

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE DESTILADO ALCOÓLICO A PARTIR DE MOSTO
FERMENTADO DE BATATA-DOCE.**

LIZANDRA BRINGHENTI ABUJAMRA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Energia na Agricultura).

BOTUCATU-SP

Junho - 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE DESTILADO ALCOÓLICO A PARTIR DE MOSTO
FERMENTADO DE BATATA-DOCE.**

LIZANDRA BRINGHENTI ABUJAMRA

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Cabello

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Energia na Agricultura).

BOTUCATU-SP

Junho – 2009

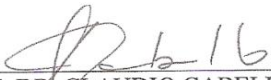
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "PRODUÇÃO DE DESTILADO ALCOOLICO A PARTIR DE MOSTO
FERMENTADO DE BATATA-DOCE"

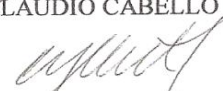
ALUNA: LIZANDRA BRINGHENTI ABUJAMRA

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO CABELLO

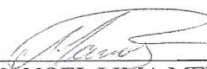
Aprovado pela Comissão Examinadora



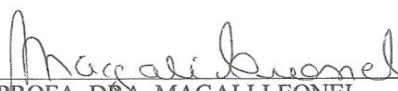
PROF. DR. CLAUDIO CABELLO



PROF. DR. WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO



PROF. DR. MÂNOEL LIMA MENEZES



PROFA. DRA. MAGALI LEONEL



PROFA. DRA. SIMONE DAMASCENO

Data da Realização: 19 de junho de 2009.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Abujamra, Lisandra Bringhenti, 1973-
Al65p Produção de destilado alcoólico a partir de mosto fermentado de batata-doce / Lisandra Bringhenti Abujamra. - Botucatu : [s.n.], 2009.
x, 121 f. : il., color., gráfs., tabs.

Tese(Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2009
Orientador: Claudio Cabello
Inclui bibliografia

1. Batata-doce. 2. Destilação. 3. Fermentação. 4. Mostro. I. Cabello, Claudio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

DEDICO

Ao Mestre dos Mestres.

À minha família e em especial ao meu marido Paulo pelo apoio incondicional na realização deste projeto de vida, dedico esta tese.

AGRADECIMENTOS

Jamais serei completamente grata a essas pessoas. Independente do que já foi dito ou possa vir a ser, palavras faltarão...

À minha família; meus avós Armelindo e Cecília Tocchetto, meus pais Domingos e Soeli Bringhenti, pelo apoio e pelos exemplos de vida, dignidade, amor e respeito, e sobre tudo pela compreensão de minha ausência física em tantos momentos especiais. Ao meu amado tio, Armelindo Tocchetto Filho, pelo apoio e ajuda em tantas horas difíceis...

Ao amor da minha vida, Paulo Abujamra pela sua compreensão, amor, carinho e incentivo durante todos os dias.

Ao meu orientador Cláudio Cabello, pelo profundo sentimento humano, amizade, empenho e dedicação.

À professora Dra. Marta Mischan pela realização das análises estatísticas.

A professora Dra. Magali Leonel e, a todos os funcionários e colegas do CERAT, pela colaboração prestada ao longo deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Peço desculpas às pessoas não citadas, mas tenham certeza que esta ausência se restringe apenas a esta folha.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1. Breve histórico.....	7
2.2 Bebidas destiladas.....	8
2.2.1 Bebidas destiladas derivadas de fontes amiláceas.....	9
2.3 Matéria prima : Batata-doce.....	10
2.3.1 Composição química.....	12
2.4 Enzimas Amilolíticas.....	13
2.5 Fermentação alcoólica.....	14
2.5.1 Levedura.....	15
2.5.2 Necessidades nutricionais.....	16
2.5.3 Fatores que interferem a fermentação.....	17
2.6 Compostos voláteis.....	17
2.6.1 Aldeídos	19
2.6.2 Álcoois superiores	20
2.6.3 Ésteres.....	22
2.6.4 Ácidos orgânicos.....	22
2.6.5 Outros compostos voláteis.....	23
2.7 Fatores que influenciam a formação e a composição de compostos voláteis em bebidas destiladas.....	24

2.7.1 Concentração de ácidos.....	28
2.7.2 Concentração de aldeídos.....	28
2.7.3 Concentração de álcoois superiores.....	28
2.7.4 Concentração de metanol.....	28
2.7.5 Concentração de cobre.....	29
2.8 Destilação.....	29
2.9 Análise sensorial.....	30
2.10 Mercado de destilados.....	31
2.11 Legislação vigente no país.....	33
2.12 Carbamato de etila.....	34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Matéria-prima.....	36
3.2 Enzimas amilolíticas.....	36
3.3 Metodologias analíticas.....	36
3.3.1 Umidade.....	37
3.3.2 Proteína bruta.....	37
3.3.3 Matéria graxa.....	37
3.3.4 Cinzas.....	37
3.3.5 Fibras.....	37
3.3.6 Açúcares totais e açúcares solúveis.....	37
3.3.7 pH.....	38
3.3.8 Granulometria.....	38
3.3.9 Amido.....	38
3.4 Tratamento do substrato.....	38

3.4.1 Produção de raspas.....	38
3.4.2 Produção de farinha.....	39
3.5 Avaliação do processo de hidrólise.....	39
3.5.1 Delineamento experimental.....	39
3.5.2 Preparo das suspensões.....	42
3.6. Ensaio de fermentação com hidrolisado.....	41
3.6.1 Planejamento experimental.....	42
3.6.2 Hidrolisado de farinha de batata-doce.....	45
3.6.3 Determinação da viabilidade celular.....	46
3.6.4 Concentração de carboidratos e álcoois.....	46
3.6.5 Destilação do vinho.....	46
3.6.5.1 Preparação dos derivados carboxílicos das 2,4-DNPH.....	46
3.6.5.2 Procedimento analítico para aldeídos.....	47
3.6.5.3 Procedimento analítico para ácidos, ésteres, e álcoois.....	47
3.7. Produção de destilado de batata-doce.....	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 Caracterização da matéria-prima.....	49
4.2 Caracterização da farinha de batata-doce.....	50
4.2.1 Composição física e química.....	51
4.2.2 Granulometria.....	51
4.3 Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise.....	52
4.5 Hidrólise da farinha de batata-doce.....	55
4.6 Fermentação do hidrolisado.....	56
4.6.1 Crescimento celular.....	58

4.6.2 Açúcares Redutores.....	59
4.6.2.1 Glicose.....	60
4.6.2.2 Maltose.....	62
4.6.2.3 Frutose.....	64
4.6.3 Glicerol.....	65
4.6.4 Etanol.....	66
4.6.5 Metanol.....	67
4.7 Compostos secundários.....	69
4.7.1 Aldeídos.....	71
4.7.1.1 Acetaldeído.....	71
4.7.1.2 Benzaldeído.....	73
4.7.1.3 Butiraldeído.....	73
4.7.1.4 Formaldeído.....	75
4.7.1.5 Heptaldeído.....	75
4.7.1.6 Hidroximetil furfural.....	77
4.7.1.7 Valeraldeído.....	78
4.7.2 Ésteres.....	80
4.7.2.1 Acetato de Etila.....	80
4.7.3 Cetonas.....	82
4.7.3.1 Acetonitrila.....	82
4.7.4 Álcoois Superiores.....	84
4.7.4.1 Álcool Butírico.....	84
4.7.4.2 Iso-propanol.....	86
4.7.4.3 Terc-butanol.....	87

4.8 Produção do destilado.....	89
5. CONCLUSÕES.....	91
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Bebidas destiladas mais conhecidas.....	8
Tabela 2 - Comparativo entre o soju destilado e diluído.....	9
Tabela 3 – Proporção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada, de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.....	16
Tabela 4 – Concentração de nutrientes minerais no mosto para se obter uma fermentação alcoólica adequada.	16
Tabela 5 - Níveis de variáveis no planejamento experimental de hidrólise.....	40
Tabela 6 - Planejamento experimental completo 2 ² com pontos centrais e axiais para a hidrólise da farinha de batata-doce.	40
Tabela 7 – Variáveis independentes e variáveis dependentes utilizadas no planejamento experimental.....	42
Tabela 8 - Níveis de variáveis no planejamento experimental de fermentação.....	43
Tabela 9 - Planejamento experimental completo 2 ³ com pontos centrais e axiais para a de fermentação do hidrolisado.....	44
Tabela 10 – Média e análise de variância do teors de matéria seca em amostras de batata-doce da cultivadar Brazilândia Roxacolhidas em diferentes períodos.....	50
Tabela 11– Composição centesimal média de farinha de batata-doce em porcentagem de matéria seca.	51
Tabela 12 – Porcentagem de amostra de farinha de batata-doce retida em cada peneira.....	52
Tabela 13 – Valores utilizados no experimento de hidrólise enzimática da suspensão de batata-doce <i>in natura</i> para variáveis independentes α -amilase e amiloglucosidase, concentrações iniciais de açúcares redutores e amido, concentração final de açúcares redutores totais e a variável dependente rendimento.	53
Tabela 14- ANOVA para o rendimento prático de hidrólise enzimática da suspensão de batata-doce.	53

Tabela 15 – Condições experimentais e resultados obtidos para crescimento celular, maltose, sacarose, glicose, glicerol, etanol e metanol.....	57
Tabela 16 – Melhores intervalos de concentração inicial de levedura, açúcares redutores e temperaturas observados nos ensaios fermentativo.	68
Tabela 17 - Condições experimentais e resultados obtidos para os compostos secundários testados, acetaldeído, benzaldeído, butiraldeído, formaldeído, heptaldeído, hidroximetilfurfural, valeraldeído, acetato de etila, acetonitrila, álcool butírico, isopropanol, terc-butanol.....	70
Tabela 18 – Melhores condições de fermentação considerando as variáveis testadas para a produção de bebidas.....	88
Tabela 19 – Comparação dos valores obtidos para ésteres e álcoois entre o destilado de batata-doce eo Soju em relação à legislação.....	89

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Vias básicas para formação dos compostos do sabor durante a fermentação.....	18
Figura 2 – Gráfico de superfície de resposta para o rendimento do processo de hidrólise em função das concentrações de enzimas.....	55
Figura 3 – Gráfico de superfície de resposta do crescimento celular em relação à temperatura e concentração de leveduras ao final dos processos, onde o teor de açúcares redutores estava no eixo central (12%).....	59
Figura 4– Gráfico de superfície de resposta da concentração de glicose em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	60
Figura 5 – Gráfico de superfície de resposta da glicose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final dos processos, com o teor de açúcares redutores no eixo central. (12%).....	61
Figura 6 – Gráfico de superfície de resposta da glicose em relação teor de AR e a concentração de leveduras ao final dos processos, com a temperatura no eixo central (30°C).....	62
Figura 7 – Gráfico de superfície de resposta para a maltose em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	63
Figura 8 – Gráfico de superfície de resposta para a maltose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores (12%).....	63
Figura 9 – Gráfico de superfície de resposta para a frutose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com teor de AR o eixo central (12%).....	64
Figura 10 – Gráfico de superfície de resposta para o glicerol em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	66
Figura 11 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de etanol em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	67
Figura 12 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetaldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	72
Figura 13 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetaldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores o eixo central (12%).....	73

Figura 14 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de butiraldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).	74
Figura 15 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de butiraldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).	75
Figura 16 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de heptaldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).	76
Figura 17 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de heptaldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com temperatura o eixo central (12%).	77
Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de hidroximetil furfural em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de AR o eixo central (12%).	78
Figura 19 – Produção de valeraldeído em relação à concentração de leveduras ao final do processo.	79
Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de valeraldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).	80
Figura 21 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetato de etila em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).	81
Figura 22 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetato de etila em relação à concentração de leveduras e o teor de ART ao final do processo, com a temperatura no eixo central (30°C).	82
Figura 23 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetonitrila em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).	83
Figura 24 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetonitrila em relação à temperatura e concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).	84
Figura 25 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de álcool butírico em relação ao açúcares redutores e a concentração de leveduras ao final do processo, com a temperatura no eixo central (30°C).	85

Figura 26 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de álcool butírico em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).....	86
Figura 27– Gráfico de superfície de resposta para a produção de isopropanol em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).....	87

RESUMO

Neste trabalho fez-se uma avaliação da utilização da batata-doce como substrato para a produção de uma bebida destilada. No sentido de promover uma alternativa tecnologicamente viável, traçou-se um planejamento experimental que minimizasse as operações de preparo, definindo as condições mais adequadas para o processo fermentativo. A batata-doce do tipo Brazilândia Roxa foi caracterizada e a partir desta matéria-prima foram produzidos 100 kg de farinha. Os ensaios para a produção de hidrolisados utilizando farinha batata-doce, foram estudados utilizando um planejamento experimental fatorial completo 2^2 com duas variáveis independentes (as enzimas alfa-amilase e amiloglucosidase). O hidrolisado obtido foi utilizado seguindo um planejamento experimental completo 2^3 com pontos centrais e axiais, sendo que as variáveis independentes foram a concentração de açúcares redutores, concentração de leveduras viáveis e temperatura da fermentação e os compostos secundários álcool isoamílico, n-butanol, terc-butanol, álcool butírico, isopropanol, acetato de etila, metil éster, acetonitrila, acetaldeído, benzaldeído, hidroximetil furfural, butiraldeído, valeraldeído, heptaldeído, formaldeído, acetona e butanona. As variáveis independentes foram quantificadas por cromatografia líquida e gasosa. Foram testadas em planta piloto as condições: concentração de levedura em número de células viáveis 1×10^8 , açúcares redutores 13,5% e temperatura 34°C . A sazonalidade da matéria seca foi significativa para esta cultivar Brazilândia roxa, durante o período amostrado (outubro 2006 – fevereiro 2007). Essa variação tornou-se um obstáculo para a otimização de um processo industrial baseado na matéria-prima in natura, sendo necessária a padronização da matéria-prima, e neste sentido foram

testadas algumas técnicas de secagem e moagem. Verificou-se que a farinha de batata doce foi a melhor forma de utilização desta matéria-prima como substrato nos processos. Foram obtidas suspensões com 18% de matéria seca. As concentrações de enzimas para um melhor rendimento no processo de hidrólise deste substrato foram com a utilização de α -amilase na etapa de dextrinização a $0,5 \text{ g.kg}^{-1}$ de matéria seca seguida da aplicação de enzima amiloglucosidases na etapa de sacarificação de 2 g.Kg^{-1} matéria seca. A análise dos dados permitiu indicar que as melhores condições de fermentação dentre as condições testadas foram: concentração de leveduras $5 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ em número de células viáveis, açúcares redutores totais de 12,5 – 13,5 % e temperatura entre 33 -34°C. No destilado de batata-doce obtido foram encontrados acetato de etila, álcool butírico, iso-propanol e iso-amílico, não foi detectada a presença de aldeídos. As concentrações destes compostos secundários estão dentro dos limites permitidos pela legislação.

PRODUCTION OF DISTILLED BEVERAGE FROM SWEET POTATO FERMENTED MASH

Botucatu, 2009. 153 p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências agronômicas,
Universidade Estadual Paulista.

Author: LIZANDRA BRINGHENTI ABUJAMRA

Adviser: CLAUDIO CABELLO

Keywords: sweet potato, distillation, fermentation.

SUMMARY

In this work, the use of sweet potato as a substrate for distilled beverage production was evaluated. In order to provide a technologically viable alternative, the experimental design was developed to minimize the preparation procedures, defining the most suitable conditions for the fermentation process. Sweet potato type “Brazilândia Roxa” was characterized and from such raw material 100 kg flour was produced. The assays for hydrolysate production using sweet potato flour involved a 2^2 complete factorial design including two independent variables (the enzymes alpha-amylase and amyloglucosidase). The obtained hydrolysate was employed by following a 2^3 complete experimental design including central and axial points, and the independent variables were reducing sugar concentration, viable yeast concentration and fermentation temperature, besides the secondary compounds isoamyl alcohol, n-butanol, tert-butanol, butyric alcohol, isopropanol, ethyl

acetate, methyl ester, acetonitrile, acetaldehyde, benzaldehyde, hydroxymethylfurfural, butyraldehyde, valeraldehyde, heptaldehyde, formaldehyde, acetone and butanone. The independent variables were quantified through liquid and gas chromatography. A pilot plant was used to test the following conditions: yeast concentration as number of viable cells 1×10^8 , reducing sugars 13.5% and temperature 34°C . Dry matter seasonality was significant for this cultivar “Brazilândia roxa” during the sampling period (October 2006 – February 2007). Such variation became an obstacle to optimize an industrial process based on raw material “in natura”, requiring the raw material standardization; thus, some drying and grounding techniques were tested. Sweet potato flour was the best form of using such raw material as substrate in the processes. Suspensions with 18% dry matter were obtained. The enzyme concentrations for a better yield in the hydrolysis process of this substrate were α -amylase in the dextrinization phase at 0.5 g.kg^{-1} dry matter followed by amyloglucosydases in the saccharification phase at 2 g.Kg^{-1} dry matter. Data analysis indicated that the best fermentation conditions, among those tested, were: yeast concentration $5 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ as number of viable cells, total reducing sugars 12.5 – 13.5 % and temperature $33 - 34^{\circ}\text{C}$. In the obtained sweet potato distilled spirit, ethyl acetate, butyric, iso-propanol and iso-amyl alcohol could be found but aldehydes were not detected. The concentrations of these secondary compounds are within the limits allowed by law.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da batata doce é muito popular, sendo cultivada em todas as regiões do país, embora seja utilizada pouca tecnologia nesta cultura, seus índices de produtividade tem aumentado, principalmente por ser uma cultura muito simples e de fácil manuseio na pós-colheita. Este fato, aliado ao conhecimento do processo de hidrólise enzimática dos amidos em açúcares fermentescíveis, permitindo obter um processo seguro e acessível, propiciando a transformação desta matéria-prima numa bebida destilada. Entretanto, o alicerce desta nova proposta necessita de embasamento tecnológico específico, pois assim como no mercado da aguardente de qualidade, as possibilidades de comercialização e exportação estão cada vez mais exigindo que o processo de fabricação seja baseado em práticas criteriosamente determinadas para a obtenção de um produto padronizado. (CARDOSO, 2001)

Hoje em dia existe uma tendência crescente do mercado consumidor de alto poder aquisitivo, independente de sua nacionalidade, em adquirir produtos naturais e ou orgânicos. (CARDOSO, 2001) Há ainda indicativos de que a melhoria da qualidade da aguardente resultaria em uma melhor acolhida do produto, não só pelos consumidores, mas também por parte dos atuais não consumidores. (HORII, BOZA, 1998)

Dentro deste contexto, vislumbram-se uma série de oportunidades para a produção de destilados de outras matérias-primas, como a batata-doce, o que beneficiaria não só os produtores rurais, como incrementaria toda a cadeia produtiva da batata-doce, pois sua industrialização resultaria num produto de elevado valor agregado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a batata-doce como substrato na produção de um destilado alcoólico, visando analisar a produção de compostos secundários e estabelecer as melhores condições para produção piloto de um destilado de fermentado de farinha de batata-doce, hidrolisada enzimaticamente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Breve histórico sobre bebidas alcoólicas

O ser humano sempre ingeriu bebidas alcoólicas, principalmente em festas rituais, religiosas ou não. Os povos criaram bebidas alcoólicas à sua maneira, seja o cauim, bebida dos índios brasileiros, a partir da mastigação de mandioca ou milho que era depositada e fermentada em vasilhames; seja a cerveja, vinho ou, a partir do século XV, com maior intensidade, os destilados. Não há uma origem precisa, porém análises químicas de depósitos residuais no fundo de um jarro encontrado em um sítio neolítico iraniano datado de 5.500 a.C. comprovam que as bebidas alcoólicas, principalmente as cervejas, são muito antigas. (UNICA,2005)

A destilação do álcool era pouco conhecida até fins do século XVI. Especula-se que tenham sido alquimistas árabes, no século X, os descobridores dos segredos da destilação do álcool, provavelmente em regiões produtoras de bebidas fermentadas de produtos amiláceos. O nome dado ao produto italiano era “água-da-vida”, *acquavite* em italiano, *eau-de-vie* em francês, *acqua ardens* em grego. (PATARO et. al., 2002)

Tabela 1 - Bebidas destiladas mais conhecidas.

Bebida destilada	Matéria-prima utilizada	Processo
Soju	Cereais e batata-doce	Destilação
Vodca	Batatas ou mistura de cereais	Destilação e filtragem em carvão vegetal
Cachaça	Cana de açúcar	Destilação
Rum	Cana de açúcar	Destilação / envelhecimento em carvalho
Uísque	Milho, malte ou centeio	Destilação
Brandy	Vinho ou mistura de frutas	Destilação/ envelhecimento em madeira
Tequila	Planta do gênero agave	Destilação
Conhaque e Armagnac	Vinho.	Destilação
Kirsch	cereja	Destilação
Grappa e a bagaceira	bagaço da uva	Destilação

Fonte:Pigott,(2003)

Na Itália o destilado de uva ficou conhecido como graspa; na Alemanha como Kirsch, destilado de cereja; uísque destilado da cevada sacarificada produzida na Escócia, vodca destilado de centeio produzido na Rússia, entre outros. (CANTÃO, 2006)

Na América do Sul, os índios brasileiros já utilizavam bebidas alcoólicas antes da chegada dos portugueses. Sabe-se que os ameríndios desconheciam o processo de destilação, mas as bebidas eram produzidas pela fermentação de mostos de caju, mandioca, banana da terra, milho, ananás, batata, jenipapo e mel de abelhas. Iniciavam o processo com a mastigação prévia dos frutos ou raízes usados como matéria-prima. (CASCUDO, 1983; IHDE, 1984)

2.2 Bebidas destiladas

A produção de bebidas alcoólicas baseia-se na transformação dos açúcares contidos em certos produtos, sobretudo frutas e cereais, em álcool etílico e dióxido de carbono, devido à ação de determinadas leveduras que catalisam a reação bioquímica. O produto final pode ser consumido após tratamento mais simplificado de separação, como vinho, cervejas, cidras e outros, ou por processos de destilação onde são obtidos, por exemplo, a aguardente, uísque, vodca e outras bebidas fermento destiladas.

A principal diferença da bebida destilada (uísque, aguardentes, conhaque, vodca) para a bebida fermentada (vinho e cerveja) é o teor alcoólico; sendo que as destiladas contém um teor

alcoólico mais elevado devido ao processo de concentração que ocorre com a destilação. Todas bebidas destiladas tem origem num processo de fermentação.

As bebidas destiladas, elaborados com álcoois podem ser divididas em três grupos principais: a) as aguardentes, obtidas a partir da destilação de frutas, cereais ou da cana-de-açúcar. São as mais famosas: uísque, conhaque, vodca, rum, aguardentes de cana. (PIGGOTT, 2003); b) os licores, bebidas geralmente açucaradas, à qual se adicionam diversos princípios aromáticos que são destilados em alambique. Muitos deles são fabricados há muito tempo e suas fórmulas cuidadosamente guardadas. Destacam-se: o Chartreuse, o Benedictine, o Gran Marnier; c) e os aperitivos preparados pela destilação e/ou adição de álcool e mistura de diversas substâncias aromáticas e ervas, e são tomadas geralmente antes de refeições para “abrir” o apetite. Entre elas, destacam-se: vermouths, quinados, biters, amaros. (UNICA, 2005)

2.2.1 Bebidas destiladas derivadas de fontes amiláceas

Na produção de uma bebida utilizando-se o amido como fonte de carbono, é necessário o processo de hidrólise deste para obtenção de glicose, maltose e outros açúcares assimiláveis, uma vez que este não é assimilado diretamente pelo metabolismo dos microorganismos em geral. (SUMERLY; ALVAREZ, 1997)

Muitas bebidas são produzidas a partir de substrato amiláceo utilizando o processo de hidrólise, antes da fermentação do mosto. O soju, que é um destilado feito com grãos de cereais com batata doce e possui um índice alcoólico que varia de 25 a 35 % v/v.

Tabela 2 - Comparativo entre o soju destilado e diluído

Divisão	Soju Destilado	Soju Diluído
Materiais crus	Cereais (arroz, trigo, cevada, etc)	Cereais, batata doce,
Álcool-prova	30~35%	21~30%
Cheiro	Forte	Fraco
Maneira destilada	Destilação única (modo tradicional)	Destilação e diluição ou dupla destilação e diluição
Impurezas	Poucas	Nenhuma

Informação de <http://www.jinro.co.kr>

Tradicionalmente, o soju era feito de arroz pré-cozido e atualmente produzido mais comumente a partir da batata doce e apresenta-se na forma diluída, tornando-se o destilado coreano mais popular e barato (HAN, 2004)

2.3 Matéria-prima : Batata-doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) é originária da América Central e do Sul, sendo encontrada desde a Península de Yucatán, no México, até a Colômbia.

Trata-se de uma hortícula tipicamente tropical e subtropical, rústica, de fácil manutenção, boa resistência contra a seca e ampla adaptação. (MIRANDA et. al.,1995)

Pertencente à família das convolvuláceas, do gênero *Ipomoea* e à espécie *Ipomoea batatas* L., é uma planta de constituição herbácea, rastejante verde ou arroxeadas; chega a alcançar de 3 a 5 m de comprimento. Suas raízes são tuberosas e variam de forma, tamanho e coloração, conforme a cultivar e o meio ambiente em que são produzidas. Por ser uma planta natural de regiões quentes, essa cultura requer temperaturas elevadas durante todo o ciclo vegetativo.

A batata-doce possui a raiz de reserva ou tuberosa, que constitui a parte de interesse comercial e raízes absorventes, responsáveis pela absorção de água e extração de nutrientes do solo. As raízes tuberosas se formam desde o início do desenvolvimento da planta sendo facilmente identificadas pela maior espessura, pela pouca presença de raízes secundárias e por se originarem dos nós (SILVA; MAGALHÃES, 2002).

É uma lavoura muito popular e apreciada em todo o país, estando colocada em quarto lugar entre as hortaliças mais consumidas pela população brasileira. (SILVA,2004)

As vantagens comparativas e o impacto da utilização da batata doce na agroindústria, em relação aos seus principais competidores como o milho e a mandioca, reside no baixo custo de produção, associado à alta produtividade de matéria seca. Entretanto, todo esse potencial não é aproveitado e seu cultivo se restringe ao nível de subsistência. (RITSCHER et al., 1999)

Para Silva, (2004) o cultivo de hortaliças em pequena escala em geral é uma atividade múltipla de produção agrícola, que geralmente é exercida com pouco uso de tecnologia e sem orientação profissional, resultando em baixos índices de produtividade e a baixa qualidade dos

produtos. A batata-doce ao longo do tempo tem sido cultivada de forma empírica pelas famílias rurais, em conjunto com diversas outras culturas, visando o consumo próprio, principalmente na primeira refeição diária, utilizada na forma de raízes cozidas, assadas ou fritas.

A venda desta hortícula para o consumo apresenta uma quebra de produção da ordem de 40% referente à desclassificação das raízes, por não apresentarem características morfológicas compatíveis com a exigência do consumidor, do produto *in natura*. (CAMARGO FILHO, et al.,2001)

Como consequência de índices de baixa produtividade e qualidade, além de boa parte do consumo estar sendo substituído pelo pão e por hortaliças de mais fácil preparo e de maior atratividade, como batata, cenoura e tomate, houve nos últimos anos uma forte queda na produção brasileira de batata doce. Esses valores são evidenciados nas últimas décadas conforme demonstram os dados da FAO (2001). Contudo observa-se que, mesmo sendo poucas as tecnologias aplicadas nesta cultura, seu índice de produtividade vem crescendo e os dados estatísticos apontam a batata doce como a sexta cultura mais plantada no país. (SILVA, 2004)

No que tange à eficiência em quantidade de energia líquida, produzida por unidade de área cultivada e por unidade de tempo, esta hortícula deixa para trás culturas consagradas como arroz, banana, milho e sorgo. Produz grande volume de raízes num ciclo relativamente curto, a um custo baixo e durante o ano inteiro. (CAMARGO FILHO et. al.,2001)

No mundo a batata-doce ocupa o sétimo lugar em volume de produção, mas é a décima quinta em valor de produção, indicando ser universalmente uma cultura de baixo custo de produção. (FAO, 2001)

Apesar de ser cultivada em 111 países, é na Ásia que se concentra a maior parte da produção mundial cerca 90%, seguida pela África com 5% e no restante do mundo os outros 5%. Apenas 2% da produção estão em países industrializados como os Estados Unidos e Japão. (WOOLFE, 1992; FAO, 2001)

No Brasil, o investimento nesta cultura é muito baixo, e está vinculado ao errôneo conceito de que, gastando-se o mínimo, qualquer que seja a produção da cultura constitui um ganho extra. Porém sem investimento tecnológico, a lucratividade da cultura é baixa, pois gera um produto de pouca qualidade, não agradando o mercado consumidor. (SILVA, 2004)

Há um antagonismo quando se comparam os custos de produção e os índices de produtividade, evidencia a carência de uma cadeia produtiva estruturada que possibilite um canal seguro de comercialização.

2.3.1 Composição química

A composição química das raízes da batata-doce revela que esta hortaliça é rica em carboidratos (amido principalmente), com teores de 13,4 a 29,2% e açúcares redutores de 4,8 a 7,8% em raízes frescas. Contém ainda boa quantidade de vitamina A, além de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e ácido nicotínico) e água (59,1 a 77,7%). Apresenta baixos teores de proteínas (2,0 a 2,9%) e de gorduras (0,3 a 0,8%). Como fonte de minerais, a batata-doce fornece, em cada 100 g, os seguintes teores: cálcio (30 mg), fósforo (49 mg), potássio (273 mg), magnésio (24 mg), enxofre (26 mg) e sódio (13 mg). (EMEPA, 2004) Os sais minerais e as vitaminas contidas na batata doce suprem essas necessidades nutricionais, dispensando o uso de aditivos.

A batata-doce apresenta um pigmento, o beta-caroteno, e outros, carotenos e xantofilas, presentes em quantidades menores. Quando as batatas-doces são processadas ou seus produtos estocados em ambientes com grande concentração de oxigênio, ocorre a perda de caroteno. (BOUWKAMP, 1985)

As raízes recentemente retiradas do solo possuem normalmente baixo teor de sólidos solúveis que tendem a aumentar durante o armazenamento devido à ação das enzimas amilolíticas (RUIZ, 1984). A batata-doce na colheita contém entre 16 e 40% de massa seca. Desta massa 75 a 90% são carboidratos compostos por açúcar, celulose, pectina e hemicelulose. (BOUWKAMP, 1985)

Durante o processo de armazenamento, devido à presença de enzimas amilolíticas, parte deste amido se converte em açúcares solúveis, resultando em 13,4 a 29,2% de amido e de 4,8 a 7,8 % de açúcares totais redutores (MIRANDA et al, 1995). Esta característica é de suma importância para a utilização da batata doce como matéria-prima na produção de uma bebida fermento-destilada, pois facilita o processo de hidrólise do amido.

Segundo Ribeiro et al (1987), as células de leveduras apresentam necessidades nutricionais durante o processo fermentativo, os quais influenciam diretamente no crescimento e multiplicação celular além da eficiência da transformação de açúcar em álcool.

2.4 Enzimas Amilolíticas

A hidrólise da molécula de amido quebra as ligações glicosídicas progressivamente, gerando cadeias mais curtas de dextrina, maltose e glicose. No processo de hidrólise, além de água, há necessidade de agentes químicos ou enzimáticos capazes de catalisar a quebra das ligações glicosídicas, além da temperatura. (SUMERLY; ALVAREZ, 1997)

Durante a hidrólise do amido eliminam-se gradualmente as unidades de glicose da extremidade da molécula do substrato. A velocidade de hidrólise depende do tipo (linear ou ramificada) e da extensão da cadeia: as ligações α -1,4 se hidrolisam mais facilmente que as ligações α -1,6, porém a maltotriose, e especialmente a maltose hidrolisa-se mais lentamente que os oligossacarídeos. (SUMERLY; ALVAREZ, 1997)

As enzimas que quebram indiferentemente as ligações glicosídicas no interior da molécula são chamadas de endoenzimas (α -amilase, pululanase). Por outro lado, são chamadas de exoenzimas (β -amilase, amiloglucosidase, CGTase) aquelas que hidrolisam a molécula a partir de uma extremidade não redutora.

Existem ainda as enzimas "desramificantes": R-enzima, amilo-1,6-glucosidase, pululanase, isoamilase e oligo-1,6-glucosidase. Estas enzimas são capazes de hidrolisar as ligações α (1-6) do amido e possuem características e especialidades diferentes. A ação sinérgica da α -amilase e amiloglucosidase no processo de hidrólise vem sendo estudada por diversos pesquisadores em amidos de diferentes origens. (GRAEL, 1989).

Todas as α -amilases são cálcio-metallo-enzimas havendo no mínimo um átomo deste metal por molécula. Em presença de cálcio, as α -amilases são mais resistentes a valores extremos de pH, temperatura, tratamento com uréia e ao ataque de enzimas proteolíticas. (GRAEL, 1989)

A amiloglucosidase é uma enzima sacarificante utilizada para produzir glicose a partir do amido, hidrolisando ligações do tipo α -1,4 e α -1,6. A ação da amiloglucosidase é lenta no ataque

inicial à amilose, pois sendo uma exoenzima, só atua a partir da extremidade não-redutora e não penetra no interior da estrutura helicoidal da amilose (FUGII et al., 1988).

Durante a hidrólise do amido, eliminam-se gradualmente as unidades de glicose da extremidade da molécula do substrato. A velocidade de hidrólise depende do tipo (linear ou ramificada) e da extensão da cadeia sendo que as ligações α -1,4 se hidrolisam mais facilmente que as ligações α -1,6, porém a maltotriose, e especialmente a maltose hidrolisa-se mais lentamente que os oligossacarídeos.

Estudos sobre o efeito de hidrólise de amidos originários de mandioca no perfil de açúcares e fermentação alcoólica feitos por Abrahm et al. (1987), demonstraram que no método enzima-enzima definido pelo sistema que utiliza α -amilase seguido por uma amiloglucosidase, 96% dos açúcares totais presentes no hidrolisado era glicose, teor superior ao obtido pelo método ácido-enzima definido pelo sistema que utiliza catalisador ácido mineral como dextrinizante, seguido por tratamento com amiloglucosidase (86%). Foram observados pequenos teores de maltose e maltotriose, tanto no método enzima-enzima quanto no ácido-enzima.

Segundo Lloyd e Nelson (1984), um hidrolisado com alto teor de glicose apresenta concentração de glicose de 94% em peso e dextrose equivalente de 96,28, pode-se então calcular a concentração máxima de conversão a partir do amido.

A dextrose equivalente (D.E) é um indicador do grau de hidrólise do substrato amiláceo sendo que um hidrolisado com 100 D.E, possui 100% de seus carboidratos na forma de moléculas de glicose.

2.5 Fermentação alcoólica

A fermentação é uma transformação bioquímica provocada num substrato por fermento vivo.

As leveduras utilizadas na fabricação de bebidas alcoólicas geralmente são linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. Nas fermentações espontâneas, um grande número de espécies pode estar envolvido, com predominância de *S. cerevisiae* (REED; NAGODAWITHANA, 1991; PATARO, 2000)

Segundo Alves (1994), a viabilidade celular é extremamente importante para o desenvolvimento do processo fermentativo e a tolerância da levedura ao produto da fermentação.

Nas grandes indústrias produtoras de etanol são usadas leveduras de panificação prensadas e secas, ou leveduras selecionadas, com tolerância a altos teores de etanol e com boa velocidade de fermentação. (BELLUCO, 2001)

2.5.1 Levedura

Segundo Ribeiro et al. (1987), as células de leveduras apresentam necessidades nutricionais durante o processo fermentativo, as quais influenciam diretamente na multiplicação e no crescimento celular e também na eficiência da transformação de açúcar em álcool. As leveduras são capazes de assimilar mono, di e tri sacarídeos e como são aeróbios facultativos, os produtos finais da metabolização dos açúcares irão depender das condições ambientais em que ela se encontra. Uma fração do açúcar é transformada em biomassa, CO₂ e H₂O em aerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO₂ em anaerobiose (fermentação alcoólica). Juntamente com o etanol e CO₂, o metabolismo anaeróbio permite formação de glicerol, ácidos orgânicos (succínico, acético, pirúvico e outros), álcoois superiores, acetaldeídos, acetoina, etc. e simultaneamente ocorre o crescimento das leveduras.

Segundo Reed e Nagodawithana (1991), as leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas devem apresentar as seguintes características: alta tolerância ao etanol e bom rendimento; fermentar rapidamente o meio e, portanto, minimizar o risco de contaminação; produzir a melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis. Russel et al. (1987) acrescentam ainda que as leveduras devem apresentar estabilidade genética e ao fim da fermentação podem ser facilmente removidas do meio de fermentação por floculação ou centrifugação.

Tabela 3 – Proporção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada, de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.

Produto da fermentação	Pasteur 95%	Jackman, 1987 90 –95%	Basso et al. 1996 85-92%
Etanol	48,5	45,0-49,0	43,0-47,0
Gás carbônico	46,4	43,0-47,0	41,0-45,0
Glicerol	3,3	2,0-5,0	3,0-6,0
Ácido succínico	0,6	0,5-1,5	0,3-1,2
Ácido acético	-	0,0-1,4	0,1-0,7
Óleo fúsel	-	0,2-0,6	-
Butilenoglicol	-	0,2-0,6	-
Biomassa (massa seca)	1,2	0,7-1,7	1,0-2,0

Fonte: LIMA, (2001)

2.5.2 Necessidades nutricionais

Entre as necessidades nutricionais das leveduras, assim como a outras formas de vida, estão os elementos químicos: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, magnésio, ferro, zinco, etc., além de co-fatores para o crescimento como as vitaminas. Especificamente a *Saccharomyces cerevisiae* cresce melhor em meios ácidos (pH 4,5 - 5,0) e numa faixa de temperatura (30 a 34°C).

Tabela 4 – Concentração de nutrientes minerais no mosto para se obter uma fermentação alcoólica adequada.

Nutrição mineral	Concentração (mg.L ⁻¹)	Nutriente mineral	Concentração (mg.L ⁻¹)
NH ₄ ⁺	40-590	Co ⁺⁺	3,5
P	62-560	Zn ⁺⁺	0,5-10
K ⁺	700-800	Cu ⁺⁺	7
Ca ⁺⁺	120	Mn ⁺⁺	10-80
Mg ⁺⁺	70-200	Fe ⁺⁺	0,2
SO ₄ ⁺	7-280		
Na ⁺	200		

Fonte: LIMA (2001).

2.5.3 Fatores que interferem a fermentação

Vários são os fatores que interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, a matéria-prima, fermentação, o método de condução do processo fermentativo, destilação, envelhecimento, dentre outros. Entretanto, as leveduras e as condições de fermentação têm sido apontadas como os fatores que mais influenciam o sabor das bebidas alcoólicas pois, é durante a fermentação que a maioria dos compostos do sabor são formados (SUOMALAINEN; LEHTONEN, 1979; LEHTONEN; JOUNELA-ERIKSOSON, 1983).

Salientam-se ainda as variáveis que exercem efeito significativo sobre o rendimento ou eficiência da fermentação: a qualidade da matéria-prima, as condições fisiológicas do inóculo e fatores ambientais como pH, nível inicial de contaminantes, temperatura, concentração do substrato no mosto, composição nutricional do mosto e concentração do álcool produzido (HORII, 1978).

2.6 Compostos voláteis

Numa fermentação bem sucedida praticamente todo o açúcar é transformado em etanol, havendo uma pequena porcentagem na conversão de subprodutos. Organolepticamente, as bebidas são facilmente distinguidas umas das outras, ainda que os métodos analíticos revelem semelhanças na sua composição química, a diferença está nas quantidades destes compostos. (SUOMALAINEN; LEHTONEN, 1979).

Estudos indicam que cerca de 13000 compostos voláteis já foram identificados em bebidas alcoólicas e muitos destes já tiveram o seu limiar de odor e descrições de aromas relatados. (NYKÄNEN, 1986; NÓBREGA, 2003)

Nóbrega (2003) identificou em amostras de aguardente de cana cerca de 100 compostos voláteis com número de carbonos que variavam de 5 a 18 presentes nas bebidas destiladas, através de análises de cromatografia por “headspace”. Suomalainen (1971) já havia relatado esse mesmo número de compostos voláteis descrevendo ainda que as mesmas substâncias estão presentes na fração de componentes do aroma em cervejas, vinhos e bebidas destiladas.

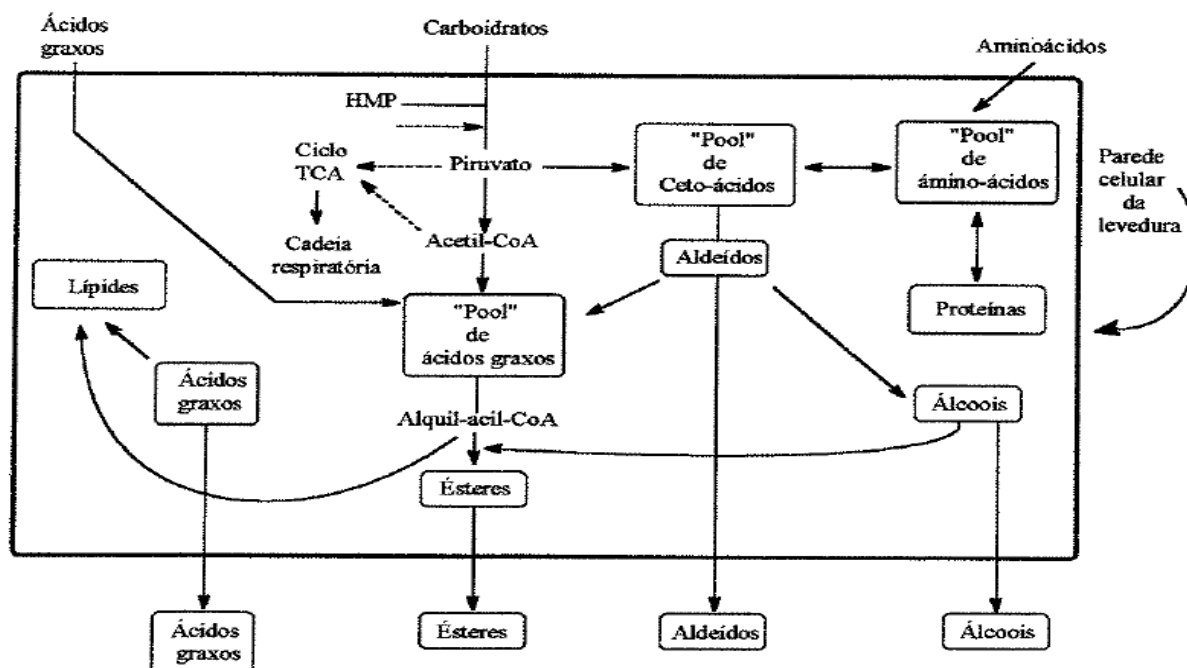


Figura 1. Vias básicas para formação dos compostos do sabor durante a fermentação.
Fonte: Berry (1995)

Durante o processo de fermentação alcoólica ocorre a quebra dos açúcares contidos no mosto para a formação de álcool etílico e dióxido de carbono. Além desses, há normalmente a formação de pequenas quantidades de outros componentes, os quais recebem a denominação de produtos secundários da fermentação alcoólica, estes compostos são os principais responsáveis pelo sabor característico destas bebidas. (JANZANTTI, 2004)

O sabor e o aroma das bebidas alcoólicas ocorrem devido à presença de inúmeros compostos orgânicos voláteis e não voláteis. São esses compostos orgânicos que tornam a aguardente de cana diferente de uma simples solução alcoólica, sendo os responsáveis pelo seu aroma e sabor característicos (CARDOSO, 2001).

Os compostos secundários que podem ser chamados de compostos voláteis ou de congêneres, e estes diferem e definem as características das bebidas fermento-destilladas, sendo, portanto, determinantes na sua qualidade. (JANZANTTI, 2004)

O aroma de um alimento ou bebida pode ser explicado pela ocorrência de compostos químicos com características de volatilidade, a qual permite que tais compostos sejam percebidos pelos receptores nasais, tanto durante a degustação como pelo odor exalado à distância. (Mottram,1993) Diferentemente do paladar através do olfato é possível detectar e diferenciar milhares de compostos voláteis em maior ou menor escala. Isso depende de vários fatores como a estrutura química do composto volátil e a interação deste com sua matriz alimentícia, sendo estas características dentre outras responsáveis pelo valor limiar de odor (limiar de detecção ou “threshold”). (BELITZ ; GROSCH,1999)

Segundo Nóbrega (2003), o etanol devido ao seu valor de limiar de odor “threshold”, elevado e sua característica de aroma pouco marcante, é provavelmente um dos componentes voláteis de menor destaque na definição ou caracterização do aroma nas bebidas alcoólicas. No entanto uma parcela significativa dos compostos voláteis possui grande impacto na qualidade do aroma das bebidas alcoólicas, por possuírem um limiar de odor mais baixo.

Os componentes voláteis do vinho possuem diferentes graus de volatilidade, sendo possível sua separação através da destilação. Assim, os componentes mais voláteis são recolhidos na primeira fração do destilado, denominado “cabeça”, e os menos voláteis nas frações finais, “cauda”. A parte nobre está na porção intermediária ou “coração”, sendo constituída principalmente de frações medianamente voláteis (YOKOYA, 1995).

No caso de bebidas destiladas estes compostos orgânicos são formados através de rotas químicas ou bioquímicas durante e após a fermentação alcoólica e podem ser divididos em grupos de acordo com sua natureza química. Dentre os compostos orgânicos voláteis produzidos por estas vias, incluem-se os ésteres, aldeídos, álcoois superiores, cetonas e hidrocarbonetos. (NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991)

2.6.1 Aldeídos

A porção mais volátil das bebidas alcoólicas são preponderantemente formadas por compostos carboxílicos tais como diacetil e aldeídos. Os compostos carboxílicos possuem um papel importante no desenvolvimento de sabores. (OLIVEIRA,2001)

Os aldeídos com até oito átomos de carbono, possuem um “threshold” muito baixo, apresentando aromas penetrantes e enjoativos e por isso sendo indesejáveis em bebidas destiladas;

são os chamados “off-flavours” (BERRY, 1995). Os aldeídos com mais de dez átomos de carbono, apresentam aroma agradável. (MAIA, 1994)

Os aldeídos são co-produtos normais da fermentação alcoólica e a formação desse tipo de composto é resultado da ação de leveduras durante os estágios preliminares do processo fermentativo. Por isso um grande número de aldeídos tem sido identificado nas bebidas alcoólicas, mas o principal aldeído relacionado à fermentação alcoólica é o acetaldeído.(MAIA,1994)

Outro aldeído importante em bebidas destiladas é a acroleína (2-propenal), formada pela desidratação do glicerol durante a destilação; sua presença em aguardente é indesejável devido ao seu odor penetrante e propriedades lacrimogênicas, sendo responsável pelo sabor apimentado (“peppery smell”) em uísques. (OLIVEIRA,2001)

Álcool e acetaldeído reagem lentamente para formar acetal, um composto com odor um tanto pronunciado, é o composto encontrado com maior quantidade dentre os acetais.(NYKÄNEN; NYKÄNEN,1977)

2.6.2 Álcoois superiores

Na constituição de compostos de sabor das bebidas destiladas, os álcoois superiores constituem o maior grupo dentre os compostos voláteis sob o aspecto quantitativo influenciando significativamente nas características do sabor das bebidas. Agem ainda como solventes sobre outras substâncias aromáticas, interferindo no grau de volatilidade e conseqüentemente nos seus *thresholds*. Conferem corpo à bebida, além de alguns esterificarem durante o envelhecimento, formando ésteres aromaticamente mais agradáveis. Os álcoois superiores destilam juntamente com os ésteres, devido as suas propriedades físicas em relação ao álcool etílico e a água.(JANZANTTI, 2004)

O processo de formação dos álcoois superiores ocorre durante o processo fermentativo, através do metabolismo de aminoácidos e proteínas presentes no mosto, e também como produto secundário do metabolismo de carboidratos. Estas rotas ocorrem simultaneamente na fermentação, podendo ainda surgir da redução de aldeídos a álcoois superiores através das leveduras. (BERRY, 1995)

Através do metabolismo de aminoácido pode-se explicar a formação dos principais álcoois superiores, como o álcool d-amílico a partir da d-leucina, o álcool isoamílico a partir da l-leucina e

o álcool isobutílico a partir da valina, os quais apresentam odores característicos freqüentemente encontrados em bebidas. (YOKOYA, 1995).

O excesso de compostos nitrogenados, adicionados na suplementação do mosto, pode resultar no incremento anormal de aminoácidos e conseqüente aumento dos teores de álcoois superiores, podendo assim a bebida ultrapassar o limite legal para esta classe de compostos. A adição de íons amônio no meio de fermentação pode também bloquear a síntese de álcoois a partir de carboidratos.(JANZANTTI, 2004)

Os principais álcoois superiores produzidos pelas leveduras são os álcoois alifáticos, n-propanol, isobutanol, álcool amílico, álcool isoamílico e os álcoois aromáticos hexanol e 2-feniletanol. (OLIVEIRA, 2001)

Com o aumento do número de carbonos, o aroma se modifica substancialmente e os álcoois tornam-se oleosos; são os chamados álcoois fúseis que exercem uma grande influência no sabor das bebidas destiladas. O termo fúsel se refere ao gosto e aroma de queimado destes álcoois. Llistó e Souza (1978) relatam que grandes quantidades de óleo fúsel diminuem o valor comercial e a qualidade das aguardentes, e que o teor dos álcoois superiores normalmente deve acompanhar proporcionalmente os ésteres numa aguardente de boa qualidade.

Os principais álcoois superiores encontrados nas aguardentes são o amílico, isoamílico, propílico, isopropílico e butílico. Os álcoois hexílico, heptílico e octílico são presentes em mínimas quantidades. A formação de álcoois superiores é maior quando a fermentação ocorre com leveduras de baixa atividade (LIMA, 1964).No caso de mosto formado por cana de açúcar fatores como alta temperatura, pH baixo do mosto e armazenamento da cana são também responsáveis por altos teores de álcoois superiores.

Relações numéricas baseadas nos teores de álcoois superiores têm sido propostas como critério de diferenciação entre as bebidas alcoólicas. As relações entre álcool amílico / álcool isoamílico e propanol / isobutanol ocasionaram um alto grau de diferenciação entre bebidas alcoólicas de diferentes tipos e procedências. Estas relações têm como objetivo a elucidação da origem, falsificação e identidade das bebidas alcoólicas, não se aplicando a qualidade das mesmas. (LISLE et al, 1978)

2.6.3 Ésteres

Os ésteres representam o maior grupo de compostos de sabor em bebidas destiladas, sendo formados durante todo o processo na fermentação, destilação e no envelhecimento da bebida.(NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991)

Por serem compostos voláteis que concedem um odor agradável possuem grande importância para o aroma das bebidas alcoólicas, porém as propriedades particulares do aroma raramente podem ser associadas a um éster específico. (NYKÄNEN, 1986). Estes compostos contribuem no chamado “bouquet” da bebida, o éster etílico, isobutílico isoamílico e os ésteres de ácidos graxos de cadeia curta têm um aroma agradável de frutas e são os principais componentes que interferem na percepção do aroma.(SUOMALAINEN;LEHTONEN,1979)

O principal éster encontrado na cachaça é o acetato de etila, obtido pela reação entre pequenas quantidades de etanol e ácido acético, provenientes do processo de fermentação (ROSE; HARRISON, 1970; PIGOTT, 1989). Quando presente em pequenas porções, este é responsável pela incorporação de um aroma agradável de frutas na aguardente. Por outro lado, em grandes quantidades, confere à bebida um sabor enjoativo e indesejado (WINDHOLTZ, 1976).

Alguns fatores que influenciam a formação de ésteres são o tipo e a quantidade de levedura, a temperatura de fermentação, a aeração, a agitação e a composição do mosto. A falta de aeração ou nitrogênio pode produzir um aumento na formação de ésteres. Estudos indicaram que a maioria dos ésteres é produzida nos últimos estágios da fermentação, ao contrário dos álcoois que são produzidos abundantemente no início. (BERRY,1995)

2.6.4 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos voláteis contribuem para o aroma das bebidas destiladas, devido ao seu aroma característico e são fixadores de vários compostos aromáticos. Juntamente com os álcoois superiores conferem corpo a bebida. (LÉAUTÉ, 1990)

Quantitativamente, os ácidos orgânicos são expressos na forma de acidez volátil, fixa ou total, sendo esta última a soma das duas anteriores. Os ácidos orgânicos voláteis são os mais comuns em bebidas destiladas. (JANZANTTI,2004) Além do ácido acético e láctico, que são subprodutos normais da fermentação alcoólica, estão presentes os ácidos fórmico, butírico,

propiónico e outros em pequenas quantidades.(AMERINE, et. al,1972; NYÄNEN, NYÄNEN 1991) Os ácidos fixos são principalmente o tartárico, cítrico e málico (NOVAES et al, 1974)

O ácido acético, apesar de sua proporção variar extensamente nas diferentes bebidas, na maioria dos casos corresponde de 60 a 90% da acidez total. (LIMA, 1964; NYKÄMEN; NYKÄMEN, 1983) Os ácidos alifáticos de cadeia não ramificada e seus ésteres de etila constituem o segundo grupo mais abundante de componentes não alcoólicos encontrados em bebidas destiladas.

Segundo Maia (1994), a *Sacharomyces cerevisiae* na presença de oxigênio pode converter até 30% do açúcar do mosto em ácido acético e na sua ausência essa levedura produz apenas pequenas quantidades de ácido acético. Existem ainda os ácidos graxos que são produzidos durante o período de aeração das leveduras para a formação do mosto fermentativo, sendo esses altamente indesejáveis, porque seu arraste durante a destilação acarreta turvação e aromas desagradáveis na bebida (MAIA, 1994; FARIA, 1989).

A acidez de uma bebida destilada é de grande importância, constituindo um fator de qualidade, uma vez que durante sua produção os ácidos reagem com os álcoois presentes, aumentando a formação dos ésteres, que são um dos constituintes responsáveis pelo aroma . O excesso de acidez promove sabor indesejado e ligeiramente “agressivo” em aguardente de cana, depreciando a qualidade da bebida (CHERUBIN, 1998).

2.6.5 Outros compostos

O metanol é constituinte naturalmente presente nas bebidas alcoólicas, em quantidades pequenas em relação aos demais componentes. Entretanto, essa afirmação diz respeito à maioria das bebidas, devendo-se dar muita atenção quando se tratar de bebidas elaboradas de frutas, e a depender da quantidade de pectinas metoxiladas associada à ação da enzima pectinametilesterase, pode ocorrer a formação adicional de metanol (BLINDER et al., 1988).

O metanol é um álcool particularmente indesejável na aguardente e é originado da degradação da pectina. A molécula de pectina é um composto formado pela associação de centenas de moléculas de ácido galacturônico, que possuem fragmento de moléculas de metanol, as quais são liberadas durante o processo de fermentação. A formação de metanol é indesejável devido a sua alta toxidez. Deve-se evitar, portanto, uma fermentação conduzida na presença de

frutas ricas em pectina, como laranja, maçã, abacaxi e outras, pelo fato de aumentarem acentuadamente a formação de metanol (CARDOSO, 2001).

No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e posteriormente a CO₂, provocando uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório e podendo levar ao coma e até mesmo à morte (MAIA, 1994). Sua ingestão, mesmo em quantidades reduzidas, em longos períodos de consumo, pode ocasionar cegueira e a morte (WINDHOLTZ, 1976).

A presença do cobre na bebida provém da constituição do material utilizado na construção de alambiques. Este metal contribui para a eliminação de determinados odores desagradáveis observados em aguardentes destiladas em alambiques feitos com outros materiais, como o aço inox. O excesso de cobre pode ser tóxico devido à afinidade do cobre com grupos S-H de muitas proteínas e enzimas. Sua presença em excesso está associada a várias doenças, como a epilepsia, melanoma e artrite reumatóide, bem como à perda do paladar (SARGETELLI, 1996).

2.7 Fatores que influenciam a formação e a composição de compostos voláteis em bebidas destiladas

As leveduras e condições de fermentação são apontadas como os fatores que mais influenciam o sabor das bebidas alcoólicas. Segundo Suomalainen e Nykänen (1966) os mesmos compostos aparecem como principais componentes nas diversas bebidas alcoólicas, independentemente da matéria-prima utilizada, evidenciando a importância das leveduras na formação de sabor das bebidas alcoólicas. Lehtonen e Jounela-Eriksson (1983) relatam que a natureza e a quantidade dos compostos formados na fermentação é grandemente afetada pelas condições de fermentação, tais como temperatura e nutrientes no meio de fermentação. Além disso, a técnica de destilação tem um grande efeito no aroma das bebidas, especialmente na sua composição quantitativa.

Suomalainen e Nykänen (1966), estudaram a capacidade de leveduras comerciais de *S.cerevisiae* sintetizar vários compostos de aroma, em meio sintético contendo sacarose como fonte de carbono, sem adição de nitrogênio, e constataram uma grande similaridade entre a composição qualitativa das substâncias voláteis presentes nos destilados desta fermentação com a dos destilados obtidos na produção do uísque de origem escocesa, embora certas diferenças quantitativas fossem evidentes. Estas similaridades indicam que as leveduras são responsáveis pela maior parte dos compostos produzidos.

Os mesmos autores, em 1971, demonstraram claramente a importância das leveduras na formação de compostos aromáticos nas bebidas. Quando utilizada a mesma levedura em vinhos de uva e groselha obtiveram uma composição qualitativa semelhante em ésteres, ácidos e álcoois e apenas algumas diferenças quantitativas. Concluíram então que as mesmas leveduras produzem os mesmo componentes de aroma independentemente da matéria-prima.

Reazin et al. (1970) realizaram um experimento usando leucina radioativa na fermentação de uísques e sugeriram que durante as primeiras 8 horas de fermentação os álcoois superiores foram produzidos a partir dos aminoácidos do mosto e após este período a partir de carboidratos.

Guymon (1972) afirma que após a adição de precursores como os aminoácidos leucina, isoleucina e valina, a quantidade de álcoois isoamílicos, amílicos ativos e isobutílicos formados durante a fermentação, aumentaram, entretanto não na proporção direta da quantidade adicionada.

Anteriormente, Guymon (1961) já havia demonstrado que condições oxidativas durante a fermentação do vinho de uva favoreciam a produção de álcoois superiores. Em 1963 Crowelle e Guymon estudaram a aeração vigorosa durante a fermentação, observando um aumento considerável na formação de álcoois superiores, de acetoína e diacetil.

Os mesmos autores relataram ainda que os materiais encontrados naturalmente em suspensão no meio de fermentação aumentam também a produção de álcoois superiores, particularmente álcoois isobutílico e isoamílico.

Estudos conduzidos por Berry (1984) na produção de uísque em pequena escala apontaram que as condições que favorecem alta taxa de crescimento, como temperatura relativamente elevada e aeração do meio, tendem a estimular a produção de álcoois superiores.

No entanto, os álcoois superiores individuais podem ser manipulados através da alteração de quantidade do aminoácido correspondente no mosto, ou ainda por meio de microorganismos modificados geneticamente. Considerando que certos aminoácidos possuem sabores peculiares essa estratégia pode ser bastante vantajosa. Por exemplo, a fenilalanina estimula a produção de álcool fenilil, um álcool superior que possui um aroma semelhante ao de rosas (BERRY, 1995),

Por outro lado, quando se adiciona íon de amônio no meio de fermentação, a quantidade produzida de álcoois superiores é menor, pois há um bloqueio da sua síntese de álcoois a partir de carboidratos (REAZIN et al., 1970; AMERINE, 1972).

Mostos com altas concentrações de aminoácidos, em temperaturas de 25-30°C e com elevada quantidade de inóculo, atingem quantidades máximas de álcoois superiores. (KORHOLA et al., 1989).

O efeito da temperatura de fermentação (20 a 35°C) na formação de álcoois superiores foi estudado por Ramsay e Berry (1984), que verificaram quantidades maiores de álcoois superiores utilizando a faixa de 25-30°C, ressaltando que a composição relativa dos álcoois superiores foi pouco afetada pela temperatura. Relataram ainda, que a formação de álcoois fúsel em uísques pode ser regulada por diferentes níveis de inóculo na fermentação. A quantidade total de álcoois aumenta com o aumento do inóculo.

Na produção de uísque, quando o pH inicial do mosto foi alterado, houve um pequeno efeito na produção de propano, isobutanol e 2 feniletanol. Entretanto, o nível de álcool amílico aumentou quando o pH foi elevado de 4,0 para 6,0, o que também resultou em aumento global de álcoois superiores.(BERRY, 1984)

Na rota sintética dos álcoois superiores os aldeídos são intermediários sendo que condições favoráveis à produção de álcoois superiores também favorecem a formação de pequenas quantidades de aldeídos. Estes são excretados pelas leveduras, mas podem ser reabsorvidos e reduzidos ao álcool correspondente, durante os últimos estágios da fermentação (BERRY, 1995). Durante estudos sobre a formação de aldeídos por diferentes leveduras, Nykänen; Nykänen (1991), observaram que a síntese de acetaldeído é dependente da linhagem e das condições de fermentação e ocorre em maior proporção em meios com concentrações deficientes em nutrientes. O nível mais alto de aldeído é atingido quando as leveduras estão na fase mais vigorosa da fermentação. (NYKÄNEN, 1986).

Ainda neste estudo os mesmos autores relataram que a capacidade das leveduras produzirem aldeídos é bastante variável, durante experimentos com 300 leveduras diferentes observaram uma variação no conteúdo de aldeídos de 6 mg.L⁻¹ a 190 mg.L⁻¹ (NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991). Há diferenças marcantes na produção de aldeídos entre linhagens de *S. cerevisiae*, as quais são atribuídas a variações na atividade da enzima piruvato descarboxilase das leveduras (NYKÄNEN, 1986; NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1991).

Durante a fermentação de açúcares ocorre também a formação de ésteres tem sido estudada por muitos pesquisadores (NYKÄNEN, 1986; NYKÄNEN; NYKÄNEN, 1977), e sua concentração normalmente aumenta com o aumento do teor de álcool (MAC DONALD et al.,

1984). Dentre outros fatores que podem influenciar a formação de ésteres estão a levedura, a qualidade do mosto, a temperatura de fermentação, a quantidade de inóculo e a aeração e agitação do mosto, sólidos em suspensão (BERRY, 1984; RAMSAY; BERRY, 1984). Segundo Peddie (1990), os principais fatores interferentes na formação de ésteres, durante a produção de cerveja, são: a linhagem da levedura, a composição e aeração do mosto, pressurização das domas de fermentação, quantidade de inóculo, sólidos em suspensão e a temperatura de fermentação.

Durante o processo fermentativo as condições que restringem o crescimento microbiano como a falta de aeração ou nitrogênio, podem conduzir a um aumento da concentração de ésteres. Há indicativos de que a maioria dos ésteres é produzida nos últimos estágios da fermentação, ao contrário dos álcoois superiores que são produzidos abundantemente durante a fase de crescimento. O crescimento das leveduras em um sistema bem aerado pode suprimir totalmente a formação de ésteres, mesmo em condições que favorecem altos níveis de produção de etanol (BERRY, 1995).

Segundo Ahvenainen (1982), a aeração é um fator muito importante em relação à formação de ácidos graxos. Leveduras cultivadas aerobiamente são muito ricas em ácidos graxos insaturados, ácido palmitoléico e ácido oléico, os quais são raramente encontrados em leveduras cultivadas anaerobiamente. Para Amerine et al. (1972) o ácido acético é produzido principalmente durante os estágios iniciais da fermentação alcoólica, e que maiores quantidades são formadas em presença de oxigênio. Ramsay e Berry (1984) acrescentam ainda, que a quantidade de ácidos graxos formados na fermentação decresce com o aumento da temperatura. Watson (1983) relata que há um aumento relativo dos ácidos graxos nos estágios finais da fermentação.

Durante os primeiros estágios da fermentação é produzida a maior parte do glicerol conforme relataram Amerine et al. (1972) observam ainda que as leveduras diferem significativamente no seu rendimento em glicerol. Para Gutierrez (1991) a quantidade de glicerol produzida é fortemente influenciada pela linhagem de levedura além de alguns interferentes, tais como temperatura, pH, concentração de sacarose, fontes de nitrogênio e inibidores .

2.7.1 Concentração de ácidos

A acidez de bebidas destiladas depende do controle no processo de fermentação, em relação a fatores como: raça (estirpe) da levedura predominante no pé-de-cuba, pureza da fermentação, o tempo e a temperatura de fermentação e o manejo do mosto. Durante a

fermentação a aeração do mosto deve ser evitada, já que o aumento de oxigênio faz com que a levedura transforme o açúcar em ácido acético em vez de etanol. A destilação deve seguir-se à fermentação rapidamente a fim de evitar a proliferação de bactérias acéticas, que aumentam a acidez.(CARDOSO, 2003)

2.7.2 Concentração de aldeídos

Grande parte da fração aldeídica presente no mosto é separada durante a destilação como produtos de “cabeça” na produção de bebidas destiladas. As aguardentes ricas em aldeídos são provenientes de alambiques que não separam os produtos da cabeça durante a destilação.

2.7.3 Concentração de álcoois superiores

A formação destes é maior quando a fermentação ocorre com leveduras de baixa atividade. Fermentos fracos produzem mais álcoois superiores do que aqueles mais ativos (LIMA, 1964). Outros fatores que aumentam o teor de álcoois superiores são: a temperatura alta e o pH baixo (3,5 - 4,0) do mosto.

2.7.4 Concentração de metanol

A formação de metanol é altamente indesejável, em razão da sua alta toxidez para o homem. Deve-se evitar uma fermentação conduzida na presença de sucos ou polpas de frutas ricas em pectina, tais como laranja, limão, maçã, abacaxi e outras, para evitar o aumento acentuado da formação de metanol.

2.7.5 Concentração de Cobre

As bebidas destiladas com teores elevados de cobre indicam falta de higienização do alambique, principalmente durante as paradas. Recomenda-se encher o alambique e as serpentinas com água para evitar a oxidação do cobre e contaminação pelo metal, ou seja, não deixar que o azinhavre (zinabre) contamine a bebida. No processo de destilação, ocorre a formação do carbonato básico de cobre, a azinhavre, na superfície do metal. Este carbonato é solubilizado pelos vapores ácidos produzidos durante a destilação, e por arraste, conduz à contaminação do produto

final por íons de cobre. A primeira destilação deve ser feita com água, de modo a eliminar todos os resíduos de cobre e ingredientes utilizados na limpeza.

2.8 Destilação

Após a fermentação, os meios açucarados denominam-se vinhos, com uma constituição variável, mas encerrando sempre substâncias gasosas, sólidas e líquidas. As primeiras representam-se principalmente pelo dióxido de carbono, que se dissolve em pequena proporção. Os sólidos se fazem presentes pelas células das leveduras alcoólicas, de bactérias contaminantes, sais minerais, açúcares não fermentados e impurezas sólidas em suspensão. (LIMA et al, 2001)

Os líquidos mais importantes são a água e o etanol, em porcentagens que variam de 88 a 93% e 12 a 7%, respectivamente, nos vinhos comuns. Os álcoois amílico, isoamílico, propílico, butílico, isobutílico, aldeídos, ácidos, furfural, ésteres e ácidos orgânicos constituem outra parcela de líquidos de pequena importância em relação ao volume, mas de grande efeito na qualidade dos destilados, sobretudo no caso das aguardentes, nas quais se denominam de impurezas voláteis. A glicerina também se forma durante a fermentação. (LIMA et al, 2001)

Desse material impuro e heterogêneo separa-se o etanol por destilação, em grau de pureza e concentração variáveis. Nessa operação geram-se vapores de álcool e água, que depois de resfriados formam um líquido de concentração superior a do vinho, e isento de substâncias sólidas. (LIMA et al, 2001)

A destilação é um processo para tornar mais concentrado o álcool presente nos líquidos fermentados. Através dela, o líquido fermentado é aquecido até ferver, primeiro o álcool entra em ebulição e o seu vapor, uma vez condensado, forma um líquido de maior concentração alcoólica. O processo pode ser repetido e o líquido pode chegar a ter 70% de álcool.

A tecnologia da destilação, independentemente do tipo de aparelho, influi decisivamente na constituição e no teor do coeficiente não-álcool. As destilações lentas produzem um destilado com melhores características organolépticas, com mais ésteres, menos acidez e menos álcoois superiores. A destilação altera a composição do destilado não só pela proporção relativa dos compostos, mais também pelas reações químicas que ocorrem durante o aquecimento. (RIJKE; HEIDE, 1983)

A separação da mistura hidroalcóolica ocorre em torres de destilação, empregando-se colunas de baixo grau para obtenção de aguardente com cerca de 50% de álcool em volume. Para a obtenção de álcool industrial, submete-se o destilado da primeira coluna a uma segunda destilação em colunas retificadoras, cuja função é purificar e concentrar o álcool, obtendo-se um teor alcoólico no máximo de 97,2% em volume. (RIJKE; HEIDE,1983)

2.9 Análise sensorial

A análise sensorial é uma ciência interdisciplinar que tem por objetivo a identificação e quantificação das características sensoriais de bebidas e alimentos. A aparência, o aroma, o sabor e a textura são fatores que determinam a aceitação, preferência e escolha de bebidas, sejam elas alcoólicas ou não, por parte dos consumidores.

Atualmente, o mercado de bebidas utiliza cada vez mais a aplicação da Análise Sensorial como uma ferramenta na obtenção de produtos de qualidade, visando conquistar seu espaço junto ao mercado consumidor.

Quando utilizada adequadamente, a Análise Sensorial auxilia na substituição de ingredientes, análise de preferências e a aceitação de produtos e seus concorrentes junto ao mercado consumidor e ainda na determinação do tempo de vida de prateleira.

Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade na indústria de alimentos e bebidas por representarem medida multidimensional integrada, com importantes vantagens, como a capacidade de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis e de definir características sensoriais importantes de um produto de forma rápida, além de ser capaz de detectar particularidades que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos e ainda ser capaz de avaliar a aceitação de produtos. (MUNÕZ *et al.*,1992)

Um dos métodos de grande aplicação na avaliação sensorial é a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), que permite traçar o perfil sensorial dos produtos, pois descreve e quantifica os diferentes descritores sensoriais (STONE *et al.*,1974). Este método estabelece os perfis sensoriais das diferentes amostras após os dados serem avaliados estatisticamente por análise de variância, teste de Tukey e Análise de Componentes Principais (ACP) (STONE; SIDEL. 1993)

Os testes afetivos têm por objetivo conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores em relação a um ou mais produtos. Compreendem os testes de preferência dos consumidores de um determinado produto sobre os demais e os testes de aceitação, que avaliam o quanto os consumidores gostam ou desgostam de um ou mais produtos (MEILGAARD *et al.*, 1986)

2.10 Mercado de destilados

Atualmente, o Brasil produz cerca de dois bilhões de litros de cachaça, dos quais 1,45 bilhão é a chamada cachaça de coluna (industrializada) e cerca de 550 milhões da cachaça de alambique ou artesanal. O agronegócio da cachaça movimenta, anualmente, cerca de 8 bilhões de reais entre a comercialização do produto, insumos e equipamentos. O setor também é responsável pela geração de mais de 900 mil empregos diretos em todo o país e ainda demanda o cultivo de 10 milhões de toneladas de cana-de-açúcar por ano, o que significa 125mil hectares de plantio. (MORAES, 2001)

Só no Estado de Minas Gerais a produção de cachaça oficial gira em torno de 1,5 bilhões de litros por ano, gerando IPI, ICM e outros impostos. Em economia de Estado, Minas Gerais destaca-se na produção de aguardente, representando uma produção anual de 120 milhões de litros e um consumo de 170 milhões de litros, gerando cerca de 120 mil empregos diretos e três vezes mais empregos indiretos nos setores que gravitam em torno dela durante a entressafra agrícola, (CARDOSO, 2001).

A aguardente de cana foi incluída em programas de exportação do governo como o PEE- Programa Especial para Exportação e PNPE - Programa dos Novos Pólos de Exportação. O PBDAC – Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana, Caninha ou cachaça, foi criado oficialmente em 1997 pela Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE) para estimular a valorização da bebida e a qualidade dos seus métodos de produção. (Pepe, P. R., 1999). A previsão do setor para a próxima década é alcançar US\$ 200 milhões em divisas para o país. (OLIVEIRA, 2001)

O aumento do consumo de cachaça tanto no mercado interno como no externo se deve à aquisição da matéria-prima, a especialização do setor no processo de produção, o aperfeiçoamento de métodos de trabalho, que aliados ao marketing conquistaram a fatia do mercado deixada pelo

uísque escocês e pela tequila mexicana, atualmente em crise devido a processos de produção. (MORAES, 2001)

Do total da produção brasileira, 20 milhões de litros colaboram para o superávit da balança comercial, sendo os países da América Latina os principais responsáveis pela maior parte das importações: Paraguai com 28%, Uruguai com 16% e Argentina com 9%. Na Europa, a Alemanha com 22%, é seguida pela Itália, que compra 4% da cachaça exportada. Cerca de 5% da venda da bebida brasileira ao exterior vai para os Estados Unidos. (MORAES, 2001)

A receptividade de determinado produto no mercado consumidor é determinada pelo conjunto de características específicas e segundo Horii (1998), o conhecimento de substâncias de impacto sensorial que compõem uma bebida destilada é fundamental, no monitoramento da produção, na modificação de suas características e/ou no controle de qualidade da bebida. Na destilação ocorre a separação, a seleção e a concentração destas substâncias.

Na manufatura de bebidas alcoólicas fermento-destiladas por destilação de vinhos, a operação de destilação é um dos pontos determinantes da qualidade do produto final. Os vinhos são constituídos de etanol, de água e de congêneres como ácidos, álcoois, ésteres, compostos carbonílicos, acetais, fenóis, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados e sulfurados, açúcar e outros, sendo que estes presentes na bebida a caracterizam bem como a qualificam. (HORII, 1998)

Portanto, a otimização das condições da operação de destilação é fundamental na obtenção de bebida de boa qualidade, pois a destilação, além de separar, selecionar e concentrar pelo uso do calor os componentes do vinho, ainda promove algumas reações químicas induzidas pelo calor. Assim os componentes voláteis do vinho podem aumentar, diminuir e ainda originar novos componentes. (HORII, 1998)

2.11 Legislação vigente no país

A qualidade da aguardente no Brasil é regulamentada pelo Decreto Federal nº 2314, de 04/09/97, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994, que estabelece os seguintes padrões de identidade e qualidade: o teor alcoólico deve ser de 38 a 54% em volume à 20°C e o coeficiente de congêneres (aldeídos, ácidos, ésteres, furfural e álcoois) não pode ser inferior a 200 mg/100 mL de álcool anidro, sendo os teores máximos de cada congêneres:

- Acidez volátil em ácido acético (g.100 mL⁻¹ álcool anidro)- 0,150
- Ésteres em acetato de etila (g.100 mL⁻¹ álcool anidro)- 0,200
- Aldeídos em aldeído acético (g.100 mL⁻¹ álcool anidro)- 0,030
- Furfural (g.100 mL⁻¹ álcool anidro)- 0,005
- Alcoóis superiores (g.100 mL⁻¹ álcool anidro)- 0,360
- Metanol (g.100 mL⁻¹ álcool anidro) – 0,020

Foram também definidas quantidades máximas permitidas de alguns contaminantes não mencionados anteriormente, como carbamato de etila (150µg.L⁻¹),acroleína (5mg.100mL⁻¹ de álcool anidro), álcool sec-butílico (10mg.100mL⁻¹ de álcool anidro), chumbo (200µg.L⁻¹) e arsênico (100µg.L⁻¹).

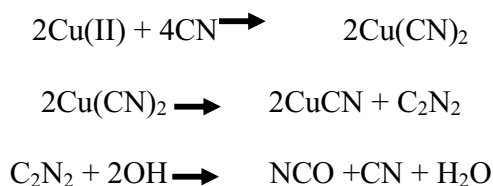
2.12 Carbamato de Etila

O carbamato de etila ou uretana é um composto considerado potencialmente carcinogênico, é formado nas bebidas destiladas por diferentes vias, podendo ser pela reação entre o etanol e seus precursores nitrogenados, como a uréia, o fosfato de carbamila e o cianeto, sendo este último considerado um precursor de carbamato de etila durante e após o processo de destilação (OUGHT et al., 1988; STEVENS; OUGHT, 1993; TEGMO-LARSSON; SPITTLER, 1990).

Nas bebidas destiladas é encontrado em altas concentrações nas aguardentes de frutas, entretanto o problema não está somente na fermentação ou durante a destilação, mas no próprio destilado (A YLOTT et al, 1990; MacKENZIE et al., 1990; RIFFIKIN et al.a 1989).

Riffikin et al. (1989) estudaram a formação de carbamato de etila durante a destilação de uísques. As destilações foram realizadas em alambique feito totalmente de cobre e em destilador feito totalmente de vidro, e verificaram que a formação de CE ocorreu somente quando a destilação foi realizada em presença de cobre. O aumento dos níveis naturais de carbamato de

etila após a destilação, ocorreu apenas quando o cobre esteve presente durante e após a destilação. Existe também um efeito adverso no crescimento celular, porque ela aumenta o estresse da levedura durante a produção de vinho (BAUER; PRETORIUS, 2000), o qual pode ser controlado inoculando-se leveduras selecionadas na fermentação alcoólica (FEUILLAT et al., 1997).



Os íons cianato por reação com etanol produzem o carbamato de etila:



Quando o cobre é empregado na parte ascendente do fluxo, como ocorre nos alambiques, é esperado que ocorra uma fixação de cianeto (MacKENZIE et al., 1990), com a formação de compostos como: CuCN, Cu(CN)₂, Cu₂(CN)₂, Cu₃(CN)₄, diminuindo a concentração de cianeto no destilado (BOSCOLO, 2001) e consequentemente, reduzindo o teor de carbamato de etila (ANDRADE-SOBRINHO, 2002).

Vários fatores são importantes para a formação de carbamato de etila em bebidas destiladas, porém ainda não existe uma explicação satisfatória sobre a sua influência nas cachaças (ANDRADE-SOBRINHO, 2002).

O Canadá foi o primeiro país a ter legislação específica sobre o assunto se tornando um referencial para os Estados Unidos e a Comunidade Européia, que seguiram o teor máximo deste contaminante estabelecido para bebidas destiladas. No Brasil, um dos maiores produtores de destilados alcoólicos do mundo, é imprescindível o conhecimento dos níveis de ocorrência do carbamato de etila nos destilados e principalmente na cachaça, pois além dos aspectos ligados à saúde pública, a sua presença em concentrações superiores a 0,150 mg L⁻¹ constitui uma barreira para exportações para a Europa e América do Norte (ANDRADE-SOBRINHO et al, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-Prima

Para o desenvolvimento desta pesquisa utilizou-se a batata-doce tipo Brazilânia Roxa de polpa branca adquirida de um mesmo produtor rural da cidade de Duartina/SP. Os lotes de matéria-prima foram utilizados no máximo 24h após a sua aquisição, ficando armazenados em câmara fria a 4°C.

3.2 Enzimas amilolíticas

Neste trabalho os hidrolisados produzidos utilizaram duas enzimas amilolíticas, uma endoamilase (α -1-4) e uma exoamilase (α -1-4 e α -1-6).

A endoamilase alfa-amilase Termamyl 2X, produzida por cepas de *Bacillus licheniformis*, que possui atividade enzimática de 240KNU/g e a exoglucosidade AMG 300L, produzida por cepas de *Aspergillus niger*, cuja atividade enzimática é de 300AGU/mL, são enzimas fabricadas pelo Novozyme do Brasil S.A..

3.3 Metodologias Analíticas

As matérias-primas foram caracterizadas através de análises físico-químicas realizadas no Laboratório de Análises do Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT) UNESP. Todas as análises foram realizadas em quadruplicatas.

3.3.1 Umidade

Para se determinar o teor de umidade, dessecou-se as amostras em estufa a 105°C até peso constante, empregando o método 44-15 A da AACC (2003).

3.3.2 Proteína Bruta

O teor de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl, segundo AOAC (2005). Para a conversão do nitrogênio em proteína bruta utilizou-se o fator 6,25.

3.3.3 Matéria graxa

A determinação da matéria graxa realizou-se em extrator Soxhlet, utilizando éter de petróleo para a extração, segundo o método AACC (2003).

3.3.4 Cinzas

Determinadas pela calcinação da amostra à 550 °C durante 2h em forno da marca Quimis modelo Q.318.0.24. Após esse período as amostras foram colocadas em dessecador e posteriormente pesada, segundo o método AACC (2003).

3.3.5 Fibras

O teor de fibras foi determinado através da hidrólise ácida seguida de hidrólise alcalina, conforme metodologia da American Association of Cereal Chemistry. (AACC, 2003)

3.3.6 Açúcares totais e açúcares solúveis

Para a determinação do teor de açúcares redutores totais foi pesado 1g de amostra em um erlenmeyer de 250 mL, acrescentado 30 mL de etanol absoluto P.A. e 30 mL de água destilada, em seguida colocou-se em banho com aquecimento entre 60-65°C por uma hora. Após foi acrescentado 1 mL de HCl P.A. concentrado e as amostras retornaram ao banho por mais uma hora na mesma temperatura. Após este tempo as amostras foram resfriadas, neutralizadas e diluídas. Determinou-se o teor de açúcares totais pelo método Somogy, adaptado por Nelson (1944).

Na análise do teor de açúcares redutores, foi pesado 1 g de amostra em um erlenmeyer de 250 mL e adicionado 50 mL de água destilada. Os frascos foram colocados em banho com aquecimento a 65°C por 30 minutos, sendo em seguida retirados e resfriados. O material foi

resfriado, diluído e filtrado. A determinação do teor de açúcares solúveis foi determinada pelo método Somogy adaptado por Nelson. (1944).

3.3.7 pH

Determinou-se o pH potenciométricamente à 24°C usando a metodologia descrita pela AOAC (2005).

3.3.8 Granulometria

Foi pesada uma amostra de 500g da farinha de batata doce sendo posteriormente colocada num jogo de peneiras, que continham peneiras de 0,6; 0,42; 0,3; 0,25; 0,2; 0,18; 0,15; 0,125; 0,088; 0,075; 0,045 mesh da marca Graniteste que foram previamente pesadas uma a uma. Em seguida foi levada ao agitador de peneiras Produteste e agitado durante 15 minutos na velocidade máxima. Após o tempo de 1h, foi avaliado o peso de cada peneira e por diferença a quantidade retida em cada uma das peneiras, definiu a concentração em cada faixa de granulometria.

3.3.9 Amido

Determinou-se o amido pelo método de hidrólise enzimática, segundo metodologia ISO-6647 (International Organization for Standardization, 1987). Após a hidrólise do amido obteve-se o teor de açúcar redutor pelo método Somogy, adaptado por Nelson (1944), sendo feita a conversão para amido pela multiplicação da porcentagem de açúcar obtida pelo fator 0,9.

3.4 Tratamento do substrato

3.4.1 Produção de raspas

Uma partida contendo 100 kg de batata-doce, adquirida em março/2008, foi lavada em água corrente e em seguida triturada em máquina de produzir raspas de mandioca. As raspas (fatias finas) foram coletadas em bandejas metálicas e em seguida colocadas em estufa de circulação de ar, marca Marconi modelo MA037, para secagem a uma temperatura de 50°C por 24h. Após este tempo, a temperatura foi elevada para 105°C por mais 48h. Durante a secagem, o material foi revolvido no mínimo 2 vezes a cada 24h. Após a secagem, o lote de material foi homogeneizado e armazenado em sacos plásticos de PVC.

3.4.2 Produção de farinha

As raspas de batata-doce secas foram moídas num moinho de faca, marca Marconi modelo MA680 com tela de vazamento de 16 mesh ($\simeq$ 1,0mm). Após moagem, o lote de material foi homogeneizado por agitação e armazenado em sacos plásticos de PVC em porções de 1,5kg.

3.5 Avaliação do processo de hidrólise

3.5.1 Delineamento experimental

Para avaliar a quantidade adequada de enzimas a serem utilizadas nas duas etapas do processo de hidrólise de farinha de batata-doce foi utilizado um delineamento experimental, sendo definidos como parâmetros fixos do processo:

- a) concentração do substrato - 18% de matéria seca,
- b) temperatura dextrinização - 90°C ,
- c) temperatura sacarificação - 60°C,
- d) tempo de reação dextrinização - 2h em pH 6
- e) tempo de reação sacarificação - 16h em pH 4,5.

A variável dependente foi definida como sendo a concentração de açúcares redutores no hidrolisado. O calculou-se o rendimento através da diferença do açúcar redutor obtido ao final do processo subtraído do valor de açúcares redutores iniciais, expresso em porcentagem.

O processo de hidrólise foi estudado utilizando um planejamento experimental fatorial completo 2^2 com duas variáveis independentes (as enzimas alfa-amilase e amiloglicosidase). Cada fator foi estudado em 5 níveis, como mostrados na Tabela 5.

Os pontos centrais (0) servem para estimar o erro experimental e determinar a precisão da equação polinomial. Os pontos axiais (α) são utilizados para a ampliação do modo linear, tornando-o um modelo quadrático. O valor de α é a função do número de variáveis independentes (K), sendo definido pela equação 1. (BARROS NETO; SCARMÍNIO; BRUNS, 2003)

$$\alpha = \left(\frac{1}{4} \right)^{1/4} \quad (1)$$

Sendo $F = 2^K$ e $K = 2$, tem-se que:

$$\alpha = (2^2)^{1/4} = 1,44.$$

Tabela 5 - Níveis de variáveis no planejamento experimental de hidrólise

<i>Variáveis independentes</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Unidade</i>	<i>Nível</i>				
			$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Enzima α -amilase	T	g.kg^{-1}	0,39	0,5	0,75	1	1,11
Enzima amiloglicosidase	AMG	g.kg^{-1}	0,78	1	1,5	2	2,22

Onde T= α -amilase em gramas por quilo de matéria seca e AMG= amiloglicosidase em gramas por quilo de matéria seca.

Os valores das variáveis independentes foram baseados em outros ensaios prospectivos. Na Tabela 6 é mostrado o delineamento experimental com os níveis codificados e reais das variáveis independentes, nos diferentes tratamentos.

Tabela 6 - Planejamento experimental completo 2^2 com pontos centrais e axiais para a hidrólise da farinha de batata doce.

Tratamentos	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X1	X2	T (g.kg^{-1})	AMG (g.kg^{-1})
1	-1	-1	0,5	1
2	+1	-1	1	1
3	-1	+1	0,5	2
4	+1	+1	1	2
5	$-\alpha$	0	0,39	1,5
6	$+\alpha$	0	1,11	1,5
7	0	$-\alpha$	0,75	0,78
8	0	$+\alpha$	0,75	2,22
9	0	0	0,75	1,5
10	0	0	0,75	1,5
11	0	0	0,75	1,5

Onde T= α -amilase em gramas por quilo de matéria seca e AMG= amiloglicosidase em gramas por quilo de matéria seca.

A análise de regressão obtida pode ser ajustada para cada resposta (Y_i) através de um polinômio de segunda ordem com as variáveis explicativas (X_k). A expressão geral utilizada para prever o comportamento de cada resposta avaliada pode ser escrita da seguinte forma:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon \quad (2)$$

onde,

Y_i = função resposta;

X_1, X_2 = valores das variáveis independentes;

β_0 = coeficiente relativo à interceptação do plano com o eixo de resposta;

β_1, β_2 = coeficientes lineares estimados pelo método dos mínimos quadrados;

β_{11}, β_{22} = coeficiente das variáveis quadráticas;

β_{12} = coeficiente de interação entre as variáveis independentes;

ε = erro experimental.

Realizou-se o processamento dos dados e a análise estatística com o auxílio do RSREG e do STEP-WISE do sistema SAS versão 8.2. A significância do modelo foi testada pela análise de variância (ANOVA). Foi adotado o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

3.5.2 Preparo das suspensões

Uma suspensão de batata doce com 18% de matéria seca, foi fracionada em 11 frascos contendo 250 mL da solução. Os frascos receberam as quantidades de enzima equivalentes a Tabela 6 e foram submetidos ao processo de hidrólise por 18h no total. A amostragem ocorreu no final do período fixado. Foram analisados os açúcares redutores antes e depois, com o objetivo de analisar o melhor rendimento. Calculou-se o rendimento através da diferença do açúcar solúvel

$$AR_{\text{obtido}} = AR_{\text{final}} - AR_{\text{inicial}}$$

$$\text{Rendimento} = \frac{AR_{\text{obtido}} \times 100}{ART}$$

3.6 Ensaios de fermentação com hidrolisados

3.6.1 Planejamento experimental

Um planejamento experimental composto central rotacional 2^3 foi utilizado para verificar os efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes conforme a Tabela 7.

Tabela 7 – Variáveis independentes e dependentes utilizadas no planejamento experimental

<i>Variáveis independentes</i>	<i>Variáveis dependentes</i>
Concentração de açúcares (AR)	Concentração final de células viáveis,
Concentração de leveduras (número de células viáveis)	Teor de alcoóis
Temperatura (T)	Aldeídos Ésteres.

Foram usados 20 tratamentos, sendo 8 fatoriais (combinações entre os níveis -1 e +1); 6 axiais (uma variável no nível $\pm\alpha$ e duas em 0); e 6 centrais (as três variáveis independentes no nível 0).

Na determinação dos valores máximos e mínimos de cada variável independente foram considerados valores médios normalmente utilizados em processos fermentativos para a produção de cachaça. Nos ensaios de fermentação foram utilizadas leveduras desidratadas na forma da cepa Y – 904 produzidas pela AB Brasil S.A.

Os parâmetros do processo, identificados como variáveis independentes, foram avaliados em 3 níveis codificados (-1, 0,+1), que foram calculados segundo a equação 3.

$$X_i = \frac{x_i - Z}{\Delta X_i} \quad (3)$$

Onde :

X_i = valor codificado da variável X_i ;

x_i = valor real da variável;

Z = valor real da variável no ponto central;

ΔX_i = valor do intervalo de variação de X_i

O delineamento central composto rotacional de 2^3 ordem apresenta também dois níveis axiais para as variáveis independente, que são codificadas com $+\alpha$ e $-\alpha$. O valor depende do número fatorial (F) do delineamento e da quantidade de variáveis independentes (K), sendo o valor definido pela equação 1.

$$\alpha = (F)^{1/4} \quad (1)$$

Sendo $F = 2^K$ e $K = 3$, tem-se que:

$$\alpha = (2^3)^{1/4} = 1,682$$

O valor fornecido pela equação 3 representa o valor em módulo. Os valores codificados utilizados para os pontos axiais neste projeto de $+1,682$ e de $-1,682$ para $+\alpha$ e $-\alpha$, respectivamente.

Na Tabela 8, encontram-se os níveis das variáveis independentes e na Tabela 9, os tratamentos realizados.

Tabela 8 - Níveis de variáveis no planejamento experimental de fermentação.

<i>Variáveis independentes</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Unidade</i>	<i>Nível</i>				
			$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Concentração de leveduras	Lev	%	1,3	2	3	4	4,7
Temperatura	Temp	°C	24,9	27	30	33	35,12
Açúcares Redutores	AR	%	10,3	11	12	13	13,7

Tabela 9 - Planejamento experimental completo 2^3 com pontos centrais e axiais para a de fermentação do hidrolisado

Tratamentos	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X1	X2	X3	Concentração de leveduras (%)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Açúcares Redutores (%)
T1	1	1	1	4	33	13
T2	1	1	-1	4	33	11
T3	1	-1	1	4	27	13
T4	1	-1	-1	4	27	11
T5	-1	1	1	2	33	13
T6	-1	1	-1	2	33	11
T7	-1	-1	1	2	27	13
T8	-1	-1	-1	2	27	11
T9	0	0	0	3	30	12
T10	0	0	0	3	30	12
T11	0	0	0	3	30	12
T12	0	0	0	3	30	12
T13	0	0	0	3	30	12
T14	0	0	0	3	30	12
T15	-1,69	0	0	1,3	30	12
T16	1,689	0	0	4,7	30	12
T17	0	-1,689	0	3	24,9	12
T18	0	1,689	0	3	35,12	12
T19	0	0	-1,69	3	30	10,3
T20	0	0	1,69	3	30	13,7

Como variáveis dependentes foram avaliadas no vinho, após o término da fermentação, a concentração de células viáveis, concentração de etanol, concentração de açúcares redutores e glicerol. A avaliação da concentração dos aldeídos e ésteres foi realizada no etanol obtido após destilação controlada.

A variável independente concentração de leveduras foi calculada no planejamento experimental através de porcentagem, e para fins de medida e comparação ao final do processo essas porcentagens foram expressas em números de células iniciais e finais.

Como parâmetros fixos:

- volume de substrato 500 mL ,
- tempo de fermentação 16 horas

Para a análise dos resultados experimentais, a metodologia de superfície de resposta descreve o comportamento de um sistema no qual estão combinadas as variáveis independentes (X_k) e a variável dependente ou resposta (Y_i). A resposta é uma função dos níveis nos quais estes fatores foram combinados e definidos, conforme equação 4 (BOX, DRAPER, 1987):

$$Y_i = F(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad (4)$$

Dentro das faixas de variação propostas, ou seja, dentro da região caracterizada por esses níveis, o comportamento de cada resposta avaliada pode ser predito de forma generalizada, já demonstrada na equação 2.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_3 X_3 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \varepsilon \quad (5)$$

Através do presente estudo foi possível obter modelos estatísticos capazes de prever o comportamento das variáveis dependentes (respostas) em função das variáveis independentes.

3.6.2 Hidrolisado de farinha de batata doce

Num reator encamisado com controle eletrônico de temperatura e agitação da marca Ranazzi, com capacidade para 20L, foi preparada uma suspensão de 15L com 18 % de matéria seca utilizando 2,87 kg de farinha de batata doce, com umidade de 5,99% e 12,13L de água. Adicionou-se 0,04g de CaCl_2 . No processo de hidrólise, utilizou-se a enzima α -amilase 0,5 g/kg m.s na etapa de hidrólise e amiloglucosidase 2,0 g/kg m.s na etapa de sacarificação. O período total do processo foi de 18h, sendo 2h para a primeira enzima à 90°C e após o resfriamento e correção do pH mais 16h com a segunda enzima à 60 °C.

Ao final do processo de hidrólise, o hidrolisado foi pesado e filtrado, bem como posteriormente o bagaço. O hidrolisado foi congelado e o bagaço dessecado e armazenado.

3.6.3. Determinação da viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada com a utilização de azul de metileno para colorir as células de levedura. Efetuou-se a contagem em microscópio ótico através da câmara de Neubauer.

3.6.4 Determinação da concentração de carboidratos e álcoois

A amostra foi centrifugada a 12000 rpm durante 8 minutos, em seguida filtrada em membrana PVDF 0,22µm, 13mm de diâmetro, hidrofílica.

Para verificação das concentrações de açúcares redutores (maltose, frutose, glicose), glicerol e etanol; foram realizadas análises em cromatografia líquida de alta resolução, em equipamento Varian, modelo Pró-Star 410, com detector de índice de refração, com coluna da Biorad modelos: i) HPX-87H na determinação de álcoois, utilizando temperatura de 50°C, fase móvel ácido sulfúrico 0,01M e vazão de 0,7 mL/min; ii) HPX-87P para determinação de glicose, maltose, sacarose, e outros oligossacarídeos, utilizando temperatura de 85°C, fase móvel água deionizada, vazão de 0,6mL/min.

A identificação e quantificação das substâncias foram realizadas por comparação com cromatogramas de substâncias padrões injetados nas mesmas condições.

3.6.5 Destilação do vinho

Para realizar a análise de derivados carboxílicos, ésteres e alguns outros alcoóis presentes no mosto, realizou-se uma destilação do vinho num aparelho de borossilicato. No procedimento de destilação das amostras, foram mantidos constantes o volume, tempo e temperatura para todos os 20 tratamentos e correspondeu a 20% do total do vinho utilizado na destilação. O destilado produzido foi coletado, sem a separação de “cauda” e “cabeça”, para permitir a verificação dos reflexos que variáveis independentes produziam na formação de compostos secundários.

3.6.5.1 Preparação dos derivados carboxílicos das 2,4-DNPH

O destilado obtido foi caracterizado quanto a sua composição química de aldeídos, segundo metodologia de derivatização proposta por Nascimento et al (1997).

Os derivados carboxílicos da 2,4-dinitrofenilidrazina (2,4-DNPH) foram obtidos conforme descrito por Nascimento (1997). Dissolveu-se 0,40g de 2,4-DNPH em ácido sulfúrico concentrado P.A. (2,0 mL) e água destilada (3,0 mL). Nesta solução adicionou-se: 0,10g de aldeídos padrões

(acetaldeído, hidroximetilfurfural, formaldeído, butiraldeído, benzaldeído, valeraldeído), dissolvidos em etanol (15,0 mL), num total de 6 soluções. Os correspondentes derivados foram isolados via filtração e purificados por recristalização com etanol absoluto.

3.6.5.2 Procedimento analítico para aldeídos

Uma solução 0,4% de 2,4-dinitrofenilidrazina foi preparada dissolvendo-se 0,40g em 100 mL de acetonitrila. Em frasco adicionou-se consecutivamente: 1,0 mL da solução de 2,4-dinitrofenilidrazina (0,40%), 4,0 mL de amostra de etanol destilado e 20 µL de H₃PO₄. A solução restante foi agitada e mantida em repouso, por pelo menos 45 min, em temperatura de 25°C. Em seguida, submeteu-se 25 µL da amostra às análises cromatográficas em equipamento descrito no item 3.6.1 utilizando coluna de sílica Hypersil BDS – C18, 125X 4 nm, em temperatura de 25°C, fase móvel gradiente metanol/água v/v 65/35% por 6 min, 85/15% por 4 min, 80/20% por 10 min, 75/35% por 5 min, detector UV 365nm, vazão de 0,3mL/min.

A identificação e quantificação das substâncias foram realizadas por comparação com cromatogramas de substâncias padrão, injetadas nas mesmas condições.

3.6.5.3 Procedimento analítico para ácidos, ésteres e álcoois

A verificação das concentrações dos compostos secundários, álcool isoamílico, n-butanol, terc-butanol, álcool butírico, isopropanol, acetato de etila, metil éster, acetonitrila, foram realizadas em cromatógrafo marca Varian, modelo 3380, detector tipo FID e com coluna marca Ohi Valley 60mtX0,25mm SD, modelo OV 1301 bonded 1,4micras.

Rampa de temperatura 35°C durante 5 minutos e de 35 a 100°C a 10 minuto, tempo total de corrida 135minutos.

3.7. Produção de destilado de batata-doce

Utilizando as melhores condições obtidas nos delineamentos experimentais descritos nos itens 3.5 para o processo de hidrólise e 3.6. para o processo fermentativo, foi preparada uma suspensão de 15L à 18% de matéria seca. As condições utilizadas no processo de hidrólise foram 0,5g de α-amilase e 2g de amiloglucosidase por kg de matéria seca.

No processo fermentativo foram utilizadas as seguintes condições: temperatura 34°C, concentração de açúcares fermentescíveis 13,5%, concentração de células viáveis 1x10⁸.

A destilação foi realizada em alambique de cobre, onde foi separado cabeça, coração e cauda.

Foram realizadas análises de aldeídos, ésteres e álcoois, no destilado obtido e na bebida Soju para comparação do produto obtido.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da matéria-prima

Foram avaliadas as concentrações máximas de matéria seca na formulação de suspensões para a etapa de hidrólise. Alguns ensaios preliminares demonstraram que suspensões com altas concentrações de batata-doce não eram viáveis pois, com o aquecimento a suspensão tornava-se rapidamente pastosa interferindo diretamente na ação das enzimas.

Segundo Collins et al (1991), a fécula de batata-doce é um excelente espessante por apresentar grande quantidade de amido gelatinizável. A presença de alguns oligossacarídeos como as glucanas e outras fibras solúveis fazem com que uma suspensão de batata doce apresente alta viscosidade.

Após alguns ensaios obteve-se sucesso com suspensões contendo 11% de matéria seca com a batata doce *in natura*. Entretanto, observou-se durante o período amostrado (outubro/2006 – fevereiro/2008) uma sazonalidade na quantidade de matéria seca como mostra a Tabela 10.

O efeito da sazonalidade na matéria seca das amostras de batata-doce foi significativo para esta cultivar Brazilândia roxa, durante o período amostrado (outubro 2006 – fevereiro 2007).

Considerando que essa variação afeta o desempenho de um processo industrial baseado na matéria-prima *in natura*, foi necessária a padronização deste substrato.

A matéria seca na cultivar Brazilândia Roxa pode apresentar teores em torno de 22,3 - 40,9 segundo dados da Embrapa (2004), entretanto foram observados no período amostrado batatas

doce com teores variando entre 11,52 – 30,92% de matéria seca. Aplicou-se o Teste de Tukey nos valores das matérias secas observadas, conforme a Tabela 11.

A partir dos resultados verificou-se que das onze amostras apenas duas (junho/07 e dez/07) não diferiram entre si para este parâmetro.

Tabela 10 – Médias e análise de variância do teor de matéria seca em amostras de batata-doce da cultivar Brazilândia Roxa colhidas em diferentes períodos

<i>Período</i>	<i>Matéria seca (média)%</i>		1%		
jun/07	30,89		A		
dez/07	30,79		AB		
Jul/07	30,40		B		
dez/07	27,65		C		
nov/06	25,04		D		
fev/08	24,61		E		
fev/08	22,78		F		
nov/07	22,24		G		
dez/06	18,58		H		
Out/06	17,27		I		
jan/08	11,51		J		
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Período	10	768,521	76,85	11363,69	0,00001
Resíduos	11	0,074	0,0067		
Total	21	768,595			

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si no nível de significância indicado

A análise estatística dos dados de matéria-seca das raízes de batata doce verificada nas análises, indicou que o processamento desta matéria-prima *in natura* exige contínuo ajuste no processo industrial que demandariam maiores custos operacionais.

Este fato reforça a idéia de que a produção de farinha obtida a partir de raízes com elevado teor de matéria seca permitiria menores oscilações no processo de produção da bebida. Podendo ser obtida nos meses do ano em que esse teor estiver nos níveis mais altos.

4.2 Caracterização da farinha de batata doce

A farinha de batata doce utilizada nos ensaios para a produção de destilado alcoólico foi produzida conforme itens 3.4.1 e 3.4.2 resultando num total de 24,45kg.

4.2.1 Composição física e química

A caracterização físico-química da farinha de batata-doce utilizada nos ensaios está apresentada na Tabela 11.

Tabela 11 – Composição centesimal média de farinha de batata doce em % de matéria seca.

<i>Análises</i>	<i>Teores (%)</i>
Umidade	5,99
Amido	55,52
Açúcar Redutor Totais	27,96
Açúcares Solúveis	5,5
Proteína Bruta	3,2
Fibras	3,78
Matéria Graxa	0,41
Cinzas	3,12

Ao analisa-se os valores encontrados em 100% de matéria seca pode-se comparar com resultados encontrados na literatura. Segundo Woolfe (1992), a porcentagem de carboidratos totais em matéria fresca de batata doce, devidamente calculada para a base seca é de 87%, valor semelhante ao observado por Leonel e Cereda (2002), que foi de 85%.

Na Tabela 12 observa-se que o teor de carboidratos é de 83,48%, dentro da faixa encontrada na literatura, porém quantidade de açúcares redutores totais 27,96%, maior do que relatado por Leonel e Cereda (2002), que foi de 21,66 %.

4.2.2 Granulometria

A análise foi realizada para dimensionar o perfil granulométrico da farinha que estava sendo utilizada, uma vez que quanto menor a granulometria maior a superfície de contato com o meio e conseqüentemente com as enzimas. A tela escolhida para o moinho foi a mesma utilizada na produção de farinha de mandioca fina ($\simeq$ 1,0mm).

Na Tabela 12 observa-se o tamanho das peneiras utilizadas e as porcentagens de material que ficaram retidas em cada um delas, demonstrando que 56,77% da farinha apresentou tamanho menor ou igual a 0,18mm.

Tabela 12 – Porcentagem de amostra de farinha de batata doce retida em cada peneira

Peneira	ABNT	Abertura em mm	% de amostra retida
Nº 4	30	0,6	12,22
Nº 5	40	0,42	14,90
Nº 6	50	0,3	10,56
Nº 7	60	0,25	3,57
Nº 8	70	0,2	1,07
Nº 9	80	0,18	10,14
Nº 10	100	0,15	4,83
Nº 11	120	0,125	3,15
Nº 12	170	0,088	2,30
Nº 13	200	0,075	8,62
Nº 14	325	0,045	19,43
Fundo			8,30

4.3 Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise

Segundo Franco et al. (2001), a taxa de hidrólise depende principalmente da origem botânica do amido, do sistema enzimático utilizado, da temperatura e agitação, entre outros fatores.

Conforme o planejamento experimental definido no item 3.5, os resultados do rendimento da hidrólise, ou seja, a conversão do amido, podem ser observados na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores utilizados no experimento de hidrólise enzimática da suspensão de farinha de batata doce para variáveis independentes α -amilase e amiloglicosidase, concentração final de açúcares e variável dependente rendimento

Ensaio	Variáveis independentes		Variável dependente	
	T (g.kg ⁻¹)	AMG(g.kg ⁻¹)	As (g)	Rendimento (%)
1	0,5	1	15,85	65,44
2	1	1	15,76	65,07
3	0,5	2	19,38	80,02
4	1	2	16,98	70,11
5	0,39	1,5	17,83	73,62
6	1,11	1,5	17,36	71,68
7	0,75	0,78	15,02	62,01
8	0,75	2,22	19,9	82,16
9	0,75	1,5	16,97	70,07
10	0,75	1,5	16,95	69,98
11	0,75	1,5	16,96	70,02

Onde T= α -amilase em gramas por quilo de matéria seca e AMG= amiloglicosidase em gramas por quilo de matéria seca.

Os valores apresentados na Tabela 13 para o rendimento de hidrólise foram tratados estatisticamente, considerando um intervalo de confiança de 95 % ($p < 0,05$). A análise de variância está apresentada na Tabela 14.

Tabela 14- ANOVA para o rendimento prático de hidrólise enzimática da suspensão de farinha de batata-doce.

ANOVA						
	GL	SQ	QM	F calculado	F tabelado	Pr>F
Regressão	4	210,14	52,53	21,53	4,53	0,0011
Resíduos	6	14,64	2,44			
Total	10	224,77				

Uma regressão para não ser apenas significativa do ponto de vista estatístico, mas também apresentar valor preditivo, necessita que o valor de F calculado seja de 4 a 5 vezes maior do que o F tabelado, ou seja, o modelo obtido neste ensaio é preditivo (BOX, DRAPER, 1987):

Analisando estatisticamente o rendimento verificou-se que este foi influenciado significativamente pelas enzimas e pela interação entre elas. Através da Tabela 13 é possível observar ainda que os ensaios 1, 4, 9, 10, 11 onde tinha-se a metade das quantidades amiloglucosidase para as concentrações de α -amilase, concentrações indicadas pelo fabricante, o rendimento foi de aproximadamente em torno de 70%. Quando manteve-se as quantidades de α -amilase e aumentou-se as quantidades de amiloglucosidase ensaios 3, 8 houve um acréscimo de 10% na conversão dos açúcares.

A equação do modelo ajustado para o rendimento é:

$$R = 70,92545 - 1,63178 \times T + 6,02185 \times AMG - 2,385 \times (T \times AMG)$$

A partir do modelo obtido foi possível a construção do gráfico que permitiu visualizar as melhores condições para a variável independente, rendimento, conforme mostrou a Figura 2.

Na Figura 2 é possível observar que a condição de melhor rendimento é a que utiliza baixa concentração de α -amilase (0,5) e elevada concentração de amiloglucosidase (2).

A ação sinérgica da α -amilase e amiloglucosidase no processo de hidrólise vem sendo estudada por diversos pesquisadores em amidos de diferentes origens. Monna et al. (1989) estudaram a eficiência do uso destas duas enzimas em grânulos de amido de arroz, sagu e batata e concluíram que esta combinação apresenta bons rendimentos na conversão do amido a glicose em todos os substratos. Baseado nesses resultados, os autores sugeriram que a existência de amilose no amido pode impedir a digestão no grânulo pela amiloglucosidase sozinha, enquanto a presença de α -amilase propicia a hidrólise desse componente evitando a inibição da amiloglucosidase

Franco e Ciacco (1987) mostraram que, independentemente da concentração de amiloglucosidase fúngica adicionada numa suspensão de amido contendo α -amilase, a porcentagem de hidrólise aumentou até 25 horas de incubação, estabilizando a partir daí. A ação sinérgica da amiloglucosidase fúngica e a α -amilase para hidrólise do amido é retardada apenas pelo decréscimo do peso molecular do substrato, mas em compensação é incrementada pelo aumento da concentração de substrato (GUZMÁN-MALDONADO; PAREDES-LÓPES, 1995).

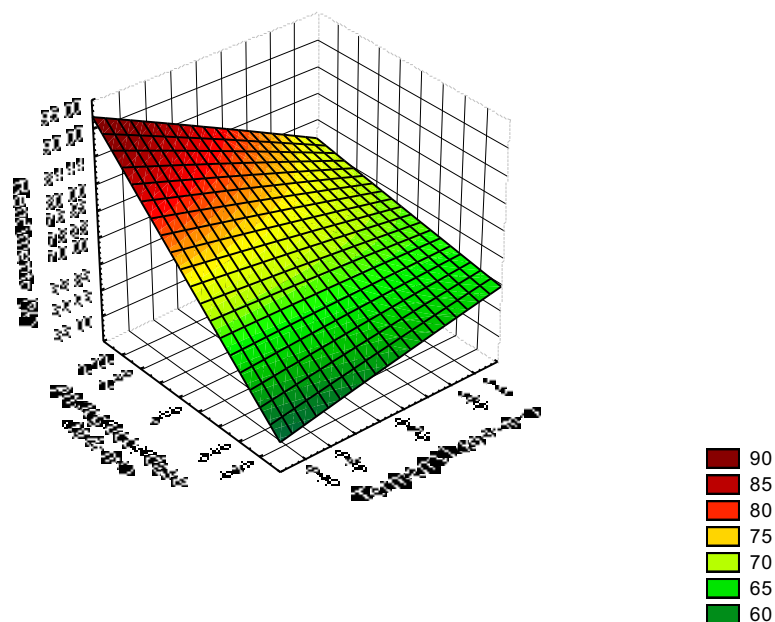


Figura 2 – Gráfico de superfície de resposta para o rendimento do processo de hidrólise em função das concentrações de enzimas.

4.5 Hidrólise da farinha de batata doce

Após o processo de avaliação das melhores concentrações de enzimas a serem utilizadas foram realizados testes pilotos para a comprovação das respostas obtidas e transferência de volume. Este hidrolisado foi utilizado posteriormente como substrato para o processo fermentativo.

A partir de uma suspensão de 15L à 18% de matéria-seca, obteve-se 12,5L de hidrolisado filtrado com 13,7% de açúcares fermentescíveis ou 1712,5g de açúcares fermentescíveis, o rendimento teórico seria de 1928,2g, em porcentagem o rendimento foi de 88,81%

4.6 Fermentação do hidrolisado

Na literatura, vários são os fatores, que interferem na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, a fermentação, o método de condução do processo fermentativo e a destilação, são essenciais na produção de uma bebida de qualidade. No entanto, as leveduras e as condições de fermentação têm sido apontadas como os fatores que mais influenciam o sabor das bebidas alcoólicas uma vez que, durante a fermentação são formados a maioria dos compostos do sabor (SUOMALAINEN; LEHTONEN, 1979; LEHTONEN; JOUNELA-ERIKSOSON, 1983).

Segundo Horii (1978), dentre as variáveis que exercem efeito significativo sobre o rendimento ou eficiência da fermentação estão a qualidade da matéria-prima, as condições fisiológicas do inóculo e fatores ambientais como pH, nível inicial de contaminantes, temperatura, concentração do substrato no mosto, composição nutricional do mosto e concentração do álcool produzido.

Para testar o comportamento de algumas variáveis foi utilizado um delineamento experimental composto central rotacional 2^3 para verificar os efeitos da concentração de açúcares (AR), concentração de leveduras (número de células viáveis) e da temperatura sobre concentração final de células viáveis, brix, teor de alcoóis e teor de açúcares, conforme item 3.6.

Os resultados obtidos estão representados na Tabela 16. A partir destes resultados foi possível realizar as análises de regressão para as variáveis dependentes testadas.

Tabela 16 – Condições experimentais e resultados obtidos para crescimento celular, maltose, sacarose, glicose, glicerol e etanol e metanol:

Tratamentos	Variáveis independentes			Variável dependente				
	Células viáveis (inicial)	T °C	% ART	Células viáveis (final-inicial)	Açúcares Redutores (%)	Glicerol (%)	Etanol (%)	Metanol (%)
T1	1,00E+08	33	13	1,80E+07	2,05	0,02	4,12	0,11
T2	1,00E+08	33	11	2,80E+07	1,02	0,04	2,16	0,09
T3	1,00E+08	27	13	3,10E+07	0,51	0,18	2,31	0,06
T4	1,00E+08	27	11	6,60E+07	0,75	0,01	3,24	0,13
T5	5,00E+07	33	13	5,30E+07	0,64	0,02	3,88	0,09
T6	5,00E+07	33	11	6,25E+07	0,72	0,03	0,26	1,52
T7	5,00E+07	27	13	3,13E+07	1,51	0,08	2,51	0,07
T8	7,50E+07	27	11	1,87E+07	0,31	0,01	1,88	0,04
T9	7,50E+07	30	12	2,50E+07	0,09	0,01	1,40	0,06
T10	7,50E+07	30	12	4,00E+07	0,08	0,01	1,42	0,05
T11	7,50E+07	30	12	5,00E+07	0,06	0,01	1,40	0,03
T12	7,50E+07	30	12	3,10E+07	0,10	0,01	1,42	0,05
T13	7,50E+07	30	12	3,75E+07	0,10	0,01	1,42	0,05
T14	7,50E+07	30	12	4,06E+07	0,09	0,01	1,46	0,05
T15	3,25E+05	30	12	4,69E+08	0,06	0,01	0,81	0,02
T16	1,18E+08	30	12	7,30E+08	0,04	0,01	0,92	0,03
T17	7,50E+07	24,9	12	5,30E+07	0,79	0,05	1,82	0,46
T18	7,50E+07	35,12	12	1,25E+07	0,71	0,01	3,60	0,08
T19	7,50E+07	30	10,3	2,50E+07	0,24	0,01	1,83	0,04
T20	7,50E+07	30	13,7	6,25E+06	0,05	0,01	0,81	0,04

4.6.1 Crescimento celular

Segundo Alves (1994), a viabilidade celular é extremamente importante para o desenvolvimento do processo fermentativo pois só ocorre a produção de etanol quando há a multiplicação da levedura.

A análise de variância mostrou ter efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre a concentração de leveduras (Anexo 2). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a concentração inicial de leveduras influenciou e teve efeito significativo sobre a taxa de crescimento celular (Anexo 2).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Crescimento} = 10822115 + 164749091 \times L^2 - 50414684 \times T^2$$

Foi construído o gráfico representado na Figura 4, que mostra o efeito da temperatura sobre o crescimento celular, seguindo o modelo ajustado (Anexo 2). Os maiores valores de crescimento celular estão nas faixas onde a concentração inicial de leveduras foi $1,2 \times 10^8$ – $1,3 \times 10^8$, em qualquer temperatura testada.

Estes dados estão alinhados com Lima (2001), que cita as temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol como sendo as situadas na faixa de 26 - 35°C.

No entanto, considerando o equilíbrio entre a multiplicação celular e a produção de etanol é possível observar que as melhores condições de concentração inicial de leveduras está na ordem de 4×10^7 a 1×10^8

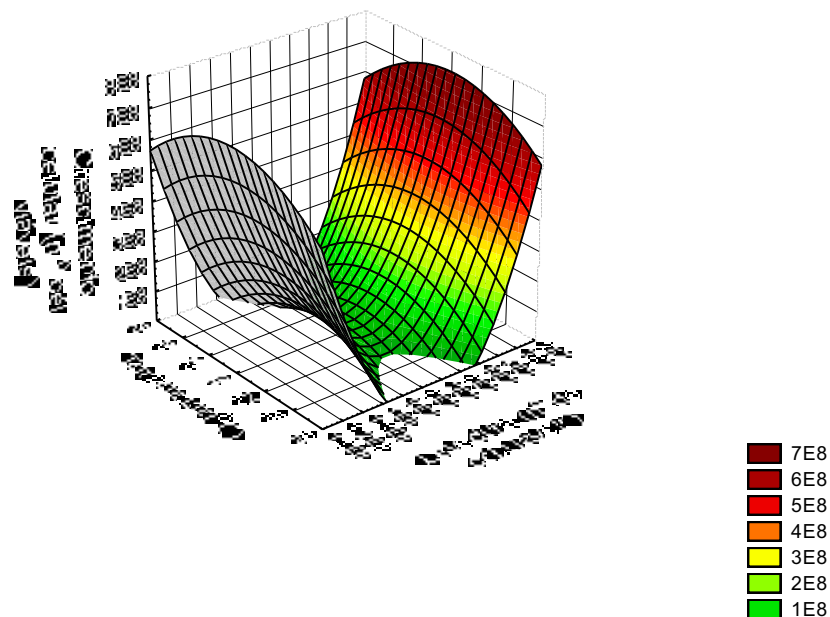


Figura 3 – Gráfico de superfície de resposta do crescimento celular em relação à temperatura e concentração de leveduras ao final dos processos, onde o teor de açúcares redutores estava no eixo central (12%).

Stupiello e Horii (1981) afirmaram que a reprodução de células pode ocorrer até a temperatura da ordem de 38⁰C, havendo inibição da multiplicação a 40⁰C e na presença de 8 a 9% v/v de etanol.

A utilização de leveduras selecionadas tem sido pesquisada, visando um aumento da produtividade, vantagens tecnológicas e melhoria das características sensoriais da cachaça. (PATARO et al,2000; GUERRA et al,2001; OLIVEIRA, 2001). Moraes et.al. (1997) observou que durante a multiplicação do fermento natural e no decorrer da fermentação para a produção de aguardente de cana artesanal a qual varia de 12 - 48h, há uma sucessão de espécies de leveduras.

4.6.2 Açúcares Redutores

Os valores de açúcares redutores representados na Tabela 16 incluem os valores calculados e analisados estatisticamente de maltose, frutose e glicose.

As leveduras transformaram estes açúcares redutores em etanol, e a observação destes valores residuais ao final do processo permite a identificação dos tratamentos mais eficazes na conversão.

4.6.2.1 Glicose

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que a glicose apresentou valores de concentração entre 0,02 e 0,18 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p>0,05$) dos fatores analisados sobre a glicose (Anexo 4). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o AR e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre a glicose (Anexo 4).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Glicose} = 0,0203 + 0,0205 \times L + 0,0167 \times T^2 + 0,0238 \times AR^2$$

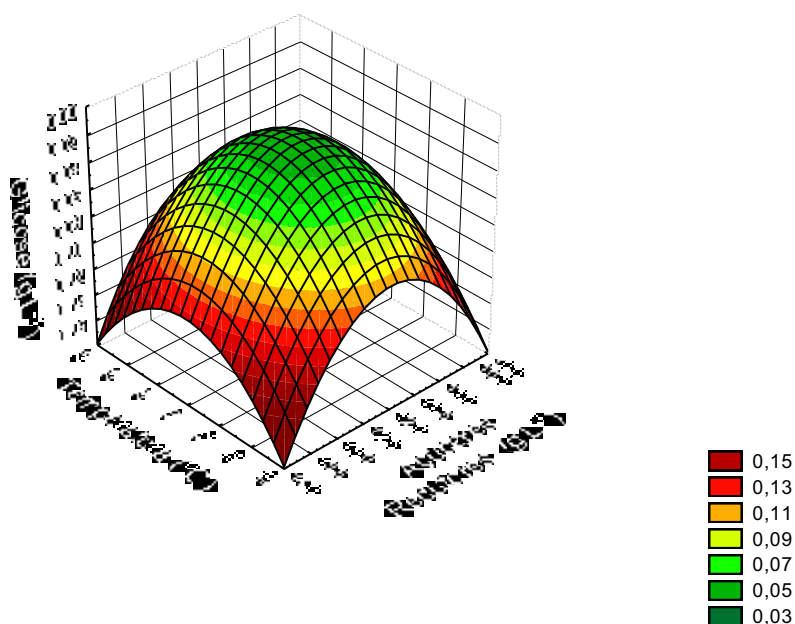


Figura 4 – Gráfico de superfície de resposta da concentração de glicose em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Através do gráfico representado na Figura 4 é possível observar que os menores resultados residuais de glicose são obtidos quando a concentração de açúcares redutores inicial está na faixa

de 11 – 13% e a temperatura entre 26 – 34⁰C. Esta concentração de açúcares não produz alterações drásticas na resposta das leveduras devido ao estresse osmótico que segundo Hohmann (1977) produz uma perda da quantidade de água intracelular.

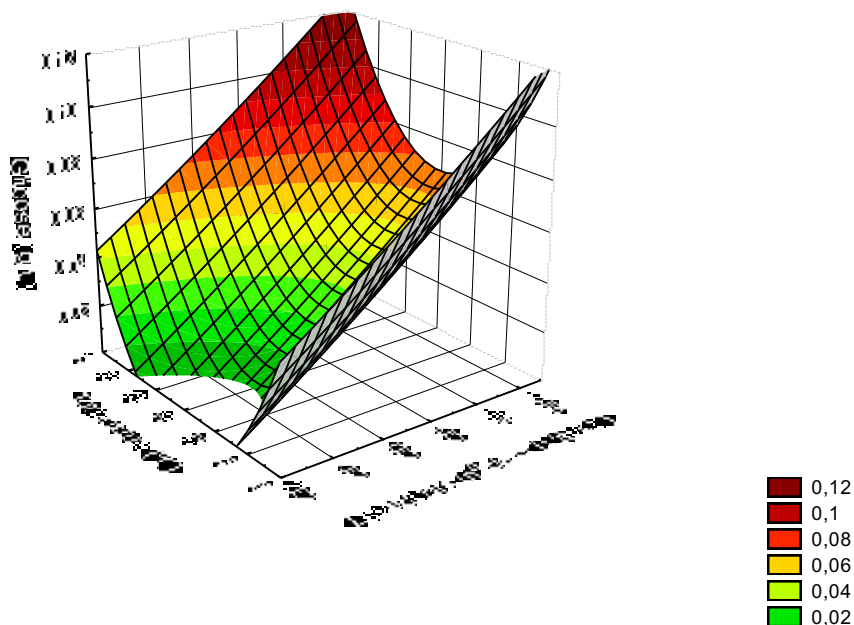


Figura 5 – Gráfico de superfície de resposta da glicose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final dos processos, com o teor de açúcares redutores no eixo central. (12%).

O gráfico representado na Figura 5 demonstra que quando os parâmetros analisados são a temperatura e a concentração de leveduras, os melhores resultados para a glicose residual (0 – 0,12%) são obtidos nas faixas de temperatura de 26 - 34⁰C e concentração inicial de leveduras entre 2×10^7 – 1×10^8 .

Na Figura 6 o gráfico representado correlaciona as variáveis açúcares redutores e concentração de leveduras na faixa de temperatura central (30⁰C) e observa-se a comprovação dos resultados analisados nos gráficos anteriores de glicose, demonstrando que as melhores condições seriam para concentrações iniciais na faixa de 11-13% e concentração de leveduras de 2×10^7 a 1×10^8 .

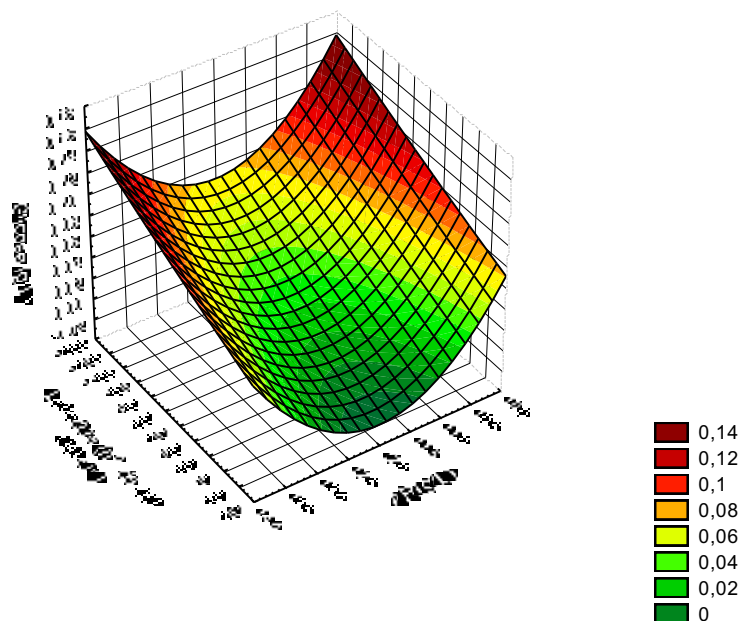


Figura 6 – Gráfico de superfície de resposta da glicose em relação teor de AR e a concentração de leveduras ao final dos processos, com a temperatura no eixo central (30⁰C).

4.6.2.2 Maltose

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que a maltose apresentou valores de concentração entre 0 e 0,77 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre a maltose (Anexo 3). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o AR e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre a maltose (Anexo 3).

Equação do modelo obtido:

$$Maltose = 0,0696 + 0,2016 \times T - 0,0875 \times AR^2 + 0,1295 \times L^2$$

Através do gráfico representado na Figura 7 foi possível identificar que os maiores resíduos de maltose ao final do processo fermentativo são encontrados quando a fermentação iniciou com os açúcares redutores nas faixas mais baixas de 10 a 11% e as temperaturas encontravam-se entre 25-32⁰C.

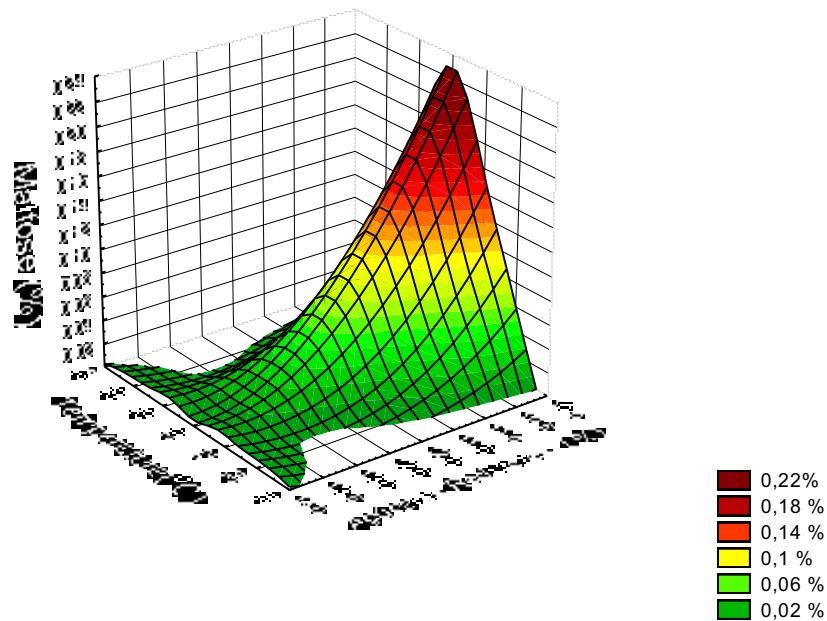


Figura 7 – Gráfico de superfície de resposta para a maltose em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).

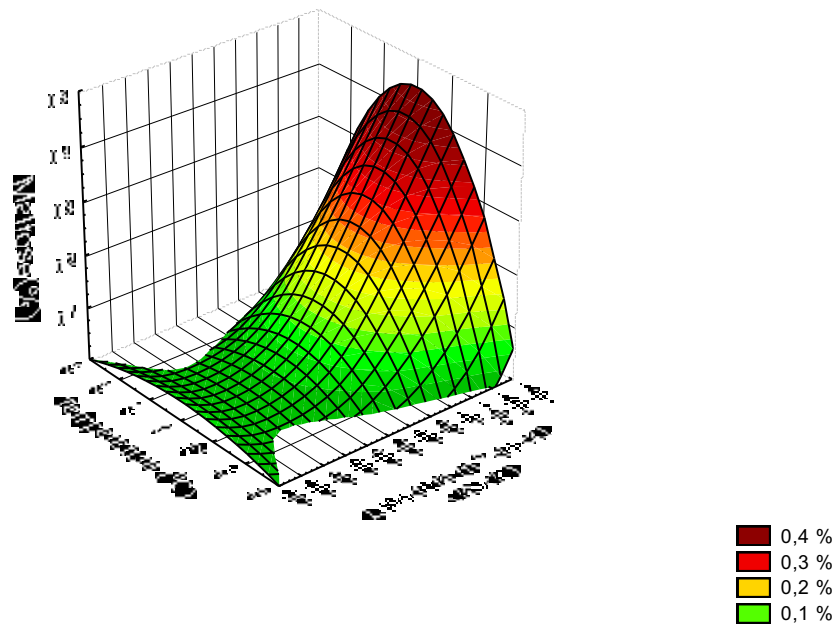


Figura 8 – Gráfico de superfície de resposta para a maltose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores (12%).

O gráfico representado na Figura 8, demonstra que os maiores valores residuais de maltose (0,3-0,4%) foram encontrados quando as quantidades iniciais de leveduras estavam acima de $1,1 \times 10^8$ e com a temperatura na faixa de 26-34°C.

4.6.2.3 Frutose

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que a frutose apresentou valores de concentração entre 0 e 0,14 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p>0,05$) dos fatores analisados sobre a frutose (Anexo 5). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre a frutose (Anexo 5).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Frutose} = 0,0345 + 0,0198 \times L + 0,0263 \times L \times T$$

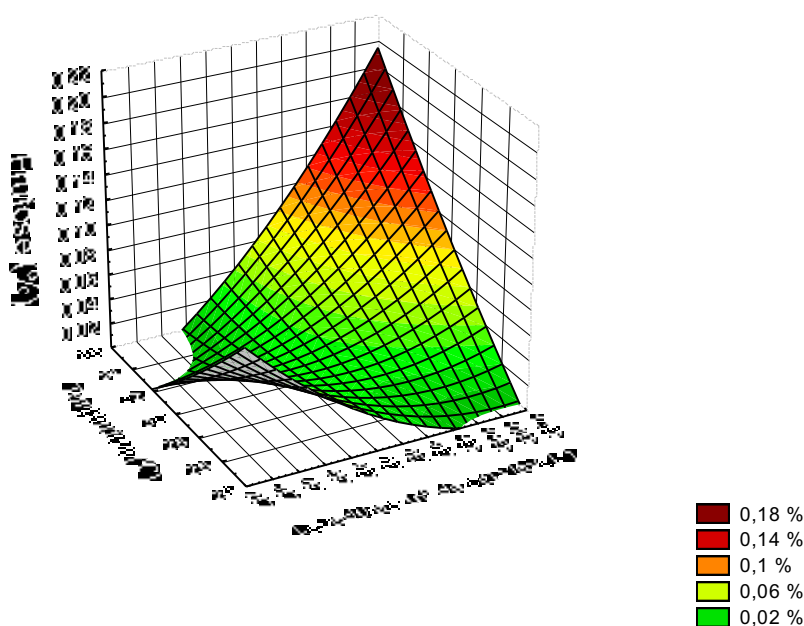


Figura 9 – Gráfico de superfície de resposta para a frutose em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com teor de AR o eixo central (12%).

Na Figura 9 através do gráfico representado foi possível observar que os menores valores residuais de frutose são obtidos quando a temperatura está na faixa de 24-30⁰C e a concentração de leveduras entre 2x10⁷ – 1,1x10⁸.

A partir da análise dos resultados obtidos através dos gráficos de maltose, glicose e frutose foi possível considerar que para o melhor consumo destes açúcares redutores iniciais contidos no mosto deste substrato são necessárias as seguintes condições: concentração de levedura 5x10⁷ – 1x10⁸, AR inicial 11-13% e temperatura na faixa de 26 – 34⁰C.

Para Lima (2001) as temperaturas ótimas de fermentação estão entre 26 – 35⁰C, conforme mencionado anteriormente, entretanto o mesmo autor alerta que à medida que a temperatura aumenta há também um aumento na velocidade da fermentação, deixando a levedura mais sensível à toxidez do etanol.

4.6.3 Glicerol

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o glicerol apresentou valores de concentração entre 0,01 e 0,18 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p>0,05$) dos fatores analisados sobre o glicerol (Anexo 6). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura e o AR influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o glicerol (Anexo 6).

Equação do modelo obtido:

$$Glicerol = 0,0275 - 0,0174 \times T + 0,0154 \times AR - 0,0338 \times T \times AR$$

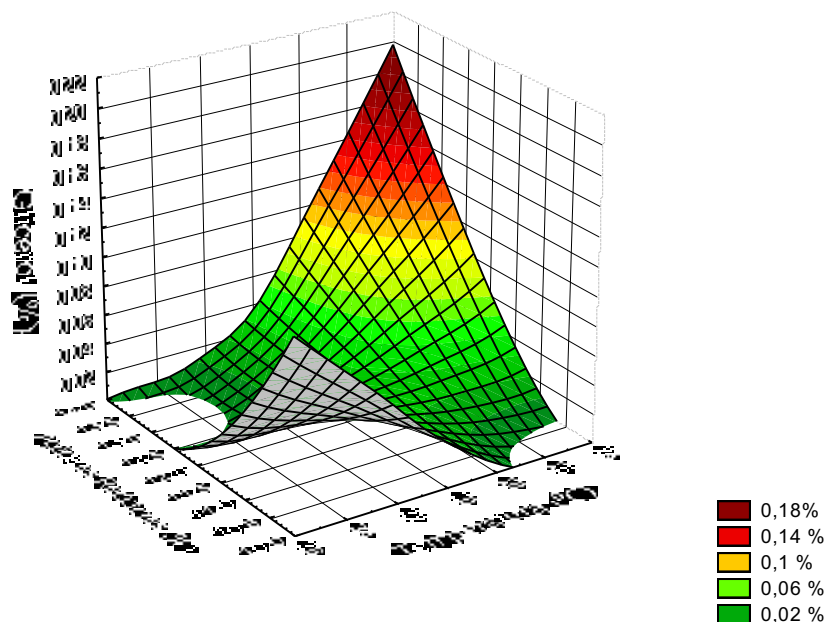


Figura 10 – Gráfico de superfície de resposta para o glicerol em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Analisando o gráfico representado na Figura 10 observa-se que os menores valores de glicerol são obtidos quando o AR inicial está na faixa de 10 – 13% e a temperatura variando entre 28 – 36°C.

Os resultados condizem com Gutierrez (1991), onde afirma, que dentre outros fatores a formação de glicerol é fortemente influenciada pela temperatura e concentração de açúcares.

4.6.4 Etanol

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o etanol apresentou valores de concentração entre 0,56 e 4,12 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o etanol (Anexo 7). Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura e o AR influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o etanol (Anexo 7).

Equação do modelo obtido:

$$Etanol = 1,5012 + 0,6325 \times T^2 + 0,7350 \times AR \times T$$

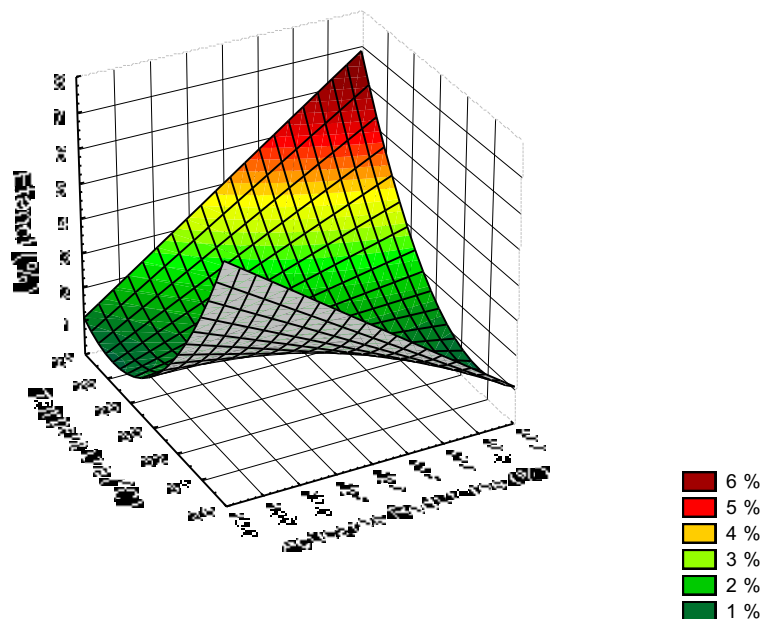


Figura 11 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de etanol em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Através do gráfico representado na Figura 11, observa-se que nas condições de temperaturas mais baixas, 24 - 28°C, a maior produção de etanol ocorreu com concentrações iniciais de AR entre 10 - 11,5%, sendo o inverso verdadeiro quando as concentrações de AR estavam entre 12 - 14% os melhores valores de etanol foram encontrados com temperaturas entre 33 - 35°C.

O teor de etanol na concentração de 56,6 g.L⁻¹ inibe o crescimento celular tornando a membrana celular permeável a prótons e conseqüentemente acidificando o seu citoplasma. A célula produz trealose e afeta a produtividade em etanol. (d'AMORE; STEWART,1987)

4.6.5 Metanol

O metanol pode ser produzido durante os estágios da fermentação, entretanto é um composto indesejável ao produto final, devido a sua alta toxicidade.

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o metanol apresentou valores de concentração entre 0,02 e 0,52 % como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou não ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o metanol (Anexo 8).

Analisando-se os resultados dos 20 ensaios realizados e considerando a produção de etanol, foi possível elaborar a Tabela 16 com as melhores condições de fermentação para o substrato testado, considerando cada variável dependente e as influências quando significativas das variáveis independentes. Os valores das variáveis independentes estão expressos em faixas.

Tabela 16 – Melhores intervalos de concentração inicial de levedura, açúcares redutores e temperaturas observados nos ensaios fermentativo.

	Concentração de Leveduras (nº de células viáveis)	AR (%)	Temperatura (°C)
Taxa de crescimento celular (>)	$4 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	-----	24 - 35
Brix Final (<)	-----	-----	27 - 33
Glicose (<)	$2 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	11 - 13	26 - 34
Frutose (<)	$2 \times 10^7 - 1,1 \times 10^8$	-----	24 - 30
Maltose (<)	$2 \times 10^7 - 5 \times 10^7$	12 - 13	33 - 36
Glicerol (<)	-----	10 - 13	28 - 36
Etanol (>)	-----	10 - 11,5	24 - 28
		12 - 14	33 - 35
Melhores Condições	$5 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	12 - 13	33 - 35

Porém, a utilização deste substrato prevê um destino mais nobre, a produção de bebida, para tanto além da produção de etanol é preciso verificar a formação de compostos secundários, que por vezes são interessantes em outras não. A avaliação destas variáveis dependentes permitirá uma faixa ainda mais restrita das melhores condições.

Após o processo fermentativo os vinhos dos 20 ensaios foram destilados e seus produtos analisados conforme as seguintes variáveis dependentes: álcool isoamílico, n-butanol, terc-butanol, álcool butírico, isopropanol, acetato de etila, metil éster, acetonitrila, acetaldeído, benzaldeído, hidroximetil furfural, butiraldeído, valeraldeído, heptaldeído, formaldeído, propanaldeído, acetona e butanona. Destes não foram detectados: álcool isoamílico, n-butanol, metil éster, acetona, butanona.

4.7 Compostos secundários

O processo de fermentação passa pelo desdobramento dos açúcares presentes no mosto com a formação de dois produtos principais álcool etílico e dióxido de carbono. Além desses,

normalmente há a formação de pequenas quantidades de outros compostos os quais recebem a denominação de compostos secundários. São estes produtos que diferem uma bebida destilada de uma simples solução alcoólica.(CARDOSO, 2001)

Um bom equilíbrio entre os compostos secundários é essencial para a produção de uma bebida de qualidade.(CARDOSO, 2001)

Os compostos secundários, responsáveis pelo aroma ou “bouquet” das bebidas, pertencem às seguintes classes: aldeídos, álcoois superiores, ésteres, furfural, lactonas, ácidos orgânicos entre outros.(LEHTONEN; JOURNELA-ERIKSSON, 1983)

Os resultados obtidos nos destilados para compostos secundários foram analisados conforme itens 3.6.4.2 e 3.6.4.3 e estão representados na Tabela 17. A partir destes resultados foi possível realizar as análises de regressão para as variáveis dependentes testadas.

Os resultados foram analisados estatisticamente um a um conforme segue.

Tabela 17 - Condições experimentais e resultados obtidos para os compostos secundários testados, acetaldeído, benzaldeído, butiraldeído, formaldeído, heptaldeído, hidroximetil furfural, valeraldeído, acetato de etila, acetonitrila, álcool butírico, isopropanol, terc-butanol:

Tratamentos	Variáveis independentes			Variáveis dependentes compostos secundário (mg.L ⁻¹)											
	Concentração de leveduras	T °C	% AR	ACE	BEN	BUT	FOR	HEP	HMF	VAL	AcEt	ACETO	Btiri	Iso-propa	T-Bol
T1	1,00E+08	33	13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,34	0,00	0,52	1,03	0,00
T2	1,00E+08	33	11	0,11	113,30	0,00	24,95	13,20	0,00	0,00	3,27	0,00	0,00	1,28	0,00
T3	1,00E+08	27	13	0,00	94,46	0,00	81,45	2,15	0,00	0,00	2,13	0,00	0,00	0,50	0,96
T4	1,00E+08	27	11	0,00	92,91	0,00	0,00	8,01	0,00	0,00	5,45	0,34	0,00	1,25	0,00
T5	5,00E+07	33	13	0,00	103,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,87	0,28	0,00	0,00	0,00
T6	5,00E+07	33	11	0,00	0,00	0,00	78,79	0,00	0,00	8,45	1,24	0,00	0,43	0,16	0,00
T7	5,00E+07	27	13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	31,99	3,61	0,00	0,00	0,41	0,00
T8	5,00E+07	27	11	0,00	69,79	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	2,16	0,00	0,00	0,00	0,00
T9	7,50E+07	30	12	6,20	0,00	52,48	0,00	26,92	0,00	0,00	1,35	0,00	0,00	0,60	0,00
T10	7,50E+07	30	12	6,23	0,00	49,85	0,00	21,57	0,00	0,00	0,90	0,00	0,00	0,56	0,00
T11	7,50E+07	30	12	5,60	0,00	49,06	0,00	23,32	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,42	0,00
T12	7,50E+07	30	12	6,20	0,00	53,09	0,00	21,55	0,00	0,00	1,37	0,00	0,00	0,37	0,00
T13	7,50E+07	30	12	6,64	0,00	51,18	0,00	25,45	0,00	0,00	1,30	0,00	0,00	0,36	0,00
T14	7,50E+07	30	12	6,52	0,00	49,24	0,00	22,92	0,01	0,00	1,44	0,00	0,00	0,40	0,00
T15	3,25E+07	30	12	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00
T16	1,18E+08	30	12	0,04	6,82	57,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,97	0,19	0,31	0,00	0,40
T17	7,50E+07	24,9	12	2,85	0,00	0,00	85,77	8,84	0,00	3,80	0,63	0,20	0,34	1,32	0,00
T18	7,50E+07	35,12	12	0,00	0,00	0,00	0,00	3,46	0,00	0,00	2,67	0,24	0,40	0,81	0,00
T19	7,50E+07	30	10,3	0,00	69,84	69,84	12,80	12,27	0,00	0,00	3,53	0,00	0,00	0,32	1,68
T20	7,50E+07	30	13,7	0,00	0,00	0,00	90,99	12,51	0,00	0,00	1,38	0,00	0,00	0,32	0,00

ACE:acetaldeído,BEN:benzaldeído, BUT: butiraldeído,FOR:formaldeído, HEP:heptaldeído,HMF: hidroximetil furfural, VAL: valeraldeído, AcET: acetato de etila,ACETO: acetonitrila, Btiri: álcool butírico, Iso-propa: isopropanol, T-Bol: terc-butanol

4.7.1 Aldeídos

Os aldeídos são compostos resultantes da oxidação parcial ou desidrogenação de álcoois primários. Aldeídos com até oito átomos de carbono, possuem um “threshold” muito baixo apresentando aromas penetrantes e enjoativos e por isso sendo indesejáveis em bebidas destiladas, são os chamados “off-flavours”. Acima de 10 átomos de carbono apresentam aroma agradável. (BERRY,1995; MAIA, 1994).

As concentrações de aldeídos obtidas nos 20 tratamentos mostraram variações quantitativas e este fato pode estar relacionado às observações realizadas por Horii, Ribeiro (1999) que durante experimentos sobre potencialidades de linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, observaram que a concentração de aldeídos, nos três tratamentos utilizados, variou de forma crescente com a fase exponencial de crescimento, após a qual ocorreu diminuição da concentração, observando-se picos de concentração após o ponto de máxima produtividade de etanol. Uma hipótese para as variações quantitativas pode estar no fato de que nos ensaios realizados o tempo de fermentação foi fixado em 16h para todos os tratamentos.

4.7.1.1 Acetaldeído

Os resultados obtidos nos ensaios realizados para acetaldeído apresentaram concentração entre 0,04 e 6,64 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o acetaldeído (Anexo 9).

O acetaldeído tende a desaparecer durante a fermentação pela oxidação em ácido acético, como citado em Yokoya (1995), os aldeídos, principalmente o acetaldeído, são co-produtos normais da fermentação alcoólica.

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o acetaldeído (Anexo 9).

No gráfico representado na Figura 12, observamos que os maiores valores de acetaldeído são obtidos quando a faixa de temperatura está entre 26 – 34⁰C, e a concentração inicial de AR entre 10,5 – 13,5%.

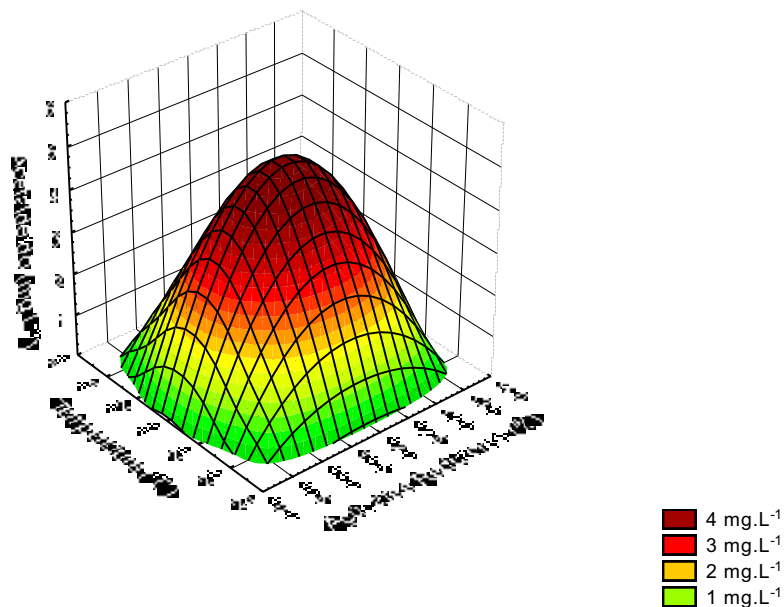


Figura 12 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetaldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final dos processos, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Na Figura 13 o gráfico representado demonstra que os maiores resultados para acetaldeído são obtidos nas faixas de temperatura de $26 - 34^{\circ}\text{C}$ semelhante ao gráfico anterior, e quando a concentração iniciais de células viáveis varia entre $3 \times 10^7 - 1,1 \times 10^8$.

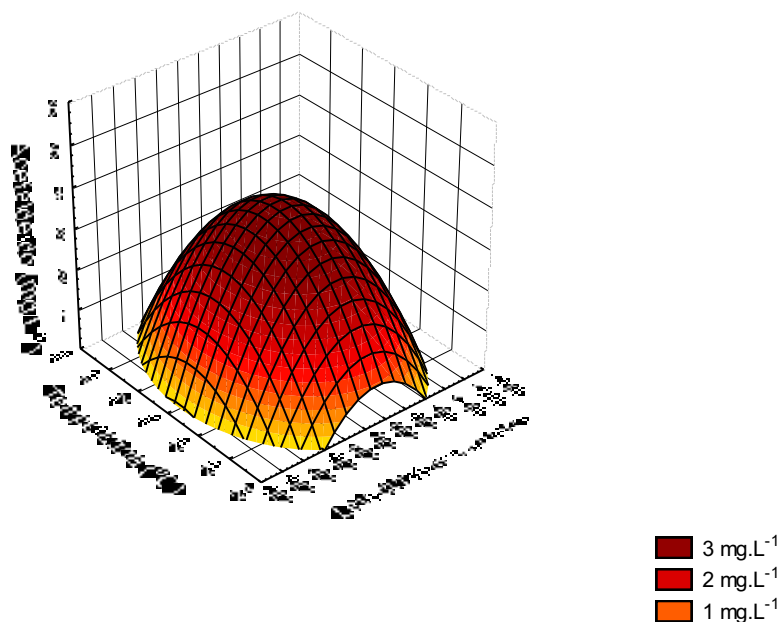


Figura 13 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetaldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores o eixo central (12%).

Equação do modelo obtido:

$$Acetaldeído = 5,20 - 1,85 \times L^2 - 1,37 \times T^2 - 1,88 \times AR^2$$

4.7.1.2 Benzaldeído

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o benzaldeído apresentou valores de concentração entre 6,82 e 113,3 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou não ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o benzaldeído (Anexo 10).

4.7.1.3 Butiraldeído

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o butiraldeído apresentou valores de concentração entre 49,06 e 69,84 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o butiraldeído (Anexo 10).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o butiraldeído (Anexo 11).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Butiraldeído} = 51,44 + 7,04 \times L - 8,6 \times AR - 11,95 \times L^2 - 22,05 \times T^2 - 9,7 \times AR^2$$

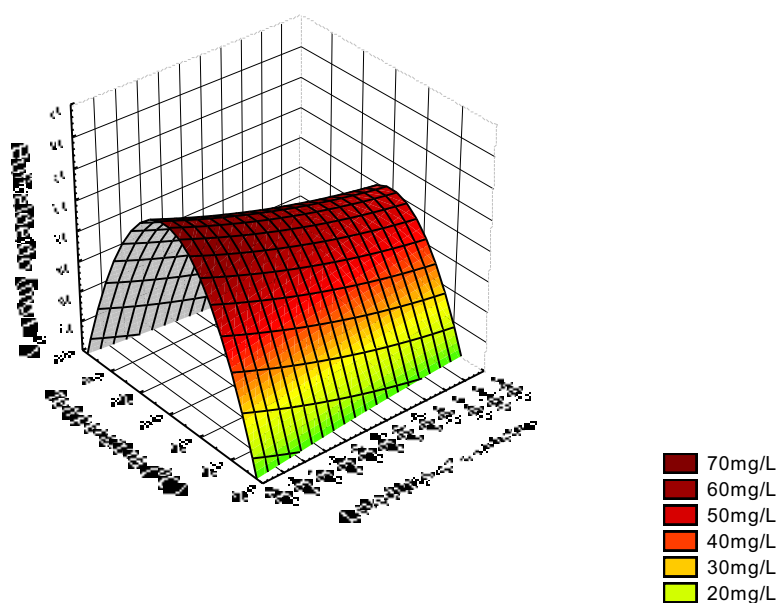


Figura 14 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de butiraldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).

Na Figura 14 o gráfico representado mostra que os maiores valores de butiraldeído ocorreram quando a temperatura estava na faixa de 26 – 34 °C, em todas as concentrações iniciais de leveduras.

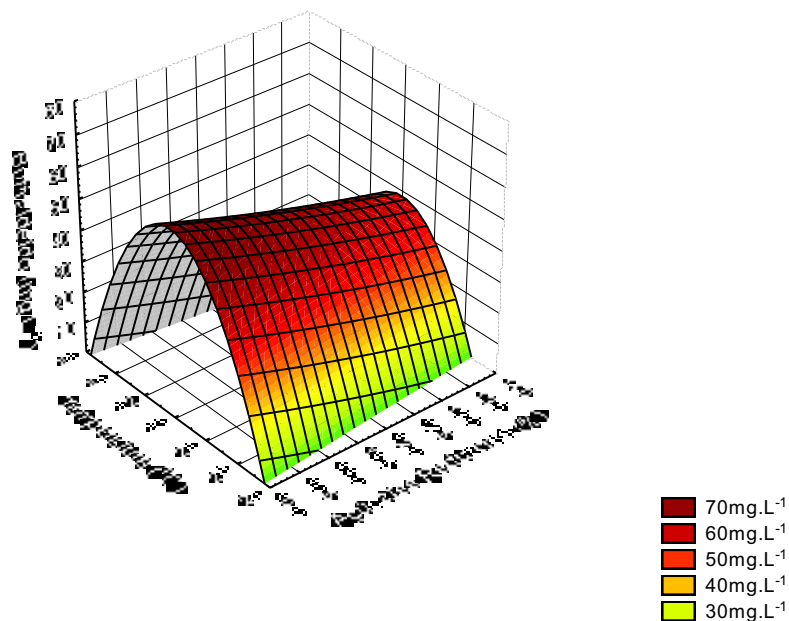


Figura 15 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de butiraldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Analisando o gráfico da Figura 15 é possível observar a semelhança ao comportamento do gráfico anterior, pois os maiores valores de butiraldeído ocorreram quando a temperatura estava na faixa de $26 - 34^{\circ}\text{C}$, em todas as concentrações iniciais de açúcares redutores.

4.7.1.4 Formaldeído

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o formaldeído apresentou valores de concentração entre $12,8$ e $90,99 \text{ mg.L}^{-1}$ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou não ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o formaldeído (Anexo 11).

4.7.1.5 Heptaldeído

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o heptaldeído apresentou valores de concentração entre $2,15$ e $26,92 \text{ mg.L}^{-1}$ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o heptaldeído (Anexo 12).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, os açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o heptaldeído (Anexo 12).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Heptaldeído} = 23,69 + 1,71 \times L - 1,36 \times AR - 8,8 \times L^2 - 6,64 \times T^2 - 4,44 \times AR^2 - 2,38 \times L \times AR$$

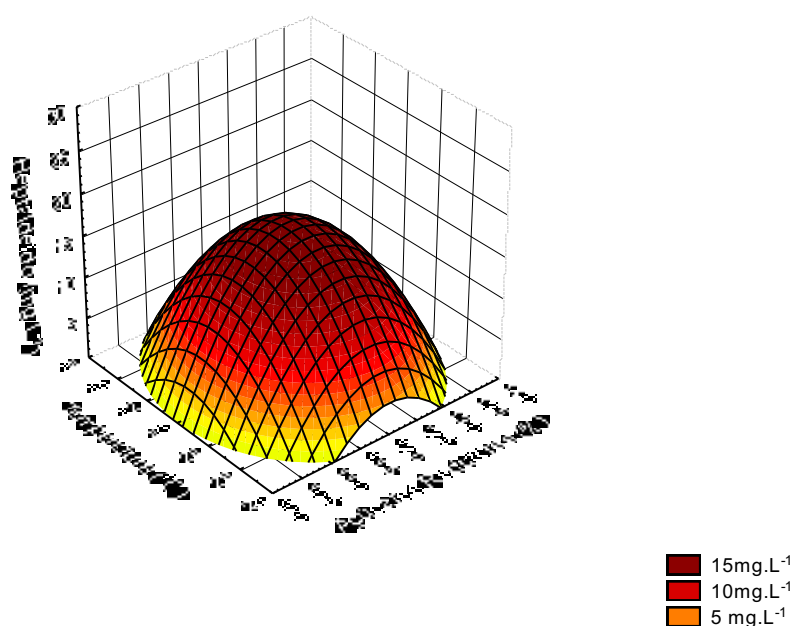


Figura 16 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de heptaldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Na Figura 16 o gráfico representado mostra que os maiores valores de butiraldeído ocorreram quando a temperatura estava na faixa de 28 – 32 °C, e as concentrações iniciais de açúcares redutores entre 11 – 13%.

Analisando o gráfico da Figura 17 é possível observar que os maiores valores de butiraldeído ocorreram na mesma faixa de temperatura do gráfico anterior (28 – 32 °C), para concentrações iniciais de células viáveis de 2×10^7 – 7×10^7 .

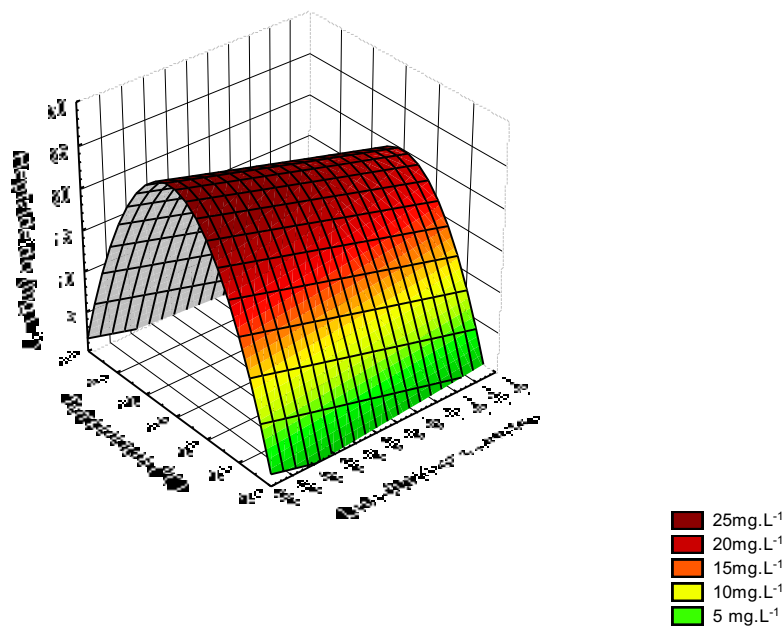


Figura 17 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de heptaldeído em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com temperatura o eixo central (12%).

4.7.1.6 Hidroximetil furfural

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o hidroximetil furfural apresentou valores de concentração entre 0,01 e 0,12 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o hidroximetil furfural (Anexo 13).

O hidroximetil furfural tem efeito tóxico inibidor do crescimento celular em leveduras e sua presença tem origem na degradação de monossacarídeos em meio ácido.(d'AMORE ;STEWART,1987)

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o hidroximetil furfural (Anexo 13).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Hidroximetil furfuraldeído} = - 0,0045 - 0,016 \times L + 0,017 \times L^2$$

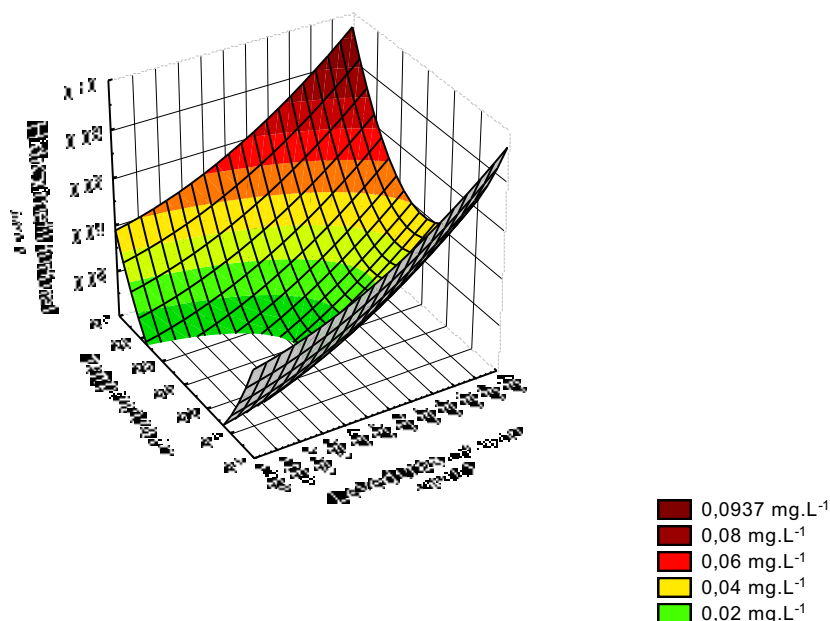


Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de hidroximetil furfural em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de AR o eixo central (12%).

O gráfico de Figura 18 demonstra que as menores concentrações de hidroximetil furfural ocorrem quando a concentração inicial de leveduras varia entre 5×10^7 – $1,3 \times 10^8$, e as temperaturas se encontram na faixa de 25 – 35°C.

4.7.1.7 Valeraldeído

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o valeraldeído apresentou valores de concentração entre 3,8 e 31,99 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos, respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o propanalaldeído (Anexo 14).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o valeraldeído (Anexo 14).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Valeraldeído} = 2,21 + 2,96 \times L - 5,05 \times T \times AR$$

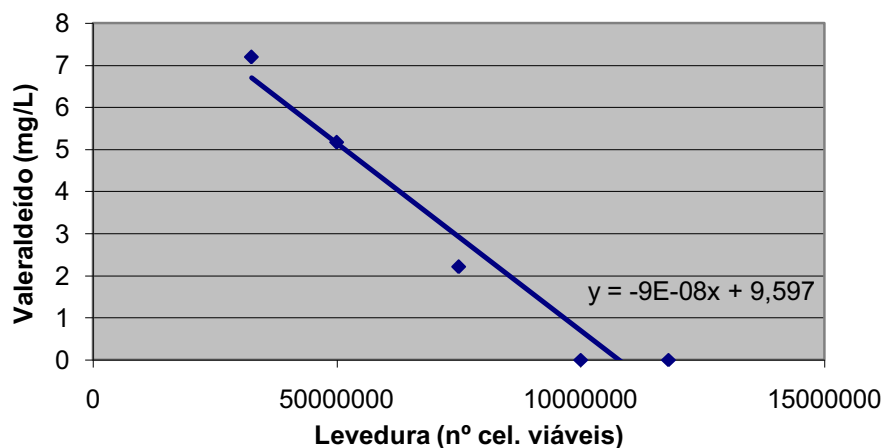


Figura 19 – Produção de valeraldeído em relação à concentração de leveduras ao final do processo.

Na Figura 19 observa-se o gráfico que demonstra o comportamento linear da concentração inicial da levedura, observa-se que menores concentrações iniciais de levedura influenciam a formação de maiores quantidades de valeraldeído. Sendo que as menores quantidades de valeraldeído são obtidas quando as concentrações de leveduras iniciam a partir de $7,5 \times 10^7$.

O gráfico representado na Figura 20 mostra duas faixas de menores valores de valeraldeído, quando as temperaturas estão entre 24 - 28°C e as concentrações iniciais de açúcares redutores entre 10 – 12%, e quando as temperaturas variam entre 29 – 36°C e as concentrações iniciais estão entre 12,5 – 14%.

A legislação brasileira estabelece valores para alguns componentes secundários, para o acetaldeído principal aldeído presente em destilados o valor máximo permitido é de 30mg/100mL de álcool anidro já para furfural o valor máximo é de 5mg/100mL de álcool anidro.

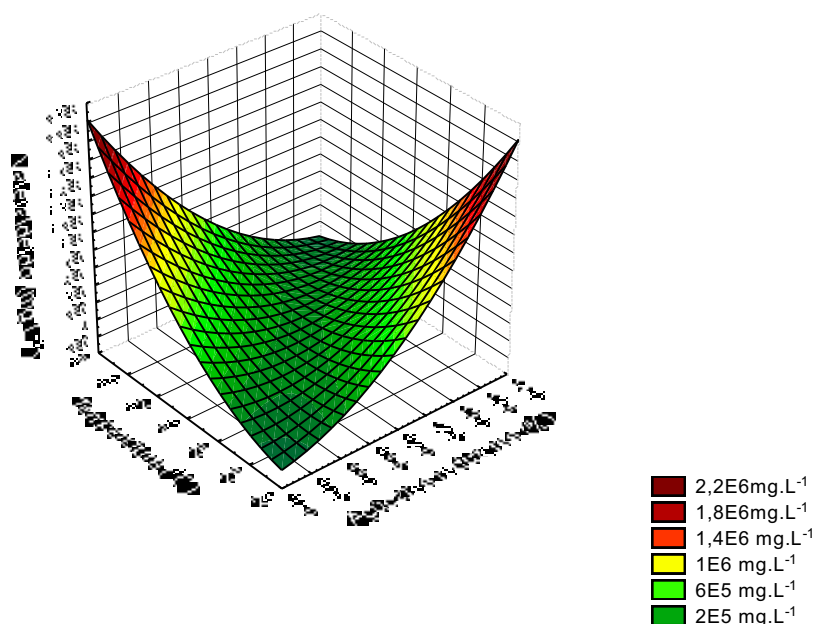


Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de valeraldeído em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Os valores obtidos nos tratamentos se referem ao total de compostos presentes no mosto, uma vez que não houve separação de cabeça, coração ou cauda. Quando os valores representados na Tabela 18 são expressos em mg para cada 100mL de álcool anidro, dos 20 tratamentos, 5 ultrapassaram os valores permitidos para acetaldeído e apresentaram valores entre 40 – 46,76mg.100mL⁻¹. Dato et al (2005), analisando os compostos secundários produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* no mosto, observaram a produção de 43,76mg.100mL⁻¹ anidro de acetaldeído, semelhante aos resultados encontrados.

Nos 20 ensaios os resultados obtidos para furfurais quando expressos em mg/100mL de álcool anidro variaram entre 0,07 e 1,48mg.100mL⁻¹ de álcool anidro não ultrapassando em nenhum caso o limite estabelecido.

4.7.2 Ésteres

4.7.2.1 Acetato de Etila

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o acetato de etila apresentou valores de concentração entre 0,63 e 5,45 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos

respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p>0,05$) dos fatores analisados sobre o acetato de etila (Anexo 15).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o acetato de etila (Anexo 15).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Acetato de Etila} = 1,11 + 0,5 \times L + 0,46 \times T^2 + 0,75 \times AR^2 - 0,66 \times L \times AR$$

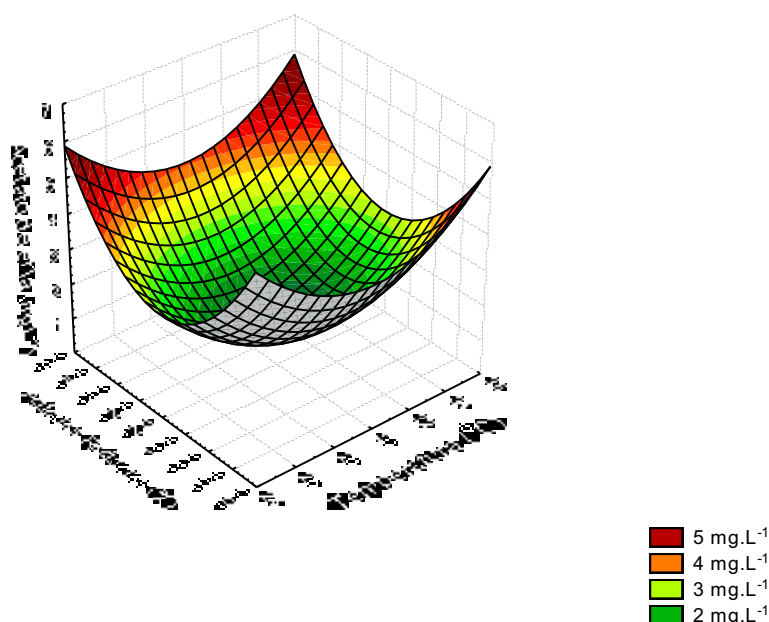


Figura 21 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetato de etila em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras o eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Analisando o gráfico representado na Figura 21 é possível observar que os menores valores de acetato de etila são obtidos quando a concentração inicial de açúcares redutores está na faixa de 11 – 13 % e a temperatura entre 26 – 34 °C.

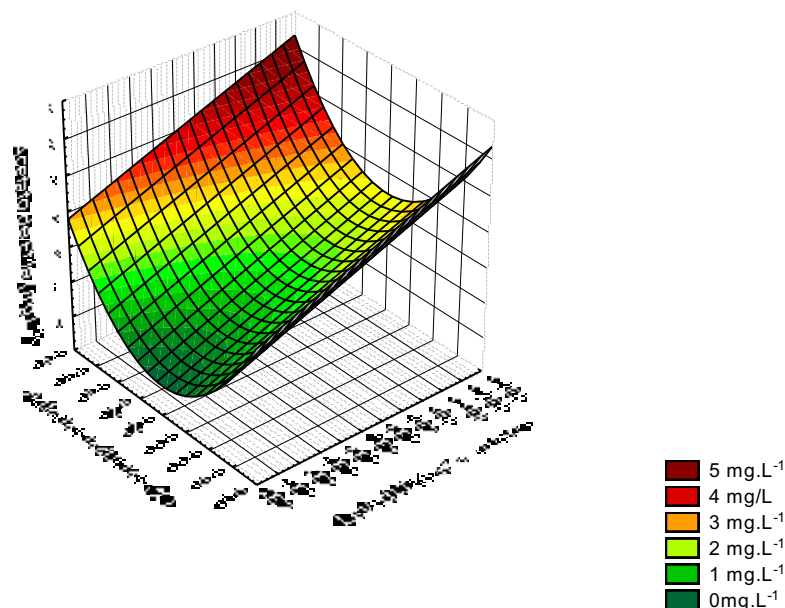


Figura 22 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetato de etila em relação à concentração de leveduras e o teor de AR ao final do processo, com a temperatura no eixo central (30 °C).

Na Figura 22, o gráfico representado mostra que os menores valores de acetato de etila foram observados quando a concentração inicial está na faixa de 11 – 13% conforme o gráfico anterior e a concentração inicial de leveduras variou entre 2×10^7 – 8×10^7 .

A legislação brasileira determina como valores máximos para acetato de etila 200mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, quando os valores obtidos nos 20 tratamentos são expressos em mg.100mL⁻¹ de álcool anidro eles variam de 2,14 a 47,69mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro não ultrapassando os valores permitidos para este éster.

4.7.3 Cetonas

4.7.3.1 Acetonitrila

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que a acetonitrila apresentou valores de concentração entre 0,19 e 0,34 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre a acetonitrila (Anexo 16).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre a acetonitrila (Anexo 16).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Acetonitrila} = -0,005 + 0,03 \times L + 0,03 \times L^2 + 0,07 \times T^2 - 0,078 \times L \times T - 0,078 \times L \times AR + 0,077 \times T \times AR$$

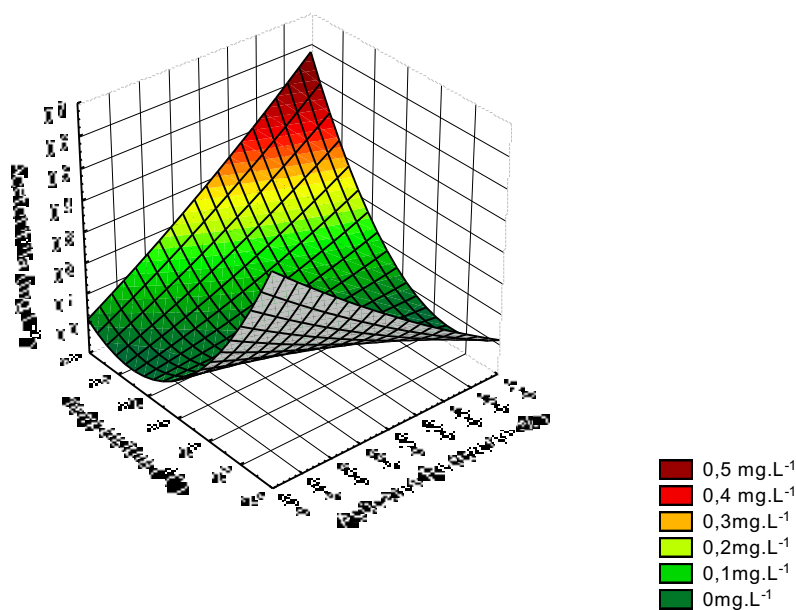


Figura 23 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetonitrila em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Na Figura 23 o gráfico representado mostra duas faixas onde são obtidos os melhores resultados quando a temperatura está entre 24 – 34 °C e a concentração de açúcares redutores iniciais entre 12,5 – 14%. A outra faixa de menores resultados está quando a temperatura é de 28 – 36°C e a concentração inicial de açúcares redutores na faixa de 10 – 12 %.

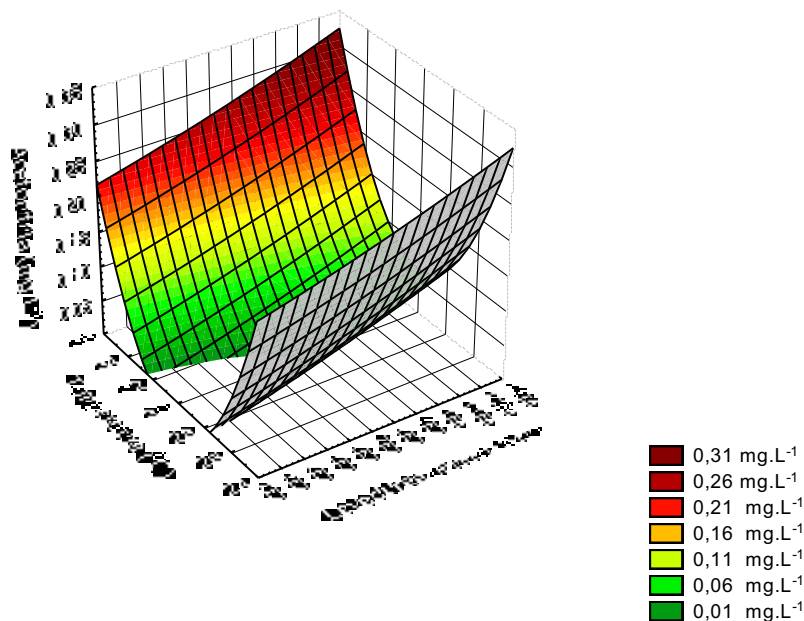


Figura 24 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de acetonitrila em relação à temperatura e concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).

Analisando o gráfico da Figura 24 é possível observar que os menores valores de acetonitrila ocorreram na faixa de temperatura (28 – 32 °C), para concentrações iniciais de células viáveis de 2×10^7 – 7×10^7 .

4.7.4 Álcoois Superiores

Segundo Amerine et al (1972), os álcoois superiores são importantes não apenas pelos seus odores característicos mas também pela ação solvente sobre outras substâncias aromáticas interferindo nos graus de volatilidade destas.

A quantidade máxima de álcoois superiores é produzida a 25-30°C, em cultivos agitados, com inóculo elevado, em mostos contendo altas concentrações de aminoácidos e substâncias insolúveis (KORHOLA et al., 1989).

4.7.4.1 Álcool Butílico

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o álcool butílico apresentou valores de concentração entre 0,31 e 0,52 mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o álcool butílico (Anexo 17).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o álcool butírico (Anexo 17).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Álcool butírico} = 0,02 + 0,076 \times T + 0,11 \times T^2 + 0,11 \times L \times AR$$

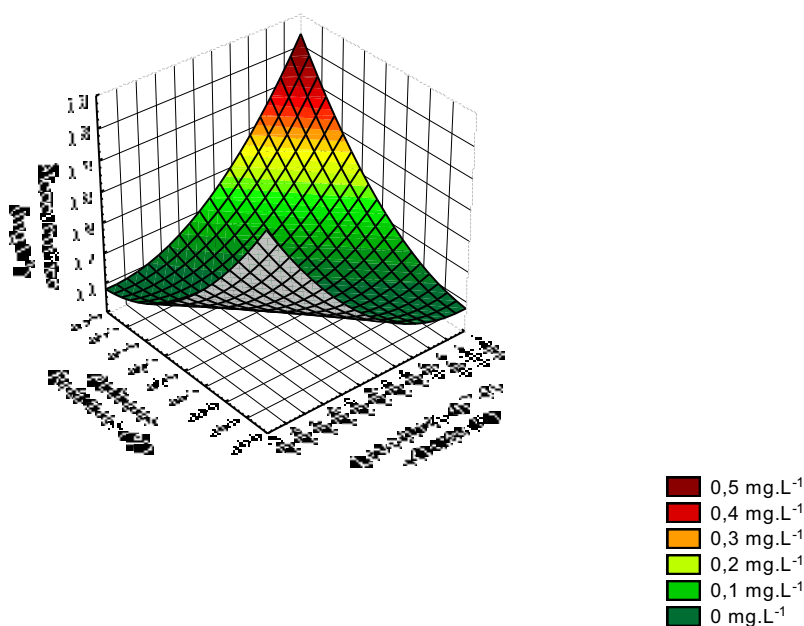


Figura 25 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de álcool butírico em relação ao açúcares redutores e a concentração de leveduras ao final do processo, com a temperatura no eixo central (30⁰C).

Observando o gráfico representado na Figura 25 é possível constatar que os menores valores de álcool butírico são encontrados quando a quantidade de açúcares redutores inicial está entre 12 – 14 % e a concentrações iniciais de leveduras entre 6×10^7 – 1×10^8 .

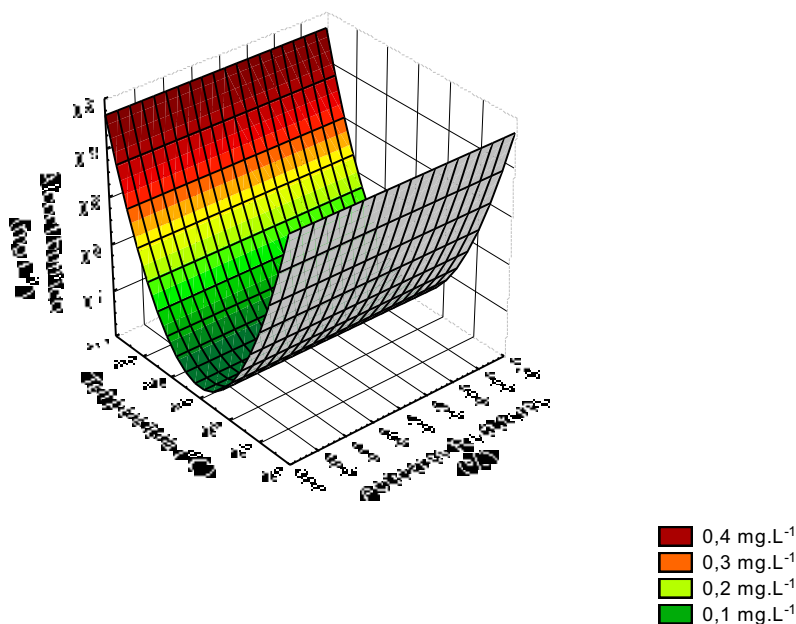


Figura 26 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de álcool butílico em relação à temperatura e o teor de açúcares redutores ao final do processo, com a concentração de leveduras no eixo central ($7,5 \times 10^7$).

Analisando o gráfico representado na Figura 26 observa-se que os menores resultados de álcool butílico são encontrados quando a temperatura varia entre $26 - 34^{\circ}\text{C}$, independente da concentração inicial de açúcares redutores

4.7.4.2 Iso-propanol

Horii, Boza (1998), observaram que os teores de acidez e n-propanol influenciam negativamente o flavour de aguardentes.

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o isopropanol apresentou valores de concentração entre $0,16$ e $1,32 \text{ mg.L}^{-1}$ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o iso-propanol (Anexo 18).

Utilizou-se a opção “step wise” do programa SAS e verificou-se que a temperatura, o teor de açúcares redutores e a concentração de leveduras influenciaram e tiveram efeito significativo sobre o isopropanol (Anexo 18).

Equação do modelo obtido:

$$\text{Isopropanol} = 0,355 + 0,21 \times L + 0,24 \times T^2$$

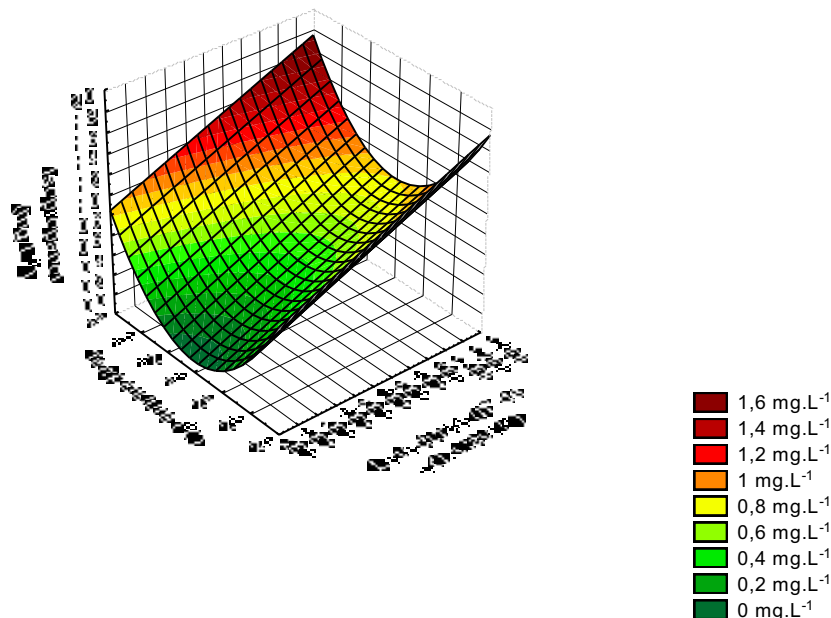


Figura 27 – Gráfico de superfície de resposta para a produção de iso-propanol em relação à temperatura e a concentração de leveduras ao final do processo, com o teor de açúcares redutores no eixo central (12%).

Analisando o gráfico representado na Figura 27 é possível observar que os menores resultados de iso-propanol são obtidos quando a temperatura está na faixa de 26 – 34⁰C e a concentração inicial de leveduras é de 2×10^7 – 8×10^7 .

A melhor faixa de temperatura para baixos valores dos álcoois butírico e iso-propanol foi a mesma.

4.7.4.3 Terc-butanol

Os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados mostraram que o terc-butanol apresentou valores de concentração entre 0,40 e 1,68mg.L⁻¹ como valores mínimos e máximos respectivamente. A análise de regressão mostrou não ter ocorrido efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores analisados sobre o terc-butanol (Anexo 19).

Com base nos resultados obtidos através dos gráficos elaborados a partir das análises estatísticas foi possível elaborar a Tabela 18 com as melhores condições considerando a produção

de bebida a partir deste substrato, dentro dos parâmetros testados. Para tanto foram observadas as faixas onde os compostos de menor interesse eram produzidos em menores quantidades e vice versa.

Tabela 18 – Melhores condições de fermentação considerando as variáveis testadas para a produção de bebidas.

	Concentração de Leveduras (n ⁰ de células viáveis)	AR (%)	Temperatura (°C)
Taxa de crescimento celular (>)	$4 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	-----	24 - 35
Glicose (<)	$2 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	11 - 13	26 - 34
Frutose (<)	$2 \times 10^7 - 1,2 \times 10^8$	-----	24 - 30
Maltose (<)	$2 \times 10^7 - 5 \times 10^7$	12 - 13	33 - 36
Glicerol (<)	-----	10 - 13	28 - 36
Etanol (>)	-----	10 - 11,5	24 - 28
		12 - 14	33 - 35
Acetaldeído (<)	$3 \times 10^7 - 1,3 \times 10^8$	10,5 - 13,5	26 - 34
Butiraldeído (<)	-----	-----	24 - 26
			34 - 36
Heptaldeído(<)	$9 \times 10^7 - 1,3 \times 10^7$	10- 11	24 - 28
		11- 14	33 - 36
Hidroxi metil furfural (<)	$5 \times 10^7 - 1,3 \times 10^8$	-----	25 - 35
Valeraldeído (<)	$7,5 \times 10^7 - 1,3 \times 10^8$	10 - 12	24 - 28
		12,5 - 14	29 - 36
Acetato de Etila (<)	$2 \times 10^7 - 8 \times 10^7$	11 - 13	26 - 34
Acetonitrila (<)	$2 \times 10^7 - 7 \times 10^7$	10 - 12	24 - 34
		12,5 - 14	28 - 36
Álcool Butírico (<)	$2 \times 10^7 - 1,3 \times 10^8$	-----	27 - 34
Isopropanol (<)	$2 \times 10^7 - 8 \times 10^7$	-----	26 - 34
Melhores Condições	$5 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	12,5 - 13,5	33 - 34

Com o propósito de relacionar os dados obtidos e obter as melhores condições observou-se que em alguns casos não era possível obter os melhores resultados para todos os compostos.

Por exemplo, analisando a concentração inicial de leveduras, o mais indicado é iniciarmos em 5×10^7 , pois das 17 condições, 15 delas indicam que a faixa pode iniciar nesta concentração, ficando apenas o heptaldeído e o valeraldeído fora destas concentrações iniciais, entretanto

observando os gráficos dos mesmos aldeídos quando eles iniciam nesta faixa suas concentrações são respectivamente ($2,5\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ e acima de $0,8\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$). Esta faixa de concentração inicial de leveduras pode ir até 1×10^8 , contemplando a maioria dos compostos.

Ao observar as condições tanto de açúcares redutores como de temperatura, nota-se a existência de duas faixas para alguns compostos, desta forma os valores que representam a maioria foram considerados melhores.

Estes dados servirão como base para o ensaio piloto na produção de bebida destilada.

4.8. Produção do destilado

Utilizando as condições consideradas dentre as melhores faixas encontradas nos ensaios de fermentação, foram obtidos a partir de 13L de hidrolisado filtrado, após a fermentação e destilação, 2L de destilado com graduação alcoólica de 35°GL

Na Tabela 19, estão representados os valores encontrados nas análises de ésteres e alcoóis para o destilado de batata-doce e o Soju, em comparação com a legislação brasileira.

Tabela 19 – Comparação dos valores obtidos para ésteres e álcoois entre o destilado de batata-doce e o Soju em relação à legislação.

	Destilado de batata-doce ($\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$)	Soju ($\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$)	Legislação ($\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$)
n-butanol	-	-	-
Terc-butanol	-	-	-
butílico	40	-	-
metanol	4	-	20
isoamilico	1	-	-
isopropanol	11	-	-
Metil éster	-	-	-
Acetonitrila	-	-	-
Acetato de etila	40	-	200

Não foram encontrados aldeídos, no destilado de batata-doce e nem no Soju.

É possível observar que as condições utilizadas são semelhantes às testadas no tratamento T1(Tabela 17), onde também não foi detectada a presença de nenhum aldeído. A presença de acetato de etila, álcool butírico e Iso-propanol também foram detectadas neste tratamento, apenas

a presença de álcool isoamílico não havia sido detectada no tratamento, este fato pode ser devido à baixa concentração encontrada no destilado de batata-doce.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que :

- A variação da matéria seca nas raízes sazonalidade significativa para esta cultivar Brazilândia roxa, durante o período amostrado (outubro 2006 – fevereiro 2007). Essa variação tornou-se um obstáculo para a otimização de um processo industrial baseado na matéria-prima *in natura*, sendo necessária a padronização da matéria-prima.

- As concentrações de enzimas para um melhor rendimento no processo de hidrólise deste substrato é a que utiliza baixa concentração de α -amilase ($0,5\text{g.kg}^{-1}$ de matéria seca) e elevada concentração de amiloglucosidase (2 g.kg^{-1} de matéria seca).

- Foram consideradas como melhores condições para o processo de fermentação deste substrato para a produção de destilado: concentração de levedura em número de células viáveis $5 \times 10^7 - 1 \times 10^8$, açúcares redutores 12,5 – 13,5 % e temperatura na faixa de 33 - 34°C.

- Foram testadas em planta piloto as condições: concentração de levedura em número de células viáveis 1×10^8 , açúcares redutores 13,5% e temperatura 34°C.

- No destilado de batata-doce obtido foram encontrados acetato de etila, álcool butírico, iso-propanol e iso-amílico, não foi detectada a presença de aldeídos. As concentrações destes compostos secundários estão dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHM, T. E.; KRISHNASWAMY, C.; RAMAKRISHNA, S. V. Effects of hydrolysis conditions of cassava on the oligosaccharide profile and alcohol fermentation. **Starch Stärke**, Hamburg, v. 39, p. 237-240, 1987.

AHVENAINEN, J. Lipid composition of aerobically and anaerobically propagated brewer's bottom yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 88, p. 367-370, 1982.

ALVES, D. M. G. **Fatores que afetam a formação de ácidos orgânicos, bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica**. 1994. 251 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas)—Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTRY. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10th ed. rev. St. Paul, 2003.

AMERINE, M. .; BERG, H. W.; CRUESS, W. V. **The technology of wine making**. 3rd ed. Westport: Avi, 1972 . chap. 5,17: p. 177-244, 600-644.

ANDRADE SOBRINHO, L. G. et al. Determinação de carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tequila, uísque e grappa). **Química Nova**, São Paulo, 25, n. 6B, p. 1074-1077, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Washington, DC, 2005. 2598 p.

A YLOTT, R.I.; COCHRANE, G.C.; LEONARD, M.J.; MACDONALD, L.S.; MACKENZIE, W. M.; MCNEISH, A. S. ; WALKER, D.A. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. Part I: Post-distillation ethyl carbamate formation in maturing grain whisky. **Journal Institute Brew.**, London, v.96, n.4, p.213 – 221, 1990.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003, 299 p.

BAUER, F. F.; PRETTORIUS, I. S. Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making wine. **South African Journal of Enology and Viticulture**, New Jourk, v. 21, p. 25-27, 2000.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. Aroma substances. In: (Eds.). **Food chemistry**. Berlin: Springer-Verlag, 1999. Chap. 5, p. 319-377.

BELLUCO, A. E. S. **Alterações fisiológicas e de composição em *Saccharomyces cerevisiae* sob condições não proliferantes**. 2001. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

BERRY, D. R. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A. G. H.; PIGGOT, J. R. **Fermented beverage productions**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. Chap. 2, p. 33-44.

BERRY, D. R. The physiology and microbiology of scotch whisky production. In: BUSHELL, E. E. (Ed.). **Progress in industrial microbiology**: modern applications of traditional biotechnologies. Amsterdam: Elsevier, 1984. v. 19, p. 199-243.

BLINDER, F.; VOGES, E.; LAUGEL, P. The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 5, n. 3, p. 343-351, July/Sept. 1988.

BONAMICI, K. The new vodka In: **Fortune business life**: alcohol soju. 2004. Disponível em <http://www.fortune.com>. Acesso em 18 out. 2004.

BOSCOLO, M. **Caramelo e carbanato de etila em aguardente de cana**: ocorrência e qualificação. 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

BOUWKAMP, J. C. **Sweet potato products**: A Natural Resource for The Tropics. Florida: Library of Congress Cataloging, 1985. part 2,

BOX, G. E. P.; DRAPER, N. R. **Empirical model**: Building and response surfaces. New York: John Wiley, 1987. 669 p.

BRASIL. Decreto n. 6871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 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**, Brasília, DF, 5 set. 1997. p. 19.

CAMARGO FILHO, W. P.; MAZZEI, A. R.; ALVES, H. S. Mercado de raízes e tubérculos: análise de preços. **Informações Econômicas**, v. 31, n. 2, p. 36-44, 2001.

CANTÃO, F. O. **Análise físico-química e avaliação da presença do Cu em aguardentes de cana por aluminossilicatos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

CARDOSO, C. E. L. **Competitividade e inovação tecnológica na cadeia agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil**. 2003. 207 p. Tese (Doutorado em Economia Aplicada)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2003.

CARDOSO, M. das G. Análises físico-químicas de aguardentes. In: . (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Editora UFLA, 2001. cap. 5, p. 152-173.

CASCUDO, L. da C. **História da alimentação do Brasil**. Belo Horizonte; Itatiaia: EDUSP, 1983. v. 1 e 2.

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)–Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CIACCO, C. E.; D'APPOLONIA, B. L. Functional properties of composite flours containing tuber flour or starch. **Baker's Dig**, Heidelberg, v. 51, n. 5, p. 46-50, 1977.

COLLINS, J. L. et al. Production and evaluation of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 3, p. 685-688, 1991.

CROWELL, E. A.; GUYMON, J. F. Influence of aeration and suspended material on higher alcohols, acetoin, and diacetyl during fermentation. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 14, n. 4, p. 214-222, 1963.

d'AMORE, T. STEWART, G. G. Ethanol tolerance of yeast. **Enzyme Microbiology Technonology**, v.9, p 322 – 330, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cultura da batata doce. Disponível em <http://www.cnph.embrapa.br/cultivares/bat-doce.htm>>. Acesso em: 10 out. 2004.

EMPRESA ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DA PARAÍBA. Batata doce. Disponível em http://www.emepa.org.br/batata_doce.php>. Acesso em: 18 out. 2004.

FAO. **Statistical database**, cidade, 2001. Disponível em: <http://www.fao.org> >. Acesso em: 22 fev. 2009.

FARIA, J. B. **A influência do cobre na qualidade das aguardentes de cana (*Saccharum Officinarum*)**, 1989.. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.

FEUILLAT, M.; CHARPENTIER, C.; MASSOUTIER, C. Intérêt oenologique des souche des levedures *Saccharolyces crytolíranes*. **Revue Oenologues**, Chaintre, v. 85, p. 18 – 21, 1997.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part 1. Study of conditions of hydrolysis. **Starch/Stärke**, Hamburg, v. 39, n. 12, p. 432-435, 1987

FRANCO, C. M. L. et al. Propriedades do amido. In: AUTOR **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**: propriedades gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v. 1.

FUJII, M.; HOMMA, T.; TANIGUCHI, M. Synergism of α - amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. *Biotechnology. Bioengenergy*, v. 32, p. 910 - 15, 1988.

GRAEL, E. T.; MENEZES, T. J. B. Produção de α -amilase: características morfofisiológicas de *B. amyloliquefaciens* visando melhoramento genético. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 19, n. 1, p.70-76, 1989.

GUTIERREZ, L. E. Produção de glicerol por linhagens *Saccharomyces* durante fermentação alcoólica. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz**, Piracicaba, v. 48, p. 55-69, 1991.

GUYMON, J. F. Higher alcohols in beverage brandy. **Wines & Vines**, San Francisco, v. 1, p. 37-40, 1972.

GUYMON, J. F. The formation of n-propanol by *Saccharomyces cerevisiae*. **Archives Biochemistry Biophysics**, New York, v. 95, p. 163-168, 1961.

GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PAREDES-LÓPEZ, O. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1874-1881, 2000.

HAN, J. Estudo de casos, number 756, 2004. Disponível em:
<[HTTP://www.americanuniversity.edu/TED/soju.htm](http://www.americanuniversity.edu/TED/soju.htm)>. Acesso em: 20 set. 2004.

HOHMANN, S. **Shaping up**: the responses of yeast to osmotic stress. In: HOHMANN, S, Mager WH, editors. *Yeast stress responses*. Heidelberg: Springer. p.101 – 134, 1997

HORII, J.; RIBEIRO, C.A.F. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. **Scientia Agricola**, Piracicaba. v. 56, n. 2, p. 222-223, 1999.

HORII, J.; BOZA, Y. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v. 18, n. 4, p. 391-396, 1998.

HORII, J. Problemas especiais de fermentação alcoólica: In: HORII, J. **Fermentações industriais, biodegradação e transformações microbianas no solo**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1978, p. 70-74..

IHDE, A. J. **The development of modern chemistry**. New York: Dover, 1984. 851 p.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça**. 2004. 193 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2004.

JINRO. Disponível em: <<http://www.jinro.co.kr>>. Acesso em: 10 nov. 2005.

KORHOLA, M.; HARJU, K.; LEHTONEN, M. Fermentation. In: PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUNCAN, R. E. B. **The science and technology of wiskies**. London: Longman Scientific & Technical, 1989. chap. 4, p. 89-117.

LÉAUTÉ, R. Distillation in alambic. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 41, n. 1, p. 90-103, 1990.

LEHTONEN, M.; JOURNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGGOTT, J. R. **Flavour of distilled beverages: origin and development** Flórida: Verlag Chemie, 1983.p. 64-78.

LEONEL, M. ; CEREDA, Marney Pascoli . Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LIMA, U. A. et al. Processos fermentativos. In: LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3, p. 90-122.

LIMA, U. A; BASSO, L. C; AMORIN, H. V. Produção de etanol..In: LIMA, U. A **Biotecnologia**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3, p. 1- 43.

LIMA, U. A. **Estudos dos principais fatores que afetam os componentes do coeficiente não alcoólico das aguardentes de cana**. Memorial de Concurso para Professor Catedrático da ESALQ-USP, Piracicaba, 141p. 1964.

LISLE, D. B.; RICHARDS, C. P.; WARDLEWORTH, D. F. The identification of distilled alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 84, p. 93-96, 1978.

LLOYD, N. E.; NELSON, W.J. Glucose and fructose containingssweetners fron starch. In: WHISTLER,R.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. **Starch chemistry and tecnology**, 2nd ed. Orlando: Academic Press, 1984. p. 611-660.

LLISTÓ, A. M. S. M; SOUZA, L. G.; MISCHAN, M. M. Alguns componentes do coeficiente não-álcool das aguardentes de cana: ésteres. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 5, p. 341-346, 1978.

MACDONALD, et al. Current approaches to brewery fermentations. In: BUSHELL, M. E. (Ed.). **Progress in industrial microbiology**: modern applications of traditional biotechnologies. Amsterdam: Elsevier, 1984. v. 19, p. 48-198.

MacKENZIE, W. M.; CLYNE, A. H.; MacDONALD, L. S. Ethyl carbamate formation in grain based spirits. PartII: The identification and determination of cyamide related specie involved in ethyl carbamate formation in scotch grain whisky. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 96, n. 4, p. 223 -232, July/Aug.1990.

MAIA, A. B. R. Componentes secundários da aguardente. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, jul./ago. 1994.

MEILGAARD, M. C.; PEPPARD, T. L. The flavour of beer. In: MORTON, I. D.; MACLEOD, A. J. (Eds.). **Food flavours**. part B. the flavour of beverages. New York: Elsevier Science, INC., 1986. chap. 4, p. 99-170. (Developments in food science, 3 B).

MIRANDA, J. E. E. **Cultivo de batata-doce (*Ipoema batatas* (L.) Lam.)**. Brasília, DF: Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças, 1995. 18 p. (Instrução técnica, 7).

MONNA, M.;YAMAMOTO,Y.;KAGEL,N.;KAINUMA,K. **Starch Stärke**, v.41, p.382 – 385, 1989.

MORAES, F. V. Como controlar a qualidade da cachaça. **Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, v. 10, n. 85, p. 24-29, maio 2001.

MOTTRAM, D. S. Aroma. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R.; SADLER, M. (Eds.). **Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition**. London: Academic Press, 1993. p. 4065-4071.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluationin quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240 p.

NASCIMENTO, R. F. et al. Qualitative and quanitative hight-performace liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 782, p. 13-23, 1997.

NELSON, N.A. A photometric adaptation of the somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, v. 153, p. 375-380, 1944

NÓBREGA, J. C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “HEADSPACE” e cromotografia gasosa: expectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 210-216, maio/ago. 2003.

NOVAES, F. V. et al. **Primeiro Curso de extensão em tecnologia de aguardente de cana**. Piracicaba, 1974.104 p. Apostila.

NYKÄNEN, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 37, n. 1, p. 84-96, 1986.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Distilled beverages. In MAARSE, H. (Ed.) **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 548 – 580.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Production of esters by different yeast strains in sugar fermentations. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 83, p. 30-31, 1977.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. **Rum flavour of destilled beverages: origin and development**. Chichester UK: Society of Chemical Industry; Ellis Horwood Limited, 1983. p. 49-63.

OLIVEIRA, E. S. de. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais**. 2001. 56 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2001.

OGHT, C. S.; AMERINE, M. A. In methods for analysis of must and wines. Wiley: New York, 1988.

OGHT, C. S.; SCROWELL, E. A.; MOONEY, L. A. Formation of ethyl carbamate precursors during grape juice (Chardonnay) fermentation. Addition of amino acids, urea and ammonia: Effects of fortification on intracellular and extracellular precursors. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 39, n. 3, p. 243 – 249, 1988.

PATARO, C. et al. Yeast communities and genetic polymorphism of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 1-9, 2000.

PATARO, C. et al. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.

PEDDIE, H. A. B. Ester formation in brewery fermentations. **Journal of Institute of Brewing**, London, v. 96, p. 327-331, 1990.

PEPE, P. R. Dois anos de PBDAC valeu? **Boletim do Programa de Desenvolvimento da Aguardente de Cana, Caninha ou Cachaça**, São Paulo, n. 1, p. 1-4, nov. 1999.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, J. M. Whiskies. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Ed.). **Fermented beverage production**. 2 ed. New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2003. cap.11, p. 239-262.

PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUCAN, R. E. B. **The science and technology of whiskies**. New York: Longmann Scientific & Technical, 1989. 410 p.

- RAMSAY, C. M.; BERRY, D. R. The effect of inoculum level on the formation of higher alcohols, fatty acids and esters in the malt whisky fermentation. **Food Microbiology**, London, v. 1, p. 111-115, 1984.
- REAZIN, G.; SCALES, H.; ANDERSEN, A. Mechanism of major congener formation in alcoholic grain fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 18, n. 4, p. 585-589, 1970.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T. W. **Yeast technology**. New York: AVI, 1991.
- RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J. C.; FERRARI, S. E. Complementação de nitrogênio de forma contínua no processo de fermentação alcoólica. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 1, p. 26-30, 1987.
- RIFFIKIN, H. L.; WILSON, R.; BRINGHURST, T. A. The possible involvement of Cu^{++} peptide/protein complexes in the formation of ethyl carbamate. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 95, n. 2, p. 121-122, Mar./Apr. 1989.
- RIJKE, R. de; HEIDE, R. Flavour compounds in rum, cognac and whisky. In: PIGGOTT, J. R. (Ed.) **Flavour of distilled beverages: origin and development**. Florida: Verlag Chemie International, 1983. p. 79-92. (Ellis Horwood series in food science and technology).
- RITSCHER, P. S.; HUAMAN, Z.; LOPES, C. A.; MENEZES, J. E.; TORRES, A. C. Catálogo de germoplasma de batata-doce. **1. Coleção mantida pela Embrapa Hortalças**. Brasília: Embrapa Hortalças, 1999. 47 p. (Embrapa Hortalças. Documentos, 23).
- ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. (Eds.). **The yeasts**. London: Academic, 1970.
- RUIZ, F. S. **Estudo das variáveis envolvidas no processo de obtenção de farinhas pré-gelatinizadas de batata doce, por desidratação com rolos aquecidos (Doubled Drum Dryer)**. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos)—Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1984.
- RUSSEL, I. et al. Yeast: the primary industrial microorganism. In: STEWART, G. G., et al. **Biological research on industrial yeast**. Frankfurt, 1987. v. 1
- SARGETELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, cidade, V. 19, n. 3, p. 290-293, 1996.
- SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. Cultura de batata doce. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Agricultura: tuberosas amiláceas latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 2, cap. 22 p. 448-504. (Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas).
- SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Produção de batata doce**. Brasília, EMBRAPA, ano , Disponível em:

<http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistema_producao/cultivo_batata_doce/introducao.htm>
Acesso em: 5 nov. 2004.

SINGER, D. D. The analysis and composition of portable spirits: determination of C₃, C₄ and C₅ alcohols in whisky and brandy direct gas chromatography. **Analyst**, London, v. 91, p. 127-134, 1966a.

STEVENS, D. F.; OUGH, C. S. Ethyl carbamate formation: reaction of urea and citrulline with ethanol in wine under low to normal temperature conditions. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 44, n. 3, p. 309 – 312, 1993.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1993. 338 p.

STONE, H. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, Chicago, v. 28, p. 24-34, 1974.

STUPIELLO, J.P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum**, v.17, p.43-46, 1981.

SUOMALAINEN, H. Yest and effect on the flavour of alcoholic beverages. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 77, p. 164-177, 1971.

SUOMALAINEN, H.; NIKÄNEN, L. The aroma components produced by yeas in nitrogen-free sugar solution. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 72, p. 469-479, 1966.

SUOMALAINEN, H.; LEHTONEN, M. The production of aroma compounds by yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 85, p.149 - 156, 1979.

SUOMALAINEN, H.; NYKANEN, L.; ERIKSSON, K. Composition and consumption of alcoholic beverages – a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 25, n. 4, p. 179-187, 1974.

SURMELY, R. H.; ALVAREZ, H. **Hidrolisados de amido no Brasil e sua produção**. Botucatu; Centro de Raízes Tropicais, 1997. 49 p.

TEGMO-LARSSON, I .M.; SPITTLER, T. D. Temperature and light effects on ethyl carbamate formation in wine during storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 4, p. 1166, 1990.

UNICA, http://www.unica.com.br/pages/sociedade_cultura2.asp acessado em 5 de dezembro de 2005.

YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello”, 1995. 87 p. (Série fermentações industriais).

WATSON, D. C. Factors influencing the congener composition of mal whisky new spirit. In: PIGGOT, J. R. (Ed.) **Flavour of distilled beverages**: origin and development. Florida: Verlag Chemie International, 1983. p. 79-92. (Ellis Horwood series in food science an technology).

WINDHOLZ, M. **The merch index**. Rahway: Merck, 1976.

WOOLFE, J. A. **Sweet potato**: an untapped food resource. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 188 p.

Anexo 1

Tabela 1- Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o rendimento prático de hidrólise enzimática da suspensão de batata-doce.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	p valor	
Média	70,0321				
α-amilase (L)	-1,6317	0,1989	1	0,1036	
AMG (L)	6,0218	0,1989	1	0,0007	
Termamyl (Q)	0,7580	0,2374	1	0,4741	
AMG (Q)	0,4738	0,2374	1	0,6491	
Termamyl (L) x AMG (L)	-2,385	0,2809	1	0,0948	
R ²	0,926079				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	5	336,84	67,36	12,53	0,0074
Resíduos	5	26,88	5,37		
Total	10	363,72			

Tabela 2- Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o rendimento prático de hidrólise enzimática da suspensão de batata-doce (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	70,92545				
Termamyl (L)	-1,63178	0,73908	1	0,0630	
AMG (L)	6,02185	0,73908	1	0,0001	
Termamyl (L) x AMG (L)	-2,385	1,04366	1	0,0562	
R ²	0,9162				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	3	333,229977	111,07659	25,49	0,0004
Resíduos	7	30,49830	4,3569		
Total	10	363,72807			

Anexo 2

Tabela 3 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para a taxa de crescimento celular (txcel) no processo de fermentação de hidrolisado de batata doce.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	43116035,5				
Levedura (linear)	30531485,4	30391331,38	1	0,3388	
Temperatura (linear)	-3925906,2	30391331,38	1	0,8998	
ART (linear)	780663,8	30391331,38	1	0,9800	
Levedura (quadrático)	160827888,2	29581204,49	1	0,0003	
Temperatura (quadrático)	-39446118,9	29581204,49	1	0,2119	
ART (quadrático)	-54335886,9	29581204,49	1	0,0961	
Levedura x Temperatura	-14562500,0	39710214,19	1	0,7215	
Levedura x ART	-6012500,0	39710214,19	1	0,8827	
Temperatura x ART	362500,0	39710214,19	1	0,9929	
R ²	0,796970				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	4,95E17	5,50E16	4,36	0,0155
Resíduos	10	1,26E17	1,26E16		
Total	19	6,21E17			

Tabela 4 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para a taxa de crescimento celular (txcel) no processo de fermentação de hidrolisado de batata doce (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	10822115				
Levedura (quadrático)	164749091	25702504	1	<0,0001	
Temperatura (quadrático)	-50414684	25702504	1	0,0664	
R ²	0,7368				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	2	4,578244E17	2,289122E17	23,80	<0,0001
Resíduos	17	1,635217E17	9,618924E15		
Total	19	6,213462E17			

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 3

Tabela 5 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para Maltose

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0109				
Levedura (linear)	-0,0522	0,0426	1	0,2488	
Temperatura (linear)	0,2015	0,0426	1	0,0008	
AR (linear)	-0,0875	0,0426	1	0,0675	
Levedura (quadrático)	0,0323	0,0415	1	0,4541	
Temperatura (quadrático)	0,1366	0,0415	1	0,0082	
AR (quadrático)	0,0464	0,0415	1	0,2892	
Levedura x Temperatura	-0,0150	0,0557	1	0,7933	
Levedura x AR	-0,0600	0,0557	1	0,3071	
Temperatura x AR	-0,0625	0,0557	1	0,2884	
R ²	0,80813				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	1,0471	0,1163	4,68	0,0121
Resíduos	10	0,2486	0,0248		
Total	19	1,2957			

Tabela 6 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para maltose (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0696				
temperatura (linear)	0,2016	0,04225	1	0,0002	
AR (linear)	-0,0875	0,04225	1	0,0550	
levedura (quadrático)	0,1295	0,04225	1	0,0058	
R ²	0,6990				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	3	0,9056	0,3019	12,36	0,0002
Resíduos	16	0,3900	0,0244		
Total	19	1,2957			

Anexo 4

Tabela 7- Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para glicose

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0115				
Levedura (linear)	0,0205	0,0124	1	0,1317	
Temperatura (linear)	0,0025	0,0124	1	0,8476	
AR (linear)	0,0029	0,0124	1	0,8234	
Levedura (quadrático)	0,0107	0,0121	1	0,3977	
Temperatura (quadrático)	0,0178	0,0121	1	0,1736	
AR (quadrático)	0,0248	0,0121	1	0,0679	
Levedura x Temperatura	0,0225	0,0163	1	0,1979	
Levedura x AR	-0,0150	0,0163	1	0,1795	
Temperatura x AR	-0,0050	0,0163	1	0,7655	
R ²	0,540274				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	0,0250	0,0027	1,31	0,3402
Resíduos	10	0,0213	0,0021		
Total	19	0,0463			

Tabela 8 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para glicose (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0203				
Levedura (linear)	0,0205	0,0116	1	0,0952	
Temperatura (quadrático)	0,0167	0,0112	1	0,1543	
AR (quadrático)	0,0238	0,0112	1	0,0494	
R ²	0,3696				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	3	0,0171	0,0057	3,13	0,0551
Resíduos	16	0,0292	0,0018		
Total	19	0,0463			

Anexo 5

Tabela 9 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para frutose

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0084				
Levedura (linear)	0,0198	0,0111	1	0,1079	
Temperatura (linear)	0,0034	0,0111	1	0,7657	
AR (linear)	0,0092	0,0111	1	0,4295	
Levedura (quadrático)	0,0103	0,0109	1	0,3635	
Temperatura (quadrático)	0,0121	0,0109	1	0,2913	
AR (quadrático)	0,0157	0,0109	1	0,1808	
Levedura x Temperatura	0,0262	0,0146	1	0,1030	
Levedura x AR	-0,0012	0,0146	1	0,9336	
Temperatura x AR	-0,0162	0,0146	1	0,2926	
R ²	0,543439				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	0,0203	0,0022	1,32	0,3332
Resíduos	10	0,0171	0,0017		
Total	19	0,0374			

Tabela 10 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para frutose (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0345				
Levedura (linear)	0,0198	0,0107	1	0,0825	
Levedura x Temperatura	0,0263	0,0140	1	0,0780	
R ²	0,2894				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	2	0,0109	0,0054	3,46	0,055
Resíduos	17	0,0266	0,0016		
Total	19	0,0375			

Anexo 6

Tabela 11 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para glicerol

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0089				
Levedura (linear)	0,0080	0,0076	1	0,3151	
Temperatura (linear)	-0,0173	0,0076	1	0,0457	
AR (linear)	0,0153	0,0076	1	0,0711	
Levedura (quadrático)	0,0067	0,0074	1	0,3884	
Temperatura (quadrático)	0,0137	0,0074	1	0,0932	
AR (quadrático)	0,0067	0,0074	1	0,3884	
Levedura x Temperatura	-0,0112	0,0099	1	0,2846	
Levedura x AR	0,0112	0,0099	1	0,2846	
Temperatura x AR	-0,0337	0,0099	1	0,0069	
R ²	0,742664				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	0,0228	0,0025	3,21	0,0418
Resíduos	10	0,0079	0,0008		
Total	19	0,0307			

Tabela 12 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para glicerol (modelo ajustado).

		Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média		0,0275			
Temperatura (linear)		-0,0174	0,0081	1	0,0475
AR (linear)		0,0154	0,0081	1	0,0756
Temperatura x AR		-0,0338	0,0106	1	0,0057
R ²		0,5350			
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	3	0,0165	0,0055	6,14	0,0056
Resíduos	16	0,0143	0,0009		
Total	19	0,0308			

Anexo 7

Tabela 13 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para etanol

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	1,3910				
Levedura (linear)	0,2551	0,2243	1	0,2820	
Temperatura (linear)	0,2543	0,2243	1	0,2834	
AR (linear)	0,2609	0,2243	1	0,2718	
Levedura (quadrático)	-0,0062	0,2184	1	0,9779	
Temperatura (quadrático)	0,6459	0,2184	1	0,0143	
AR (quadrático)	0,1546	0,2184	1	0,4952	
Levedura x Temperatura	0,1225	0,2931	1	0,6849	
Levedura x AR	-0,4025	0,2931	1	0,1998	
Temperatura x AR	0,7350	0,2931	1	0,0311	
R ²	0,680778				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	14,6656	1,6295	2,37	0,0976
Resíduos	10	6,8768	0,6876		
Total	19	21,5424			

Tabela 14- Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para etanol (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	1,5012				
Temperatura (quadrático)	0,6325	0,2132	1	0,0087	
Temperatura x AR	0,7350	0,2889	1	0,0209	
R ²	0,43733				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	2	10,1951	5,0976	7,64	0,0043
Resíduos	17	11,3474	0,6675		
Total	19	21,5425			

Anexo 8

Tabela 15 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para metanol

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0435				
Levedura (linear)	-0,9614	0,0801	1	0,2577	
Temperatura (linear)	0,0637	0,0801	1	0,4446	
AR (linear)	-0,1061	0,0801	1	0,2146	
Levedura (quadrático)	0,0230	0,0779	1	0,7738	
Temperatura (quadrático)	0,1096	0,0779	1	0,1900	
AR (quadrático)	0,0283	0,0779	1	0,7239	
Levedura x Temperatura	-0,1862	0,1047	1	0,1055	
Levedura x AR	0,1687	0,1047	1	0,1380	
Temperatura x AR	-0,1712	0,1047	1	0,1329	
R ²	0,588784				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	1,2549	0,1394	1,59	0,2397
Resíduos	10	0,8764	0,0876		
Total	19	2,1314			

Anexo 9

Tabela 16 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetaldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	5,204686441				
Levedura (linear)	0,002908133	0,51096869	1	0,9956	
Temperatura (linear)	-0,343140643	0,51096869	1	0.5171	
AR (linear)	-0,007834094	0,51096869	1	0,9881	
Levedura (quadrático)	-1,857898539	0,49734804	1	0,0039	
Temperatura (quadrático)	-1,375417036	0,49734804	1	0,0199	
AR (quadrático)	-1,879106517	0,49734804	1	0,0036	
Levedura x Temperatura	0,013375000	0,66764683	1	0,9844	
Levedura x AR	-0,013375000	0,66764683	1	0,9844	
Temperatura x AR	-0,013375000	0,66764683	1	0,9844	
R ²	0,753462				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	108,9833018	12,1092558	3,40	0,0351
Resíduos	10	35,6601828	3,5660183		
Total	19	144,6434846			

Tabela 17 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetaldeído, após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	5,20469				
Levedura (quadrático)	-1,85790	0,40198	1	0,0003	
Temperatura (quadrático)	-1,37542	0.40198	1	0,0035	
AR (quadrático)	-1,87911	0,40198	1	0,0003	
R ²	0,7423				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	3	107,36986	35,78995	15,36	<0,0001
Resíduos	16	37,27363	2.32960		
Total	19	144,64348			

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 10

Tabela 18 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário benzaldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão		Erro padrão	GL	p valor
Média	-1,47107684				
Levedura (linear)	10,13901929		11,54755244	1	0,4005
Temperatura (linear)	-2,92790115		11,54755244	1	0,8050
AR (linear)	-14,28740202		11,54755244	1	0,2443
Levedura (quadrático)	10,85430362		11,23973497	1	0,3570
Temperatura (quadrático)	9,64898352		11,23973497	1	0,4107
AR (quadrático)	21,99202681		11,23973497	1	0,0789
Levedura x Temperatura	-13,51875000		15,08837421	1	0,3913
Levedura x AR	-18,22875000		15,08837421	1	0,2548
Temperatura x AR	7,35125000		15,08837421	1	0,6366
R ²	0,491209				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	17583,38678	1953,70964	1,07	0,4535
Resíduos	10	18212,72291	1821,27229		
Total	19	35796,10970			

Tabela 19 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário butiraldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	p valor	
Média	51,43984439				
Levedura (linear)	7,04043008	5,13386205	1	0,2002	
Temperatura (linear)	0,00000000	5,13386205	1	1,0000	
AR (linear)	-8,60072829	5,13386205	1	0,1248	
Levedura (quadrático)	-11,94564842	4,99701119	1	0,0379	
Temperatura (quadrático)	-22,04948268	4,99701119	1	0,0013	
AR (quadrático)	-9,70643939	4,99701119	1	0,0808	
Levedura x Temperatura	0,00000000	6,70805629	1	1,0000	
Levedura x AR	0,00000000	6,70805629	1	1,0000	
Temperatura x AR	0,00000000	6,70805629	1	1,0000	
R ²	0,748742				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	10727,45516	1191,93946	3,31	0,0379
Resíduos	10	3599,84153	359,98415		
Total	19	14327,29670			

Anexo11

Tabela 20 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário butiraldeído, após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	51,43984				
Levedura (linear)	7,04043	4,33891	1	0,1270	
AR (linear)	-8,60073	4,33891	1	0,0674	
Levedura (quadrático)	-11,94565	4,22325	1	0,0134	
Temperatura (quadrático)	-22,04948	4,22325	1	0,0001	
AR (quadrático)	-9,70644	4,22325	1	0,0375	
R ²	0,7487				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	5	10727	2145,49103	8,34	0.0008
Resíduos	14	3599,84153	257,13154		
Total	19	14327			
Efeitos significativos p<0,05; efeito significativo p< 0,10					

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 21 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário formaldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão		Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	6,5244049				
Levedura (linear)	-49,8965900		87,1045200	1	0,5794
Temperatura (linear)	-52,0797894		87,1045200	1	0,5632
AR (linear)	56,9269353		87,1045200	1	0,5281
Levedura (quadrático)	-42,7944168		84,7826174	1	0,6247
Temperatura (quadrático)	108,7966764		84,7826174	1	0,2283
AR (quadrático)	120,2772619		84,7826174	1	0,1864
Levedura x Temperatura	-105,5500000		113,8133471	1	0,3756
Levedura x AR	105,5500000		113,8133471	1	0,3756
Temperatura x AR	-111,7875000		113,8133471	1	0,3492
R ²	0,435003				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	797852,831	88650,315	0,86	0,5879
Resíduos	10	1036278,238	103627,824		
Total	19	1834131,069			

Anexo 12

Tabela 22 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário heptaldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	23,69262838			
Levedura (linear)	1,71032185	0,88424700	1	0,0819
Temperatura (linear)	-0,43996565	0,88424700	1	0,6296
AR (linear)	-1,36593800	0,88424700	1	0,1534
Levedura (quadrático)	-8,81491022	0,86067606	1	<0,0001
Temperatura (quadrático)	-6,64109246	0,86067606	1	<0,0001
AR (quadrático)	-4,43546273	0,86067606	1	0,0004
Levedura x Temperatura	0,38000000	1,15538333	1	0,7490
Levedura x AR	-2,38250000	1,15538333	1	0,0662
Temperatura x AR	-0,91750000	1,15538333	1	0,4456
R ²	0,945729			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	1860,969603	206,774400	19,36
Resíduos	10	106,792852	10,679285	
Total	19	1967,762455		

Tabela 23 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário heptaldeído, após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	23,69263			
Levedura (linear)	1,71032	0,81288	1	0,0554
AR (linear)	-1,36594	0,81288	1	0,1167
Levedura (quadrático)	-8,81491	0,79122	1	<0,0001
Temperatura (quadrático)	-6,64109	0,79122	1	<0,0001
AR (quadrático)	-4,43546	0,79122	1	<0,0001
Levedura X AR	-2,38250	1,06214	1	0,0429
R ²	0,9274			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	6	1850,43613	308,40602	34,17
Resíduos	13	117,32633	9,02510	
Total	19	1967,76246		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 13

Tabela 24 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário hidroximetil furfural, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0022650720				
Levedura (linear)	-0,0162422003	0,00600655	1	0,0222	
Temperatura (linear)	-0,0014643167	0,00600655	1	0,8123	
AR (linear)	-0,0014643167	0,00600655	1	0,8123	
Levedura (quadrático)	0,0166938495	0,00584644	1	0,0171	
Temperatura (quadrático)	-0,0045141286	0,00584644	1	0,4579	
AR (quadrático)	-0,0045141286	0,00584644	1	0,4579	
Levedura x Temperatura	0,0025000000	0,00784833	1	0,7566	
Levedura x AR	0,0025000000	0,00784833	1	0,7566	
Temperatura x AR	0,0025000000	0,00784833	1	0,7566	
R ²	0,642272				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	0,00884729	0,00098303	1,99	0,1485
Resíduos	10	0,00492771	0,00049277		
Total	19	0,01377500			
Efeitos significativos p<0,05; efeito significativo p< 0,10					

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 25 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário hidroximetil furfural após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	-0,00446				
Levedura (linear)	-0,01624	0,00494	1	0,0044	
Levedura (quadrático)	0,01751	0,00477	1	0,0019	
R ²	0,5883				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	2	0,00810	0,00405	12,15	0,0005
Resíduos	17	0,00567	0,00033357		
Total	19	0,01378			

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 14

Tabela 26 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário valeraldeído, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	-0,140969216			
Levedura (linear)	-2,960848273	1,68997961	1	0,1103
Temperatura (linear)	-2,191467017	1,68997961	1	0,2238
AR (linear)	1,723500701	1,68997961	1	0,3318
Levedura (quadrático)	0,924635344	1,64493064	1	0,5864
Temperatura (quadrático)	1,596221319	1,64493064	1	0,3547
AR (quadrático)	0,924635344	1,64493064	1	0,5864
Levedura x Temperatura	2,942500000	2,20817743	1	0,2122
Levedura x AR	-2,942500000	2,20817743	1	0,2122
Temperatura x AR	-5,055000000	2,20817743	1	0,0451
R ²	0,614292			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	621,259914	69,028879	1,77
Resíduos	10	390,083806	39,008381	
Total	19	1011,343720		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 27 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário valeraldeído após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	2,21200			
Levedura (linear)	-2,96085	1,72034	1	0,1034
Temperatura x AR	-5,05500	2,24785	1	0,0381
R ²	0,3205			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	2	324,16090	162,08045	4,01
Resíduos	17	687,18282	40,42252	
Total	19	1011,34372		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 15

Tabela 28 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetato de etila, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	1,067279638			
Levedura (linear)	0,508230631	0,31810048	1	0,1412
Temperatura (linear)	-0,014549450	0,31810048	1	0,9644
AR (linear)	-0,350432940	0,31810048	1	0,2964
Levedura (quadrático)	0,059291947	0,30962103	1	0,8520
Temperatura (quadrático)	0,471080190	0,30962103	1	0,1591
AR (quadrático)	0,755620564	0,30962103	1	0,0348
Levedura x Temperatura	0,211250000	0,41563951	1	0,6223
Levedura x AR	-0,666250000	0,41563951	1	0,1400
Temperatura x AR	0,321250000	0,41563951	1	0,4575
R ²	0,597254			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	20,49519895	2,27724433	1,65
Resíduos	10	13,82049605	1,38204961	
Total	19	34,31569500		

Tabela 29 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetato de etila após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	1,11582			
Levedura (linear)	0,50823	0,28580	1	0,0956
Temperatura (quadrático)	0,46519	0,27680	1	0,1135
AR (quadrático)	0,74973	0,27680	1	0,0162
Levedura x AR	-0,66625	0,37343	1	0,0946
R ²	0,5124			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	4	17,58172	4,39543	3,94
Resíduos	15	16,73397	1,11560	
Total	19	34,31569		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 16

Tabela 30 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetonitrila, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	0,0010883444			
Levedura (linear)	0,0277912658	0,00993909	1	0,0189
Temperatura (linear)	0,0005330113	0,00993909	1	0,9583
AR (linear)	-0,0043929500	0,00993909	1	0,6679
Levedura (quadrático)	0,0264407070	0,00967415	1	0,0211
Temperatura (quadrático)	0,0706239948	0,00967415	1	<0,0001
AR (quadrático)	-0,0071385918	0,00967415	1	0,4775
Levedura x Temperatura	-0,0775000000	0,01298671	1	0,0001
Levedura x AR	-0,0775000000	0,01298671	1	0,0001
Temperatura x AR	0,0775000000	0,01298671	1	0,0001
R ²	0,945939			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	0,23608263	0,02623140	19,44
Resíduos	10	0,01349237	0,00134924	
Total	19	0,24957500		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 31 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário acetonitrila após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	-0,00476			
Levedura (linear)	0,02779	0,00904	1	0,0088
Levedura (quadrático)	0,02715	0,00875	1	0,0084
Temperatura (quadrático)	0,07133	0,00875	1	<0,0001
Levedura x Temperatura	-0,07750	0,01181	1	<0,0001
Levedura x AR	-0,07750	0,01181	1	<0,0001
Temperatura x AR	0,07750	0,01181	1	<0,0001
R ²	0,9419			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	6	0,23508	0,03918	35,14
Resíduos	13	0,01449	0,00111	
Total	19	0,24958		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 17

Tabela 32 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário álcool butírico, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	0,0021489040			
Levedura (linear)	0,0447656244	0,03659781	1	0,2493
Temperatura (linear)	0,0769439829	0,03659781	1	0,0618
AR (linear)	0,0065894249	0,03659781	1	0,8607
Levedura (quadrático)	0,0406923371	0,03562224	1	0,2799
Temperatura (quadrático)	0,1166875921	0,03562224	1	0,0083
AR (quadrático)	-0,0140949398	0,03562224	1	0,7007
Levedura x Temperatura	0,0112500000	0,04781978	1	0,8188
Levedura x AR	0,1187500000	0,04781978	1	0,0324
Temperatura x AR	0,0112500000	0,04781978	1	0,8188
R ²	0,708232			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	0,44406152	0,04934017	2,70
Resíduos	10	0,18293848	0,01829385	
Total	19	0,62700000		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 33 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário álcool butírico após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	0,02195			
Temperatura (linear)	0,07694	0,03325	1	0,0343
Temperatura (quadrático)	0,11428	0,03207	1	0,0026
Levedura x AR	0,11875	0,04344	1	0,0147
R ²	0,6147			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	3	0,38541	0,12847	8,51
Resíduos	16	0,24159	0,01510	
Total	19	0,62700		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 18

Tabela 34 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário isopropanol, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	0,4335599075			
Levedura (linear)	0,2062636438	0,10657426	1	0,0817
Temperatura (linear)	-0,0401090974	0,10657426	1	0,7145
AR (linear)	-0,0549118745	0,10657426	1	0,6176
Levedura (quadrático)	-0,0736188276	0,10373336	1	0,4941
Temperatura (quadrático)	0,2321295242	0,10373336	1	0,0492
AR (quadrático)	-0,0312028713	0,10373336	1	0,7697
Levedura x Temperatura	0,1012500000	0,13925308	1	0,4838
Levedura x AR	-0,1562500000	0,13925308	1	0,2881
Temperatura x AR	-0,0087500000	0,13925308	1	0,9511
R ²	0,545987			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	9	1,86558135	0,20728682	1,34
Resíduos	10	1,55131365	0,15513137	
Total	19	3,41689500		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Tabela 35 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário isopropanol após a destilação (modelo ajustado).

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor
Média	0,35550			
Levedura (linear)	0,20626	0,09232	1	0,0392
Temperatura (quadrático)	0,24161	0,08905	1	0,0148
R ²	0,4209			
ANOVA				
	GL	SQ	QM	F valor
Regressão	2	1,43805	0,71902	6,18
Resíduos	17	1,97885	0,11640	
Total	19	3,41689		

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$

Anexo 19

Tabela 35 - Coeficientes de regressão estimados e ANOVA para o composto secundário terc-butanol, após a destilação.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	GL	<i>p</i> valor	
Média	0,0079628974				
Levedura (linear)	0,1195468116	0,10925449	1	0,2995	
Temperatura (linear)	-0,0702871994	0,10925449	1	0,5345	
AR (linear)	-0,1366031719	0,10925449	1	0,2396	
Levedura (quadrático)	0,0184635849	0,10634214	1	0,8656	
Temperatura (quadrático)	-0,0522296756	0,10634214	1	0,6339	
AR (quadrático)	0,2446820186	0,10634214	1	0,0442	
Levedura x Temperatura	-0,1200000000	0,14275515	1	0,4202	
Levedura x AR	0,1200000000	0,14275515	1	0,4202	
Temperatura x AR	-0,1200000000	0,14275515	1	0,4202	
R ²	0,526333				
ANOVA					
	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Regressão	9	1,81159738	0,20128860	1,23	0,3715
Resíduos	10	1,63032262	0,16303226		
Total	19	3,44192000			

Efeitos significativos $p < 0,05$; efeito significativo $p < 0,10$