



PRODUÇÃO DE FERMENTADO DE ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)

M. B. MUNIZ¹, F. L. H. da SILVA², J. P. GOMES¹, C. G. da SILVA¹, A. S. ROCHA¹, S. F. M. SANTOS²

¹Universidade Federal de Campina Grande

²Universidade Federal da Paraíba

E-mail para contato: mbmmuniz@yahoo.com

RESUMO –A algarobeira é hoje no Brasil, uma espécie de grande importância para a região Nordeste, tanto por suas múltiplas utilidades, quanto por sua perfeita adaptação às condições edáficas e climáticas do semi-árido nordestino. Neste trabalho propôs-se avaliar a produção de uma bebida fermentada utilizando às vagens de algaroba tendo como agente fermentativo a levedura *Sacharomyces cerevisiae*, verificando-se a influência da concentração inicial de levedura e concentração inicial de °Brix sobre o processo fermentativo. Foram observados, em geral, uma queda acentuada para o teor de açúcares redutores totais até o tempo de 10 h. Observou-se um consumo moderado do substrato até o tempo final de 14 e 18 h. A maior concentração de etanol obtida neste trabalho com a produção de fermentado das vagens de algaroba foi de 8,95 °GL.

1. INTRODUÇÃO

A algarobeira (*Prosopis juliflora*) é uma espécie vegetal leguminosa, não oleaginosa, nativa das regiões áridas e semi-áridas das Américas, África e Ásia, sendo que nesta última se concentra a maioria das 44 espécies do gênero *Prosopis*, apresentando, portanto, admirável amplitude de adaptação (Perez & Moraes, 1991).

No Nordeste brasileiro, essa xerófita, introduzida no início da década de 40, com o objetivo de alimentar animais e para ser utilizada em reflorestamento, aparece atualmente como uma possível fonte de alimento alternativo para o homem Silva *et al.* (1993). A algarobeira é uma leguminosa arbórea que concentra a maior parte do seu valor nutritivo nas vagens (frutos), constituindo-se rica fonte de carboidratos e proteínas. Estudos sobre a utilização da algaroba como fonte alimentar para várias espécies como bovinos, ovinos, suínos, aves, têm sido desenvolvidos com o objetivo de tornar viável sua inclusão em rações, bem como minimizar os custos da produção animal (Talpada & Shukla, 1988).

Durante a fermentação alcoólica, as leveduras produzem etanol, dióxido de carbono e um grande número de componentes secundários, sendo os mais abundantes os álcoois superiores, porém, muitos compostos presentes em menores quantidades também



desempenham um papel importante no desenvolvimento do sabor das bebidas Lehtonen & Jounela-Eriksson, 1983).

De acordo com Torres Neto *et al.* (2006) tanto os vinhos como os fermentados de frutas dividem-se em três classes para a quantidade de açúcares residuais. Primeira classe apresentam-se os vinhos do tipo seco, com até 5 g L^{-1} , para a segunda classe, encontra-se na faixa de 5 e 20 g L^{-1} são os do tipo meio seco e a última classe dos vinhos suaves com mais de 20 g L^{-1} .

Barwal (1991) em um estudo com bebidas alcoólicas de maçã encontrou que o suco continha teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) de 9,4 a 14,0, dependendo da variedade, e o vinho apresentou um teor de álcool de 1,0 a 3,5% de peso, o autor relatou que o mosto foi inoculado com 5,0% de levedura ativa de *Saccharomyces cerevisiae* e fermentado a 25°C . Neste trabalho realizou-se a caracterização físico-química e o estudo cinético da fermentação alcoólica para produção do fermentado das vagens de algaroba, como também utilizando o agente fermentativo à levedura *Sacharomyces cerevisiae*.

Segundo Silva (2008), por influência dos fatores como tipo de solo, clima dentre outros, as vagens da algarobeira podem apresentar variação na sua composição físico-química. No entanto em média contém cerca de: 13% de água, 40% de açúcares totais, destes, 38% não redutores (sacarose), 3,1% redutores (glicose, frutose), 15% de fibra, 2,5% de materiais minerais e o restante dividido entre compostos nitrogenados, pectinas e ácidos. De acordo com o mesmo autor, essa avaliação é importante, pois alguns vegetais ricos em pectina podem gerar metanol e acetato na sua fermentação, tornando o fermentado inadequado para consumo. Durante os experimentos para produção de aguardente, do vinho e do vinagre, foram realizados testes qualitativos para avaliar o nível de pectina no caldo. Os resultados indicaram que os valores encontrados não tiveram influência na concentração de metanol confirmado por análises de cromatografia gasosa no fermentado (vinho), enquadrando-se, portanto dentro dos padrões legais exigidos pela legislação.

Neste trabalho realizou-se a caracterização físico-química e o estudo cinético da fermentação alcoólica para produção do fermentado das vagens de algaroba.

2.MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado na fermentação alcoólica para a produção do fermentado, com levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico comercial, marca *Fleischmann*), onde o mesmo encontrava-se com a umidade de 70%. Antes da inoculação foram ajustados os caldos para as concentrações de sólidos solúveis totais de 15, 18 e 21% (v/v), e as concentrações de leveduras de 10, 15 e 20 g L^{-1} de acordo com o planejamento fatorial aplicado.



Após a inoculação dos caldos, foi realizada a fermentação alcoólica para a obtenção do fermentado de algaroba em biorreatores de polietileno, em sete bateladas com a capacidade máxima de 3L cada, dispostos de um sistema, de descarga no fundo do recipiente, deixando a parte da massa celular separada do fermentado no final da fermentação. A etapa do processo das análises da fermentação foi realizada no tempo zero, dando-se continuidade de duas em duas horas até o final do experimento. Neste período foram determinados o pH, acidez total, temperatura, teor alcoólico, sólidos solúveis, teor de biomassa, açúcares redutores totais (ART) e a acidez fixa do fermentado.

Para esse estudo, foi utilizado o planejamento fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais, onde todas as variáveis são quantitativas, sendo as variáveis independentes: concentração de leveduras (g L^{-1}) e sólidos solúveis totais ($^{\circ}\text{Brix}$), e as dependentes: produtividade de álcool etílico (g L^{-1}), percentual de rendimento teórico (Y_p/s), percentual de rendimento em biomassa (Y_x/s) e percentual de conversão, totalizando assim, 07 experimentos, como observado na matriz de planejamento da Tabela 1.

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial $2^2 + 3$ no ponto central, da fermentação alcoólica do caldo da algaroba (*Prosopis juliflora*)

Ensaio	Sólidos solúveis totais (%)	Concentração de leveduras (g L^{-1})
1	- 1 (15%)	-1 (10 g L^{-1})
2	+1 (21%)	-1 (10 g L^{-1})
3	- 1 (15%)	+1(20 g L^{-1})
4	+ 1 (21%)	+1(20 g L^{-1})
5	0 (18%)	0 (15 g L^{-1})
6	0 (18%)	0 (15 g L^{-1})
7	0 (18%)	0 (15 g L^{-1})

Após o término da fermentação alcoólica foi realizado o processo da filtração do material fermentado (mosto) que se encontrava em repouso nos biorreatores, tanto o fermentado quanto a biomassa foram drenados pela parte inferior dos biorreatores, onde se localizava duas válvulas de escapes.

Ao término da fermentação alcoólica, retirou-se 1 alíquota de 50 mL para realização das análises físico-químicas do fermentado. A separação do meio líquido do fermentado da massa celular, foi feita por centrifugação, onde foi colocado o material em 4 cubas de 100 mL para ser decantado numa centrifuga da marca Excelsa II, Modelo 206 BL, com a velocidade de 3000 rpm por um período de 10 min.

No final do processo foi utilizada a pasteurização com o objetivo de eliminar os microrganismos que não são desejáveis no produto (bebida). Esse processo se deu através do

fermentado dentro de garrafas pets, hermeticamente fechadas para não haver problemas de entrada de ar, água e outros materiais que interferiam nas amostras. Essas garrafas foram colocadas dentro de um pasteurizador a uma temperatura de 65 ± 1 °C, por cerca de 30 minutos, em seguida foi dado um choque térmico, com água à temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C).

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

A determinação de sólidos solúveis totais foi realizada por densimetria, utilizando-se um sacarímetro de brix imergindo o mesmo em uma proveta graduada contendo 500 mL de caldo de algaroba e corrigindo-se a leitura obtida para a temperatura do caldo a 20 °C, conforme a metodologia descrita por Brasil (2005).

A acidez total foi determinada por titulometria conforme metodologia descrita por (Brasil, 2005).

A concentração celular (biomassa) foi determinada adotando-se o método de massa seca que consiste em separar as células do meio, secá-las e pesá-las. A princípio, os tubos de eppendoff, com a capacidade de 1,5 mL cada, foram preenchidos com o fermentado de algaroba, e em seguida foram colocados no centrifugador por cerca de 10 min, com uma rotação média de 3.000 rpm. Em seguida foi realizado o processo de lavagem do material (repetido por duas vezes). Ao término das lavagens, o material foi levado para estufa a 105 °C por 24 h, e em seguida pesado. O cálculo para determinar a biomassa, foi feito por diferença entre a massa inicial (M1) e a massa final em gramas (M2), dividida pelo volume (V) da amostra utilizado (1,5 mL), multiplicado por 1000 para obter o valor em $g L^{-1}$.

A metodologia empregada para determinação de açúcares redutores totais (ART) foi a do DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico), o aparelho utilizado para fazer as leituras foi o espectrofotômetro tipo UV, na leitura de 540nm, o método descrito por Miller (1959). Calculou-se o ART através da Equação 1.

$$ART = Abs \times F \times V_{diluição} \times 5 \quad (1)$$

Em que:

ART - Teor de açúcares redutores totais

Abs - Absorbância

F - Fator de conversão de ABS em ART na solução (2,135)

$V_{diluição}$ - Volume da diluição da amostra

5 - Soma das resultantes das soluções de 1mL HCL 2N, 3mL de NaOH 1N e 1mL da amostra

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme o planejamento fatorial foram realizados sete experimentos para a produção do fermentado, durante esse processo foi observado alguns desempenhos nos dados dos açúcares redutores totais, para tanto, é bom salientar que não houve nenhum processo de chaptalização no meio do mosto para corrigir o ART e sim corrigido em °Brix com o próprio caldo das vagens de algaroba. A Figura 1 demonstra todo o comportamento desses processos.

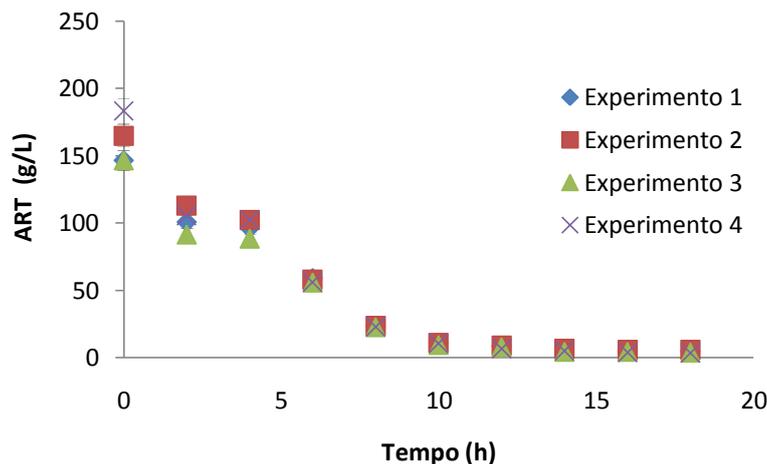


Figura 1 -Comportamento dos açúcares redutores totais durante o processo de fermentação alcoólica da produção do fermentado da algaroba (°Brix e concentração de leveduras).

Observa-se na Figura 1, perfis de decaimento de ART ao longo do processo fermentativo, similares para os 4 experimentos, com valores de °Brix e concentração de leveduras iniciais diferentes.

De acordo com a Figura 1, pode-se verificar que os experimentos 1 e 3 que possuíam um menor valor de sólidos solúveis totais, ou seja, de 15 °Brix, uma acentuada queda nos açúcares redutores totais devido ao consumo do próprio açúcar que estava contido no mosto, essa redução acentuada foi observada até o tempo de 10 h, onde depois foi observada uma queda da concentração mais lenta.

Para os experimentos 2 e 4, com os teores iniciais de 21 °Brix observou-se também que houve um consumo acelerado de açúcar até o tempo de 10 h, dando uma desacelerada até o tempo final da fermentação. No tempo de 18 h de fermentação, foi observado para o experimento 1, um nível de $4,58 \text{ g L}^{-1}$ e para o experimento 3, um nível de $4,07 \text{ g L}^{-1}$ de ART. Isso significa dizer que houve um consumo do substrato de 97% para os experimentos 1 e 3. Para os experimentos 2 e 4 (reatores) observou-se no tempo de 18 h uma concentração de ART de $5,99$ e $3,56 \text{ g L}^{-1}$, tendo um consumo de açúcares de 97 e de 98% respectivamente.

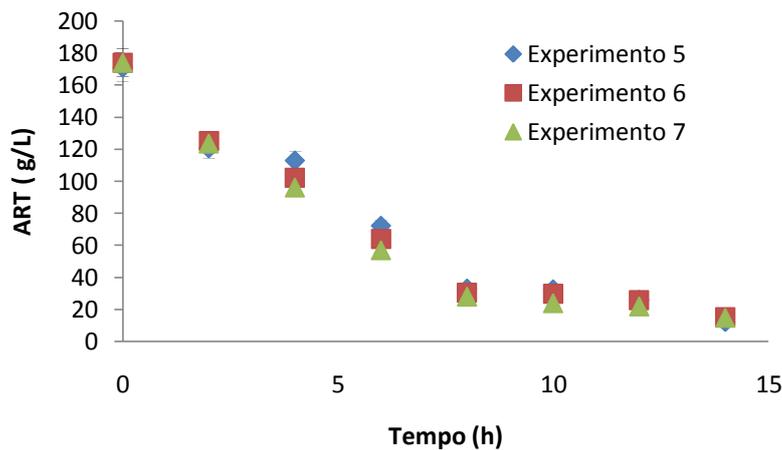


Figura 2 - Comportamento dos substratos (ART) durante o processo de fermentação alcoólica em 3 experimentos do ponto central ($^{\circ}$ Brix e concentração de leveduras).

Observando a Figura 2, verifica-se que houve uma redução na concentração de ART nas primeiras 8 h da fermentação alcoólica para todos os experimentos tornando-se mais lenta até o tempo 14 h, atingindo um nível médio final de $14,08 \text{ g L}^{-1}$ de ART com 14 h de fermentação em decorrência do consumo do substrato pelo microrganismo, indicando que o substrato já havia sido consumido quase que completamente. Observa-se que houve a redução da concentração de ART até o tempo de 14 h, atingindo uma concentração média final de ART de $4,55 \text{ g L}^{-1}$, mostrando assim, um consumo do 92,70%. Com relação a reprodutibilidade dos experimentos nas mesmas condições (ponto central), observa-se uma boa reprodutibilidade dos dados cinéticos, verificando-se perfis semelhantes.

Através da produção de etanol durante o processo de fermentação do mosto das vagens de algaroba, observados nas Figuras 3 e 4 dos experimentos, dará suporte para determinar os resultados referentes aos parâmetros de percentagem de conversão, produtividade e rendimentos teóricos da cinética fermentativa.

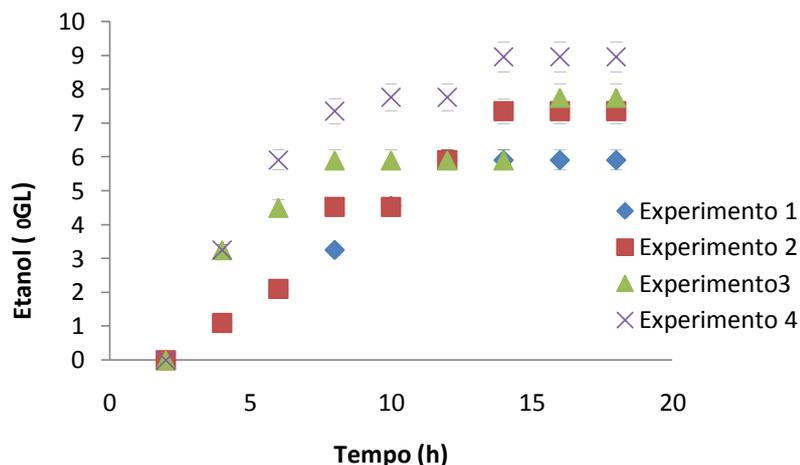


Figura 3 - Comportamento de produção de etanol durante a fermentação alcoólica nos experimentos 1, 2, 3 e 4.

Observa-se que houve um aumento das concentrações de etanol nos experimentos, a partir do tempo de 2 h até o tempo de 18 h. Verifica-se que para o experimento 1 relativo ao biorreator com 15 °Brix e 10 g de levedura, obteve-se a menor produção de álcool, ou seja, de 5,9 °GL (%v/v), correspondendo a uma concentração de etanol de 46,58 g L⁻¹.

Resultado semelhante foi encontrado por Lopes et al. (2005) quando produziram o fermentado do fruto da palma forrageira com a mesma levedura, observando o valor de 43,5 g L⁻¹. Os experimentos 2 e 3, obtiveram-se os mesmos valores de produção de 7,5 °GL, que corresponde a 58,0 g L⁻¹ de álcool etílico. Estudo realizado por Almeida et al. (2009), também encontraram valor semelhante na produção do fermentado de mandacaru no valor de 61,27 g L⁻¹. O experimento 4 iniciado com 21 °Brix e 20 g de *Saccharomyces cerevisiae* foi que obteve a melhor produção de álcool, com 8,9 °GL para o fermentado no tempo de 18 h.

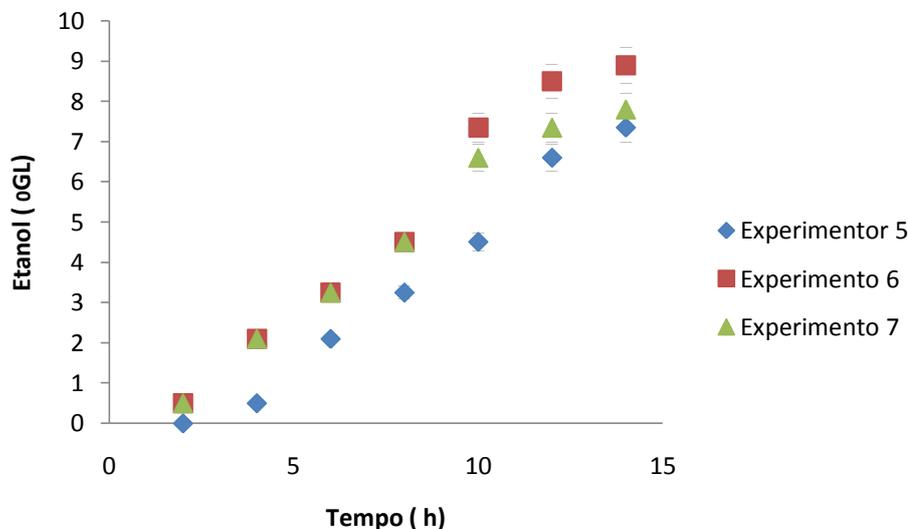


Figura 4 - Comportamento de produção de etanol durante a fermentação alcoólica nos experimentos 5, 6 e 7 do ponto central.

Para os 3 experimentos do ponto central, correspondente a 18 °Brix e 15 g L⁻¹, também foram observados que só houve o início da produção do álcool a partir do tempo de 2 h de fermentação, nota-se que no tempo de 10 h a produção de álcool foi praticamente semelhante para todos, chegando na concentração final a uma produção de etanol nos valores de 7,35 °GL para o 1º experimento; 8,0 °GL para o 2º experimento, e para o 3º experimento 7,80 °GL. A legislação brasileira estabelece que o fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica que corresponde de 4 a 14% em volume, a 20 °C, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e também madura (Brasil, 1997).

A média da velocidade específica de crescimento celular ($\mu_{\text{máx}}$) para o fermentado de algaroba foi de 0,902 h⁻¹. Andrietta e Stupiello (1990), estudando a avaliação da influência da velocidade de alimentação sobre o rendimento e a produtividade dos processos de produção

de etanol em batelada alimentada, com a adição de 20% de cepa da levedura Y904, chegaram a um $\mu_{\text{máx}}$ de $0,45 \text{ h}^{-1}$. Observando os valores encontrados na literatura pode-se dizer que a velocidade de crescimento celular do fermentado do resíduo das vagens de algaroba foi alta, esse alto valor de $\mu_{\text{máx}}$ no processo fermentativo em estudo pode ser atribuído à interação positiva do metabolismo da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) com os açúcares presentes no resíduo.

Observou-se que não houve efeitos estatisticamente significativos, ao nível de 95% de confiança, das variáveis independentes estudadas: sólidos solúveis totais (SST) e concentração de células de leveduras (CL) sobre a produtividade do fermentado de algaroba. Observando-se tendências, pode-se afirmar que a variável concentração de leveduras apresentou maior influência sobre a produtividade do processo fermentativo, ou seja, fixando-se a concentração inicial de sólidos solúveis no meio em 18%, em geral, com o aumento de concentração de levedura de 10 para 20 g/L aumentou a resposta produtividade, maximizando em 8,9 g/L h.

Na Tabela 2 apresentam-se os resultados das análises físico-químicas dos fermentados das vagens de algaroba, comparando-se com características físico-químicas de outros fermentados.

Ao final da fermentação, o resultado das análises desse trabalho mostra que os fermentados das vagens de algaroba são do tipo suave, pois o mesmo apresenta teores de açúcares residuais acima de 20 g L^{-1} , como determina a Legislação Brasileira (BRASIL, 1997) sobre bebidas.

Em relação ao teor de álcool etílico obtido na percentagem de 5,9% expresso em v/v, verifica-se que o fermentado de algaroba está dentro dos padrões estabelecido pela legislação brasileira sobre bebidas, de acordo com o Artigo 72 da Seção 2 do Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997 BRASIL, (1997).

Segundo a legislação brasileira, para os fermentados de frutas, o teor de acidez total deve está compreendido na faixa de $3,3$ a $7,8 \text{ g L}^{-1}$ que corresponde de 55 a 130 meq L^{-1} . Observa-se que nos processos de produção de fermentado, o teor de acidez total foi de $5,5 \text{ L}^{-1}$, conseqüentemente estão dentro da faixa aceitável segundo a legislação vigente brasileira (Brasil, 2007).

O °Brix remanescente no fermentado de algaroba foi em torno de 2,0. Arruda et al. (2003), com trabalho realizado com fermentado de banana utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae* também observaram um consumo gradual dos sólidos solúveis totais em todo o processo de fermentação, finalizando com o teor de °Brix em torno de 3,5.

A média do pH encontrado no fermentado de algaroba foi de 4,5.



Tabela 2 -Comparação do fermentado da algaroba(*Prosopis juliflora*) com outros fermentados da literatura.

Fermentado	pH	Acidez total (gL ⁻¹)	°Brix	Álcool (%v/v)
Algaroba fermentado desse trabalho	4,5±0,08	5,5±0,09	2,0±1,01	5,9±1,12
Polpa de figo da Índia (Lopes, 2006)	4,0	5,0	3,62	5,5
Cajá (Dias, 2003)	3,5	2,0	0,0	12,0
Uva (EMBRAPA, 2000)	3,6	4,4	2,0	12,2

Confrontando com outros frutos como a polpa de figo da Índia, cajá e a uva branca, observam-se na Tabela 2 que o pH dos frutos apresentados estão bastante próximo. De acordo com Bortolini et al. (2001) em trabalhos com fermentados com kiwi verificaram que a faixa encontrada para o pH foi entre 3,82 a 4,45 e esse teor foi suficiente para inibir bactérias indesejáveis dentro do mosto, em relação a acidez total, apenas o do fruto do cajá que encontra-se com o índice de acidez baixo (2,0) em relação aos demais frutos.

O °Brix remanescente do fermentado de algaroba encontra-se igual ao fermentado da uva. Almeida et al. (2009) com estudo do fermentado de mandacaru, também verificaram uma redução gradativa no teor de sólidos solúveis totais finalizando a cinética do experimento com o teor de °Brix em torno de 5,0. Quanto à concentração de etanol, observa-se que apenas a polpa do figo da Índia está próxima a concentração de etanol do fermentado de algaroba. Em relação a concentração de etanol, verifica-se que todos os fermentados estão com teor alcoólico dentro da especificação da Legislação Brasileira (Brasil, 1997).

4. CONCLUSÕES

A concentração de etanol obtida com fermentado das vagens de algaroba foi de 5,9 °GL. A produção da bebida fermentada do caldo (vinho) da algaroba é tecnicamente viável.

5. REFERÊNCIAS



- ALMEIDA, M. M.; SILVA, F. L. H.; CONRADO, L. S; FREIRE, R, M, M.; VALENÇA, A, D. Caracterização de frutos do mandacaru provenientes de duas cidades paraibanas. *Rev. Bras. de Prod. Agroindustriais*, v.11, p.15-20, 2009.
- ARRUDA, A. R. CASSIMIRO, A, R,S.; GARRUTI, D, S.; ABREU, F, A ,P.. Processamento de bebida fermentada de banana. *Rev. Ciênc.Agronômica*,v.34, p.161-167, 2003.
- BARWAL, V. S. Low alcoholic beverages from culled apples. *J. of F. Sci. and Technology*, v.28, p.257-258, 1991.
- BORTOLINI; F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das fermentações alcoólicas e acéticas de fermentados de kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Ciênc. e Tec. de Alimentos*, v.2, p.30-42, 2001.
- BRASIL Decreto nº 2314, 4 set. 1997, **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 de set. 1997.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p. (Série A. Normas Técnicas).
- LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J. R. Flavors of distilled beverages: origin and development. Flórida: Verlag Chemie International Inc., 1983. p.64-78.
- LOPES, R. de V. V.; ROCHA, A, S.; SILVA, F. L. H.; GOUVEIA, J. P. G.Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da palma forrageira. *Rev. Bras. de Prod. Agroindustriais*, v.7, p.25-32, 2005.
- MILLER, G. Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chemistry*, v.31,p.426-428. 1959.
- PEREZ, S. C. J. A.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse híbrido e do pH no processo germinativo da algarobeira. *Pesq.Agrup. Brasileira*, v.26, p.981-988, 1991.
- SILVA, C. G. ROCHA, A. L.; ALMEIDA, M. M.; SILVA, F. L. H.; MUNIZ, M. B.; BARACHO T. H.; SILVA, M. E., Aplicação do manejo fatorial para otimização do estudo da produção da bebida fermentada a partir da algaroba. VII Brazilian Meeting on Chemistry, Lorena SP, 2008.
- SILVA, R. da; YIM, D. H.; ASQUIERI, E, R, PARK, Y. K.; Production of microbial alkaline cellulase and studies of their characteristics. *Rev. de Microbiologia*, v.24, p.269-274, 1993.
- TALPADA, P. M.; SHUKLA, P. C. Influence of feeding *Prosopis juliflora* pods on digestibility and balances in lactating cows. *Ind. J. of An. Science*, v.58, p.727-730, 1988.