



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

VANESSA DE OLIVEIRA BARBOSA

**ANÁLISE DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS PARA PRODUÇÃO DE
VINAGRE DE CAJÁ (*Spondias mombin*)**

SUMÉ - PB

2017

VANESSA DE OLIVEIRA BARBOSA

**ANÁLISE DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS PARA PRODUÇÃO DE
VINAGRE DE CAJÁ (*Spondias mombin*)**

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

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

SUMÉ-PB

2017

B238a Barbosa, Vanessa de Oliveira.

Análise dos processos fermentativos para produção de vinagre de cajá (*Spondias monbin*). / Vanessa de Oliveira Barbosa. - Sumé - PB: [s.n], 2017.

65 f.

Orientador: Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz.

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

1. Fermentação alcoólica. 2. Fermentação acética. 3. Bioprocesso – agitação por coluna de bolha. 4. Vinagre de cajá. I. Título.

CDU: 663.15(043.1)

VANESSA DE OLIVEIRA BARBOSA

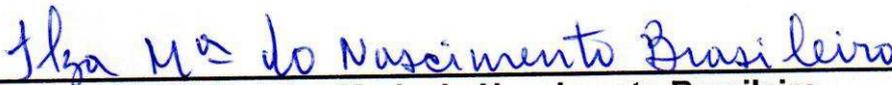
**ANÁLISE DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS PARA PRODUÇÃO DE
VINAGRE DE CAJÁ (*Spondias mombin*)**

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

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz
Orientador – UAEB/CDSA/UFCG



Prof.^a Dr.^a Ilza Maria do Nascimento Brasileiro
Examinador I – UATEC/CDSA/UFCG



Prof. Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes
Examinador II – UAEB/CDSA/UFCG

Aprovado em: 13 de setembro de 2017.

Aos meus pais, **Vicente** e **Zeneide**, por serem quem são, batalhadores e incentivadores de cada realização na minha vida, e por se doarem tanto aos seus filhos, abdicando-se de suas próprias necessidades e sonhos;

Ao meu amado irmão, **Vinicius**, por ser meu orgulho e inspiração.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aprendi que ninguém faz nada sem Deus. Que tudo é determinado por Ele e é realizado no tempo certo, no tempo Dele. A cada etapa finalizada na minha vida, sinto Sua presença e graça, por isso, acima de tudo agradeço a Ele.

Aos meus inestimados pais, Zeneide e Vicente, por todo esforço, zelo, incentivo, amor, dedicação e oração. Agradeço pelos conselhos, por me ensinarem a ser forte e perseverante mesmo com as dificuldades. Agradeço por nunca hesitarem em me apoiar, pelos ensinamentos de vida e por sempre acreditarem e lutarem por mim, fazendo de tudo para a realização dos meus sonhos.

Ao meu irmão Vinícius, por ter me ensinado a dar passos largos (não tão largos quanto os seus), mesmo devagar, ainda quando éramos crianças, e por ser uma inspiração constante.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jean Queiroz, pela amizade, disponibilidade, parceria e ensinamentos ao longo do curso e da realização deste trabalho.

À banca examinadora, pela disponibilidade, avaliação e observações feitas neste trabalho.

À toda comunidade que fez e faz o CDSA ser e acontecer (professores, alunos, técnicos e auxiliares), que contribuiu para minha formação, da chegada até ao fim desta etapa. Em especial à psicóloga educacional Lays Andrade de Sá, pois todas as suas palavras foram fundamentais para mim, aos professores Ranoel, Glauciane e Fabiana; aos técnicos Adriano e Norma e aos auxiliares Suely, Cristiano e Patrícia.

À Sumé, cidade que eu aprendi a amar, e à todas as pessoas e amigos que estiveram presentes nesta fase. Em especial agradeço à Langinha, Vaninha e toda “família Cristina” pela amizade e carinho. Felipe Jessé e Maria Mota, especiais demais para mim, agradeço por cada abraço, apoio e amizade.

Às três sonhadoras, com as quais aprendi muito sobre o sentido da amizade e tive/tenho o prazer de dividir momentos únicos, minhas amigas: Edgleiga, Joanny e Jéssika. À estas duas últimas, agradeço por tantos aprendizados, pela família que formamos e pelo respeito. À primeira, agradeço por cada ideia de vida e desabafo compartilhado que muitas vezes me trouxe alívio e por tantas coisas mais. Obrigada por me deixarem entrar na vida e na família de vocês da forma mais gentil.

À Kamilla Costa, um trevo de quatro folhas, agradeço pelo carinho, amizade, força e presença, o que torna minha vida mais feliz e divertida. Sou grata a você e sua família (seus pais Carlos e Lúcia, e sua irmã Karol) por toda gentileza e amor.

À turma Biotec 2011.1 pelos exemplos de pessoas com qualidades e personalidades diversas, com as quais vivi e compartilhei essa trajetória. Em especial à Rose e Izabela pela amizade que concretizamos, toda ajuda e companheirismo neste percurso e na realização deste trabalho, à Lorrany, Layann, Éryka e Magali pelos momentos só nossos.

Aos meus familiares que torcem por mim, em especial: à minha avó Maria Joana, cujo motivo para agradecer não consigo escrever, simplifico em dizer que agradeço o simples fato de eu ser sua neta; às minhas tias Maria Auxiliadora, Francisca, Zilda, Gilvanete e meus tios, Gilvan e Jerônimo; minhas primas Ana Flávia e Maria Luciane e minha madrinha Marlene. Todos eles pelo afeto e por estarem presentes em minha vida.

Às minhas amigas Onielly Edla e Deyse Luna, pela amizade e os pensamentos positivos de sempre.

Às demais pessoas que me ajudaram direta ou indiretamente.

Obrigada.

*“ Não deixe que ninguém diga o que você
pode ou não fazer, até onde você pode ou
não chegar. Não permita isso. ”*

Emma Watson

“ Porque nada é impossível para Deus. ”

Lucas 1:37

RESUMO

O vinagre é um alimento muito popular utilizado como condimento e conservante que valoriza a matéria-prima que o determina. Obtido pelos processos consecutivos de fermentação alcoólica e fermentação acética, esse tipo de produto é consumido pelo ser humano há milênios. O cajá (*Spondias mombin*) é uma fruta muito apreciada pela população brasileira e apresenta aspectos sensoriais e nutritivos atraentes. A produção de vinagre de cajá seria mais uma alternativa para sua maior valorização e aproveitamento. Neste sentido, este trabalho objetivou realizar a comparação de desempenho de bioprocessos relacionados à produção de vinagre utilizando dois tipos de biorreatores. Para a realização dos processos de fermentação alcoólica e acetificação foram empregadas levedura comercial e bactérias acéticas de vinagre forte de caldo-de-cana, respectivamente, sob duas formas de condução: batelada e batelada alimentada na fermentação alcoólica e sistemas de aeração na acetificação. O processo de fermentação alcoólica foi acompanhado pela determinação de teor de sólidos solúveis totais e concentração celular, o processo de acetificação foi acompanhado por esses parâmetros e ainda pela determinação de pH, temperatura e acidez total. A análise cinética e comparativa determinou que a fermentação alcoólica que ocorreu no modo Descontínuo Alimentado obteve um rendimento de 3,48% enquanto que a fermentação que ocorreu na forma Descontínua produziu um rendimento de 10,23%. Na acetificação, o reator com agitação via Coluna de Bolhas proporcionou um rendimento de 3,6% enquanto que na fermentação sem agitação o rendimento foi de 1,5%. O baixo rendimento obtido na acetificação em ambos reatores evidencia que a concentração mínima de ácido acético recomendada para produção de vinagre de 4% não foi atingida.

Palavras-chave: Fermentação Alcoólica. Fermentação Acética. Bioprocessos. Agitação por Coluna de Bolhas.

ABSTRACT

Vinegar is a very popular food used as a condiment and preservative liquor that values the raw material that determines it. Obtained by consecutive processes of alcoholic fermentation and acetic fermentation, this type of product is consumed by humans for millennia. Cajá (*Spondias mombin*) is a fruit very appreciated by the Brazilian population and presents attractive sensory and nutritional aspects. The production of cajá's vinegar would be another alternative for its greater valorization and use. In this sense, this work aimed to compare the performance of bioprocesses related to vinegar production by two types of bioreactors. For the performance of the alcoholic fermentation and acetic processes, commercial yeast and acetic bacteria of strong vinegar of cane juice were used, respectively, under two forms of conduction: batch and fed-batch alcoholic fermentation and aeration systems in the acetic fermentation. The alcoholic fermentation process was accompanied by the determination of total soluble solids content and cell concentration, the acetic fermentation was followed by these parameters and also by determination of pH, temperature and total acidity. The kinetic and comparative analysis determined that the alcoholic fermentation that occurred in fed-batch obtained a yield of 3.48% while the fermentation that occurred in batch mode produced a yield of 10.23%. At the acetification, the reactor with stirring by Bubble Column provided yield of 3.6% while the fermentation without stirring the yield was 1.5%. The low yield acetification obtained in both reactors shows that the minimum acetic acid recommended concentration for vinegar production of 4% was not reached.

Keywords: Alcoholic Fermentation. Acetic Fermentation. Bioprocess. Stirring by Bubble Column.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Frutos de Cajá (Spondias mombin). | 21 |
| Figura 2 - Produtos produzidos a partir de polpa de cajá. | 22 |
| Figura 3 - Reatores utilizados nos processos fermentativos..... | 36 |
| Figura 4 - Sistema de alimentação do Reator Agitado por Coluna de Bolhas..... | 38 |
| Figura 5 - Fermentados acéticos engarrafados. | 63 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 - Concentração celular e concentração de sólidos solúveis em função do tempo no processo de fermentação alcoólica ocorrido no Reator Agitado por Coluna de Bolhas..... | 50 |
| Gráfico 2 - Concentração celular e concentração de sólidos solúveis em função do tempo no processo de fermentação alcoólica ocorrido no Reator Sem Agitação. | 52 |
| Gráfico 3 - Concentração celular em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 53 |
| Gráfico 4 - Concentração celular em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 53 |
| Gráfico 5 - Concentração celular em relação ao tempo nos processos de acetificação ocorridos no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação..... | 54 |
| Gráfico 6 - Variação de pH em relação ao tempo nos processos de acetificação ocorridos no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação..... | 55 |
| Gráfico 7 - Concentração de ácido acético em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 55 |
| Gráfico 8 - Variação de temperatura em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 56 |
| Gráfico 9 - Concentração de Sólidos Solúveis em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 57 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição nutricional em 100g de polpa do fruto cajá (<i>Spondias mombin</i> L.)..... | 22 |
| Tabela 2 - Parâmetros e valores para vinagre de vinho e fermentado acético de frutas..... | 33 |
| Tabela 3 - Valores de densidade para soluções açucaradas. | 47 |
| Tabela 4 - Caracterização do mosto nos processos de fermentação alcoólica conduzidos pelo Reator Agitado por Coluna de Bolhas e pelo Reator Sem Agitação..... | 57 |
| Tabela 5 - Parâmetros cinéticos obtidos da fermentação alcoólica no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 59 |
| Tabela 6 - Caracterização dos líquidos dos processos de fermentação acética conduzidos pelo Reator Agitado por Coluna de Bolhas e pelo Reator Sem Agitação..... | 60 |
| Tabela 7 - Parâmetros cinéticos obtidos da fermentação acética no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação. | 61 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|------------------------|--|
| %ABV | Álcool por volume |
| CDSA | Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido |
| DEQ | Departamento de Engenharia Química |
| L | Litro |
| M | Molar |
| mL | Mililitro |
| PET | Politereftalato de etileno |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| Q_p | Produtividade |
| RACB | Reator Agitado por Coluna de Bolhas |
| rpm | Rotação por minuto |
| RSA | Reator sem Agitação |
| t | Tempo |
| UFCG | Universidade Federal de Campina Grande |
| UFPB | Universidade Federal da Paraíba |
| Y_{p/s} | Rendimento (Produto/Substrato) |
| μm | Micrômetro |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 OBJETIVOS | 19 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 19 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 19 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 20 |
| 3.1 O FRUTO DA CAJAZEIRA | 20 |
| 3.1.1 Valor nutricional e potencialidade | 21 |
| 3.2 PROCESSOS FERMENTATIVOS | 23 |
| 3.2.1 Fermentação Alcoólica | 24 |
| 3.2.1.1 Agente biológico da fermentação alcoólica: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 25 |
| 3.2.2 Fermentação Acética | 25 |
| 3.2.2.1 Bactérias acéticas | 26 |
| 3.2.3 Operação de Processos Fermentativos | 26 |
| 3.2.3.1 Fermentação em Processo Descontínuo..... | 27 |
| 3.2.3.2 Fermentação em Processo Descontínuo Alimentado | 27 |
| 3.3 ÁLCOOL | 28 |
| 3.4 VINAGRE | 29 |
| 3.4.1 Características gerais e qualidade | 30 |
| 3.4.2 Processos de produção | 33 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 36 |
| 4.1 MATÉRIA-PRIMA..... | 36 |
| 4.2 MICRORGANISMOS | 36 |
| 4.3 MOSTO: PREPARO E CORREÇÕES | 37 |
| 4.3.1 Correção do °Brix – Chaptalização | 37 |
| 4.3.2 Correção do pH | 37 |
| 4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA | 38 |
| 4.1.1 Processo de fermentação alcoólica operado em processo Descontínuo Alimentado (Batelada Alimentada) | 38 |
| 4.4.2 Processo de fermentação alcoólica operado em processo Descontínuo (Batelada) | 39 |
| 4.4.3 Filtração | 39 |

| | |
|--|----|
| 4.4.4 Determinação da concentração celular | 40 |
| 4.4.5 Determinação do °Brix | 40 |
| 4.4.6 Determinação do etanol | 40 |
| 4.5 FERMENTAÇÃO ACÉTICA (ACETIFICAÇÃO) | 42 |
| 4.5.1 Preparo do inóculo – Bactérias acéticas | 42 |
| 4.5.2 Processo de acetificação | 43 |
| 4.5.3 Determinação de pH, concentração celular e de °Brix | 43 |
| 4.5.4 Determinação do teor de ácido acético | 43 |
| 4.5.5 Tratamento final do fermentado acético | 45 |
| 4.5.5.1 Clarificação | 46 |
| 4.5.5.2 Engarrafamento e pasteurização | 46 |
| 4.6 PARÂMETROS FERMENTATIVOS | 46 |
| 4.6.1 Parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica | 48 |
| 4.6.1.1 Rendimento de substrato em produto | 48 |
| 4.6.1.2 Produtividade volumétrica de etanol | 48 |
| 4.6.2 Parâmetros cinéticos da fermentação acética | 49 |
| 4.6.2.1 Produtividade volumétrica em ácido acético | 49 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 50 |
| 5.1 CINÉTICA DOS PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACETIFICAÇÃO DE CAJÁ POR DOIS TIPOS DE REATORES | 50 |
| 5.1.1 Cinética da fermentação alcoólica | 50 |
| 5.1.2 Cinética da acetificação | 54 |
| 5.2 PARÂMETROS FERMENTATIVOS | 57 |
| 5.2.1 Fermentação Alcoólica | 57 |
| 5.2.2 Acetificação | 60 |
| 6 CONCLUSÃO | 64 |
| REFERÊNCIAS | 65 |

1 INTRODUÇÃO

Há muito tempo o homem faz uso na alimentação de produtos derivados da fermentação realizada por microrganismos. O vinagre é um desses produtos, de alta popularidade e utilizado principalmente como acidulante, condimento e conservante de alimento, está sempre presente na mesa dos brasileiros, servindo não apenas para uso alimentício, mas também medicamentoso, de higiene, limpeza, cosmético entre outros (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001).

Obtido por dois processos sucessivos e diferentes, fermentação alcoólica sob ação de leveduras e acetificação sob ação de bactérias acéticas, o vinagre é um produto alternativo que possibilita a valorização da matéria-prima que o determina. O Brasil possui enorme disponibilidade de frutos que têm grande perda devido a sua perecibilidade, os mesmos serviriam para elaboração de vinagres de qualidade o que promoveria a amenização do desperdício que há no setor agrícola e a geração de um produto valorizado.

Os vinagres que têm como matéria-prima frutas são considerados de melhor qualidade e possui melhor aceitação devido aos aspectos sensoriais e nutritivos, em comparação a outros tipos de vinagres, apresentando sabor e aroma próprios, além de serem ricos em vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos provenientes do fruto e da fermentação alcoólica (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001).

No Brasil, os vinagres mais comercializados são os de: vinho tinto, vinho branco, maçã, arroz, agrin (fermentado químico de álcool com vinho) e álcool. Frutos como abacaxi, laranja, jabuticaba, caqui etc., assim como o mel, elaboram excelentes vinagres quando bem produzidos, porém restringem-se a pequenas produções e praticamente é desconhecida a existência desses vinagres no mercado consumidor (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001).

O Nordeste brasileiro possui uma grande variedade de frutas de grandes interesses econômicos e que ainda são pouco exploradas nacionalmente. Uma dessas frutas é o cajá (*Spondias mombin*), que é muito comercializada, principalmente na forma de polpa e fruta *in natura* e tem estado cada vez mais no gosto dos brasileiros, mesmo que ainda exista o seu desconhecimento para alguns, como revelou Dias, Schwan e Lima (2003), na análise sensorial do fermentado alcoólico dessa fruta.

O cajá é uma fruta cuja industrialização está voltada para a produção de polpa, a qual pode ser usada no preparo de bebidas levemente ácidas de agradável sabor. Saborosa e refrescante, é muito utilizada na produção de geleias, sorvetes e seu suco origina uma boa aguardente e um delicado licor (SILVINO, 2017). Seus aspectos sensoriais e nutritivos atraentes colaboram para o aumento do seu consumo e interesse das indústrias alimentícias para uso como matéria-prima de diversos produtos (DIAS; SCHWAN; LIMA, 2003).

A produção de um fermentado acético (vinagre) de cajá apresenta-se como uma boa alternativa de aproveitamento da fruta, possibilitando sua exploração e valorização, tornando-se mais uma possibilidade de cultivo e de renda para pequenos produtores e ainda, um produto que tem uma excelente matéria-prima em propriedades nutritivas e características singulares.

A legislação brasileira diz que o produto obtido da fermentação acética do vinho deve possuir uma acidez volátil mínima, expressa em ácido acético, de 40g por litro (4,0%). Através da fermentação acética já foram desenvolvidos vinagres de vários substratos, porém não foi observado o uso do cajá como matéria-prima para a obtenção deste produto.

Dessa forma, no presente trabalho foi proposta uma análise dos processos fermentativos visando a produção de vinagre de cajá, a partir de sua polpa comercial, no intuito de possibilitar mais uma utilização dessa matéria-prima, bem como uma comparação desses bioprocessos realizados em dois tipos reatores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a cinética e comparar a produtividade dos processos fermentativos alcoólico e acético de cajá conduzidos em dois tipos de reatores sob condições diferentes de aeração.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Acompanhar durante a fermentação alcoólica os parâmetros: teor de sólidos solúveis totais e concentração celular;
- Acompanhar durante a fermentação acética os parâmetros: pH, temperatura, teor de sólidos solúveis totais, concentração celular e acidez total;
- Analisar o desempenho do processo fermentativo alcoólico quanto aos parâmetros cinéticos: rendimento de substrato em produto e produtividade;
- Analisar o desempenho do processo fermentativo acético quanto aos parâmetros: teor de ácido acético e produtividade;
- Determinar a viabilidade de produção de vinagre de cajá a partir de sua polpa comercial.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O FRUTO DA CAJAZEIRA

A cajazeira (*Spondias mombin* L.) pertence à família Anacardaceae, subfamília Spondioideae e é uma das sete espécies que ocorrem no Brasil, dentre as dezoito espécies nativas da América Tropical, da Ásia e de Madagascar, que compreendem o gênero *Spondias* (MITCHELL; DALY, 2015; RAMIRES, 2016). Essa espécie frutífera de médio a grande porte está presente em todo território brasileiro (SOUZA, 1999; SILVA, 2008), principalmente nos Estados das regiões Norte e Nordeste, onde seu fruto, conhecido como cajá, cajá verdadeiro, taperebá ou cajá-mirim, é matéria-prima de produtos de grande importância agroindustrial e valor comercial (SACRAMENTO e SOUZA, 2000; MOURA, 2009).

Segundo Silva (2008), em grande parte do Nordeste a cajazeira aparece naturalmente em condições silvestres, em propriedades, e até mesmo em quintais, tendo diversas utilizações, dentre elas, uso para o sombreamento e proteção do cacauzeiro, tornando-se indispensável na recuperação da vegetação degradada, por características de velocidade de crescimento e propagação, e sua larga influência para a fauna. Porém, ainda é necessário um incremento maior dessa cultura, por meios de divulgação e fomento de plantios em determinadas áreas que são favoráveis a este tipo de planta, segundo Moura (2009), visto que, nacionalmente, há um crescente interesse por sua fruta e seus derivados a fim de aumentar sua produção e comercialização suprimindo a procura em período de entressafra.

Uma das frutas mais apreciadas, o cajá (Figura 1) é conhecido pelo seu excelente sabor (SOUZA, 1999; SILVA, 2008). A sua procura se deve por essa e outras características agroindustriais, como aroma agradável, despertando o interesse não só regionalmente, mas também no mercado de outras regiões, onde ainda é escasso (SACRAMENTO e SOUZA, 2000; MOURA, 2009). Três fatores são limitantes à sua industrialização: a sua sazonalidade, a sua perecibilidade e o fato de a frutífera cajazeira não possuir um cultivo comercialmente considerável, pois ainda é uma espécie em domesticação que serve para atividade extrativista (MATA; BRAGA; SILVA, 2003; SACRAMENTO e SOUZA, 2000; MOURA, 2009). Apesar disso, a comercialização desse fruto para o consumo como fruta fresca e processamento de sua polpa vem aumentando ainda mais a participação da região

Nordeste nas atividades econômicas de fruticultura no agronegócio brasileiro (SACRAMENTO e SOUZA, 2000; MOURA, 2009).

Figura 1 - Frutos de Cajá (*Spondias mombin*).



Fonte: De Marchi.

Disponível em: <http://polpas.demarchi.com.br/sabores>

3.1.1 Valor nutricional e potencialidade

As frutas são de grande importância e fontes de substâncias indispensáveis para a saúde humana (SACRAMENTO e SOUZA, 2009). O cajá possui aspectos sensoriais atraentes e elevado teor de taninos, carotenoides e vitamina C, os quais conferem valor nutritivo (Tabela 1) e funcional que podem apresentar atividade antioxidante (MATTIETTO *et al.*, 2010), o que colabora, segundo Silvino (2017), para o aumento do consumo e interesse das indústrias alimentícias que o utiliza como matéria-prima de diversos produtos. Este mesmo autor, revela em seus estudos, que essa fruta possui alta atividade de água, polpa bastante ácida e índice de maturação relativamente baixo, sendo um alimento fonte de vitamina C que possui alto conteúdo de provitamina A agregador de diversos benefícios para a saúde quando consumido regularmente, como a melhoria da imunidade, do funcionamento intestinal e a prevenção de alguns tipos de patologias crônicas degenerativas.

Tabela 1 - Composição nutricional em 100g de polpa do fruto cajá (*Spondias mombin* L.).

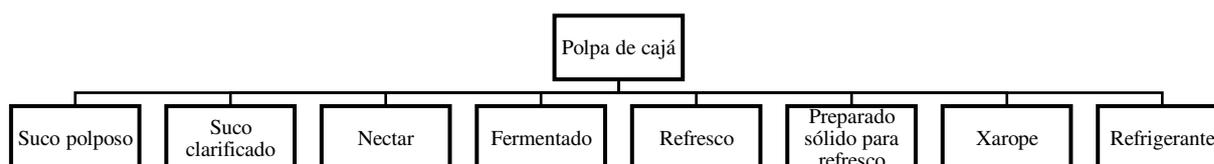
| Vit A (mg) | Vit B1 (mg) | Vit B2 (mg) | Vit C (mg) | Caloria (Kcal) | Glicídio (g) | Proteína (g) | Lipídio (g) | Ca (mg) | P (mg) | Fe (mg) |
|---------------|-------------------|-------------------|---------------|-------------------|-----------------|-----------------|----------------|------------|-----------|------------|
| 64 | 50 | 40 | 35,9 | 45 | 11,6 | 0,8 | 0,2 | 56 | 67 | 0,3 |

Legenda: Vit – Vitamina, Ca – Cálcio, P – Fósforo, Fe – Ferro.

Fonte: Feitosa e Fabricante (2007).

Uma das operações mais frequentemente utilizadas na indústria de alimentos para a preservação de frutas, a extração de suas polpas, objetiva-se em facilitar a disponibilidade de um produto para consumo ou insumo durante qualquer período do ano. O cajá, dentre outras frutas perecíveis, dispõe dessa opção de conservação evitando seu maior desperdício (SILVA, 2008).

O cajá apresenta bons aspectos para a industrialização, em termos de sabor e rendimento, este que chega a ser de mais de 60% em polpa e por isso é bastante utilizado como matéria-prima para a elaboração de produtos (Figura 2) a exemplos de suco, néctar, sorvetes, geleias, vinhos e licores (MATIETTO, 2010). Por causa de sua acidez, importante parâmetro na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício, o cajá dificilmente é consumido ao natural, quando destinados à industrialização, passam por processo de seleção, lavagem, despulpamento, refino, envasamento ou ensacamento, pasteurização (opcional) e congelamento (SACRAMENTO e SOUZA, 2009).

Figura 2 - Produtos produzidos a partir de polpa de cajá.

Fonte: Moura (2009).

Nas diversas regiões produtoras, a comercialização desse fruto é feita em feiras livres e nas margens de rodovias, entretanto, a maior parte da produção é

vendida para agroindústrias regionais. Após o processamento, a polpa é comercializada congelada, em embalagens ou em tabuleiros (SILVA, 2008), e por ser um produto recente no mercado nacional, em comparação às polpas de outras frutas, e possuidor de grande demanda, não atende às deficiências do mercado interno, estando ainda muito restrito às regiões onde atua principalmente. Sendo assim, há esse amplo mercado interno e externo a ser explorado (SAMPAIO *et al.*, 2005; MOURA, 2009) visto que são inúmeras as possibilidades de uso desse fruto de sabor exótico e alta qualidade em processamento agroindustrial e processos biotecnológicos, gerando ainda mais valorização desta cultura e novos produtos de interesse para o mercado.

3.2 PROCESSOS FERMENTATIVOS

Segundo Fernandes (2016), a fermentação envolve um conjunto de reações enzimaticamente controladas, por meio das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia. É um processo no qual os microrganismos, na presença ou ausência de oxigênio, atuam sobre determinado substrato e, conseqüentemente, geram alguma substância ou produto utilizável.

As substâncias ou produtos de fermentação vão desde alimentos modificados e bebidas alcoólicas da indústria de alimentos a outros produtos industriais, como solventes, enzimas e antibióticos da indústria química e farmacêutica (CUNHA, 2010; FERNANDES, 2016).

Dentre os processos fermentativos, pode-se destacar as fermentações alcoólica e acética, processos que têm como base a quebra do substrato em piruvato que posteriormente será convertido em outro produto, como o etanol e o ácido acético. (ZOCHE e FIGUEREDO, 2014).

Ao iniciar a produção de vinagre, a partir de uma biomassa ou substrato, primeiramente, a matéria-prima deve passar pelo processo de fermentação alcoólica e, em seguida, pelo de fermentação acética. Essas duas fermentações necessitam ocorrer separadamente pois, se a fermentação acética for iniciada sem que a fermentação alcoólica tenha sido concluída, acontecerá a inibição das leveduras, propiciando resíduos de açúcares não convertidos, gerando baixa acidez (WOOD, 1998; SUMAN, 2012). Para se ter um produto final de boa qualidade, o uso de uma

cultura pura da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação alcoólica pode facilitar esse resultado. Já em relação à fermentação acética, o mais indicado é utilizar uma cultura mista de bactérias acidificantes e de mesmo gênero (AQUARONE *et al.*, 2001).

3.2.1 Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é o processo em que ocorre a degradação anaeróbica de açúcares, principalmente da glicose e da frutose, transformando-os em álcool etílico (etanol) e gás carbônico (CO₂). As leveduras são os principais microrganismos que realizam a fermentação, com o objetivo de obter energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP), a qual será utilizada para a realização de suas atividades fisiológicas, crescimento e reprodução, sendo o etanol, então, um subproduto desse processo (LIMA *et al.*, 2001; FERNANDES, 2016).

Durante esse processo os microrganismos fermentadores além de utilizarem os açúcares e outros substratos convertendo-os a etanol, com liberação de gás carbônico (CO₂), podem ser responsáveis pela formação de alguns compostos secundários, muitos deles necessários para a incorporação de sabor a bebida, como glicerol, ésteres, aldeídos e ácidos (LURTON *et al.*, 1995; DIAS, 1996; MARQUES; PASTORE, 1999; FERNANDES, 2016). Esses compostos voláteis presentes nas bebidas alcoólicas fermentadas podem ser provenientes ainda da matéria-prima e até mesmo sido formados durante o envelhecimento ao final da etapa de fermentação (BARBOSA, 2014).

Dentre os microrganismos que realizam a fermentação alcoólica destacam-se as leveduras *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Bettanomyces* e *Kloeckera* (DUARTE *et al.*, 2010; FERNANDES, 2016). Algumas são mais indicadas para a produção de bebidas alcoólicas devido à sua habilidade de converter fontes de açúcares em álcool, serem resistentes e conseguirem sobreviver à altas concentrações de etanol, além de conferirem às bebidas sabor e aroma agradáveis (FRAZIER; ESTHOFF, 1988; FERNANDES, 2016).

3.2.1.1 Agente biológico da fermentação alcoólica: *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um microrganismo aeróbio facultativo, característica que lhe confere a possibilidade de sobreviver tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose (ANJO, 2015). Contudo, apesar de resistirem a um ambiente anaeróbio, as leveduras são essencialmente aeróbias. Por essa razão, no início da fermentação deve-se fornecer oxigênio ao mosto para que ocorra proliferação celular significativa e no caso da fermentação propriamente dita, deve-se evitar a oxigenação para se obter o máximo em álcool e o mínimo em crescimento celular, ou seja, em um ciclo normal de fermentação, as leveduras usam o oxigênio do início do processo até que ele seja todo consumido e, somente durante o período anaeróbio produzem o etanol (SILVA; JESUS; COUTO, 2007).

Esses microrganismos propiciam fermentações uniformes, mais rápidas, confiáveis e de alto rendimento em etanol. Dessa forma, as leveduras são selecionadas para otimizar o processo e intensificar a qualidade da matéria-prima, tendo como consequência um produto de melhor aceitabilidade e qualidade. Além disso, *S. cerevisiae* é mais tolerante aos produtos da fermentação e mudanças de pH no decorrer do processo fermentativo e é produtora superior de etanol (DUARTE *et al.*, 2010; FERNANDES, 2016).

3.2.2 Fermentação Acética

Ao término da fermentação alcoólica inicia-se a fermentação acética, a qual metabolicamente não é uma fermentação, pois é um processo aeróbio, assim sendo chamada acetificação (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015). Durante esse processo, as bactérias do ácido acético (BAA) estão presentes oxidando o etanol a ácido acético, principal composto do vinagre. As principais BAA envolvidas na conversão de etanol a ácido acético são *Acetobacter aceti*, *Gluconobacter oxidans* e *Gluconacetobacter sp* (BARTOWSKY *et al.*, 2003; GONZÁLEZ *et al.*, 2004; VIANA, 2015).

Alguns fatores podem interferir na acetificação, prejudicando o trabalho das bactérias e a qualidade do vinagre. Entre eles estão o pH, temperatura, concentração alcoólica, quantidade de oxigênio, matéria-prima e aqueles relacionados aos microrganismos, como espécie, linhagem e concentração celular

no meio (OLIVEIRA, 2006). O vinagre também está sujeito a alterações causadas pela falta de assepsia durante o processo de elaboração (JUVINO *et al.*, 2016).

Na etapa da acetificação também ocorrem a formação de outros componentes que contribuem para as características finais dos vinagres produzidos, portanto é ideal ter o controle da produção e eliminação desses componentes, a exemplo o composto orgânico furfural (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015).

3.3.2.1 Bactérias acéticas

As bactérias acéticas constituem um grupo de microrganismos de amplo interesse econômico, por sua função na produção de ácido acético e pelas alterações que provocam em alimentos e bebidas (HOFFMANN, 2006; FERNANDES, 2016).

Embora mais de 100 espécies, subespécies e variedades do gênero *Acetobacter* tenham sido classificadas com o passar dos anos, poucas são as que possuem características industriais, como produzir em altas concentrações de ácido acético, não formar material viscoso, tolerar concentrações razoáveis de ácido acético e lidar com temperaturas entre 25°C e 30°C, por isso, utiliza-se culturas de *Acetobacter*, geralmente uma microflora mista contendo diferentes espécies ou variedades, proveniente de um vinagre não pasteurizado, denominado de vinagre mãe ou vinagre forte, para a fabricação de vinagres (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015).

A utilização dessas bactérias do ácido acético (BAA) possui uma longa história nos processos fermentativos, onde representa um campo emergente em aplicações biotecnológicas, especialmente relacionadas com a biossíntese de substâncias químicas potencialmente úteis com alto valor econômico, bem como em ciências dos alimentos, por meio de processos para a fabricação de vinagre e de outras bebidas fermentadas (GULLO; GIUDICI, 2009; SOUZA, 2015).

3.2.3 Operação de Processos Fermentativos

A fermentação pode ser conduzida por várias formas. Os reatores biológicos, onde acontecem transformações químicas, cuja principal função é oferecer um local

controlado que permita o crescimento eficiente das células e a consequente obtenção do produto de interesse (SOUSA, 2016), podem ser operados de forma descontínua, semicontínua, descontínua alimentada ou contínua, todos podendo trabalhar com ou sem recirculação do fermento (SCHIMIDELL e FACCIOTTI, 2001; PACHECO, 2010) dentre as quais destaca-se abaixo o modo descontínuo e descontínuo alimentado.

3.2.3.1 Fermentação em Processo Descontínuo

O processo descontínuo, conhecido também como processo em batelada, tem seu uso recorrente em usinas e destilarias brasileiras, por sua facilidade de assepsia durante o processo, diminuindo os riscos de contaminação (MARTINEZ, 2007). Contudo, nesse sistema geralmente são utilizadas dornas (biorreatores) de pequeno volume, o que leva à baixas produtividades e rentabilidades por batelada pois o substrato é adicionado de uma só vez no início do processo fermentativo podendo desempenhar efeitos de inibição (CARVALHO e SATO, 2001).

O modo de operação se dá quando o meio fermentativo esterilizado presente no fermentador é inoculado com o microrganismo e depois incubado, de maneira que aconteça sob condições ótimas. Neste processo o enchimento da dorna é feito instantaneamente e nela nada é adicionado ou removido durante o mesmo, ao menos que sejam compostos de controle, como ácido e base, e sem que influenciem no volume final (MARTINEZ, 2007). A fermentação nesse sistema acaba quando a máxima conversão de substrato em produto é atingida, instante no qual descarrega-se a dorna e após limpeza, etapa de esterilização, novos inóculo e mosto são adicionados para uma nova fermentação, e o meio já fermentado é encaminhado para as etapas de recuperação e purificação do produto (SOUSA, 2016).

3.2.3.2 Fermentação em Processo Descontínuo Alimentado

A fermentação descontínua alimentada ou batelada alimentada (*Fed-Batch*) permite o controle e a adição de um ou mais nutrientes no fermentador durante o cultivo de forma contínua ou intermitente e os produtos aí permanecem até o final da fermentação (CARVALHO e SATO, 2001). Apresenta diversas vantagens em

relação aos outros processos, dentre elas, a produção de elevadas concentrações de células devido ao extenso tempo de trabalho, o que é de grande importância no caso de produtos associados ao crescimento celular, e o melhor controle das condições de adição de substratos durante a fermentação (NEVES, 2006).

Esse modo de operação, no qual é comum o uso de várias dornas de fermentação independentes podendo ser operado com ou sem reciclo de células (SOUSA, 2016), tem se mostrado eficiente e versátil na grande maioria dos processos fermentativos, pois além de apresentar um menor risco de contaminação, permite utilizar os fermentadores para a formação de diversos produtos, realizar fases contínuas no mesmo recipiente e diminuir a inibição por substrato devido ao controle da concentração e vazão de entrada do meio fermentativo (CARVALHO e SATO, 2001).

3.3 ÁLCOOL

O termo álcool refere-se ao álcool etílico de fórmula C_2H_5OH , conhecido também por etanol, metilcarbinol ou álcool de cana ou grãos. É um líquido incolor, transparente, volátil, de cheiro etéreo, sabor picante e miscível na água e em diferentes líquidos orgânicos. É comercializado em duas formas, hidratada (95 a 96%) e anidra (> 99% de volume) (ARIAS *et al.*, 1999; CARVALHO *et al.*, 2013).

Por meio da fermentação, o etanol pode ser produzido por quatro tipos básicos de matéria-prima: matéria-prima açucarada, produto no qual o carboidrato está presente de forma simples, como cana-de-açúcar, beterraba açucareira, frutas, mel, etc; matérias-primas amiláceas, que contêm carboidratos mais complexos, tipo o amido, como milho, sorgo, batatas e mandioca; matérias-primas celulósicas: resíduos agrícolas e madeira; e Matérias-primas fermentadas: constituídas por matérias já fermentadas (vinho e cerveja) e destiladas (aguardentes). Nesse caso, o álcool já se encontra presente e a sua separação é feita por destilação simples (SILVA; JESUS; COUTO, 2007).

Embora o álcool possa ser obtido a partir de diferentes fontes alternativas, como mencionadas anteriormente, no Brasil, a principal matéria-prima para a extração do álcool é a cana-de-açúcar (SILVA; JESUS; COUTO, 2007).

Segundo Carvalho *et al.* (2013), o álcool é utilizado como bebida, remédio e também como combustível milenar e sua aplicação é tão antiga quanto o carro. Em

1894 na Alemanha, pesquisadores tentavam empregar álcool combustível em automóveis de algumas marcas, em 1899 na cidade de Paris, aconteceu a primeira corrida de automóveis alimentados por álcool, a partir de então, surgiram diversos pesquisadores, destiladores e as indústrias passaram a adotar o álcool como combustível (ROTSTEIN, 1985; CARVALHO *et al.*, 2013).

A indústria alcooleira surgiu no Brasil como consequência natural da produção açucareira, pelo fato de o álcool constituir um subproduto que pode ser obtido a partir do mel residual da fabricação de açúcar (PAMPLONA, 1984; CARVALHO *et al.*, 2013). O país, destaca-se na produção de etanol, devido a detenção de tecnologias e políticas mais avançadas, em decorrência da pioneira utilização do etanol obtido a partir da cana-de-açúcar como combustível (CARVALHO *et al.*, 2013).

Atualmente, a conversão de material lignocelulósico ou biomassa em açúcares fermentados para a produção de etanol, vem sendo discutida como fonte alternativa promissora para aumentar a produção necessária para atender a demanda mundial. O etanol da cana-de-açúcar, obtido através da fermentação alcoólica da sacarose, assim como o obtido a partir do amido de milho é denominado de etanol de primeira geração. A obtenção de etanol celulósico a partir dos polissacarídeos da parede celular vegetal é denominada de etanol de segunda geração. Já tem se falado em etanol de terceira e quarta geração, em que a planta utilizada seria geneticamente modificada (BUCKERIDGE *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2013).

3.4 VINAGRE

Como o vinho, o pão e o queijo, o vinagre também é popular desde a antiguidade. O seu nome, deriva do francês *vinaigre*, que quer dizer vinho azedo. Os povos antigos já conheciam a arte de fabricação e a versatilidade do vinagre, que o utilizava como condimento, conservante, aromatizante, refresco e medicamento (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001).

A produção comercial de vinagre iniciou-se no século XVII, na França, como resultado da indústria do vinho e de cerveja. A partir daí, difundiu-se para outras regiões do mundo (MAZZA; MUROOKA, 2009; SOUZA, 2015). Como em outros

campos da ciência, o vinagre foi elaborado e utilizado pelo homem antes que se conhecessem as transformações que ocorriam para sua obtenção (AQUARONE *et al.*, 1983; ARAÚJO, 2012). Mesmo assim, ainda existem poucos estudos na tentativa de conhecer e otimizar as etapas envolvidas no seu processo produtivo (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015).

Em meados do século XVII, Backer foi o primeiro a comprovar que o ar era fundamental para se obter vinagre. Já em 1837, Kutzing certificava a contribuição de agente biológico na formação de ácido acético e declarava suas experiências sobre a “mãe do vinagre”. Berzélius afirmava, em 1839, que era apenas um processo químico catalítico a transformação de etanol a ácido acético. Mas foi entre 1864 e 1868, a partir dos trabalhos de Pasteur sobre fermentação acética, que a produção artesanal do vinagre à era industrial foi possível, quando ele demonstrou que era necessário a presença de um ser vivo para a transformação do etanol em ácido acético, além de explicar cientificamente o processo de fabricação, orientando também os produtores sobre os procedimentos que determinavam a qualidade constante do vinagre. (AQUARONE *et al.*, 2001; SUMAN, 2012).

3.4.1 Características gerais e qualidade

Vinagres são os produtos oriundos da fermentação acética, que apresentam acidez volátil mínima de $4\text{g}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ (expressa em ácido acético) de diversos substratos alcoólicos como: vinhos de frutas, de cereais, de mel, da mistura de vegetais, ou ainda da mistura hidroalcoólica podendo ser acrescido de vegetais, partes e extratos destes, entre outros, possuindo atrelado ao nome vinagre o nome do substrato correspondente, por exemplo, vinagre de álcool e vinagre de maçã (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001). Além de poder ser elaborado, sinteticamente, a partir de gás natural e derivados do petróleo (GHOSH *et al.*, 2013; VIANA, 2015).

Apesar de ser um produto relativamente barato, simples e básico da cultura brasileira, que detém um mercado estabelecido e bem aceito, no Brasil, e ainda em outros países de culturas semelhantes como a nossa, grande parte da população não valoriza ou importa-se com a qualidade dos vinagres, desconsiderando suas diversas propriedades benéficas e nutritivas (ZOCHE *et al.*, 2015). Por isso a

produção ainda é bastante realizada com matérias-primas mais baratas e por processos mais produtivos, o que gera vinagres não tão apreciáveis em comparação a obtenção de vinagres finos originados de vinhos de frutos, mel, cereais, entre outros, tão apreciados em países com elevado grau de desenvolvimento, cujo preço e valorização do produto é alto (AQUARONE *et al.*, 2001; ZOCHE *et al.*, 2015).

Ainda que a expressão vinagre, unicamente, seja dada ao produto resultante da acetificação do vinho, a matéria-prima usada para sua produção vai de acordo com a disponibilidade de cada país. No Brasil, os vinagres são produzidos pelo álcool de cana-de-açúcar e pelo vinho, principalmente (RIZZON, 2006). Como o vinagre é originado, em geral, de duas fermentações seguidas, a alcoólica (que utiliza mono ou dissacarídeos presentes no mosto, convertendo-os a etanol por ação de leveduras) e a acética (a qual é conduzida por bactérias do ácido acético (BAA), que oxidam o etanol a ácido acético) (PALMA; CARVALHO; GAVÓGLIO, 2001; VIANA, 2015), toda a matéria-prima usada para a produção fermentativa de álcool serve, possivelmente, também como matéria-prima do vinagre (ZAPPAROLI *et al.*, 2015).

Os vinagres produzidos através de fermentados de frutas são produtos que conseguem, dependendo do tipo de produção, gerar alto grau de apreciação entre os consumidores (ZILIOLI, 2011). Seu incentivo começou a ser intensificado através do encarecimento do transporte a partir da crise do petróleo em 1973 (AQUARONE *et al.*, 1983; ARAÚJO, 2012).

Segundo Araújo (2012), existem frutos que fornecem vinagres de qualidade comparáveis aos de uva, a preços mais baixos e que, provavelmente, ainda não são utilizados na produção de vinagres comerciais. Esses vinagres de frutas possuem uma maior constituição do que os vinagres de etanol, pois têm quase todos os elementos solúveis, como vitaminas e ácidos orgânicos, contidos na matéria-prima, ou que se formaram durante os processos fermentativos, dando sabor, odor e cor característicos, tornando-os mais nutritivos (ARAÚJO, 2012). Além do mais, os vinagres obtidos através dos vinhos de frutas são mais suaves e menos agressivos ao paladar por seu pH atenuado por essas substâncias presentes, além de conservar melhor as características sensoriais da matéria-prima de origem, resultado em melhor qualidade (SUMAN, 2012).

Para se obter um vinagre com qualidade, alguns fatores são importantes, dentre eles, as características do microrganismo e da matéria-prima a ser utilizada; a

concentração do álcool; a temperatura de fermentação; a quantidade de oxigênio; a faixa de pH ótimo entre outros; além da clarificação, envase e pasteurização (CASTELO, 2011; SUMAN, 2012).

A composição do vinagre é caracterizada a partir da matéria-prima que o originou (XAVIER *et al.*, 2009) e para o seu controle de qualidade, devem ser observados, principalmente, os teores de ácido acético, etanol residual, extrato seco e cinzas (ARAÚJO, 2012).

Segundo Xavier *et al.* (2009), o ácido acético é o principal constituinte do vinagre, independente de qual tenha sido o substrato que deu origem a ele; o álcool etílico (etanol) residual é o substrato presente na produção industrial do vinagre que não se deve chegar ao esgotamento, pois na ausência dele, as bactérias são capazes de degradar o ácido acético produzido; o extrato seco é formado por substâncias não voláteis existentes no produto, tais como glicerina, substâncias nitrogenadas, entre outras, e seus teores muito baixos ou muito elevados no produto podem indicar fraudes no processo de produção; o teor de cinzas determina os minerais contidos no produto, e pode também determinar fraudes no processo de produção, caso tenha seus níveis ou muito alto ou muito baixo.

Os fermentados de frutas devam possuir graduação entre 10 e 13°GL estabelecidos pela legislação brasileira, adquiridos através da fermentação do mosto de frutas frescas e sadias, podendo adicionar sacarose no máximo igual à dos açúcares da fruta (AQUARONE *et al.*, 1983; ARAÚJO, 2012). O produto da fermentação acética do vinho deve possuir acidez volátil mínima, expressa em ácido acético, de 40 g/L, ou seja, 4%, graduação etílica inferior a 1°GL ser, obrigatoriamente, pasteurizado. Uma acidez volátil superior a 80 g/L é um concentrado de vinagre, usado apenas para diluição. Estabelece, também, valor mínimo de 7 g/L de extrato seco para vinagres de vinho tinto e rosados e 6 g/L para vinagres de vinho branco. Para o teor de cinzas, preconiza um valor mínimo de 1 g/L (COSTA *et al.*, 2006; ARAÚJO, 2012). Na Tabela 2 estão apresentadas algumas características que o fermentado acético deve conter para ser considerado vinagre.

Tabela 2 - Parâmetros e valores para vinagre de vinho e fermentado acético de frutas.

| Variável | Mínimo | Máximo |
|---|--------|--------|
| Ácido volátil, em ácido acético g/100mL | 4,0 | - |
| Álcool (% v/v) a 20°C | - | 1,0 |
| Extrato seco reduzido (g/L) | | |
| Tintos e rosados | 7,0 | - |
| Branco | 6,0 | - |
| Sulfato de potássio (g/L) | - | 1,0 |
| Dióxido de enxofre total (mg/L) | - | 200 |
| Presença de corantes artificiais | neg. | - |

Fonte: Ministério da Agricultura - Portaria nº 745, de 24 de outubro de 1977.

Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>

E ainda, a legislação brasileira proíbe o uso de ácido acético de síntese para elaboração de vinagre, assim como o termo vinagre de vinho para fermentados acéticos de outras frutas (RIZZON, 2006).

3.4.2 Processos de produção

São conhecidos três processos básicos principais de obtenção do vinagre por conversão microbiológica do etanol que dão a dimensão histórica da sua produção em escala industrial e semi industrial (XAVIER *et al.*, 2009). O processo lento, Orleans ou francês, conhecido também como fermentação em superfície, o processo rápido ou alemão, também conhecido como *Schützenbach* ou *Boerhave*, e ainda o processo submerso.

São esses processos que melhor confirmam a evolução da tecnologia a partir do componente fundamental para a produção do vinagre: a atuação do oxigênio como fator limitante do processo de acetificação, segundo Xavier *et al.* (2009) e que podem fornecer vinagres de boa qualidade, desde que a matéria-prima, os microrganismos e as condições de fermentação sejam adequados (LLAGUNO & POLO, 1991; CAMARGO *et al.*, 2013).

O processo lento surgiu em 1670, é o mais antigo e é utilizado até hoje para a fabricação caseira de vinagre (HENRIQUES, 2014). Baseia-se no avinagramento do vinho conservado em recipientes semicheios e que ficavam em contato com o ar.

Nesse processo ocorre disponibilidade de oxigênio naturalmente promovendo o crescimento das bactérias acéticas e resultando na conversão do etanol a ácido acético. Foi aperfeiçoado a fim de otimizar o processo (MORETTO *et al.*, 1988; AQUARONE e ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1996, 2002; AQUARONE *et al.*, 2001; RIZZON e MENEGUZZO, 2001; BARBOSA, 2014).

A “mãe do vinagre”, estrutura formada pelo fato do vinho permanecer em repouso, tecnicamente denominada de zoogleia, é imprescindível, segundo Camargo *et al.* (2013), para a obtenção de um produto de alta qualidade. O produto fabricado por esse processo dispensa clarificações, filtrações e seus coadjuvantes, pois se clarifica à medida que se forma.

O processo rápido foi introduzido na Alemanha em 1832 por Schützenback, visto a importância da aeração no processo lento e foi, até meados do século XX, o principal método de produção industrial de vinagre (MORETTO *et al.*, 1988, SPINOSA, 1996; ZILIOLI, 2011). Baseado na passagem da mistura de vinho/vinagre por uma vinagreira (gerador) exposta ao ar que pode ser conseguida pela adição de carvão, bagaço de cana ou milho, madeira dentre outros materiais no qual as bactérias acéticas estarão aderidas.

A vinagreira apresenta forma de um tanque cilíndrico e possui três partes: a superior (responsável por distribuir a mistura em acetificação sobre o material de enchimento), a intermediária (contêm o material de enchimento) e a inferior (reservatório do líquido). É um método muito susceptível à infestação por insetos e moscas, além da alta reprodução de bactérias produtoras de polímeros que comprometem a circulação da mistura dentro do cilindro central onde as bactérias acéticas estão aderidas (MORETTO *et al.*, 1988; AQUARONE; ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1999, 2002; AQUARONE *et al.*, 2001; BARBOSA, 2014).

Na etapa de avinagramento, a solução etanoica é colocada na parte superior por meio de um alimentador ou por dispositivo borrifador. O líquido passa à parte central, por meio de gotejamento, onde ocorrerá a oxidação do álcool a ácido acético. O líquido depara-se com filme de bactérias acéticas, desenvolvido no material de suporte. Da parte central, mais uma vez por gotejamento, o líquido passa à parte inferior, já como vinagre, de onde é coletado (MORETTO *et al.*, 1988, SPINOSA, 1996; ZILIOLI, 2011).

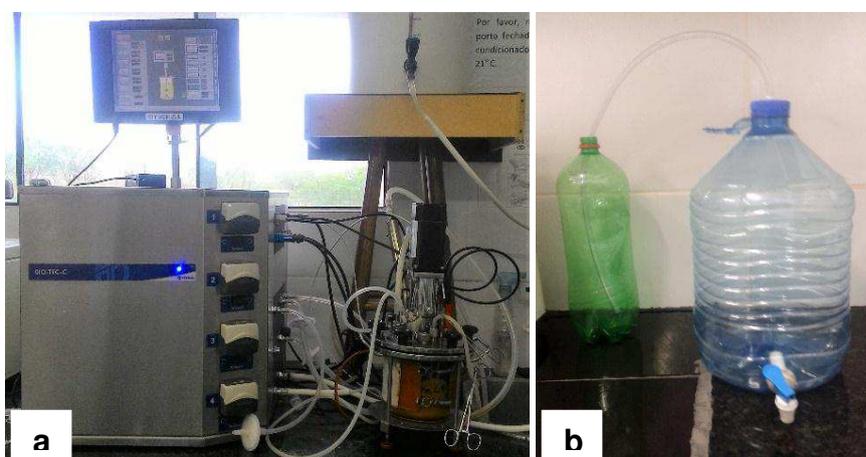
O método submerso surgiu em 1950, e baseia-se em segurar a cultura de bactérias acéticas submergidas no vinho a ser acetificado, com um fornecimento

abundante de ar. Atualmente, a rapidez na produção industrial do vinagre determina a preferência pelo sistema que utiliza a fermentação acética submersa pois, trata-se de um sistema muito eficiente onde existe um contato muito íntimo entre as bactérias acéticas, o oxigênio e o álcool, por todo o líquido (SACHS, 2001). É caracterizado por sua alta produtividade e tempo de produção de vinagre reduzido, porém apresenta algumas desvantagens, tais como, o custo de investimento inicial alto, a mão-de-obra e manutenção especializadas, a adoção de uma produção constante com aeração contínua e interrompida, além da necessidade de filtração e clarificação para o vinagre turvo (AQUARONE e ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1996, 2002; AQUARONE *et al.*, 2001; BARBOSA, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da UFCG, de janeiro de 2017 a maio de 2017. Os processos fermentativos foram realizados em dois tipos de reatores, um biorreator de bancada da marca TECNAL modelo Biotec-C de 1,2L de capacidade, denominado neste trabalho de Reator Agitado por Coluna de Bolhas – RACB (Figura 3a) e um reator simples feito por uma garrafa PET de 10L de capacidade que recebeu a denominação de Reator Sem Agitação – RSA (Figura 3b).

Figura 3 - Reatores utilizados nos processos fermentativos.



Fonte: Autoria própria, 2017.

4.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas polpas comerciais de cajá congeladas adquiridas em supermercado local, visto que na época do ano em que este trabalho foi realizado, é difícil a disponibilidade do fruto *in natura*. Após a compra, as polpas ficaram mantidas em freezer de laboratório sob a temperatura de -40°C .

4.2 MICRORGANISMOS

Para etapa de fermentação alcoólica dos mostos foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* – fermento biológico comercial da marca Dr. Oetker

adquirido em comércio local. Na etapa de acetificação dos fermentados alcoólicos foi utilizada uma microflora de bactérias acéticas isoladas de uva Itália, desenvolvidas para fermentação em superfície, contidas no vinagre forte de caldo-de-cana, cedido pelo Professor Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa do Departamento de Engenharia Química (DEQ) do Centro de Tecnologia da UFPB.

4.3 MOSTO: PREPARO E CORREÇÕES

4.3.1 Correção do °Brix – Chaptalização

A chaptalização é um passo do processo no qual se adiciona açúcar (sacarose) ao mosto com o intuito de elevar a quantidade desse dissacarídeo e, conseqüentemente, o potencial teor de álcool (CARMO *et al.*, 2012). Após a verificação do valor do °Brix do mosto, adicionou-se açúcar cristal em quantidade necessária ao ajuste do parâmetro (480g), obtendo-se no final um mosto de cajá com 18°Brix aferido em refratômetro ABBE de bancada modelo Q767B marca Quimis.

4.3.2 Correção do pH

A partir do pH do mosto de cajá chaptalizado, fez-se a correção para favorecer o desempenho da levedura utilizada nos processos fermentativos utilizando-se a solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1M, a qual foi sendo adicionada cuidadosamente ao mosto até que o pH se encontrasse ajustado para o valor 6, cuja aferição foi realizada em pHmetro digital PH 2600 da marca Instrutherm.

As polpas ainda congeladas foram batidas na concentração de 600g/L de água mineral e 20g/L de sacarose (açúcar cristal) em liquidificador doméstico obtendo-se o suco da fruta, do qual foram aferidos os valores de sólidos solúveis totais (°Brix) e pH, 6,2 e 2,73 respectivamente, que prontamente foram ajustados para os valores desejados para este experimento. Após a preparação e correções do mosto, o mesmo seguiu para o processo de autoclavagem, à 121°C e 1 atm, por 20 minutos, em Erlenmeyers e frasco de vidro contendo a quantidade suficiente para os processos fermentativos alcoólicos.

4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

4.1.1 Processo de fermentação alcoólica operado em processo Descontínuo Alimentado (Batelada Alimentada)

O processo de fermentação alcoólica em modo descontínuo alimentado aconteceu no reator agitado por coluna de bolhas no qual 400mL de mosto foi inoculado com 20g de levedura e 800mL de mosto foram adicionados limitadamente à dorna (100mL) a cada 24 horas durante 8 dias, preenchendo a capacidade do equipamento. O inóculo foi realizado em câmara de fluxo laminar, a fim de garantir a segurança e assepsia do procedimento, diretamente na dorna fermentativa do reator RACB, colocando-se o mosto a ser fermentado e a levedura por uma entrada apropriada contida nele com o auxílio de um funil.

A parte autoclavável do reator RACB já estava previamente esterilizada e após a inoculação, o mesmo foi montado e programado, dando início ao processo que ocorreu sob agitação de 200 rpm e temperaturas entre 22 e 27°C, onde, a cada 24 horas retirava-se com auxílio de uma seringa uma amostra de 10mL para determinação da concentração celular e do °Brix.

O volume de 800mL de mosto estava contido no frasco de vidro apropriado ligado ao RACB contendo sistema de pressão de ar, que quando acionado, empurrava o líquido facilitando a alimentação da dorna (Figura 4).

Figura 4 - Sistema de alimentação do Reator Agitado por Coluna de Bolhas.



Fonte: Autoria própria, 2017.

Na saída de ar desse fermentador foi conectada uma mangueira que ficava submersa em água destilada contida em frasco de vidro, impedindo entrada de ar no sistema e viabilizando a observação da liberação de gás carbônico proveniente da fermentação.

Ao final do processo, o fermentado foi filtrado e acondicionado e, todo material utilizado, foi lavado e organizado para ser utilizado novamente no processo fermentativo acético.

4.4.2 Processo de fermentação alcoólica operado em processo Descontínuo (Batelada)

O processo em modo descontínuo foi realizado no reator sem agitação, devidamente limpo e seco, contendo uma torneira acoplada e uma mangueira na tampa perfurada bem fechada, totalmente vedada, ligada a uma garrafa PET de 2L. Essa mangueira também estava submersa em água destilada contida em garrafa, impedindo a entrada de ar no sistema ao mesmo tempo que viabilizava a liberação de CO₂ oriundo da fermentação.

Neste processo foi utilizado o volume de 4,4L de mosto dos quais 1,5L foi usado como inóculo, sendo este realizado em câmara de fluxo laminar diretamente no reator RSA, utilizando-se 80g de levedura. Em seguida, adicionou-se o volume restante do mosto ao fermentador, que ficou mantido em uma bancada sob temperatura ambiente, por 14 dias, sendo que, a cada 24 horas, retirava-se uma amostra de 10mL para verificação da concentração celular e do °Brix.

Após os 14 dias de processo fermentativo, o líquido fermentado foi filtrado e acondicionado e, todo material utilizado foi lavado e organizado para ser novamente utilizado no processo fermentativo acético.

4.4.3 Filtração

Finalizadas as fermentações alcoólicas, tanto o reator RACB quanto o reator RSA foram levados à câmara de fluxo laminar onde os fermentados foram retirados e seguidamente filtrados com sistema de filtração à vácuo utilizando-se papel de filtro de celulose.

Após filtrados, os fermentados dos processos descontínuo alimentado e descontínuo foram transferidos e acondicionados, respectivamente, em frascos de vidro e de plástico e mantidos no freezer sob 5°C até que os procedimentos para o início do processo de acetificação fossem realizados. Uma quantidade de 50mL de cada processo foi reservada para análise final de determinação de teor de etanol.

4.4.4 Determinação da concentração celular

Para a determinação da concentração celular, as amostras de 10mL retiradas diariamente do reator RACB e do reator RSA foram filtradas à vácuo, e o papel filtro utilizado nesse sistema de filtração, previamente pesado (M_1) em balança analítica, contendo as células retidas na operação era encaminhado para secagem em estufa a 50°C por 24 horas. Após esse tempo, a massa celular seca contida no papel (M_2) também foi pesada e, diminuindo do seu valor o peso do papel previamente pesado, tinha-se a massa de células presentes no volume, que foi utilizada para determinar a concentração celular (X) em gramas por litro, assim como fez Neves (2003), através da Equação 1.

$$X \left(\frac{g}{L} \right) = (M_2 - M_1) \times 100 \quad (1)$$

4.4.5 Determinação do °Brix

Os sólidos solúveis totais (SST) consistem na medida do índice de refração das soluções e sua conversão a sólidos solúveis totais são expressos em °Brix (BARBOSA, 2014). Para a determinação desse parâmetro, fez-se a aferição direta no refratômetro de bancada Abbe EEQ90006B, de uma alíquota da amostra de 10mL já filtrada. O refratômetro é um instrumento ótico utilizado para medir o índice de refração e relacionar com o valor de concentração, ou seja, em uma solução de sacarose o índice varia conforme a concentração da mesma (HENRIQUES, 2014).

4.4.6 Determinação do etanol

Os 50mL filtrados e reservados foram utilizados para medir o teor alcoólico em densímetro à temperatura de 20°C, porém, o mesmo não conseguiu realizar tal

tarefa. Sendo assim, utilizou-se o refratômetro para estimar o teor alcoólico do mosto fermentado deste trabalho. O uso desse instrumento facilita a leitura da densidade, e como dito anteriormente, mede o índice de refração de sólidos diluídos em líquidos, porém a leitura não é dada em densidade e sim em °Brix, que precisa ser convertido para que se tenha a densidade do mosto.

Os cálculos das conversões de valores do °Brix aferidos em refratômetro para valores de densidade inicial (OG) e final (FG), e da determinação do teor alcoólico do líquido em ABV% (álcool por volume), foram realizadas pelas Equações 2, 3 e 4, descritas a seguir. Essas equações são as mesmas utilizadas por uma ferramenta online chamada Calculadora Brix, Densidade e ABV, disponível em: <<http://fermentandocaos.com.br/calculadora-brix-densidade-e-abv/>>, que nos oferece esses resultados de forma mais simples, quando inserimos apenas as leituras em °Brix feitas no refratômetro.

$$OG = \left(\frac{Brix}{\left(258,6 - \left(\frac{Brix}{258,2} \times 227,1 \right) \right)} \right) + 1 \quad (2)$$

A Equação 2 converte o valor do Brix inicial para a densidade inicial (OG), antes da fermentação do mosto. Não existem problemas na leitura do OG (densidade inicial) no refratômetro, basta fazer essa conversão. Porém, o uso do refratômetro apresenta desvantagem na hora de se obter a densidade final (FG), ou seja, a densidade no mosto já fermentado, pois o álcool gerado durante a fermentação distorce a leitura da refração e é necessário fazer correções mais complexas para obter a densidade final correta.

A Equação 3 abaixo é a equação que converte o valor do Brix Final em densidade específica final, ou seja, na densidade final corrigida:

$$FG = 1,001843 - 0,002318474 \times OGbrix - 0,000007775 \times (OGbrix^2) - 0,000000034 \times (OGbrix^3) + 0,00574 \times FGbrix + 0,00003344 \times (FGbrix^2) + 0,000000086 \times (FGbrix^3) \quad (3)$$

Na qual:

FG = densidade específica final, dada a partir do Brix inicial (OGbrix) e do Brix final (FGbrix).

Assim, por meio da Equação (4), determina-se o percentual de volume de álcool por volume de mosto (ABV):

$$ABV = (227,8851 - 277,4 \times FG + 0,9956 \times FGbrix + 0,00523 \times FGbrix + 0,000013 \times FGbrix) \times \left(\frac{FG}{0,79} \right) \quad (4)$$

Na qual:

ABV é a concentração de álcool, dada a partir da densidade específica final (FG) e do Brix final (FGbrix).

4.5 FERMENTAÇÃO ACÉTICA (ACETIFICAÇÃO)

4.5.1 Preparo do inóculo – Bactérias acéticas

Foi preparado mais meio de cultivo (mosto) como descrito no item 4.3, entretanto, após autoclavado, o mesmo foi filtrado à vácuo, obtendo-se um líquido mais límpido, com pouco material em suspensão, destinado a propagação e adaptação das bactérias acéticas. Para isto, inoculou-se, em duplicata, 10mL do vinagre forte em 100mL do meio, adicionado de 5% (5mL) de etanol, em Erlenmeyers que ficaram incubados em agitador orbital *Shaker*, sob agitação de 200 rpm e temperatura entre 24 e 27°C durante 24 horas.

Após esse tempo, transferiu-se o conteúdo destes Erlenmeyers para outros, um contendo 300mL de meio com 5% (15mL) de etanol, permanecendo mais 48 horas na incubadora *Shaker*, sendo este cultivo utilizado como inóculo do processo de acetificação no reator RACB, e outro Erlenmeyer com 400mL de meio e 5% (20mL) de etanol, ficando no *Shaker* sob as mesmas condições de temperatura e agitação de 120 rpm, por 96 horas, este utilizado como inóculo do processo no reator RSA.

Os Erlenmeyers estavam esterilizados e as transferências e inoculação aconteciam em câmara de fluxo laminar para evitar contaminação, assim como, a filtração no início do preparo.

4.5.2 Processo de acetificação

Os caldos (vinhos) resultantes dos processos de fermentação alcoólica dos itens 4.4.1 (cerca de 0,6L) e 4.4.2 (cerca de 2,4L) foram inoculados diretamente na dorna do reator RACB e no reator RSA, respectivamente, com as bactérias acéticas cuja adaptação e propagação foi anteriormente descrita. Após isso, cada um desses reatores foi programado e ajustado para que se iniciasse o processo de acetificação em batelada.

No reator RACB, foi utilizado o sistema de aeração com agitação pneumática por coluna de bolhas que o próprio fermentador possuía, com vazão de 0,3 litro por hora (L/h), temperatura e pH iniciais de 28,8°C e 5,07, e agitação de 80 rpm. No reator RSA, a tampa não ficou totalmente fechada, favorecendo entrada de oxigênio. Os dois possuíam a mangueira de saída de ar submersa em água destilada.

Durante o processo, foram analisadas as temperaturas interna indicada pelo reator RACB e ambiente em que o reator RSA estava disposto, indicada por termômetro manual, e coletadas amostras de 10mL do fermentado acético de cada batelada em intervalos de 24 horas. Estas amostras eram filtradas para análises de pH, concentração celular, °Brix e de teor ácido acético.

4.5.3 Determinação de pH, concentração celular e de °Brix

As medições de pH eram realizadas em pHmetro digital PH 2600 da marca Instrutherm previamente calibrado. Para se determinar a concentração celular e o °Brix deste processo realizava-se os mesmos procedimentos descritos no item 4.4.5 para o processo fermentativo alcoólico.

4.5.4 Determinação do teor de ácido acético

O ácido acético (CH_3COOH), massa molecular 60,05616 e densidade 1,049 g/mL, é o componente principal dos vinagres independente do substrato alcoólico precedente, e sua concentração é expressa em graus acéticos (gramas de ácido acético por 100mL de vinagre) (AQUARONE *et al.*, 2001).

Neste trabalho, o teor de ácido acético foi determinado por meio de titulação volumétrica usando solução de hidróxido de sódio – NaOH 0,1M e fenolftaleína a 1%

como indicador. Pipetava-se 1 mL de amostra do fermentado para um Erlenmeyer de 125 mL, onde era adicionado 20 mL de água destilada e 1 gota de fenolftaleína e, assim, titulava-se com a solução de NaOH contida na bureta até se obter a coloração rosa.

Determinava-se a acidez total durante todo o processo de acetificação aplicando-se a Equação 5, a qual pode ser usada com a mesma unidade de acidez volátil (g de ácido acético/100 mL), pois o valor 0,6 que multiplica a equação abaixo refere-se a massa molecular do ácido acético (60,05616), bastante utilizada por algumas indústrias de vinagre, segundo Pedroso (2003).

$$\text{Acidez total} \left(\frac{\text{g de ácido acético}}{100 \text{ mL de amostra}} \right) = \text{valor gasto de NaOH (mL)} \times 0,6 \quad (5)$$

Por meio da equação acima, tinha-se um rápido e prático valor de teor de acidez do líquido que estava acetificando, entretanto, para os valores de referência de teor de ácido acético neste trabalho, foram utilizadas etapas descritas por Lenzi *et al.* (2004), nas quais se obteve a concentração do CH_3COOH em mol.L^{-1} através da Equação 6, posteriormente a massa de ácido acético em gramas por meio da Equação 9, a massa total do ácido em 1 L de vinagre pela Equação 10 e o teor de ácido acético em % (massa/volume) através da Equação 11.

$$C = \frac{n \cdot \text{mols}}{V} \quad (6)$$

Na qual:

C = concentração do analito (CH_3COOH) em $[\text{mol.L}^{-1}]$;

n = número de mols da solução padrão (NaOH);

V = volume do analito (ácido acético = vinagre) utilizado em litros.

Através da estequiometria da Equação 7, podemos obter o número de mols do ácido acético ($n_{\text{CH}_3\text{COOH}}$), que é o mesmo do número de mols da base (n_{NaOH}), utilizando a Equação 8 para determinar o número de mols do NaOH (n).

$$n_{\text{CH}_3\text{COOH}} = n_{\text{NaOH}} \quad (7)$$

$$n = C \times V \quad (8)$$

Na qual:

C = molaridade da solução padrão (NaOH) [= 0,1 mol.L⁻¹];

V = volume do padrão gasto para mudança de cor [L].

Massa do ácido acético (*m*):

$$m = n \times M \quad (9)$$

Na qual:

n e M = número de mols do NaOH e a massa molecular do CH₃COOH, respectivamente.

Massa total do ácido acético (*m_t*) em 1L de vinagre:

$$m_t = \frac{m \times 1000(mL)}{V} \quad (10)$$

Na qual:

m e V, são respectivamente, a massa do ácido em gramas e o volume da amostra de vinagre utilizado em mL.

Teor de ácido acético em % (massa/volume):

$$T_{\%} \left(\frac{m}{V} \right) = \frac{m \times 100}{V} \quad (11)$$

Na qual:

m = massa do ácido acético;

V= volume da amostra de vinagre utilizado em mL.

4.5.5 Tratamento final do fermentado acético

Os fermentados acéticos obtidos em cada uma das bateladas foram retirados dos biorreatores, clarificados para se obter um líquido mais límpido, engarrafados e pasteurizados, conforme as descrições abaixo, e guardados em ambiente limpo e seco.

4.5.5.1 Clarificação

A operação de clarificação se deu pelas etapas de centrifugação e filtração. Os fermentados acéticos obtidos foram centrifugados a 1200 rpm durante 7 minutos e depois filtrados à vácuo utilizando-se papel de filtro de poro 28 μ m na câmara de fluxo laminar.

4.5.5.2 Engarrafamento e pasteurização

Após filtrados, os líquidos acetificados foram colocados em pequenas garrafas de vidro devidamente higienizadas.

A pasteurização desses líquidos ocorreu em banho maria à 60°C por trinta minutos.

4.6 PARÂMETROS FERMENTATIVOS

Os parâmetros cinéticos avaliados neste trabalho para a fermentação alcoólica foram: rendimento e produtividade. Os parâmetros analisados para a fermentação acética foram produtividade e concentração de ácido acético. Como este não é considerado um parâmetro cinético, sua descrição de como foi obtido já foi feita anteriormente e encontra-se no item 4.5.5.

Para a resolução dos cálculos dos parâmetros, foi necessário inicialmente calcular a % de etanol em m/v (g/L), uma vez que o valor obtido neste trabalho se encontrava em %ABV – álcool por volume (mL/100mL). O cálculo foi efetuado através da Equação 12.

$$P_f \left(\frac{g}{L} \right) = 0,789 \times \%ABV \times 10 \quad (12)$$

Na qual:

P_f = concentração final de etanol em g/L;

0,789 é referente à densidade do etanol (0,789 g/cm³);

%ABV = valor da concentração de etanol em mL/100mL.

No caso das fermentações alcoólicas, uma vez que a densidade varia com a concentração de sacarose (°Brix), é necessário calcular uma nova concentração inicial e final da mesma, também dada em g/L, tendo em conta a densidade

correspondente ao °Brix (Henriques, 2014). Para isto, utilizou-se as Equações 13 e 14, respectivamente. Os valores de densidade referentes ao °Brix encontram-se na Tabela 3. Neste trabalho, as densidades utilizadas para cálculo de volume, referentes aos °Brix = 13,25 e 6,25, foram o que na Tabela 3 referem-se ao °Brix 13 e 6.

$$S_i = \frac{C_i \times 10}{V} \quad (13)$$

$$S_f = \frac{C_f \times 10}{V} \quad (14)$$

Nas quais:

S_i = concentração inicial de substrato em g/L;

S_f = concentração final de substrato em g/L;

C_i = concentração inicial de substrato (°Brix inicial);

C_f = concentração final de substrato (°Brix final);

$V = \frac{1}{d}$: referente ao volume específico em L.

Tabela 3 - Valores de densidade para soluções açucaradas.

| °Brix | Densidade (20°C) |
|-------|------------------|
| 1 | 1,0039 |
| 2 | 1,0078 |
| 3 | 1,01173 |
| 4 | 1,01569 |
| 5 | 1,01968 |
| 6 | 1,02369 |
| 7 | 1,02773 |
| 8 | 1,03180 |
| 9 | 1,03590 |
| 10 | 1,04003 |
| 11 | 1,04418 |
| 12 | 1,04837 |
| 13 | 1,05259 |
| 14 | 1,05683 |
| 15 | 1,06111 |
| 16 | 1,06542 |
| 17 | 1,06976 |
| 18 | 1,07413 |
| 19 | 1,07853 |
| 20 | 1,08297 |
| 21 | 1,08744 |

Fonte: (SUCRANA, 2009; HENRIQUES, 2014).

4.6.1 Parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica

4.6.1.1 Rendimento de substrato em produto

O fator de rendimento das fermentações alcoólicas foi calculado a partir da Equação 15:

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \quad (15)$$

Na qual:

$Y_{p/s}$: rendimento;

P_f : valor de concentração final de etanol [g/L];

P_i : concentração inicial de etanol [g/L];

S_i : concentração inicial de substrato [g/L];

S_f : concentração final de substrato [g/L].

4.6.1.2 Produtividade volumétrica de etanol

Através da Equação 16 foi determinada a produtividade volumétrica da fermentação alcoólica pela relação entre a variação da concentração do produto em função do tempo.

$$Q_p = \frac{p_f - p_i}{t} \quad (16)$$

Na qual:

Q_p : produtividade volumétrica [g/L.h⁻¹];

P_f : concentração final de etanol [g/L];

P_i : concentração inicial de etanol [g/L];

t : tempo de fermentação [h].

4.6.2 Parâmetros cinéticos da fermentação acética

4.6.2.1 Produtividade volumétrica em ácido acético

A produtividade volumétrica da fermentação acética (Q_P) foi calculada pela Equação 17 que determina a quantidade produzida de ácido acético em relação ao tempo.

$$Q_P = \frac{V_t \times C_{\text{ác}} - V_i \times C_{\text{ác.inicial}}}{t \times V_t} \quad (17)$$

Em que:

Q_P = produtividade volumétrica em ácido acético [g/L.h⁻¹];

V_t : volume final de vinagre [L];

V_i : é o volume inicial da fermentação acética [L];

$C_{\text{ác}}$: concentração final de ácido acético [g/L];

$C_{\text{ác.inicial}}$: concentração inicial de ácido acético [g/L];

t : tempo final de fermentação [h].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos valores obtidos de uma ou mais variáveis de um sistema de cultivo em função do tempo de fermentação é uma das maneiras de se conseguir inicialmente estudo cinético do processo fermentativo, o que para isto, é necessário conhecer além dos valores iniciais e finais, os valores intermediários dos parâmetros, garantindo análise mais adequada sob o ponto de vista temporal, o que permite produzir gráficos cinéticos (HISS, 2001).

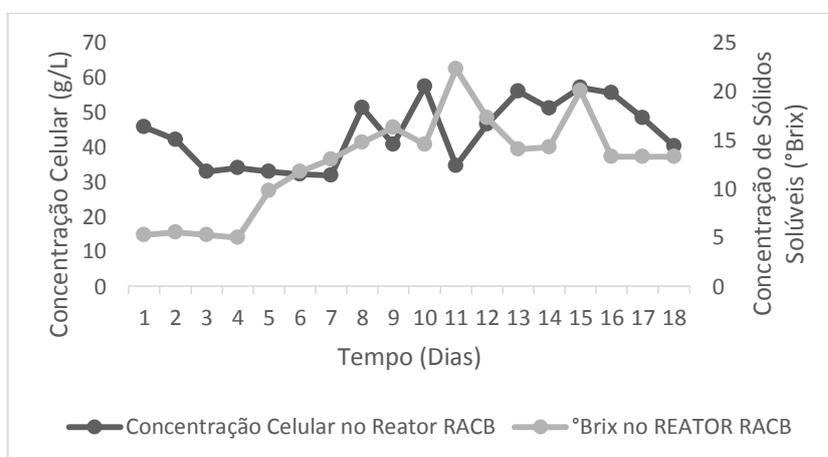
O processo de fermentação dos mostos de cajá com a levedura *S. cerevisiae* nos dois reatores foi acompanhado pelas análises de sólidos solúveis e concentração celular. Cada processo de fermentação alcoólica e de acetificação ocorrido nos dois tipos de reatores foi analisado como mostrados a seguir.

5.1 CINÉTICA DOS PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACETIFICAÇÃO DE CAJÁ POR DOIS TIPOS DE REATORES

5.1.1 Cinética da fermentação alcoólica

No Gráfico 1 é possível verificar o comportamento cinético da concentração celular e o consumo do substrato no processo fermentativo que ocorreu no reator RACB de forma descontínua alimentada.

Gráfico 1 - Concentração celular e concentração de sólidos solúveis em função do tempo no processo de fermentação alcoólica ocorrido no Reator Agitado por Coluna de Bolhas.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

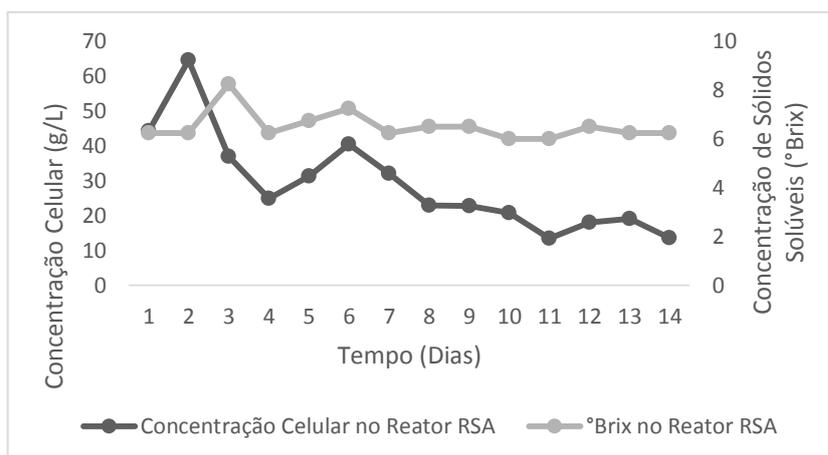
Notamos na curva da concentração celular, a diminuição deste parâmetro nos três primeiros dias, mesmo já decorridos dois dias de alimentação. Inferimos que é uma fase de latência, visto que, é o período que seguiu ao inóculo do microrganismo no meio, fase de adaptação sem reprodução celular, onde as células sintetizam as enzimas necessárias ao metabolismo dos componentes do meio. Seguiu-se de uma fase constante de propagação durante quatro dias, e a partir disso uma oscilação no aumento de concentração celular, possuindo seu pico no décimo dia.

Observamos que entre o pico de concentração de número de células até o início de uma diminuição constante dessa concentração, também houve certa oscilação, que segundo Brito (2015), pode ser avaliada pelo fato de fragmentos de células que já se encontravam em fase de morte celular servirem de fonte de alimentação para multiplicação de outras células, logo, nota-se a diminuição da concentração de sólidos solúveis (°Brix), com o decaimento da curva nos últimos dias do processo, referindo-se a diminuição de nutrientes do meio e produto produzido, o que reduz de fato a concentração celular.

Verificamos, portanto, que para se obter altas concentrações de células, fatores como os componentes do meio de cultura são totalmente dependentes para esse resultado, o que também pode ser observado no Gráfico 1, ainda em relação à concentração de sólidos solúveis (°Brix), onde o consumo variou na medida em que o reator RACB era alimentado e na maior parte do processo.

De acordo com o Gráfico 2, verificamos o crescimento celular e o consumo de substrato no processo fermentativo que ocorreu no reator RSA de forma descontínua.

Gráfico 2 - Concentração celular e concentração de sólidos solúveis em função do tempo no processo de fermentação alcoólica ocorrido no Reator Sem Agitação.



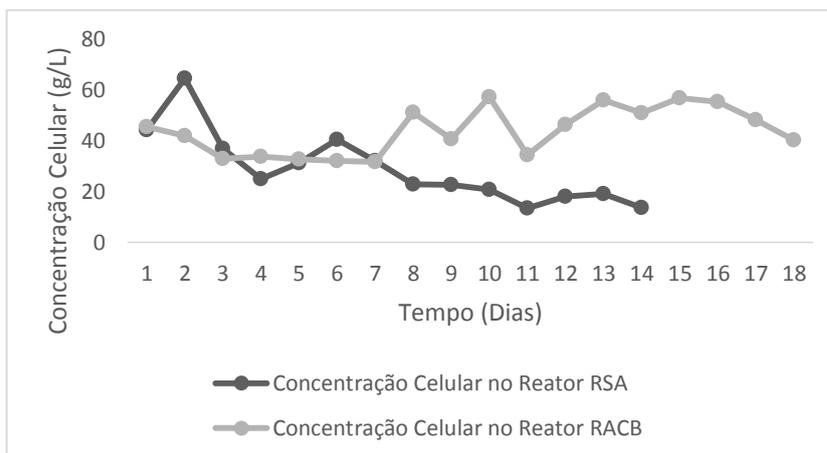
Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Observamos que a fase exponencial, fase em que o etanol começa a ser produzido, ocorre no início do processo, no qual o pico de produção celular acontece no segundo dia, de fato, pois foi acompanhado pelo intenso desprendimento de gás carbônico no sistema do reator RSA no primeiro dia do processo e a partir de então houve uma diminuição tanto do desprendimento de CO_2 observado no reator, quanto do número de células, ou seja, os açúcares presentes no mosto foram praticamente metabolizados durante o primeiro dia de fermentação, fazendo com que o crescimento celular se limitasse devido a condições de temperatura ou estresse da levedura com o aumento da concentração de metabólitos, como etanol e CO_2 , por exemplo, e até mesmo pela redução na quantidade de nutrientes do substrato.

No sexto dia ainda houve um aumento de concentração celular, que como ocorreu no processo ocorrido no reator RACB, pode ser devido ao consumo de fragmentos de células mortas por células vivas servindo como fonte para multiplicação, segundo Brito (2015).

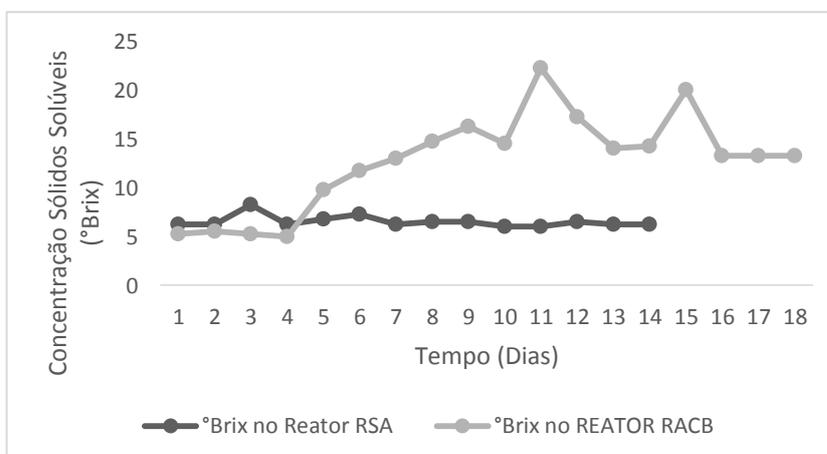
Ao visualizar os Gráficos 3 e 4, podemos verificar e comparar o crescimento celular e a variação da concentração de solutos, respectivamente, em relação ao tempo do processo fermentativo alcoólico nos dois diferentes reatores.

Gráfico 3 - Concentração celular em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Gráfico 4 - Concentração celular em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Observamos que o processo que ocorreu no reator RACB demorou mais para apresentar seu pico de máxima concentração de células e teve seu consumo de substrato inconstante ao decorrer do processo, diferenciando-se do processo ocorrido no reator RSA, onde seu pico máximo de concentração celular ocorreu rapidamente e seu consumo de substrato foi constante.

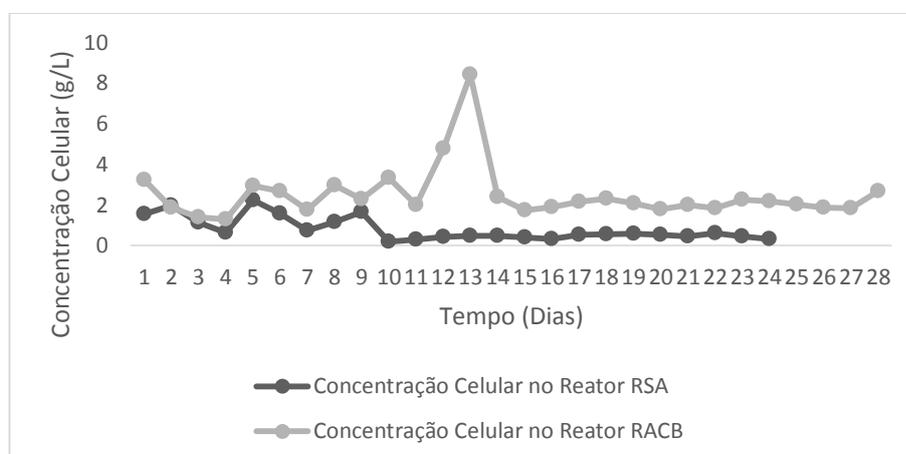
Altas concentrações de sólidos dissolvidos no mosto conduzem a fermentações incompletas e, esse consumo incompleto dos açúcares presentes, pode estar relacionado a possível inibição microbiana pelo acúmulo de álcool no caldo fermentado, segundo Xavier *et al.* (2011). Diferenças nos tempos de fermentação alcoólica podem estar relacionadas a diferentes aspectos do processo

de produção, segundo Pinheiro (2015), tais como características inerentes ao suco da fruta, formas e condições de condução do processo fermentativo. Como neste trabalho, foi utilizado o suco da fruta com as mesmas concentrações iniciais de sólidos solúveis totais, subentende-se que a diferença nos tempos do processo nos reatores se deu devido as formas de condução dos mesmos.

5.1.2 Cinética da acetificação

O comportamento cinético da concentração celular nos processos de acetificação ocorridos nos reatores utilizados está apresentado no Gráfico 5.

Gráfico 5 - Concentração celular em relação ao tempo nos processos de acetificação ocorridos no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



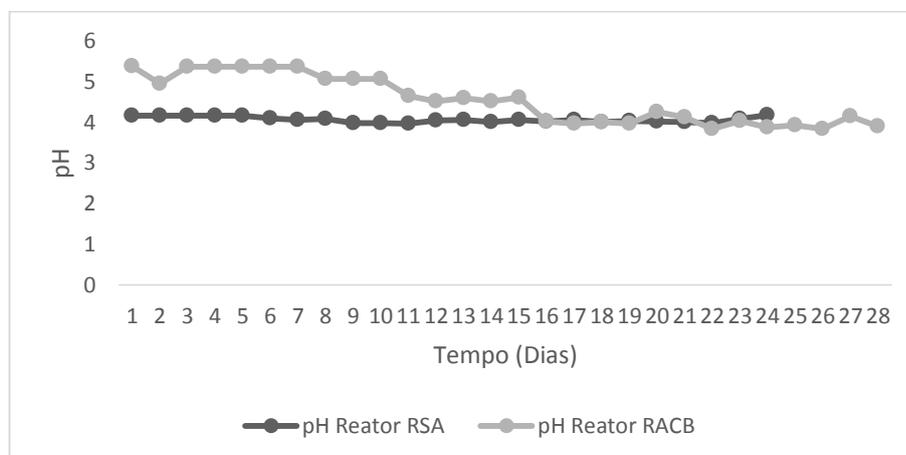
Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Podemos notar que no processo realizado no reator RACB houve um maior tempo para que a concentração de células começasse a diminuir em comparação ao reator RSA, isso se deve as condições em que este reator estava exposto, a exemplo da maior disponibilidade de oxigênio, sendo controlada no mesmo, que propiciou melhores condições de oxidação, otimizando o bioprocessamento. É nítida também a fase exponencial de crescimento celular que durou dois dias no RACB. No reator RSA, a concentração celular teve um pequeno pico no quinto dia, e a partir de então, sofreu decaimento e permaneceu constante.

Ao visualizar o Gráfico 6, podemos observar que o pH do meio de cultivo no reator RACB variou de 5,38 no início da fermentação acética a 3,9 no final e esse mesmo parâmetro ficou praticamente constante no cultivo no reator RSA. A redução

do pH ocorre devido à biossíntese de ácido pelas bactérias acéticas que utilizam o álcool como substrato e o transformam em ácido acético.

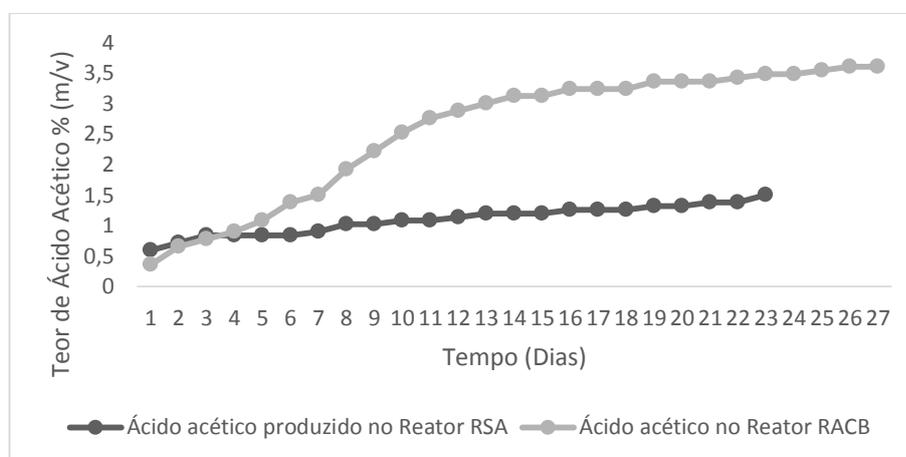
Gráfico 6 - Variação de pH em relação ao tempo nos processos de acetificação ocorridos no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Então, verificamos que a produção final de ácido acético na acetificação que ocorreu no reator RACB foi superior a que ocorreu no reator RSA, como mostra o Gráfico 7.

Gráfico 7 - Concentração de ácido acético em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.

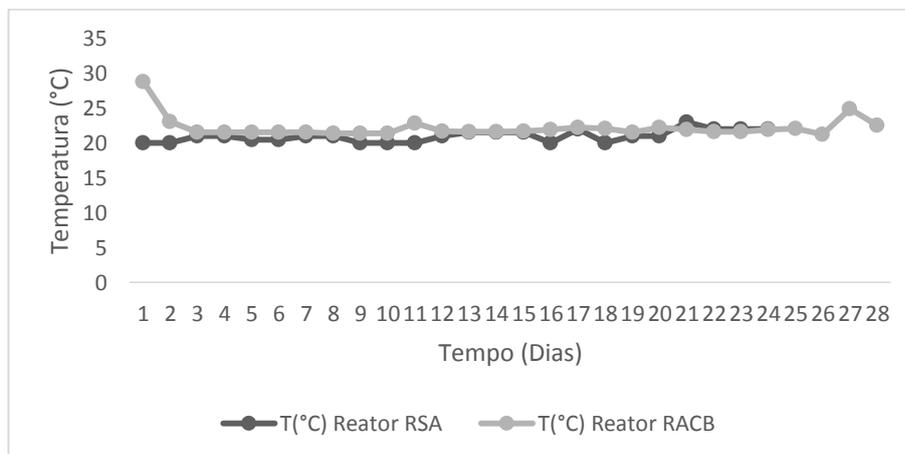


Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Observamos que em relação à temperatura, este parâmetro pouco variou, como mostra o Gráfico 8, apenas no início do processo que ocorreu no RACB, pois o mesmo ainda estava sendo adaptado, ficando relativamente próximo a partir do

terceiro dia quando se é comparado nos dois reatores. Constatamos que, fazendo uma analogia aos valores de temperatura para a concentração de ácido acético formado, o mesmo seria praticamente inalterado, visto que, permaneceu em constante crescimento, ou seja, a temperatura não influenciou nesse resultado.

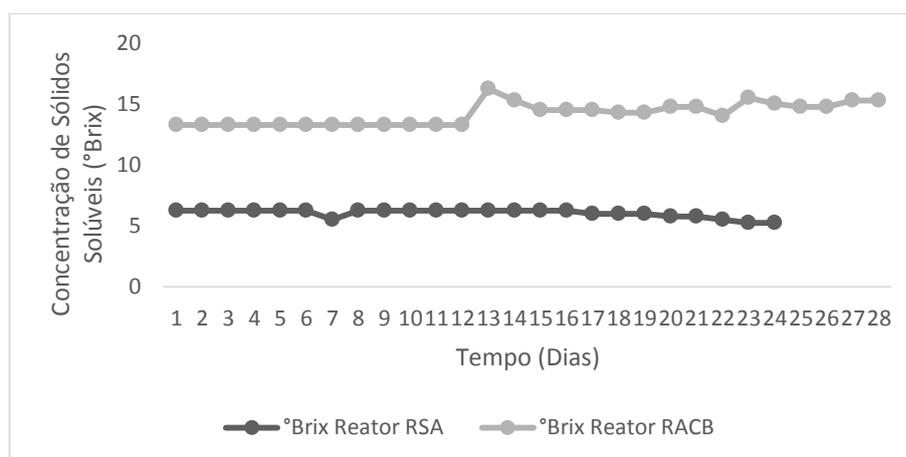
Gráfico 8 - Variação de temperatura em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

Em relação à concentração de sólidos solúveis, notamos que em cada um dos reatores, essa variável também permaneceu praticamente constante, como mostrado no Gráfico 9, que pode ser avaliado por estar havendo o consumo do produto da fermentação alcoólica (etanol) presente no meio pelas bactérias acéticas, no processo de acetificação, e não o consumo incompleto de açúcares da fermentação alcoólica, que resultaria em uma diminuição do parâmetro.

Gráfico 9 - Concentração de Sólidos Solúveis em relação ao tempo no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.



Fonte: Construído com dados da pesquisa.

5.2 PARÂMETROS FERMENTATIVOS

5.2.1 Fermentação Alcoólica

A partir das concentrações de células, sólidos solúveis, etanol e duração dos processos, apresentadas na Tabela 4 para os reatores utilizados, os parâmetros fermentativos da fermentação alcoólica foram calculados por meio das equações exibidas no item 4.6.1 e os resultados para ambos reatores se encontram na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização do mosto nos processos de fermentação alcoólica conduzidos pelo Reator Agitado por Coluna de Bolhas e pelo Reator Sem Agitação.

| Reator | Concentração Celular (g/L) | | Sólidos Solúveis (°Brix) | | Etanol (%ABV) | | Tempo do processo (dias) |
|-------------|----------------------------|-------|--------------------------|-------|---------------|--------|--------------------------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | |
| Reator RACB | 45,61 | 40,23 | 18 | 13,25 | 0 | 3,489 | 18 |
| Reator RSA | 44,27 | 13,67 | 18 | 6,25 | 0 | 10,236 | 14 |

Fonte: Construída com dados do trabalho.

Como se pode observar na Tabela 4, as duas fermentações alcoólicas foram desenvolvidas com iguais concentrações iniciais de sólidos solúveis e fazendo uma comparação do bioprocessamento realizado pelos dois diferentes reatores, podemos verificar que houve uma maior diminuição dessa variável no bioprocessamento que ocorreu no reator RSA de forma descontínua (6,25°Brix) em relação a descontínua alimentada no reator RACB (13,25°Brix). Esse resultado é devido ao maior consumo de substrato obtido na batelada do RSA em relação a batelada alimentada do RACB, revelando assim, uma maior quantidade de açúcares residuais, ou seja, quantidade de açúcares que ficaram por ser consumido no processo em batelada alimentada.

Notamos que a concentração final do número de células no reator RACB não diminuiu tão intensamente quanto no reator RSA, visto que, a forma de condução no primeiro fermentador ocorreu de forma batelada alimentada, no qual as células se adaptavam e se reproduziam na medida em que a alimentação do meio, rico em nutrientes para as células, acontecia.

Apesar de ser um número bastante considerável em relação ao outro, de concentração celular final, e de sólidos solúveis também, a finalização do processo no RACB, após nove dias do fim da alimentação, foi definida pela avaliação do acompanhamento diário do mesmo, já que a concentração celular se encontrava em fase de declínio e o desprendimento de gás carbônico já não era observado, mesmas causas as quais se finalizou o processo no RSA. Essas diferenças nos tempos de fermentação alcoólica podem estar relacionadas a diferentes aspectos do processo de produção, como a própria forma e condições de condução do processo fermentativo segundo Xavier *et al.* (2011).

Analisando esses dados destacados no texto e na Tabela 4, podemos afirmar que o processo fermentativo alcoólico, que ocorreu de forma descontínua no reator RSA apresentou melhor desempenho em comparação ao processo que ocorreu no reator RACB de forma descontínua alimentada, visto que, sua produção de etanol em %ABV (álcool por volume) foi quase três vezes superior (10,236%) ao fermentador operado sob condições automatizadas. Para obter esse desempenho superior também percebemos que foi necessário menor tempo de processo – 14 dias, quatro dias a menos que o biorreator levou para produzir apenas 3,489% de etanol. Esses dados obtidos ao longo desses processos foram usados para calcular

e determinar os parâmetros cinéticos: rendimento em produto ($Y_{p/s}$) e produtividade (Q_p) mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros cinéticos obtidos da fermentação alcoólica no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.

| Reator | Rendimento ($Y_{p/s}$) | Produtividade |
|--------|--------------------------|----------------------------------|
| | (g/g) | (Q_p) (g/L.h ⁻¹) |
| RACB | 0,509 | 0,06 |
| RSA | 0,621 | 0,24 |

Fonte: Construída com dados da pesquisa.

O rendimento em produto observado para a fermentação alcoólica de cajá pelo RACB foi de 0,509g de etanol/g de sacarose consumido, o que significa dizer que foram produzidas 0,509g de etanol por cada grama de sacarose consumida. Já o rendimento para a fermentação ocorrida no RSA foi de 0,621g de etanol/g de sacarose consumida.

Comparando os dois resultados, inferimos que o maior rendimento foi o do bioprocessamento que ocorreu de forma descontínua, ou seja, no RSA. A produtividade baseia-se na quantidade de etanol produzido por hora, refletindo diretamente na eficácia da levedura em transportar os açúcares presentes no mosto ao interior de sua célula (BARBOSA, 2014.) A produtividade do processo em batelada foi de 0,24 g/L.h⁻¹, enquanto que em batelada alimentada foi de 0,06 g/L.h⁻¹, significando que neste processo foram produzidas 0,06g/L de etanol por hora. Dessa forma, vale reforçar que a diferença de produtividade entre a fermentação dos processos nos dois reatores se deve ao tempo em que os mesmos levaram para a formação do produto obtido.

Analisando resultados encontrados para o rendimento em produto e produtividade da fermentação por outros autores, os resultados obtidos neste trabalho são, respectivamente, superiores e inferiores para esses parâmetros na fermentação alcoólica de frutas, e relativamente próximos para os valores de produtividade no processo de acetificação. Pinheiro (2015), no seu estudo de obtenção de um fermentado alcoólico e acético de cupuaçu, obteve no processo fermentativo alcoólico produtividade de 1,45 g/L.h⁻¹ e rendimento em produto menor

que 0,5. Valor de produtividade bem maior que os alcançados neste trabalho (0,06 e 0,24 g/L.h⁻¹), porém com um rendimento inferior. Com Henriques (2014), o rendimento em produto de fermentações alcoólicas dos mostos de marmelo e morango realizadas em biorreatores de laboratório, e framboesa realizada em depósito de plástico foi de 0,434, 0,430 e 0,445g/g, respectivamente, inferiores ao deste trabalho (0,509 g/g e 0,621 g/g). Contudo suas produtividades foram de 0,436, 1,788 e 1,599g/L.h⁻¹, superiores as conseguidas nas fermentações alcoólicas de cajá por dois reatores deste estudo, possivelmente devido ao tempo de fermentação ter sido mais elevado neste trabalho e a diminuição de nutrientes do mosto, com consequente diminuição do desempenho da levedura na fermentação.

5.2.2 Acetificação

A caracterização dos líquidos acetificados pelos reatores está mostrada na Tabela 6, na qual dados de concentração de células, sólidos solúveis, pH, temperatura, valor de NaOH gasto na titulação para determinação de acidez do fermentado, etanol e duração do processo são encontrados.

Tabela 6 - Caracterização dos líquidos dos processos de fermentação acética conduzidos pelo Reator Agitado por Coluna de Bolhas e pelo Reator Sem Agitação.

| Reator | Concentração Celular (g/L) | | Sólidos Solúveis (°Brix) | | Etanol (%ABV) | | pH | | Valor de NaOH gasto (mL) | | Tempo (Dias) |
|--------|----------------------------|-------|--------------------------|-------|---------------|-------|---------|-------|--------------------------|-------|--------------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | |
| RACB | 3,24 | 2,68 | 13,25 | 15,25 | 3,489 | - | 5,38 | 3,9 | 0,6 | 6 | 28 |
| RSA | 1,56 | 0,33 | 6,25 | 5,25 | 10,236 | 0,962 | 4,16 | 4,18 | 1 | 2,5 | 24 |

Legenda: O etanol final do Reator RACB não pode ser medido devido a metodologia utilizada para o cálculo desse valor não fazer uma correta aferição, mostrando resultado em um valor de etanol negativo.

Fonte: Construída com dados da pesquisa.

O teor alcoólico dos fermentados ao fim da fermentação alcoólica pelos dois reatores não é considerado adequado para a produção de vinagre pois, Segundo Rizzon, Guerra e Salvador (1992), para obtenção de fermentados acéticos com maiores rendimentos é recomendado o uso de fermentados alcoólicos com 7 a 10% de etanol. Valores abaixo de 7% ou acima de 10% resultam, respectivamente, em

vinagres fracos e susceptíveis a deterioração ou, inibem o desenvolvimento das bactérias acéticas. Por isso, com o término do processo de fermentação alcoólica, os fermentados alcoólicos (vinhos) produzidos foram inoculados com as bactérias acéticas de vinagre forte já adaptadas em um meio corrigido com álcool etílico absoluto 99,8% P.A. (etanol) no momento de preparo do inóculo, a fim de garantir resultados que poderiam se adequar a legislação no processo de acetificação, obtendo assim possivelmente um fermentado acético de cajá.

A partir dos valores observados e medidos de algumas das características apresentadas na Tabela 6, os parâmetros analisados do processo de acetificação: concentração de ácido acético final e produtividade do processo foram calculados por meio das Equações 11 e 17 e seus resultados estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros cinéticos obtidos da fermentação acética no Reator Agitado por Coluna de Bolhas e no Reator Sem Agitação.

| Reator | Concentração de Ácido Acético Final | Produtividade |
|--------|-------------------------------------|--------------------------------|
| | % (m/v) (g/100mL) | (Qp) (g/L.h ⁻¹) |
| RACB | 3,6 ± | 0,048 |
| RSA | 1,5 ± | 0,016 |

Fonte: Construída com dados da pesquisa.

Os valores obtidos de concentração de ácido acético de ambos volumes acetificados estão abaixo do que é necessário para ser considerado vinagre pela legislação. Fazendo o comparativo dessas concentrações, a acetificação que ocorreu no reator RACB foi superior, pois formou um líquido acetificado com 3,6% de ácido acético contra o líquido acetificado pelo reator RSA contendo apenas 1,5% de ácido acético.

Entendemos que as formas de condução dos processos de acetificação realizados nos reatores influenciaram a diferença dos resultados tanto de concentração de ácido acético obtido quanto de produtividade, confirmando que o papel do oxigênio na formação de vinagre é de fundamental relevância, visto que, o reator RACB estava sendo conduzido com a influência da aeração por coluna de bolhas, enquanto o reator RSA não era aerado por uma grande área/superfície, e a

maior concentração de substrato (etanol) estava contida no RSA e não no RACB. Neste trabalho obtivemos baixos valores de produtividade ($0,048$ e $0,016\text{g/L.h}^{-1}$ para os processos realizados no RACB e RSA, respectivamente), parâmetro que segundo Aquarone e Zacanaro Júnior (1983) é bastante variável em relação ao processo de fabricação utilizado também.

Zoche e Figueredo (2014) estudaram a obtenção de vinagre de jabuticaba produzidos por fermentações espontânea e controlada. A produtividade dos fermentados alcoólicos obtida pela fermentação espontânea no trabalho deles variou de $0,01$ a $0,03\text{g/L.h}^{-1}$ e a obtida pela fermentação controlada variou de $0,56$ a $1,30\text{g/L.h}^{-1}$, contudo, obtiveram fermentados com aproximadamente 3% de acidez em ácido acético na fermentação acética espontânea e para a fermentação acética controlada foi atingida a percentagem de acidez recomendada pela legislação, logo, eles atribuem este resultado ao teor de etanol obtido.

Henriques (2014), em seu processo de acetificação de framboesa verificou um teor de ácido acético de 9,19% produzido em depósito de plástico com produtividade de $0,144\text{g/L.h}^{-1}$, porém uma maior produtividade foi obtida na acetificação da mesma fruta ocorrida em fermentador de laboratório ($0,163\text{g/L.h}^{-1}$) e concentração de ácido acético de 5,43%. O mesmo autor ainda produziu um fermentado acético de marmelo com 5,52% de ácido acético e produtividade de $0,042\text{g/L.h}^{-1}$ em fermentador de laboratório, o que se comparando com este trabalho, possui uma produtividade semelhante, mas uma concentração de ácido acético ainda superior.

Vale ressaltar que a cultura de bactérias acéticas utilizada no processo de acetificação de cada reator foi desenvolvida para fermentação em superfície, na qual cresce e tem acesso ao oxigênio e etanol naturalmente. Com o sistema de aeração com coluna de bolhas que constitui o reator RACB, a disposição de oxigênio garantiu que nele fosse disposto uma maior quantidade de ar, que permitiu às células promover um melhor resultado dos parâmetros avaliados em relação ao reator RSA que não constituía esse sistema.

Os líquidos acetificados que passaram pelas etapas de tratamento final, mesmo sem apresentassem o teor mínimo de ácido acético (4%), necessário para ser considerado vinagre, segundo a legislação brasileira, obtidos pelo processo de acetificação nos dois reatores podem ser observados na Figura 5.

Figura 5 - Fermentados acéticos engarrafados.



Legenda: (a) Produto produzido pelo reator RACB; (b) produto produzido pelo reator RSA.

Fonte: Autoria própria, 2017.

Os resultados encontrados neste trabalho, que analisou os bioprocessos relacionados a produção do vinagre de cajá, apresentando aspectos preliminares referentes a esse produto, mostra a importância de se investigar em um experimento futuro a combinação de fermentação alcoólica em descontínuo seguido de fermentação acética agitada por coluna de bolhas, pois o mesmo, resultaria, em perspectiva, na produção deste produto, já que os experimentos realizados sob essas formas de condução separadamente resultaram na melhor chance de se obter o vinagre dessa matéria-prima.

6 CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos concluímos que:

A fermentação alcoólica que ocorreu no reator RACB em processo descontínuo alimentado produziu 3,48% de etanol, rendimento de 0,509g/g e produtividade de 0,06g/L.h⁻¹. No processo em descontínuo, que ocorreu no reator RSA, foi produzido 10,23% de etanol, rendimento de 0,621g/g e produtividade de 0,24g/L.h⁻¹.

A fermentação acética ocorrida no reator RACB produziu 3,6% de ácido acético e produtividade de 0,048g/L.h⁻¹. No reator RSA, o processo produziu 1,5% de ácido acético e produtividade de 0,016g/L.h⁻¹.

As formas de condução nos biorreatores utilizados influenciaram na diferença dos resultados dos parâmetros nos dois bioprocessos. O sistema de agitação por coluna de bolhas contribuiu para o melhor resultado no processo de acetificação.

O trabalho apresentou aspectos preliminares referentes à características e produção de um fermentado acético de cajá, a qual não foi possível mediante os métodos utilizados, visto que, os mesmos não produziram fermentados com teores de ácido acético indicados pela legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

- ANJO, F. A. **Aplicação de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) de diferentes origens florais na elaboração de fermentados acéticos.** Trabalho de Conclusão de Curso – Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.
- AQUARONE, E. *et al.* **Biotechnology Industrial: Biotechnology na produção de alimentos**, Vol. 4. **São Paulo: Editora Edgard Blucher**, 2001.
- AQUARONE, E.; ZACANARO JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E., LIMA, U. A., BORZANI, W. (Coords): **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação - Biotechnology**. São Paulo: E. Blucher, v. 5, 1983. p. 104-122, 243 p. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAhRwAAG/alimentos-bebidas-produzidos-por-fermentacao-aquarone-1983#>>. Acesso em: 16 abril 2017.
- ARAÚJO, L. T. **Estudo da produção e do envelhecimento do vinagre de laranja lima**. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.
- BARBOSA, C. D. **Obtenção e caracterização de vinho e vinagre de manga (*Mangifera indica* L.): parâmetros cinéticos das fermentações alcoólica e acética**. 2014. 128f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- BRITO, A. F. S. **Análise cinética e estudo dos parâmetros fermentativos para a produção de hidromel**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos), Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido – Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, PB, 2015.
- CAMARGO, C. *et al.* **Vinagre**. Universidade Federal do Pará - Instituto de Tecnologia – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Belém (PA), 2013. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAg_DoAG/producao-vinagre>. Acesso em: 13 março 2017.
- CARMO, S. K. S. *et al.* Produção e caracterização de fermentado de umbu a partir de sua polpa comercial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.1, p.15-20, 2012.
- CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação Descontínua. In: Schmidell, W. *et al.* (Coord.). **Biotechnology Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blucher, v. 2, p. 193-204, 2001.
- CARVALHO, L. C. *et al.* Cana-de-açúcar e Álcool Combustível: Histórico, Sustentabilidade e Segurança Energética, **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.530-543, 2013.
- DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 23, n. 3, p. 342-350, 2003.
- FEITOSA, S. S.; FABRICANTE, J. R. **Fruteira Potencial: CAJAZEIRA *Spondias mombin* L., mercado inexplorado**. Disponível em:

<http://www.grupocultivar.com.br/artigos/fruteira-potencial-cajazeira-mercado-inexplorado>>. Acesso em: 17 fevereiro 2017.

FERNANDES, A. C. F. **Produção e caracterização de fermentado alcoólico e vinagre de físalis e pitaia como estratégia de aproveitamento tecnológico**. 2016. 108 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

HENRIQUES, A. F. F. **Análise de um processo fermentativo para desenvolvimento de um produto alimentar**. [2014]. 97f. Relatório de Estágio (Tecnologia Química) – Instituto Politécnico de Tecnologia de Tomar, Escola Superior de Tecnologia de Tomar, 2014.

HISS, H. Cinética de processos fermentativos. In: SCHMIDELL, W. *ET AL.* (COORD.). **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blucher, v. 2, p. 93-122, 2001.

JUVINO, D. S. *et al.* Controle de Qualidade de Vinagres Comercializados na Cidade de Rolim de Moura – RO. **Revista Saberes**, Rolim de Moura, vol. 4, n. 1, p. 87-95, jan./jun., 2016.

LENZI, E. *et al.* Química geral experimental. **Rio de Janeiro: Freitas Bastos Editora**, 2004.

LIMA, K. P. **Produção de vinagre como estratégia de aproveitamento tecnológico da amora-preta: avaliação do processo submerso e do processo lento**. 2014. 117f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

MARTINEZ, D. S. **Estudo dos processos industriais de produção de etanol por fermentação**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química – Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia (MG), 2007.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 156-164, jul./set. 2010.

MOURA, C. L. A. **Maceração enzimática da polpa de cajá (*Spondias mombin* L.)**. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

NEVES, L. C. M. **Obtenção da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando *Saccharomyces cerevisiae* W303-181**. 2003. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Fermentações) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

OLIVEIRA, L. P. **Seleção e aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para a elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada**. 2006. 196f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. 2010. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia (MG), 2010.

PALMA, M. S. A.; CARVALHO, L. F. C. P.; GAVÓGLIO, L. C. Vinagres. In: Aquarone, E. *et al.* (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher, v. 4, p. 183-208, 2001.

PEDROSO, P. R. F. **Produção de vinagre de maçã em biorreator airlift**. 2003. 85f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PINHEIRO, A. P. G. **Preparo e características de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética do cupuaçu “*Theobroma grandiflorum* SCHUM”**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biotechnologia e Recursos Naturais) – Escola de Ciências da Saúde – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2015.

RAMIRES, C. M. C. **Desenvolvimento de clones de cajazeiras sobre diferentes porta-enxertos e diversidade genética de acessos quanto a compostos bioativos nas cascas e folhas**. 2016. 164f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2016.

RIZZON, A. L.; GUERRA, C. C.; SALVADOR, G. L. **Elaboração de vinagre na propriedade agrícola**. Circular Técnica Nº 15, EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 1992. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/535879/1/cir15.pdf>>. Acesso em: 17 março 2017.

RIZZON, L. A. Sistema de Produção de Vinagre. **Embrapa Uva e Vinho**. ISSN: 1678-8761, 2006.

SACHS, L. G. **Vinagre**. Fundação Faculdades “Luiz Menghel”. Bandeirantes – PR, 2001. Disponível em: ><https://pt.scribd.com/document/114343439/fundacao-faculdades-luiz-menghel-bandeirantes-parana-vinagre-luis-guilherme-sachs-2001>>. Acesso em: 15 março 2017.

SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. Cajá. In: SEREJO, J. A. S. *et al.* (Ed.). **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas** – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 506 p.

SIEPMANN, F. B.; CANAN, C.; COLLA, E. Processos e substratos para produção de vinagres: uma revisão. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, v. 2, n. 12, p. 12-22, jul./dez. 2015.

SILVA, A. S. **Avaliação da secagem do bagaço de cajá usando planejamento fatorial composto central**. 2008. 70f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

SILVA, J. S.; JESUS, J. C.; COUTO, S. M. Noções Sobre Fermentação e Produção de Álcool na Fazenda. In: SILVA, J. de S. (Ed.). **Produção de álcool na fazenda e em sistema cooperativo**. Viçosa – MG, 2007. p. 17-39.

SILVINO, R.; SILVA, G.; SANTOS, O. V. Qualidade nutricional e parâmetros morfológicos do fruto cajá (*Spondias Mombin* L.). **Desafios**, v. 4, n. 2, p. 03-11, 2017.

SOUSA, G. S. **Estudo da fermentação alcoólica em um biorreator de leito fixo em sistema contínuo com células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em alginato cálcio revestido com quitosana**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

SOUZA, A. C. **Utilização de cagaita, jabuticaba e pitaya na elaboração de fermentado alcoólico e vinagre**. 2015. 139f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SUMAN, P. A. **Processo de obtenção de vinagre de gengibre**. 2012. 87f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2012.

VIANA, R. O. **Elaboração de vinagre de maçã (*Malus spp.*) empregando os grãos de kefir como inóculo**. 2015. 105f. Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

XAVIER, D. *et al.* Produção e Caracterização de Vinagre de *Fisalis*. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão (PR), v.2, n.1, p.27-32, jan./jun., 2011.

XAVIER, L. *et al.* **Produção de vinagre de maçã**. Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar – Pombal, 2009. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAT1AAA/producao-vinagre-maca>>. Acesso em: 13 março 2017.

ZAPPAROLI, A. *et al.* **Elaboração de vinagre utilizando mel de abelha (*apis mellifera*) excedente de produção**. Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnologia Interdisciplinar – Instituto Federal Catarinense, 2015.

ZILIOLI, E. **Composição química e propriedades funcionais no processamento de vinagres**. 2011. [s.n.]. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2011.

ZOCHE, E. P. *et al.* Obtenção de vinagre de jabuticaba por fermentação espontânea. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 2, p. 80 – 91, 2015.

ZOCHE, E. P.; FIGUEREDO, O. **Produção de vinagre de jabuticaba**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014.