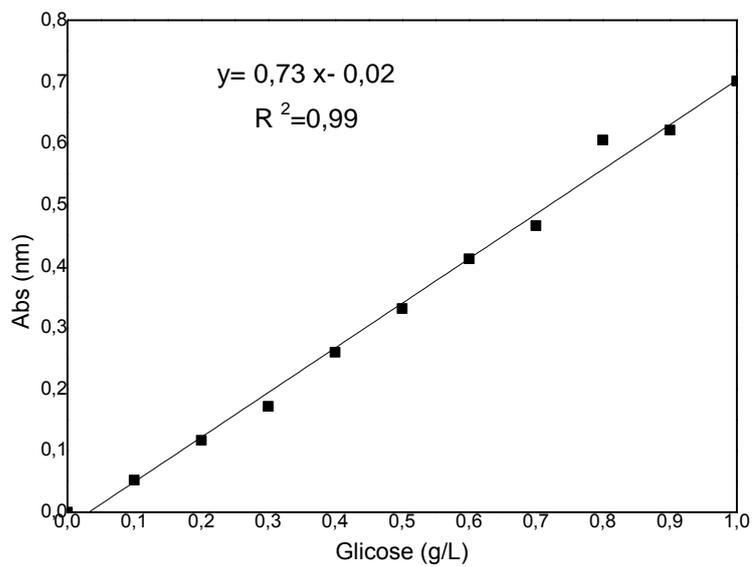
YAMADA, H.; TANAKA, R.; SULAIMAN, O.; HASHIM, R.; HAMID, Z.A.A.; YAHYA, M.K.A.; KOSUGI, A.; ARAI, T.; MURATA, Y.; NIRASAWA, S.; YAMAMOTO, K.; OHARA, S.; MOHD YUSOF, MOHD NOR; IBRAHIM, WAN ASMA.; MORI, Y. Old oil

palm trunk: A promising source of sugars for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**.v.34, p.1608-1613, 2010.

ZIADI, M.; GAABEB, N.; MRABET, A.; FERCHICHI, A. Variation in physicochemical and microbiological characteristics of date palm sap (*Phoenix dactylifera*) during the tapping period in oasian ecosystem of Southern Tunisia. **International Food Research Journal**,v. 21,n.2, p.561-567, 2015.

ZINNAI, A.; VENTURI, F.; SANMARTIN, C.; ANDRICH, G. The kinetics of alcoholic fermentation by two yeast strains in high sugar concentration media. **Journal BioprocessBiotech**, v. 3, n. 2, p. 1-5, 2013.

## APÊNDICE

APÊNDICE A CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DOS ART  
EM GLICOSE

Fonte: Do autor (2018)