



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ESTUDOS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DA PRODUÇÃO  
DE VINHO E DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA DA PRODUÇÃO DE VINAGRE  
DE VINHO DE CAJU**

**MOACIR EPIFÂNIO DA SILVA**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2004**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDOS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DA PRODUÇÃO  
DE VINHO E DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA DA PRODUÇÃO DE VINAGRE  
DE VINHO DE CAJU**

MOACIR EPIFÂNIO DA SILVA

Campina Grande – PB

Fevereiro de 2004



S586e Silva, Moacir Epifânio da  
2004 *Estudos cinéticos da fermentação alcoólica da produção de vinho e da fermentação acética da produção de vinagre de vinho de caju / Moacir Epifânio da Silva. – Campina Grande: UFCG, 2004.*  
137 p. il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). UFCG / CCT  
Inclui bibliografia

1. Caju. 2. Fermentação alcoólica. 3. Fermentação acética I. título

CDU: 663.36

**ESTUDOS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DA PRODUÇÃO  
DE VINHO E DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA DA PRODUÇÃO DE VINAGRE  
DE VINHO DE CAJU**

**MOACIR EPIFÂNIO DA SILVA**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós Graduação em  
Engenharia Química da  
Universidade Federal de Campina  
Grande, em Cumprimento às  
exigências para obtenção do Grau  
de Mestre.

Área de Concentração: Operações e Processos

Orientadores: Prof<sup>o</sup>. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Prof<sup>o</sup>. Dr. Ramdayal Swarnakar

Campina Grande – PB

Fevereiro de 2004

**ESTUDOS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DA PRODUÇÃO  
DE VINHO E DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA DA PRODUÇÃO DE VINAGRE  
DE VINHO DE CAJU**

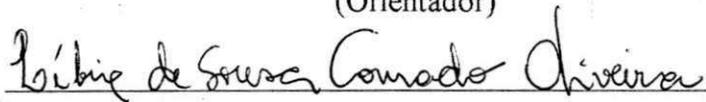
MOACIR EPIFÂNIO DA SILVA

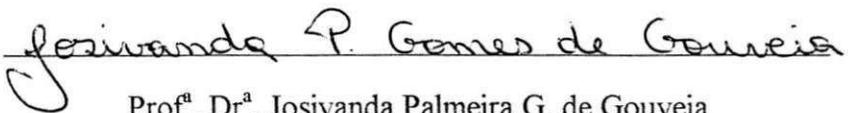
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 / Fevereiro / 2004

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof.º Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.º Dr. Ramdayal Swarnakar  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Líbia de Sousa Conrado Oliveira  
(Examinadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Josivanda Palmeira G. de Gouveia  
(Examinadora)

CAMPINA GRANDE - PB

FEVEREIRO de 2004

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os professores que, como educadores natos, deixam-se envolver pelo feitiço atraente da missão de educar, de transmitir e estimular os alunos para a descoberta de novos conhecimentos em busca de grandes horizontes.

Aos alunos que fracassam e aos que triunfam na escola, embora em posições diferenciadas constituem a razão da prática docente.

Aos nossos pais vencedores e vencidos por falta de oportunidades.

E aos que estão iniciando sua vida acadêmica, para que cresçam na sua ousadia, garra e fome de querer saber e crescer culturalmente.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas vitórias conquistadas, pelas derrotas superadas, pelas amizades criadas, pelos conhecimentos adquiridos e principalmente por ter me dado forças para conseguir finalizar este trabalho.

Ao meu pai, que me deu a graça de existir, principiando os meus caminhos para a vida.

A minha família (esposa e filhos), pela grandeza do seu companheirismo, paciência e compreensão.

Ao meu irmão Assis Epifânio da Silva, pela sua ajuda na inscrição do mestrado.

Aos Professores Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva e Dr. Ramdayal Swarnakar, pela orientação, amizade e compreensão durante a pesquisa.

Aos meus colegas de mestrado pelo apoio valioso e comentários estimulantes.

Aos amigos Wagner, Alberto, Roseane e Aécio, pela indispensável colaboração.

A Coordenação de Pós Graduação em Engenharia Química, pela atenção dispensada.

A Maria José e Maricé, pelo respeito e profissionalismo com que tratam os alunos.

A todos aqueles de inegável importância, que na especificidade de cada momento partilharam desta labuta, e cujos nomes não me permitem mencionar, pois a omissão a qualquer um deles seria imperdoável, apesar de se constituir em possível falha humana, espero que estes agradecimentos sejam sentidos em conformidade à dedicação que me dispensaram.

Academicamente, meus sinceros agradecimentos:

A todos os professores de quem admiro a competência e o profissionalismo.

# Sumário

<b>RESUMO</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ii</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	<b>01</b>
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 JUSTIFICATIVA	03
2.1 OBJETIVO GERAL	04
1.2.1 <i>Objetivos Específicos</i>	04
<b>CAPÍTULO II</b>	<b>05</b>
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	05
2.1 O CAJUEIRO E O CAJU	05
2.1.1 <i>História e origem</i>	06
2.1.2 <i>O caju e seus produtos</i>	09
2.2 O VINHO DE CAJU	10
2.2.1 <i>Definição de vinho</i>	10
2.2.2 <i>Histórico do vinho de caju</i>	10
2.3 O VINAGRE DE CAJU	11
2.3.1 <i>Definição de vinagre</i>	11
2.3.2 <i>Histórico do vinagre</i>	12
2.4 MICROBIOLOGIA DO VINHO	13
2.4.1 <i>Leveduras (Sccharomyces cerevisiae)</i>	13
2.4.2 <i>Morfologia e estrutura</i>	14
2.5 MICROBIOLOGIA DO VINAGRE	15
2.6 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	16
2.7 FERMENTAÇÃO ACÉTICA	18
2.8 CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO	20
2.8.1 <i>Modelo de Monod</i>	21
2.8.2 <i>Perfis de X, P e S</i>	23
2.8.3 <i>Velocidades instantâneas de transformação</i>	23
2.8.4 <i>Velocidades específicas de transformação</i>	24
2.8.5 <i>Parâmetros fermentativos: rendimento e produtividade.</i>	25
2.9 PLANEJAMENTO FATORIAL PARA O VINAGRE DE CAJU	26
2.10 TRABALHOS SIMILARES PUBLICADOS	28
<b>CAPÍTULO III</b>	<b>31</b>
3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 MATERIAIS	31

3.2	METODOLOGIA DA FERMENTAÇÃO ALCOOLICA	33
3.3	MATERIAIS UTILIZADOS NA FERMENTAÇÃO ACÉTICA	52
3.4	METODOLOGIA DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA	54
<b>CAPÍTULO IV</b>		<b>61</b>
4.	RESSULTADOS E DISCUSSÕES	61
4.1	CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO VINHO DE CAJU	61
4.2	CINÉTICA E OTIMIZAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA	71
4.2.1	<i>Estudos preliminares da produção de vinagre de vinho de caju</i>	72
4.2.2	<i>Cinética e otimização da fermentação acética do vinagre de vinho de caju</i>	76
<b>CAPÍTULO V</b>		<b>89</b>
5.	CONCLUSÕES	89
<b>CAPÍTULO VI</b>		<b>91</b>
6.	PERSPECTIVAS	91
<b>CAPÍTULO VII</b>		<b>92</b>
7.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	92
<b>ANEXOS</b>		<b>97</b>
	ANEXO A - Cálculos e Expressões	98
	ANEXO B - Tabelas	106
	ANEXO C - Gráficos	118
	ANEXO D - Trabalhos Publicados	123

## RESUMO

Atualmente a cajucultura vem se expandindo e no cenário nacional e internacional o mercado brasileiro desponta como uma grande potência na produção de frutas tropicais. O caju (*Anacardium occidentale L*) é constituído da castanha (verdadeiro fruto) produto muito valorizado no mercado internacional em relação a sua parte carnosa (o pseudofruto). O suco de caju, obtido do pseudofruto, produz vinho de boa qualidade, pois, esses produtos podem ser uma alternativa tecnicamente viável, que busca minimizar o desperdício do pseudofruto uma vez que apenas 15% do pedúnculo é aproveitado pelas indústrias. Portanto, faz-se necessário estudar a cinética das fermentações alcoólica e acética das produções do vinho e do vinagre de caju. Na produção do vinho de caju, o mosto foi preparado com suco apresentando 12,5°Brix iniciais, nutrientes (N e P) e adição de 210g/L de sacarose (açúcar comum), considerando que a adição de sacarose influenciou a produção de etanol. Durante a fermentação alcoólica até 48 horas, a concentração de sacarose variou na primeira chaptalização de 154,71 a 10,66g/L e na Segunda chaptalização de 176,28 a 86,84g/L. O teor alcoólico entre 7,91 e 99,76°GL; a biomassa variou de 15,5 a 37,5g de biomassa; a acidez total de 0,15 a 0,57g/100mL; o pH variou de 3,8 a 3,5, até 48 horas de processo. A fermentação alcoólica foi realizada entre 28 e 33°C, com inóculo de 20g/L de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). O processo foi conduzido em batelada com produção de álcool satisfatória, dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira. Na fermentação acética, foram utilizados béqueres como reatores a temperatura ambiente e processos intermediários (rápido e submerso), com volume de 600 mL. O rendimento da fermentação alcoólica foi de 55,67%, e produtividade de 1,43g/L.h. Os valores dos parâmetros fermentativos dos rendimentos: biomassa ( $Y_x/s$ ), produto ( $Y_p/s$ ) e de velocidade máxima de crescimento da levedura, foram 0,064; 0,3 e  $0,16h^{-1}$ , respectivamente. Na fermentação acética, os mostos que tiveram concentrações iniciais de etanol superiores foram mais produtivos. Com a finalidade de otimizar o processo de vinagre de caju realizou-se um planejamento fatorial completo  $2^2$ . As variáveis independentes foram concentração inicial de etanol no vinho de caju, entre 3,0 e 6,0%, e concentração de ácido acético, de 0,5 a 1,5% (primeira parte da pesquisa), e na segunda parte mudando-se apenas as concentrações iniciais de ácido acético entre 1,0 e 2,0%, conservando-se as concentrações iniciais de etanol. Os vinagres obtidos produziram em até 72 horas entre 1,0 e 4,7% de ácido acético, o rendimento e a produtividade (eficiência fermentativa) variaram de 22,1 a 53,1% e de 0,19 a 0,42g/L.h (primeiro tratamento) e de 38,5 a 86,2% e de 0,31g/L.h a 0,63g/L.h (segundo tratamento), respectivamente. Com a utilização do planejamento experimental, verificou-se que a concentração de etanol é uma variável de grande importância, portanto, a mesma influenciou tanto no rendimento quanto na produtividade.

Palavras-chaves: *Anacardium occidentale*; vinho e vinagre de caju; fermentações alcoólica e acética; eficiência fermentativa.

## ABSTRACT

At present the cashew culture has been expanding and the Brazilian production of tropical fruits has a big potential in national and international markets. The cashew (*Anacardium occidentale L*) is formed by a cashew nut (the true fruit), which is valued more in the international market in relation of its cavernous part (pseudofruto). The cashew juice, obtained from pseudofruto, produces a good quality of wine and vinegar. Therefore, these products can be a technically viable alternative and can minimize the waste of pseudofruto, as only 15% of the pseudo-fruit is taken advantage by the industries. Hence, a study of the kinetics of alcoholic and acetic fermentations for the production of cashew wine and cashew vinegar, respectively is made. In the production of the cashew wine, the mash was prepared with pseudofruit juice, having initial Brix value of 12,5°, while sucrose (common sugar) 210g/L and certain amounts of N and P nutrients were added. It was considered that the addition of the sucrose influenced the production of the ethanol. During the alcoholic fermentation up to 48 in the first step of fermentation (chaptalização) the concentration of sucrose decreased from 154.71g/L to 10.66g/L and in the second step from 176.28g/L to 86.84g/L. The amounts of alcohol, biomass, total acidity and pH values varied from: 7.91°GL to 99.76°GL; 15.5g to 37.5g 0,15 to 0,57g/100mL and 3.8 to 3.5 respectively up to 48 hours of the process. The alcoholic fermentation took place between 28°C and 33°C and had received an inoculation of 20g/L of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The process was conducted in a batch reactor with satisfactory production of alcohol, according to the standards required by the Brazilian legislation. In the acetic fermentation beakers of 600mL volume, at room temperature, were used. The yield of the alcoholic fermentation was 55.67% with efficiency of 74.17% and productivity of 1.41g/L.h. The values of the fermentation parameters: biomass ( $Y_x/s$ ), product ( $Y_p/s$ ) and the maximum growth velocity of the yeast were 0.064; 0.3 and  $0.05h^{-1}$  respectively. In the acetic fermentation mashes that had higher initial concentrations of ethanol was more productive. With the purpose to optimize the cashew vinegar process a complete  $2^2$  factorial planning was realized. The independent variables were initial concentration of ethanol in the cashew wine (3.0% to 6.0%) and concentration of acetic acid (0.5% to 1.5% (first treatment)). In the second treatment the initial concentration range of the acetic acid was changed to 1.0% to 2.0%, while the initial concentration range of ethanol was maintained same as in the first treatment. The yield and the productivity of the produced vinegars, during 72 hours, varied from 22% to 53.1% and from 0.19g/L.h to 0.42g/L.h (first treatment) and from 38.5% to 86.2% and from 0.31g/L.h to 0.63g/L.h (second treatment), respectively. The application of the experimental planning helped to verify that the concentration of ethanol is a important variable as it influenced the yield as well as the productivity of the cashew vinegar.

**Keys Words:** cashew, cashew wine, cashew vinegar, alcoholic fermentation, acetic fermentation, fermentation efficiency.

## CAPÍTULO I

---

### 1. INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium Occidentale, L.*) é uma planta de porte médio, xerófila, rústica, típica de clima tropical. É uma árvore de origem brasileira, do litoral nordestino de onde se propagou, pelos colonizadores, para diversos países da África e da Índia.

O verdadeiro fruto do cajueiro é a castanha, constituída de casca (rica em fenóis), película e amêndoa, produto altamente valorizado no mercado internacional. A fruta denominada coloquialmente como caju é na verdade um pseudofruto (falso fruto), correspondente ao pedúnculo floral hipertrofiado. Em peso o caju é formado de aproximadamente 10% de castanha e 90% de pseudofruto (GARRUTI, 2001).

No cenário nacional e internacional o mercado brasileiro desponta como uma grande potência na produção de frutas tropicais. Pode-se dar ênfase para frutas como a laranja, o abacaxi, a banana, a acerola, o caqui, entre outras. Também tem grande espaço a cultura do caju. Entretanto é detectado um grave problema nesta cultura pelo alto valor comercial, que é agregado à amêndoa (a castanha), sendo que apenas cerca de 15% da produção brasileira está destinada para derivados da sua parte succulenta (o pedúnculo). Um desperdício intolerável para uma região tão carente de recursos alimentícios. Porém, existe uma solução viável, que é tão ou mais antiga quanto o próprio homem, a fermentação (Embrapa, 1999). Pode-se observar vários tipos de fermentação, entre elas a fermentação alcoólica e a fermentação acética.

A fermentação alcoólica é um processo enzimático realizado por microrganismos conhecido por levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) que converte as moléculas de sacarose em moléculas de etanol. Quando este processo é conduzido a partir do suco de uvas frescas, segundo a O.I.V. (*Office International de la Vigne et du Vin*), obtém-se uma bebida alcoólica com o nome de vinho. Então qualquer bebida resultante de fermentação que não siga os pré-requisitos segundo a O.I.V. não pode ser, oficialmente, considerado

vinho. Porém, pela legislação brasileira, estes vinhos que não são provenientes da uva devem obrigatoriamente ser rotulados com a denominação vinho acompanhada do nome da fruta da qual se originou, como exemplos: vinho de abacaxi, vinho de laranja, vinho de caju, entre outros. Estes são denominados de vinhos porque são produzidos da mesma maneira que é produzido o vinho de uva.

A produção de bebidas alcoólicas derivadas do suco de caju apresenta um inconveniente que causa na atualidade uma produção muito pequena em relação ao desperdício da matéria-prima. O pedúnculo possui uma concentração elevada de pectina que durante a fermentação produz o metanol, que é uma substância bastante tóxica e prejudicial à saúde e, se ingerido exageradamente, pode causar até a morte. A concentração máxima permitida de metanol nas bebidas alcoólicas é de 0,25 mL/100mL (AQUARONE & ZANCANARO Jr., 1983). O caju constitui uma matéria-prima que poderá ser utilizada na produção de bebidas alcoólicas com um excelente padrão de qualidade, principalmente na região Nordeste, onde há viabilidade de produzir tanto o vinho quanto o vinagre (Holanda e Oliveira, 1998).

A fermentação acética é caracterizada pelo o processo subsequente da fermentação alcoólica, onde as moléculas de etanol sofrem oxidação em moléculas de ácido acético, promovida por ação bacteriológica (*Acetobacter aceti*).

A produção de vinagre de caju constitui também uma prática viável para ajudar a reduzir o desperdício desta fruta, pois os vinagres de fruta são muito mais apreciados e nutritivos em relação ao de álcool. A matéria-prima para a elaboração de vinagre é o vinho de caju. A palavra vinagre deriva de “*vinaigre*” do francês, que designa vinho azedo, entretanto apesar do nome, atualmente o vinagre possui personalidade própria, não sendo apreciado simplesmente como vinho azedo (AQUARONE et al, 1983).

Em linhas gerais o vinagre pode ser preparado a partir de qualquer fruta que contenha açúcar ou álcool (SACHS', 2001). A legislação brasileira diz que vinagre ou vinagre de vinho é o produto obtido da fermentação acética do vinho e deve conter uma acidez volátil mínima de 40g por litro expressa em ácido acético (4,0%).

Assim, esta legislação permite que sejam utilizadas genericamente outras substâncias ou líquidos alcoólicos para a fermentação acética, desde que ao vinagre resultante seja acrescido o nome da matéria-prima. Por exemplo, se a matéria-prima for o vinho de caju, o vinagre será: vinagre de caju, se vinho de acerola: vinagrẽ de acerola, se vinho de maçã: vinagre de maçã, entre outros.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

O vinho e o vinagre de caju produzidos por fermentação alcoólica do suco de caju e acética do vinho de caju, respectivamente, podem ser tecnicamente viáveis, apresentando vantagens, principalmente na região Nordeste, onde a quase totalidade de produção de caju situa-se nos estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Paraíba. Entretanto, o caju é uma matéria-prima muito barata quando comparada com outras. O caju pode dar vinho e vinagre de boa qualidade, em função desta produção, fez-se necessário um estudo cinético com critérios técnicos e científicos consistentes e análise das variáveis que interferem no sistema. Com base nestes dados é possível fazer a otimização do processo de produção de vinho e vinagre, possibilitando resultados eficientes (altos rendimentos e altas produtividades), além de ajudar a aumentar os conhecimentos a respeito das fermentações alcoólica e acética, bem como verificar as viabilidades econômicas dos processos. Os resultados destes estudos ajudam a minimizar o desperdício de caju na região Nordeste, dando-lhe valor comercial.

Os vinagres produzidos por vinhos de frutas, em termos de qualidade, são muito mais apreciáveis e nutritivos, quando comparados com o vinagre oriundo diretamente da matéria-prima etanol (AQUARONE & ZANCANARO Jr., 1983).

Em pesquisas realizadas nos supermercados de Campina Grande (PB) e Juazeiro do Norte (CE), não foram encontrados para sua comercialização, o vinho e o vinagre de caju, conforme é mostrado na Tabela A<sub>1</sub>, em anexo. Os produtos encontrados no mercado foram o suco de caju e o refrigerante de caju (cajuína).

O laboratório de Processos Industriais (LAPI) do DEQ/CCT/UFCG produz em escala comercial (aproximadamente 300 litros/mês) de vinagre, utilizando-se como matéria-prima o etanol. Este laboratório com o estudo da otimização do processo de produção de vinagre, obteve ao longo dos últimos 5 anos uma boa experiência no assunto, tendo como resultados uma Dissertação de Mestrado e dois trabalhos de Iniciação Científica e com estes conhecimentos adquiridos está sendo oferecida assistência técnica para pequenas empresas produtoras de vinagre da região do compartimento de Campina Grande e adjacências, bem como a venda deste produto para consumo no restaurante universitário e da população em geral.

Sabe-se que a agroindústria do caju está expandindo em função dos incentivos fiscais e subsídios dados pelo Governo Federal. O setor, atualmente, é de grande

importância para minimização das distorções regionais, justificando o interesse do Poder Público brasileiro, pois é constituído de 23 indústrias de beneficiamento do fruto (castanha) e de 8 indústrias ligadas ao aproveitamento do pseudofruto (principalmente de suco), gerando serviços para 1,5 milhão de trabalhadores (MAIA & MONTEIRO, 2001).

## 1.2 OBJETIVO GERAL

Estudar as cinéticas da fermentação alcoólica da produção de vinho e da fermentação acética da produção do vinagre de vinho de caju.

### *1.2.1 Objetivos Específicos*

- Verificar os efeitos das variáveis de entrada (concentração de etanol no vinho de caju e acidez inicial) sobre as variáveis respostas (rendimento e produtividade) na fermentação acética, utilizando o planejamento fatorial e análise de superfície de resposta;
- Analisar os parâmetros cinéticos do vinho:  $\mu_{\text{máx.}}$ ,  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ , rendimento, produtividade;
- Estudar a otimização do processo de vinagre de caju;
- Determinar as eficiências fermentativas dos processos do vinho e vinagre;
- Calcular a acidez máxima teórica, rendimento e a produtividade de vinagre produzido.

## CAPÍTULO II

---

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O objetivo deste capítulo foi fazer um levantamento bibliográfico dos assuntos aos quais este todo faz referência. Foi levado em consideração temas importantes para o desenvolvimento deste trabalho, como: o cajueiro e o caju, o vinho e vinho de caju, microbiologia, fermentação alcoólica e acética, cinética fermentativa e planejamento fatorial.

#### 2.1 O CAJUEIRO E O CAJU

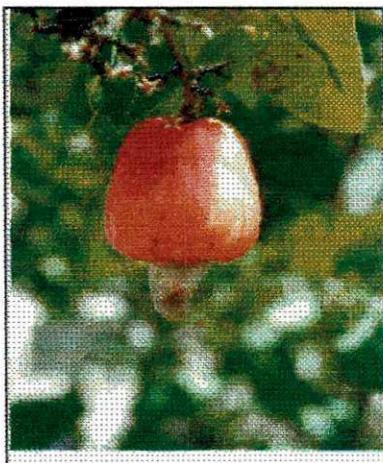


Figura 2.1 - Fruta do cajueiro

O cajueiro ocupa lugar de destaque dentre as plantas frutíferas tropicais, em face da crescente comercialização de seus produtos principais: a amêndoa e o líquido contido no mesocarpo da castanha. É indiscutível a importância que o cajueiro representa para o Nordeste brasileiro como uma atividade econômica e social de grande expressão, garantindo renda para mais de 300 mil pessoas e gerando divisas superiores a 100 milhões de dólares anuais.

A importância do setor, ressaltada, também pela ocupação de mais 300 mil hectares com a cultura na região e pela existência de um parque industrial composto por um número expressivo de Empresas (TORRES NETO et al., 2002). O cajueiro é encontrado em quase todos os Estados da federação, sendo que a Região Nordeste é responsável por 99,7% da produção nacional. Assim, a expressão econômica da cultura restringe-se somente ao Nordeste e, nesta Região, em termos de exploração agrícola. Existem, no entanto, muitos problemas na cajucultura; a baixa produtividade,

pragas e doenças, irregularidade nas precipitações pluviométricas, além da falta de uniformidade de plantio, com reflexões negativas na qualidade da matéria-prima (GOMES, 2003).

O cajueiro pertence à família Anacardiaceae, Dicotyledonea, gênero *Anacardium occidentale*, L. (cajueiro comum). A família Anacardiaceae é constituída por árvores e arbustos tropicais e subtropicais que apresentam ramos sempre providos de canis resiníferos e folhas alternadas, coriáceas, sem estipulas sendo composta por mais de 60 gêneros e 400 espécies (TORRES NETO et al., 2002).

O gênero *Anacardium* apresenta um pequeno número de espécies, todas elas originárias da América Central e do Sul, à exceção de *anacardiumcardium* provavelmente procedente da Malásia. A espécie mais importante é a *Anacardium occidentale* L., devido a ser a única cultivada em escala comercial e que apresenta o maior grau de dispersão em todo o mundo. A planta está difundida pela América do Sul, América Central, África, Ásia; a partir de 1985 destacaram-se a Índia, Brasil, Moçambique, Tanzânia e Quênia como principais produtores de castanhas no mundo. No Brasil a quase totalidade da produção de castanhas situa-se nos estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Paraíba (SEAGRI, 2002).

Internamente o Brasil consome pedúnculos do fruto, amêndoa da castanha e o líquido da castanha; a comercialização da safra (1986) tem início 3 a 4 meses antes da colheita (castanha crua e pedúnculo). O Brasil exporta líquido da castanha (LCC) (quase toda a produção) e amêndoa da castanha (ACC) também quase a totalidade da sua produção; Ceará (principalmente) e Rio Grande do Norte foram os maiores exportadores (1986). A produção nacional de caju em (1998) foi de 39.836 toneladas., numa área colhida de 589.245 ha (SEAGRI, 2002).

### 2.1.1 História e origem

Segundo estudiosos a origem brasileira do cajueiro é um fato; o litoral nordestino é tido como centro de origem e dispersão do cajueiro comum, e Amazônia do cajueiro precoce. Provavelmente, a Amazônia deve ter sido o útero quente de onde diferentes espécies do gênero *Anacardium* se irradiaram para o resto do mundo. E o cajueiro, seu representante mais conhecido, árvore rústica, espontânea e nativa do Brasil, mais

precisamente da zona arenosa litorânea de campos e dunas, que vai do Nordeste até o baixo Amazonas, está hoje disseminada por todas as regiões tropicais do globo (TORRES NETO et al., 2002).

Os indígenas de fala tupi, habitantes autóctones do Nordeste do Brasil, já conheciam muito bem o caju e faziam dele um de seus mais completos e importantes alimentos. Deve-se, inclusive, aos indígenas o seu nome: a palavra acaiu, de origem tupi, quer dizer “noz que se produz”. Outros nomes vulgares dados ao caju são: Caju-açú, caju da mata, boskasjoe, boesi-kasjoe, entre outros (TORRES NETO et al., 2002). Ficaram conhecidas com as “guerras do caju” as lutas pelo domínio temporário dos cajuais, travadas entre as tribos indígenas que desciam do interior na época da frutificação do caju e aquelas que viviam no litoral (TORRES NETO et al., 2002).

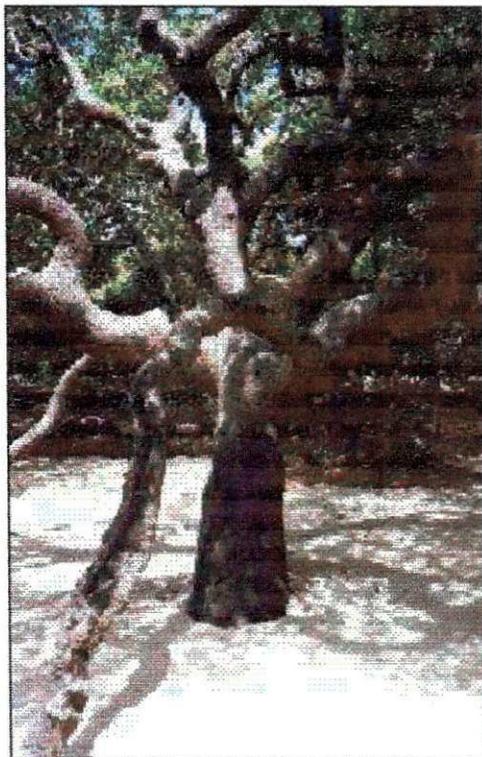


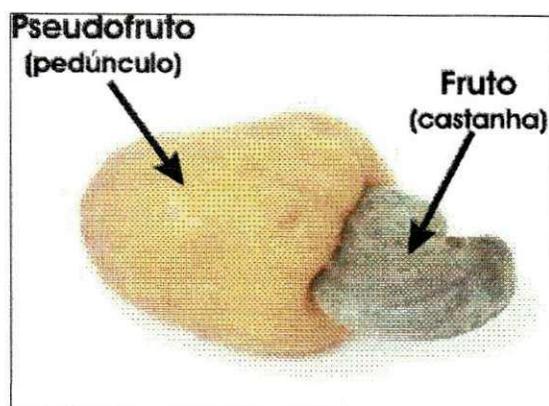
Figura 2.2 – Cajueiro (*Anacardium occidentale L.*)

Supõe-se que foi assim, através das castanhas levadas pelas mãos dos indígenas que iam e vinham pelas terras do Brasil, que a fruta se espalhou por vastas regiões do interior seco e árido nordestino. Pouco exigente quanto a solos, com tempo, o cajueiro se adaptou às terras para onde foi levado. Floresceu e frutificou ano após ano, formando extensos cajuais (TORRES NETO et al., 2002).

Quando, no século das grandes navegações, aqui chegaram os primeiros europeus, encontraram uma terra promissora de gentes e frutos exóticos, que se confundia com a visão do paraíso terrestre, onde o cajueiro era a verdadeira árvore proibida. Datam da metade do século XVI as primeiras e maravilhosas descrições da árvore do caju, dos cajuais sem fim do litoral americano e de seus frutos e uso, feitas pelos viajantes europeus. Foi a partir de então que o caju iniciou sua viagem pelo mundo: embarcado nas naus portuguesas, aportou em Moçambique, Angola, Quênia e Madagascar, na África, e em Goa, na Índia (TORRES NETO et al., 2002).

Porém o verdadeiro fruto do cajueiro é a conhecida castanha de caju (a semente) que tem um formato de um rim que pode atingir até 2 cm de comprimento, pequeno de

coloração escura e consistência dura, sendo comercializado mundialmente. Enquanto a parte carnosa é equivocadamente chamado de fruto, na verdade é apenas o pseudofruto, como o nome já transmite falso fruto, chamado de pedúnculo, conforme mostra a Figura 2.3 (TORRES NETO et al., 2002).



**Figura 2.3** – Fruta do cajueiro (fruto e pseudofruto)

Os frutos são sustentados por uma haste carnosa e succulenta bem desenvolvida (o pedúnculo), de coloração amarelada, alaranjada ou avermelhada. Da haste obtém-se matéria-prima para o fabrico de sucos, doces, entre outros. E o pseudofruto, chamado cientificamente pedúnculo floral, que é a parte comumente vendida, como à fruta. São conhecidas cerca de vinte variedades de caju, classificadas segundo a consistência da polpa, o formato, o paladar e a cor da fruta (amarela, vermelha ou roxo-amarelada, dependendo da variedade) (TORRES NETO et al., 2002).

O uso mais comum do pseudofruto é para beber, o caju é matéria-prima para inúmeros sucos, refrescos e cajuadas, com o suco adoçado, adiciona-se água ou leite. A cajuína, bastante apreciada é consumida gelada, e o suco filtrado e cozido, quando misturado com álcool transforma-se na jeropiga, um “vinho de caju” que pode ser mais ou menos encorpado. O mocojó é o suco fermentado, cru ou cozido, um vinho mais fino. Contem vitamina C em quantidade para perder apenas da campeã acerola contém ainda, em quantidades menores, vitaminas A e do complexo B, tem incontáveis usos e, embora alcance pouco valor no mercado externo, é muito apreciada no Brasil (SILVA et al., 2002).

Segundo GARRUTI et al. (2001), estudos das características físico-químicas e química, dos clones de cajueiro anão precoce, revelarão valores expressivos de vitamina C

é teores consideráveis de açúcares, taninos (responsável por sua elevada adstringência) e alta umidade. O suco de caju pode ser considerado como regular fonte de cálcio e fósforo, mas pobre em ferro. Valores dispostos nas Tabela 2.2, Tabela A1 e Tabela A2 em anexo.

GARRUTI et al. (2001) citam em sua tese, PRICE et al. (1975) por terem determinado que a glicose é o principal açúcar presente no pedúnculo do caju, seguido da frutose, sendo a porcentagem de açúcares não redutores muito baixa. E verificou o teor de aminoácidos livres, onde os predominantes (acima de 100  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ ) são alanina, ácido glutâmico, ácido aspártico, serina, prolina e treonina.

### 2.1.2 *Caju e seus produtos*

O cajueiro pertence à família Anacardiaceae, Dicotyledonea, gênero *Anacardium occidentale*, L. (cajueiro comum). A palavra caju parece surgir do termo “Acôï-ou” (língua tupi), que significa pomo amarelo. No cajueiro os tipos se diferenciam quanto a cor, forma, tamanho, sabor e consistência do pedúnculo da fruta sendo conhecidos como caju amarelo, caju vermelho, caju banana, caju manteiga, caju travoso, caju branco, caju maçã, entre outros. A localização das áreas produtoras de caju, encontram-se no Nordeste do Brasil, nos estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Paraíba. (<http://www.seagri.ba.gov.br/caju.html>).

A casca do tronco, rica em tanino, própria para uso em curtume, contém corante vermelho-escuro que pode ser utilizado para o tingimento de roupas e redes em linhas de pescá. O tronco da árvore, quando sofre corte, produz uma resina medicinal (expectorante), que também tem uso no preparo da cajuína (refrigerante). O pedúnculo contém de três a cinco vezes mais vitamina C que a laranja, além de cálcio, fósforo e outros nutrientes (PAIVA et al., 2000). O pedúnculo encontra uso na alimentação do homem e o bagaço da indústria para alimentação de animais. Ao natural o pedúnculo é consumido fresco, quando processado de modo artesanal ou industrialmente produz compotas, doces (cristalizados, em massa), caju-passa (ameixa), geléia; com o sumo produz-se sucos concentrados, cajuína (suco clarificado), vinho, vinagre, aguardente, licor, mel de caju (EMBRAPA/CNPAT, 1991).

## 2.2 O VINHO DE CAJU

### 2.2.1 *Definição de vinho*

De acordo com (AQUARONE et al, 1983), a definição bioquímica de vinho é “bebida proveniente da fermentação de suco de uva pelas leveduras e, em alguns casos, pelas bactérias lácticas”.

Assim sendo, é recomendável deixar a garrafa de vinho fechada ou ingeri-lo após aberta, pois poderá se tornar vinagre, podendo ser perigoso à saúde. Se esse processo acontecer por um tipo de microrganismo não próprio para essa transformação, pode causar até a morte se ingerido.

Portanto, o vinho de fruta é uma bebida cujo teor alcoólico pode variar em torno de 10°GL a 14°GL e obtém-se pela fermentação do suco clarificado e corrigido, no caso do vinho de, pedúnculos doces, frescos e sadios. Quando comparados com os vinhos de uva podem ser dos tipos seco, suave e licoroso. Assim, o vinho é o resultado da fermentação do suco ou mosto, tornando-se um produto vivo que sofre alterações, respira e se modifica.

### 2.2.2 *Histórico do vinho de caju*

A história das bebidas alcoólicas de caju, no Brasil, está ligada aos costumes indígenas e começa com o “cauim”. Entretanto, sendo esse nome genérico, dado pelos tupis a diversas bebidas fermentadas feitas de milho, mandioca e de outras frutas, a palavra deriva de cayú-y, na língua tupi significa “licor de caju”, referindo-se ao vinho de caju, dando a entender que o cauim era a expressão utilizada referente a bebida fermentada.

Em estudos a respeito do cardápio indígena, cita-se o cauim como bebida soberana desses povos. Para produzi-la necessita apenas espremer os cajus maduros com as mãos e deixá-los em repouso. Depois o suco fermentado era filtrado, resultando em um líquido branco e em seguida opaco, sendo consumido instantaneamente.

E ainda, o vinho de caju conquistou o paladar dos colonizadores que trataram de adicionar-lhe açúcar para obter um licor mais durável e saboroso. O vinho de caju teve sua importância, não somente no Brasil colônia, também em países da África e na Índia, para os quais o caju foi levado.

Em 1882, um jornalista chamado Tito Silva, depois de aprender com uma missão francesa algumas informações sobre a ciência do vinho, instalou em João Pessoa uma pequena manufatura de vinho de caju. Em pouco tempo o vinho de caju alcançou grande popularidade, recebendo diversos prêmios em exposição no país e no exterior. A fábrica Tito Silva & Cia atingiu seu ápice nas décadas de 40 e 50, quando chegou a processar mais de um milhão de litros anuais e exportar para a Alemanha e Estados Unidos. A partir de 1964 a fábrica começou a sofrer crises por falta de capital de giro, paralisando suas atividades em 1970.

A história ainda narra algumas observações sobre a fermentação do caju: “o caju fermenta facilmente e pode-se conseguir um ótimo vinho, espumante ou não e que o mesmo poderia tornar-se uma bebida regional de grande consumo, como acontece com a cidra ou vinho de maçã na parte Noroeste da França”.

## 2.3 O VINAGRE DE CAJU

### 2.3.1 *Definição de vinagre*

Como o vinagre provém, em geral, de duas fermentações sucessivas, a alcoólica e a acética, toda matéria-prima usada para a produção fermentativa de álcool serve, em princípio, também como matéria-prima do vinagre.

Uma definição bem geral de vinagre é que o mesmo consiste no alimento do grupo dos condimentos obtidos por fermentação alcoólica de matérias-primas açucaradas ou amiláceas, seguida de fermentação acética.

Define-se também o vinagre como sendo um produto obtido por uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética, a partir da oxidação química (oxigênio e álcool) e biológica (bactérias do gênero *acetobacter* ou *gluconobacter*).

As melhores matérias-primas para produzir vinagre são o vinho e o suco de frutas. Para a produção de vinagres de vinhos de frutas, é recomendável a acetificação com vinhos secos, pois os açúcares residuais podem favorecer contaminações posteriores especialmente por leveduras (RIZZON & MENEGUZZO, 2001). Portanto, encontram-se atualmente, no mercado, vários tipos de vinagre feitos a partir de diversas matérias-primas:

- Frutas: uva, maçã, abacaxi, framboesa, pêssego, morango, caju, etc.
- Tubérculos amiláceos: batata, mandioca, batata doce, etc.
- Cereais: cevada, centeio, trigo, arroz, milho, etc.
- Outras matérias-primas açucaradas ou alcoólicas: mel, melaço, aguardente, champagne, cerveja, que proporcione a obtenção de vinagre (AQUARONE et al., 1983).

### 2.3.2 *Histórico do vinagre*

A origem do vinagre é muito antiga, não possuindo data definida para o seu aparecimento. Portanto, afirma-se que ele surgiu na mesma época do vinho, sendo obtido a partir de uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética. Acredita-se que o vinagre surgiu a partir de um vinho que “passou do ponto”. Na China antiga, o vinagre era apreciado como símbolo da vida.

A história relata o seu uso a aproximadamente 5.000 anos entre os egípcios, babilônios, indianos, gregos e persas, que já conheciam a arte da fabricação do vinagre e sua versatilidade.

Na Idade Média bebiam água com vinagre para matar a sede e para o bem da saúde, inclusive na Bíblia, encontra-se o relato de que uma esponja embebida em vinagre foi dada a Jesus crucificado para aliviar-lhe a sede. Portanto, o vinagre é muito mais que um simples tempero “azedo” (<http://www.vinagrecastelo.com.br>).

O vinagre, assim como o vinho, é conhecido desde a antiguidade. Originalmente, era obtido não só de vinhos, mas também de cervejas deixados ao ar, ou seja, formava-se por fermentação espontânea.

Segundo AQUARONE et al. (1983), o primeiro pesquisador a entrever que o ar deveria ser imprescindível para a obtenção de vinagre foi Backer na segunda metade do século VIII; essa observação seria confirmada experimentalmente em 1786 por Rozier com a conhecida experiência da bexiga cheia de ar que definhava no decorrer da transformação.

No auge dessa fase científico-histórica, dois nomes ilustres foram mencionados: Lavoisier, que em 1790 comprovou em caráter definitivo a responsabilidade do oxigênio na fermentação acética; e Pasteur, que entre 1864 e 1868 demonstrou, com detalhes em sua obra sobre o vinagre, a necessidade da presença de um ser vivo (segundo o pesquisador: *Mycoderma aceti*) para possibilitar a transformação do álcool em vinagre.

## 2.4 MICROBIOLOGIA DO VINHO

### 2.4.1 Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*)

As leveduras são agentes da fermentação alcoólica (AQUARONE et al., 1983). Há um grande número de espécies de leveduras que se diferenciam por seu aspecto, sua forma de reprodução e também pela modo de transformar o açúcar.

Tem-se conhecimento da existência de aproximadamente doze gêneros de leveduras de vinho, cada um dividido em espécies. As leveduras encontradas na vinificação podem apresentar uma das quatro formas seguintes: elíptica ou oval; alongada, em forma de salsicha; esférica; e apiculada, alongada em suas extremidades, como limão.

As leveduras constituem um grupo de microrganismos unicelulares, que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou por cissiparidade e que desenvolvem a fermentação alcoólica. As leveduras apresentam formas primitivas de fungos, largamente encontradas na natureza: são comuns no solo, nas superfícies de órgãos dos vegetais, principalmente em flores e frutos, no trato intestinal de animais, em líquidos açucarados, e numa grande série de outros locais. As leveduras têm grande importância sob vários aspectos, industrialmente, apresentam os seguintes pontos de interesse:

- a.- São agentes de fermentação alcoólicas, na produção do álcool industrial e de todas as bebidas alcoólicas destiladas ou não destiladas;
- b- São utilizadas na panificação;
- c- São, pelo menos potencialmente, importantes fontes de proteína e de fatores de crescimento passíveis de serem utilizadas na alimentação animal e, mesmo, humana.

Como agentes de fermentação, são prejudiciais à conservação de frutos e de sucos vegetais. Algumas espécies são patogênicas as plantas, animais e ao homem.

A multiplicação por brotamento não precisa mais que 10 a 15 minutos para dar origem a outra célula, e uma única célula de levedura pode dar origem a alguns milhões de indivíduos em 24 horas.

### 2.4.2 – Morfologia e estrutura

As leveduras são, geralmente, unicelulares *Saccharomyces cerevisiae* e outras leveduras comuns apresentam forma oval ou cilíndrica. Outras formas encontradas no grupo são: apiculada ou em forma de limão, esférica (*Torulopsis*) elípticas, elipsóides ou filamentosas (pseudo-micélio constituído por células unidas entre si).

O tamanho das leveduras varia muito de acordo com a espécie. Seu diâmetro pode variar de 10 a 20 microns (AQUARONE et al., 1983).

As células vegetativas da maioria das leveduras industriais variam em tamanho, de 4 a 8 microns de largura por 7 a 12 de comprimento, havendo, evidentemente, espécies maiores e espécies menores que as citadas. Forma e tamanho das células, mesmo em espécies monomorfas, podem variar de acordo com o nutriente, as condições ambientais, o estado fisiológico ou a idade.

Estrutura: As leveduras (Figura 2.4) apresentam membrana celular bem definida, pouco espessa, em células jovens; rígidas em células adultas, de constituição variável, com predominância de hidratos de carbono, e menor quantidade de proteínas e graxas. Internamente delimitando o citoplasma, existe a membrana citoplasmática, mais evidente em células adultas, por plasmólise. No geral, as leveduras se apresentam sem cápsula, se bem que algumas espécies de *Torulopsis* se apresentem com cápsula, constituída de hidratos de carbono.

Citoplasma - de células adultas apresenta inúmeros vacúolos e granulações variadas. Entre estas, são encontradas:

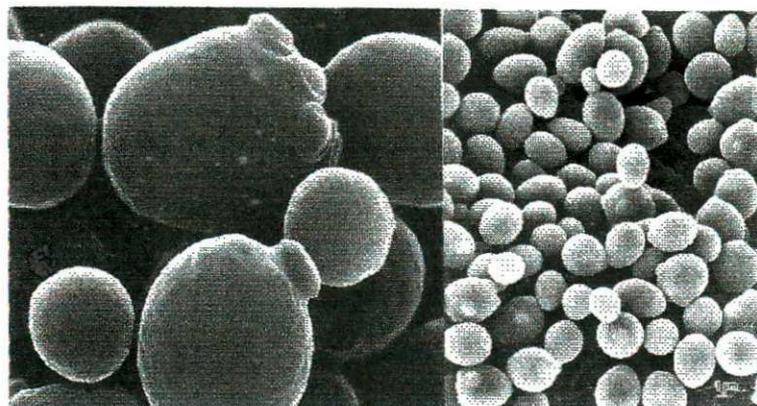
A) - Grânulos metacromáticos, constituídos de polimetáfosfato inorgânicos, e de função em parte conhecida.

B) - Glicogênio, hidratos de carbono encontrado em células adultas.

C) - Grânulos lipóides, em quantidade variável com a espécie de levedura, a idade da célula e o substrato.

D) - Mitocôndrias - se apresentam com aspecto filamentosos, constituídos de lipoproteínas com pequena quantidade de ácido ribonucléico, e contendo enzimas respiratórias.

O núcleo é bem definido, pelo menos em células em vias de reprodução; pequeno, esférico ou reniforme, de localização variável, associado a vacúolo nuclear.



**Figura 2.4** – Diversas formas de células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)

## 2.5 MICROBIOLOGIA DO VINAGRE

O ácido acético é produzido por um metabolismo microbiano primário denominado de fermentação acética. O ácido acético obtido é um líquido incolor, tem odor característico, é um ácido orgânico carboxílico fraco e é solúvel em água.

De acordo com BORZANI et al. (1983) a primeira equação química de formação do ácido acético a partir do álcool foi descrita por Dobereiner no ano de 1822 e a identificação dos microrganismos responsáveis pela transformação acética como bactérias foi determinada por Knieriem e Mayer em 1873. Depois, em 1878 através de Hansen, outras bactérias ácidas acéticas foram descobertas até que, no século XX, em 1926, Hennenberg publica uma obra citando numerosas bactérias acéticas.

Vaugln, 1942 deu instruções detalhadas para diferenciação bacteriológica das espécies da **acetobacter**. Segundo o pesquisador, este gênero se tornou complicado dado a um grande número de espécies e é provável que, em considerável número de casos, uma simples espécie tenha recebido diversos nomes (BORZANI et al., 1983). Por outro lado, os produtos das fermentações consecutivas são o etanol, o ácido acético e produtos voláteis. Em relação à produtividade, ocorre com muitas variações, e depende do processo usado para a fabricação.

As espécies do gênero *acetobacter* têm sido classificadas ao longo dos anos, mas são poucas as que apresentam qualidades industriais, como: capacidade de produzir altas concentrações de ácido acético, ter tolerância a concentrações razoáveis de ácido, ter tolerâncias a concentrações razoáveis de etanol, trabalhar em temperaturas entre 25°C e 30°C.

As acetobacters são bastante produtivas. As bactérias acéticas (*acetobacters*), quando jovens têm a forma de bastonetes (Figura 2.2) às vezes móveis, ocorrem isoladas, aos pares ou em cadeias e são obrigatoriamente aeróbias. Formam película ou crosta na superfície da cultura, vulgarmente chamada de “mãe de vinagre”. Essas películas variam de acordo com a espécie, podendo ser delgadas, espessas, contínuas ou em ilhas.

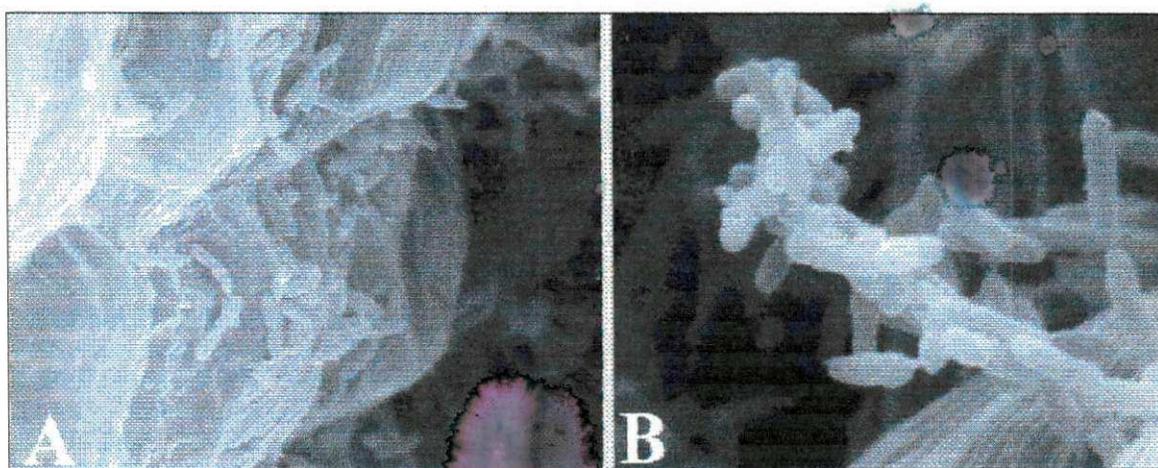
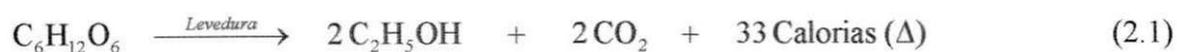


Figura 2.2 - *Acetobacter aceti*: microscópio comum (A) e microscópio eletrônico (B)

## 2.6 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

No processo da fermentação alcoólica de açúcares, os principais produtos são álcool etílico e gás carbônico, de acordo com a equação abaixo:



Entretanto a molécula da glicose passa em processo anaeróbio por doze etapas intermediárias antes de ser transformadas em etanol e gás carbônico. Ao lado de etanol e gás carbônico, formam acetaldeído, glicerol, 2,3 butilenoglicol, ácido láctico e ácido cítrico

como produtos constantes da fermentação alcoólica e que contribuem para o sabor e o aroma do vinho. Os ésteres, como acetato de etila, são também formados pela esterificação de ácidos orgânicos fixos, como ácido tartárico e málico também catalisados pelas enzimas das leveduras.

Durante a fermentação alcoólica, alguns fatores influenciam no processo como:

- A concentração de carboidrato no suco;
- O pH do meio;
- A concentração de levedura;
- A temperatura de fermentação.

A temperatura de fermentação é extremamente importante: a temperatura entre 25 e 33°C permite obter alto rendimento em álcool, não somente pela fermentação mais completa mas também por minimizar a perda por evaporação.

O controle de pH é importante durante o processo de fermentação alcoólica, pois, os valores de pH iniciais podem variar de 3,8 a 4,0, esta faixa de pH utilizada pode ser suficiente para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir bactérias indesejáveis (AQUARONE et al., 1983).

As *Saccharomyces* invadem o meio muito rapidamente e nesse momento as leveduras iniciais desaparecem, chamadas leveduras selvagens.

Entre as *Saccharomyces*, o poder alcoogênico varia de 8 °GL a 18 °GL. Na fase final de uma fermentação alcoólica, as espécies dominantes são *Saccharomyces ellipsoideus* e *Saccharomyces bayanus*, sendo esta última a mais alcoogênica e denominada “acabadora” de vinhos de graduações alcoólicas elevadas (AQUARONE et al., 1983).

As vantagens do inóculo de leveduras, quando bem realizado, pode assim ser resumido:

- Início da fermentação mais rápida, principalmente nas primeiras cubas;
- uma fermentação mais regular e sua conclusão sempre mais rápida;
- boa conservação de vinhos, sendo bem secos, isto é, isentos de açúcares redutores fermentescíveis (AQUARONE et al., 1983).

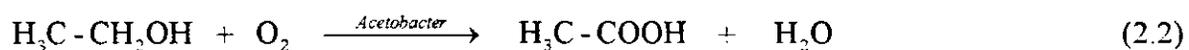
## 2.7 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

A fermentação acética corresponde à transformação do álcool em ácido acético por determinadas bactérias, conferindo-lhe o gosto característico do vinagre (RIZZON & MENEGUZZO, 2001). Em linhas gerais, a expressão “fermentação acética” consiste na oxidação do álcool etílico (vinho de fruta) em ácido acético, realizada por um conjunto de bactérias do gênero acetobacter ou gluconobacter.

Em relação ao processo de fermentação, algumas considerações devem ser observadas:

- As bactérias acéticas utilizadas neste processo são aeróbias;
- Os microrganismos devem tornar viável o custo de produção;
- Apresentar fermentação rápida;
- Oferecer bons rendimentos produtivos.

Na fermentação acética, segundo a equação abaixo, o ácido acético produzido por bactérias do gênero *Acetobacter* aceti é o principal composto do vinagre, condimento obtido a partir da fermentação alcoólica do mosto açucarado e subsequente fermentação acética.



As espécies do gênero acetobacter são bastante produtivas e para que elas tenham um bom desempenho necessitam de condições especiais para realizarem o seu trabalho, como:

- a concentração do álcool;
- a temperatura de fermentação (entre 20° C e 30° C);
- a quantidade de oxigênio (O<sub>2</sub>);
- a clarificação, a pasteurização.

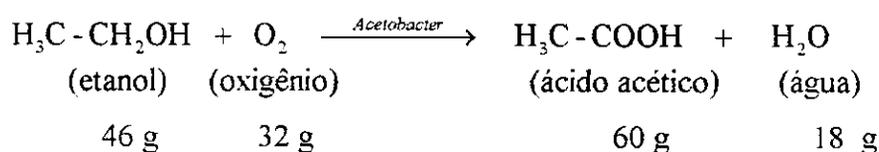
As bactérias acéticas utilizadas neste processo são aeróbias.

De um ponto de vista mais geral, um processo fermentativo pode ser considerado como constituído de duas etapas principais, apresentadas a seguir: (a) o preparo do inóculo e (b) a fermentação propriamente dita. Denomina-se inóculo, ou pé de cuba ou pé de

fermentação, um volume de suspensão de microrganismo de concentração adequada, capaz de garantir, em condições econômicas, a fermentação de um dado volume de mosto (BORZANI et al.,1983). A primeira etapa tem, basicamente, por finalidade preparar o microrganismo em condições apropriadas, de modo a garantir o desenvolvimento adequado da segunda etapa.

### *Rendimento e produtividade*

De acordo com a equação estequiométrica representativa da conversão do álcool etílico em ácido acético, 1g de etanol pode converter 1,304 g de ácido acético.



Na indústria, é considerada econômica, a conversão de 1g de etanol a 1g de ácido acético, que pode apresentar um rendimento de aproximadamente 76,7%. Em acetificadores submersos modernos existe a possibilidade de se chegar a rendimentos superiores a 90%. No entanto, em laboratório, através de frascos agitados, chega-se a um rendimento de 100%. As reduções no rendimento, em relação ao teórico, são consequências do consumo parcial dos produtos e matérias-primas utilizadas no processo, pelos microrganismos, como fonte de carbono para sua manutenção.

Segundo BORZANI et al. (1983), na produção do vinagre são conhecidos, principalmente, três processos: lento, rápido e submerso. Tendo em vista que o processo submerso apresenta a maior produtividade, como mostra a Tabela 2.1.

**Tabela 2.1.** Produtividade média dos processos de produção de vinagre.

PROCESSOS	PRODUTIVIDADE MÉDIA (g/L.h)
Lento	0,03
Rápido	1,0
Submerso	5,0

## 2.8 CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO

A Engenharia Bioquímica trata também de estudos cinéticos da fermentação. Portanto, é de fundamental importância conhecer o significado prático com que a velocidade das transformações acontecem e os fatores que nela influenciam.

No estudo da cinética das fermentações, alguns pontos devem ser levados em consideração, como:

- As concentrações dos microrganismos ou das enzimas catalisadoras do processo;
- Decomposição relativamente rápida desses catalisadores;
- Temperatura desfavorável;
- Limitações consideráveis das técnicas experimentais das concentrações.

Segundo BORZANI et al. (1983) as transformações em apreço dificilmente podem ser consideradas como reações químicas isoladas e bem definidas. Via de regra, a reação que interessa faz parte de um conjunto desconhecido de transformações de alta complexidade, desenvolvido pela célula para manter sua atividade vital nas condições em que se encontram.

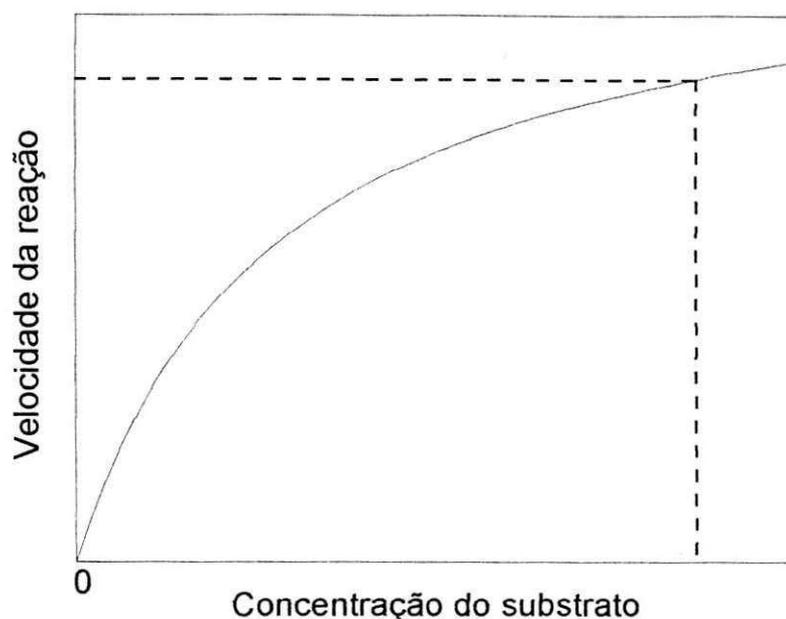
Um aspecto a ser considerado no estudo da cinética das fermentações reside no fato de que as concentrações das enzimas, catalisadores das reações que se processam, não permanecem constantes no decorrer do tempo, o que vem complicar a análise dos problemas envolvidos. Pode acontecer, em alguns casos, uma decomposição relativamente rápida desses catalisadores, como decorrência de condições ambientes pouco favoráveis, particularmente da temperatura. Em muitos outros casos, as concentrações das enzimas aumentam com o tempo, frequentemente de modo considerável, como consequência da reprodução dos microrganismos responsáveis pelas transformações.

Um outro caso a ser observado é o que se refere à interdependência dos fatores que influenciam nas velocidades das reações enzimáticas, interdependência essa que aumenta a complexidade dos trabalhos experimentais e das interpretações teóricas correspondentes.

Considerando o caso mais simples em que um substrato, de fórmula molecular S, é transformado em produtos, de fórmulas moleculares P, Q, etc, em uma reação catalisada por uma enzima de fórmula molecular E. O primeiro problema que se apresenta, ao

pretender-se estudar a cinética dessa reação, é a medida de sua velocidade em condições experimentais bem definidas.

A concentração do substrato, uma vez fixada outras condições experimentais, influi consideravelmente na velocidade da reação, conforme a curva da Figura 2.3.



**Figura 2.3** - Representação da cinética enzimática

Pode-se observar, na Figura 2.3 que a velocidade da reação comporta-se como uma função crescente da concentração do substrato até um determinado valor dessa concentração, depois de um determinado tempo a velocidade se manterá constante.

### 2.8.1 Modelo de Monod

Para as diversas cinéticas de fermentação, o modelo de Monod mostra um bom ajuste, pois a partir da regressão linear dos dados experimentais obtidos pode-se calcular o valor da velocidade específica média ( $\mu$ ).

Acerca da cinética fermentativa, a Figura 2.4 apresenta uma curva de variação característica do modelo de Monod. A equação 2.3 expressa matematicamente o modelo de Monod.

$$\mu_x = \mu_{\text{máx}} \frac{S}{K_s + S} \quad (2.3)$$

onde:  $\mu_x$  = velocidade específica de crescimento de microrganismos

$\mu_{\text{máx}}$  = velocidade específica máxima

$K_s$  = constante de saturação

$S$  = concentração do substrato

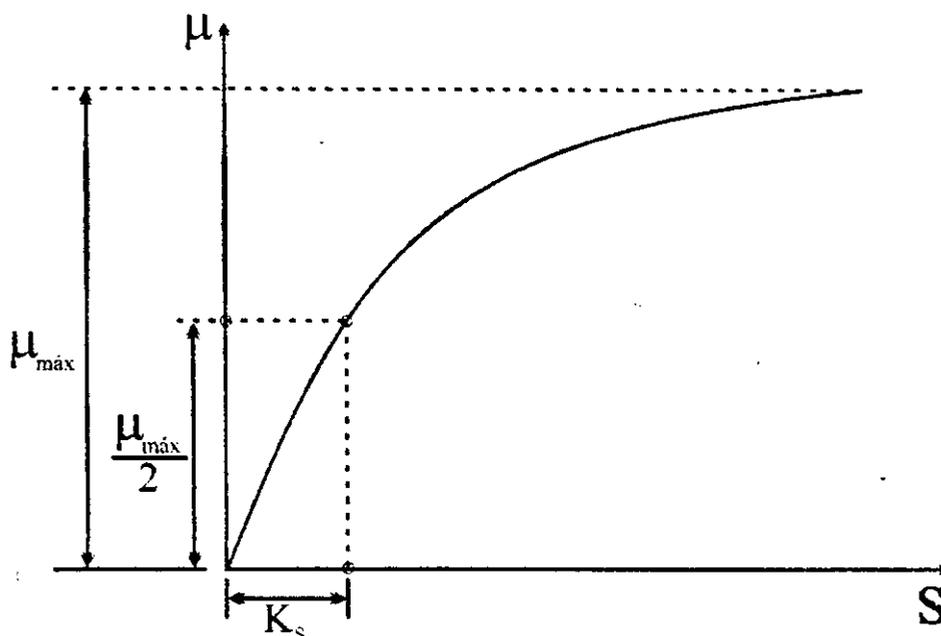


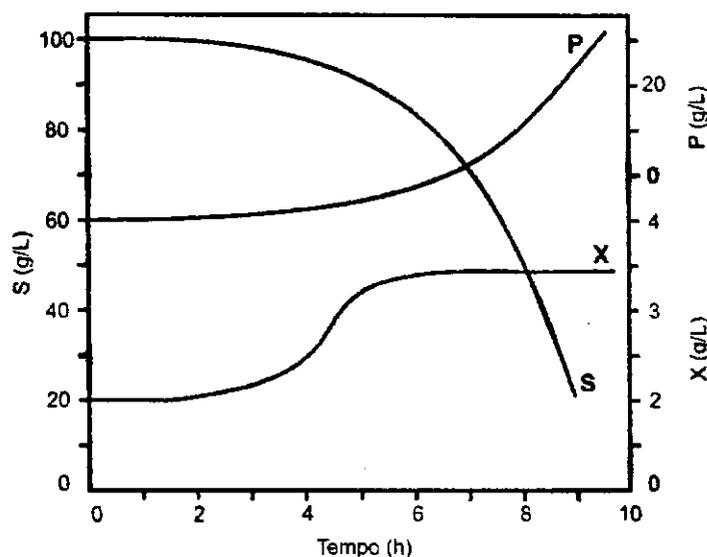
Figura 2.4 - Representação da cinética fermentativa

PARK et al. (1990) fizeram um estudo cinético da produção de ácido acético com culturas de *Acetobacter acetii* e propuseram um modelo matemático simples para descrever quantitativamente a taxa de produção do ácido acético como uma função da área de superfície específica e taxa de diluição.

Segundo BORZANI et al. (1983), durante o crescimento exponencial do microrganismo há considerável consumo de substrato, o que deveria acarretar, pela equação de Monod, uma diminuição de  $\mu$ , o que não se observa na prática. Essa contradição aparente poderá, porém, ser explicada, se levar em consideração que, na fase exponencial, a concentração de substrato ( $S$ ) deve ser muito superior a  $K_s$ , resultando pela equação de Monod, praticamente  $\mu = \mu_{\text{máx}}$  e, portanto,  $\mu = \text{cte}$ .

### 2.8.2 Perfis de X, P e S

Inicialmente, o estudo cinético de um processo fermentativo consiste em uma análise de valores da concentração de um ou mais componentes de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se por componente o microrganismo (X) ou a biomassa, os produtos do metabolismo (P) ou metabólitos, os nutrientes ou substratos (S), que compõem o meio de cultura. Esses valores experimentais de concentração, quando representados em função do tempo, permitirão os perfis das curvas de ajuste, conforme ilustrado na Figura 2.5.



**Figura 2.5** – Perfis de curvas dos resultados obtidos de uma fermentação alcoólica de suco de caju: X, P e S são as concentrações do microrganismo, do produto e do substrato residual no meio, respectivamente.

Para que esses valores representem parte de um conjunto de dados, necessários ao dimensionamento de uma unidade produtiva, fica claro que sem o conhecimento da cinética torna-se inviável a transferência de um experimento de laboratório para a escala industrial.

### 2.8.3 Velocidades instantâneas de transformação

A Figura 2.5 ilustra as definições das velocidades instantâneas de crescimento ou reprodução do microrganismo, consumo de substrato e formação de produto, mostradas respectivamente pelas seguintes expressões, para um tempo  $t$ :

$$r_x = \frac{dX}{dt} \quad (2.4)$$

$$r_s = -\frac{dS}{dt} \quad (2.5)$$

$$r_p = \frac{dP}{dt} \quad (2.6)$$

Essas velocidades podem ser obtidas através dos valores das inclinações das tangentes às respectivas curvas apresentadas na (Figura 2.5).

#### 2.8.4 Velocidades específicas de transformação

Dado ao fato de que uma concentração microbiana **X** aumenta durante um cultivo descontínuo, aumentando conseqüentemente a concentração do complexo enzimático responsável pela transformação do substrato **S** no produto **P**, pode-se analisar os valores das velocidades instantâneas (equações 2.4, 2.5, e 2.6) com referência a concentração microbiana, isto é, especificando-as com respeito ao valor de **X** em um dado instante, conforme indicam as equações:

$$\mu_x = \frac{1}{X} \cdot \left[ \frac{dX}{dt} \right] \quad (2.7)$$

$$\mu_s = \frac{1}{X} \cdot \left[ -\frac{dS}{dt} \right] \quad (2.8)$$

$$\mu_p = \frac{1}{X} \cdot \left[ \frac{dP}{dt} \right] \quad (2.9)$$

Essas expressões são denominadas velocidades específicas de crescimento, consumo de substrato e formação de produto, respectivamente.

### 2.8.5 Parâmetros fermentativos: rendimento e produtividade.

Com referência a Figura 2.5, considerando um determinado tempo  $t$  de fermentação, os correspondentes valores de  $X$ ,  $S$  e  $P$  podem ser relacionados entre si, através dos fatores de conversão definidos por:

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (2.7)$$

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (2.8)$$

$$\text{Prod} = \frac{Q_p}{t} \quad (2.9)$$

onde:

$Y_{x/s}$  = quantidade de biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

$X$  = concentração final de biomassa (g/L);

$X_0$  = concentração inicial de biomassa (g/L);

$S$  = concentração final de substrato (g/L);

$S_0$  = concentração inicial de substrato (g/L).

$Y_{p/s}$  = quantidade de produto formado em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

$P$  = concentração final de produto (g/L);

$P_0$  = concentração inicial de produto (g/L);

$S$  = concentração final de substrato (g/L);

$S_0$  = concentração inicial de substrato (g/L).

$P$  = produtividade (g/L.h);

$Q_p$  = quantidade de álcool produzida (p/v);

$t$  = tempo total de fermentação (h).

Entretanto, nem sempre o substrato se esgota completamente quando a concentração celular apresenta seu valor máximo, podendo ainda existir uma concentração residual daquela substância no meio de cultura, ao término da fermentação.

## 2.9 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL NA OTIMIZAÇÃO DE PROCESSO

O estudo, apresenta grandes dificuldades, surgindo, com isso, um dos problemas mais difíceis de se resolver, como a determinação da influência de um ou mais fatores sobre outro de interesse. O método de planejamento experimental por análise de superfície de resposta possui como princípio a técnica de planejamento fatorial, onde os experimentos são programados através de um planejamento fatorial (BOX et al, 1978), sendo possível a realização de diversos experimentos ao mesmo tempo.

O principal objetivo do planejamento fatorial é relacionar empiricamente as variáveis dependentes (respostas) com as variáveis independentes (variáveis de entrada), além de se poder determinar estatisticamente o efeito de cada variável na(s) resposta(s) desejada(s). Segundo BARROS NETO et al. (1995) para a utilização do planejamento experimental é necessário primeiramente determinar quais as variáveis controladas (variáveis de entrada) e as respostas que se quer estudar. Posteriormente, é necessário definir claramente qual objetivo que se pretende atingir através dos experimentos, para se determinar que tipo de planejamento fatorial deve ser utilizado. Definidas as variáveis de entrada e as respostas desejadas, pode-se utilizar um planejamento fatorial.

Neste trabalho, determinou-se estudar os efeitos da concentração de etanol no vinho de caju e da concentração de ácido acético em dois níveis. Por outro lado, os experimentos foram executados para todas as combinações possíveis dos níveis dos fatores, para que o objetivo do planejamento pudesse ser alcançado de forma eficaz. De acordo com BOX et alii (1978) a técnica de planejamento experimental por análise de superfície de resposta pode ser empregada para responder as seguintes perguntas:

- como um conjunto de variáveis de entrada podem ter efeitos, numa faixa de interesse, sobre às variáveis dependentes;
- quais conjuntos de variáveis de entrada produzirão um produto dentro das especificações desejadas;
- quais valores ou faixas das variáveis de entrada produzirão valor ótimo para uma resposta específica e como se comporta a superfície de resposta próximo deste ponto.

Assim, um dos modos de resolução deste problema consiste no uso de métodos de planejamento experimental fatorial completo que ultimamente encontra aplicação, com bastante significado, no estudo de problemas de Engenharia muito complexos. Sem a pretensão de se chegar ao conhecimento dos mecanismos que envolvem os fenômenos

estudados, pois, a sua aplicação conduz inegavelmente e indiscutivelmente a correlações práticas (modelos empíricos) de grande utilidade.

Os fatores, ou seja, as variáveis controladas pelo experimentador, tanto podem ser qualitativos como quantitativos. Dependendo do problema pode haver mais de uma resposta de interesse (BARROS NETO et al., 1995). Tendo o objetivo de realizar o mínimo de experimentos e determinar preliminarmente os fatores (variáveis de entrada) que tenham ou não influência significativa sobre a resposta, fez-se um planejamento fatorial com dois níveis (nível -1 e nível +1) para cada fator. Se  $n$  fatores estão contidos no estudo, o planejamento fatorial necessitará da realização de  $2^n$  ensaios diferentes, cobrindo todas as combinações possíveis. Para a obtenção do erro experimental é necessário a realização de pelo menos 2 ensaios no ponto central (nível 0), correspondendo a média aritmética dos níveis -1 e +1.

Sendo o planejamento experimental um método baseado e executado com técnicas estatísticas é de fundamental importância a avaliação dos modelos empíricos obtidos através da regressão dos dados experimentais. O exame dos resíduos é ferramenta importante na avaliação da qualidade do ajuste de qualquer modelo. A Tabela 2.2, conhecida como tabela de análise de variância ou ANOVA ("Analysis of Variance"), resume toda a análise estatística que avalia a qualidade do ajuste do modelo (BARROS NETO et al., 1995).

**Tabela 2.2 – Análise da variância (ANOVA)**

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Média da soma dos quadrados	Grau de liberdade	Teste F
Devido a regressão	$SQR$	$MQR$	$L - 1$	$MQR/MQT$
Resíduos	$SQT$	$MQT$	$N - L$	-
Falta de ajuste	$SQ_{faj}$	$Mq_{faj}$	$M - L$	-
Erro puro	$SQ_{ep}$	$MQ_{ep}$	$N - M$	-
Total	$SQT$	-	$N - 1$	-
Qualidade do ajuste	$Ra^2 = SQR/SQT$	-	-	-
Coefficiente de correlação	<b>Ra</b>	-	-	-
Ftabelado	-	-	-	Fconfiança, L-1, N-L

Fonte: SILVA (1998)

Observando a Tabela 2.2, pode-se perceber que um modelo que apresenta valores altos de resíduos é um modelo de má qualidade. O coeficiente de correlação ( $Ra^2$ )

representa a comparação da variância dos pontos experimentais em relação ao modelo ajustado. Quanto mais próximo o valor de Ra estiver de 1, os valores previstos pelo modelo estão em concordância com os valores observados experimentalmente. No caso de concordância total o valor de Ra = 1.

O teste F é outro parâmetro importante na verificação da validade estatística do modelo ajustado. O teste F de significância é utilizado para investigar se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos valores experimentais. Comparando-se o valor de F calculado pela regressão dos dados experimentais com o valor tabelado para uma distribuição de referência F confiança, L-1, N-L, e encontrando valores de F acima de quatro vezes o valor de F tabelado, a regressão é útil para fins preditivos, ou seja, a equação ajustada é estatisticamente significativa e os valores experimentais são bem representados pelo modelo proposto pelo ajuste.

Um planejamento bem executado, indiscutivelmente, apresenta algumas vantagens como agrupar variáveis, reduzir o número de variáveis ou o número de níveis que se pretende estudar, buscando, certamente, uma correlação experimental.

## 2.10 TRABALHOS PUBLICADOS PARA COMPARATIVOS

Este item é destinado a análise de resultados de trabalhos afins com este todo. Trabalhos referentes a produção de vinho e de vinagre, independente da sua fonte de origem, da cinética fermentativa e planejamento fatorial. Objetivando a comparação dos resultados obtidos por outros pesquisadores com os resultados deste todo, nos garantindo assim uma orientação.

BERTOLINE et al. (2002), estudaram a fermentação alcoólica e acética do suco de kiwi. Com a finalidade de aproveitar a produção de kiwi que vem se desenvolvendo para a produção de vinagre. Estudaram seis formas de preparar o mosto para a fermentação alcoólica, variando a quantidade de nutrientes e de sacarose. O processo fermentativa foi conduzido com temperatura a 28°C, e com inóculo 10<sup>6</sup>UFC/mL de *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentação acética foi processada pelos tratamentos 1, 3 e 5, em gerador vertical (GV) a temperatura ambiente e fermentador submerso (PS) a 25°C, com agitação e oxigenação controladas. Os rendimentos da fermentação alcoólica variam entre 38,65 a 47,23 %, com eficiências entre 75,62 a 92,41% e produtividade entre 0,72 a 2,0 g/L.h. Para

a fermentação acética, os vinagres obtido pelo PS, em 12 horas, tiveram uma produtividade de 1,00 a 1,78 % (p/v) de ácido acético, com rendimentos variando de 93,24 e 98,34 % e produtividade entre 0,83 e 1,73 g/L.h.

MARANGON et al. (2003), com a finalidade de obter um produto de características diferentes em termos sensoriais, produziram vinagre de caqui. O experimento foi realizado em três bateladas em estufas a 28°C. O caqui foi fermentado em forma de polpa e em pedaços. A fermentação acética foi conduzida em estufa a 28°C sem aeração. O rendimento da fermentação alcoólica da polpa de caqui foi de 97% e produtividade de 0,665 g/L.h e a se verificou que a fermentação alcoólica do caqui em pedaços, alcançou um rendimento de 74% e produtividade de 0,582 g/L.h. O vinagre de caqui atingiu o nível de 4,38 % de ácido acético.

PEDROSO et al. (2003) estudaram a utilização do biorreator *Airlift* para a produção de vinagre de maçã. Foram realizados quatro experimentos para biorreator *Airlift* e quatro para o biorreator clássico batelada, com temperatura e a reação controladas. A produtividade máxima obtida no quarto experimento foi 4,2 g/L.h (*Airlift*) e 1,6 g/L.h (clássico). Foram analisados os parâmetros cinéticos para a fermentação realizada no biorreator *Airlift*, a velocidade específica média de crescimento celular foi de 0,14d<sup>-1</sup> (*Airlift*) e 0,10d<sup>-1</sup> (clássico). Os fatores de conversão médios  $Y_{p/s}$ , foram de 0,56 g/g (*Airlift*) e 0,25 g/g (clássico). Os fatores de conversão médios  $Y_{x/s}$ , foram de 0,009 g/g (*Airlift*) e 0,006 g/g (clássico). A partir dos resultados obtidos foi comprovado que a utilização do *Biorreator Airlift* é mais vantajosa.

O estudo feito por FERREIRA et al. (2001), com o objetivo de estudar em escala de bancada as melhores condições da fermentação acética em batelada. Inicialmente, foi realizado um estudo cinético da fermentação acética com a intenção de determinar a influência das variáveis de entrada: concentração de etanol, concentração de fósforo e concentração de nitrogênio sobre o processo, com diversos valores de concentração. Não sendo possível, através da cinética, determinar conclusivamente a influência das variáveis em estudo. Com isso, foi utilizada a metodologia de planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>. Através dos modelos matemáticos empíricos obtidos com o estudo e a partir das análises de superfícies de resposta, verificou-se que a variável de maior influência sobre o rendimento e produtividade do processo foi a concentração de etanol que apresentou um valor ótimo em 4,0%. O nitrogênio apresentou uma discreta influência a uma concentração de 1,7 g.mL<sup>-1</sup>, enquanto o fósforo não exerceu nenhuma influência perceptível.

ALCÂNTARA E SWARNAKAR (2002) estudaram a metodologia de superfície de resposta e avaliaram a eficiência da fermentação acética na obtenção de vinagre a partir do etanol num reator batelada na temperatura ambiente e na escala de bancada. As concentrações de entrada (fatores independentes) foram: concentrações iniciais de ácido acético e etanol, obtendo como respostas: rendimento e produtividade. O rendimento da fermentação acética foi aproximadamente de 70 % e obteve seu valor da acidez máxima com 309 horas de reação, alcançando o valor de 8,81g/100mL. A produtividade, no início, foi de aproximadamente 0,2 g/L.h e no final do experimento foi de 0,16 g/L.h. Observou-se que o rendimento e a produtividade eram crescentes à medida que se aumentava os valores da concentração acética. Por outro lado, tanto o rendimento como a produtividade diminuíram seus valores a medida que a concentração alcoólica também diminuía.

Segundo estudos realizados por SOUTO et al. (2001), verificou-se os parâmetros da fermentação alcoólica em batelada alimentada, sem o controle de temperatura, comparando o desenvolvimento entre a variedade de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), industriais e comerciais (da marca Fleischmann). Os resultados foram; produtividade na faixa de 20 %, eficiência de 38 %, rendimento em etanol ( $Y_{P/S}$ ) de 38,5 % e velocidade máxima de crescimento ( $\mu_{MÁX}$ ) de 30 %, para a levedura industrial, a que apresentou valores mais altos para a metodologia aplicada.

Estudos realizados na Universidade Federal de Campina Grande, por SILVA (2003), avaliaram o aproveitamento do pedúnculo do caju para a produção de vinho de caju. A fermentação alcoólica foi operada em batelada agitado, utilizando levedura comercial Fleischmann. Obtiveram resultados de rendimento variando entre 51,65 a 63,10%, produtividade variando de 1,14 a 2,16 g/L.h,  $Y_{X/S} = 0,0678$  g/g,  $Y_{P/S} = 0,323$  g/g,  $\mu_{máx} = 0,05$  h<sup>-1</sup>.

## CAPÍTULO III

---

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 *Matéria-prima*

A matéria-prima utilizada neste trabalho foi uma amostragem de pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale L*), adquiridos e selecionados em feiras livres. Foram utilizados pedúnculos bem maduros e em bom estado de conservação para serem transformados em vinho de caju. A conversão das moléculas de sacarose contida no pedúnculo de caju para, basicamente, moléculas de etanol foi realizada através da fermentação alcoólica promovida pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*).

##### 3.1.2 *Vidraria*

Utilizou-se béqueres variando de 50 mL a 2.000 mL, vidro de relógio, bastão de vidro, espátula, provetas variando de 25 mL a 500 mL, kitassatos de 1.000mL com saída lateral, funil de vidro, funil de porcelana, garrafa para armazenar vinho, bureta de 50 mL, pipetas graduadas de 10 mL e erlenmeyeres de 125 mL.

### 3.1.3 Reagentes químicos e soluções

Os reagentes químicos e as soluções utilizadas na produção do vinho de caju foram os seguintes: solução de hipoclorito de sódio (NaHClO), gelatina em pó a 10% (comercial, incolor e inodora, ROYAL), metabissulfito de potássio ( $K_2S_2O_5$ ) (VETEC Química Fina Ltda, P.A.), sacarose ( $C_6H_{12}O_{11}$ ) açúcar comercial), fosfato de potássio ( $KH_2PO_4$ ) (VETEC Química Fina Ltda, P.A.), sulfato de amônio [ $(NH_4)_2SO_4$ ] (VETEC Química Fina Ltda, P.A.), fermento de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*, marca Fleischmann, 70% de unidade), água destilada, solução de hidróxido de sódio (NaOH) (VETEC Química Fina Ltda, a 0,112N), fenolftaleína ( $C_{20}H_{14}O_4$ ) (Química Moderna, a 1%) e soluções tampões (Ind. e Com. Eletro-Eletrônico Gehaka Ltda, a pH 4 e pH 7).

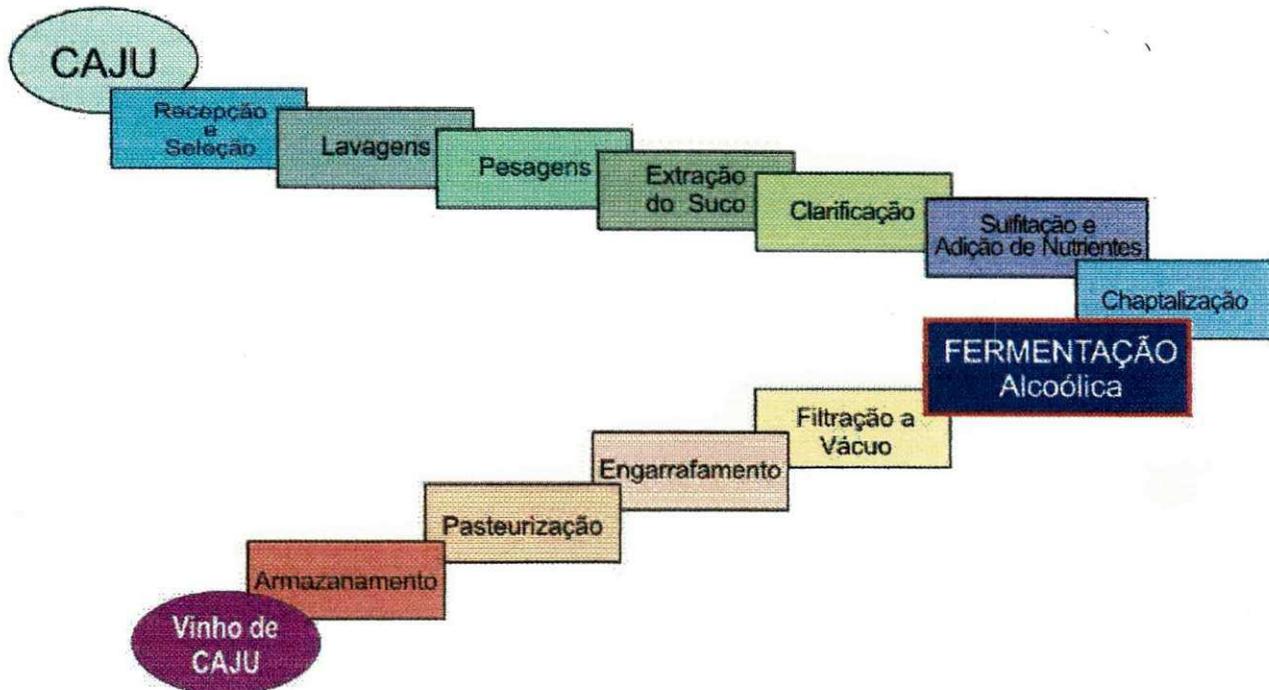
### 3.1.4 Equipamentos

Os equipamentos utilizados na produção do vinho de caju foram os seguintes: Reator (com capacidade de 10.000 mL), agitador magnético (Quimis Aparelhos Científicos Ltda), balança analítica (Ind. e Com. Eletro-Eletrônico Gehaka Ltda, com capacidade de até 2.000 g e precisão de quatro casas decimais), sacarímetros (INCOTHERM, com graduação de 0 a 10°Brix e de 10 a 20°Brix), termômetro (INCOTHERM, com graduação de 0 a 100°C), despulpador (liquidificador Mallory, com capacidade de 2000mL), centrifugador (Excelsa 3, Fanem Ltda), microscópio binocular (Olympus – BX 41, capacidade máxima de 1.000x), estufa (1195 AMP 42, De Leo Cia & Ltad, capacidade máxima de 120°C), Banho Maria (18 BU, B.Braun Biotech International, variação de 0 a 140°C), dessecador, Compressor (Modelo C, BD-503, Fanem Ltda), pHmetro (Metronic – pH ES3), ebuliômetro (Modelo 3300, Metalúrgica Leonardo Ltda, com graduação de 0 a 25°GL), suporte para bureta (Quimis Aparelhos Científicos Ltda), papel de filtro (JP40 – QUANTY, tarja preta), tecido de algodão, recipientes de 2.000mL, espátula de aço (ICALL), mangueiras, funil de porcelana e uma rolha com saída superior.

### 3.2 METODOLOGIA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Na Figura 3.1 tem-se um esquema da metodologia da produção de vinho de caju.

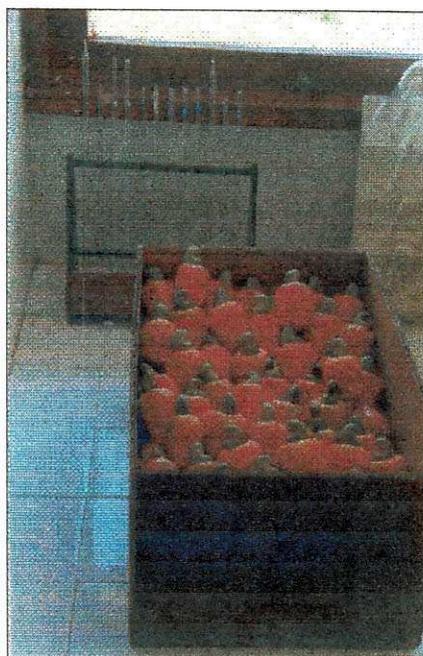
#### 3.2.1 Metodologia da produção do vinho de caju



**Figura 3.1** – Fluxograma da metodologia de produção de vinho de caju

A produção do vinho foi realizada no Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEQ/CCT/UFCG, em um Bioreator de polietileno com capacidade de 10 litros, sendo utilizados apenas 8 litros (volume útil). O processo utilizado neste trabalho está baseado no manual “Como fazer vinho de caju” ([www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm](http://www.ceara.tur.br/fazer/vprocesso.htm)), sofrendo sucintas alterações, visando obtê-lo por uma forma simplória, possibilitando o aproveitamento por indivíduos leigos no assunto. As etapas estão descritas abaixo em ordem cronológica.

### 3.2.1 a) *Recepção e seleção*



**Figura 3.2** – Matéria-prima recepcionada e selecionada

A recepção e a seleção é realizada a partir do recebimento da matéria-prima. Os frutos passam por uma seleção visando eliminar os frutos defeituosos, machucados, verdes ou muito maduros. A seleção é um ponto importante para garantir um produto de boa procedência, pois os frutos machucados apresentam perda de suco e contaminações. Os verdes não apresentam um teor de sacarose satisfatório. E os frutos muito maduros apresentam indícios de fermentação indesejáveis. É neste momento que temos as precauções necessárias para o transporte e o armazenamento das mesmas até a próxima etapa do processo. Todo o processo é realizado no momento da compra da matéria-prima, mostrados na Figura 3.2.

### 3.2.1 b) *Lavagens*

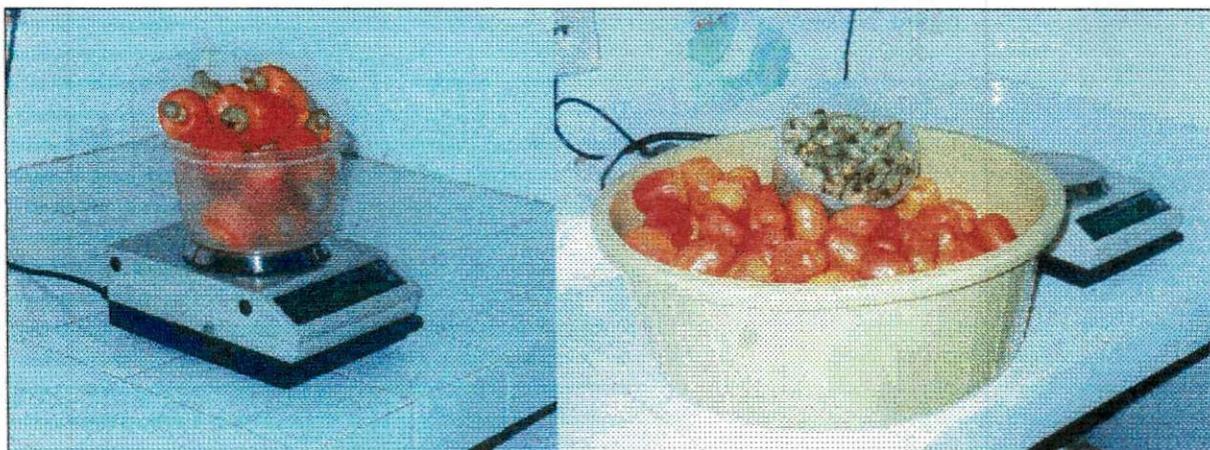
As lavagens foram feitas com água clorada visando eliminar os microrganismos e as sujeiras mais grosseiras aderidas aos caju. Colocou-se a matéria-prima em imersão na água durante 15 minutos. Em seguida realizou-se uma nova lavagem em água corrente objetivando a retirada das sujeiras finas e, principalmente, para eliminar o resíduo de cloro remanescente da lavagem anterior. Conforme a Figura 3.3.



**Figura 3.3** – Lavagens: com água clorada (A) e em água corrente (B)

### 3.2.1 c) *Pesagens*

Realizou-se pesagens, em uma balança analítica, com o objetivo, ao fim do processo, de verificar o rendimento da produção. Foi feita pesagem da fruta (o conjunto; pseudofruto e o verdadeiro fruto). Seguindo de uma descastanhagem, separando o pedúnculo da castanha, onde ambos foram pesados separadamente. Posteriormente pesou-se o resíduo da extração do suco (o bagaço), após a etapa subsequente (Figura 3.4).

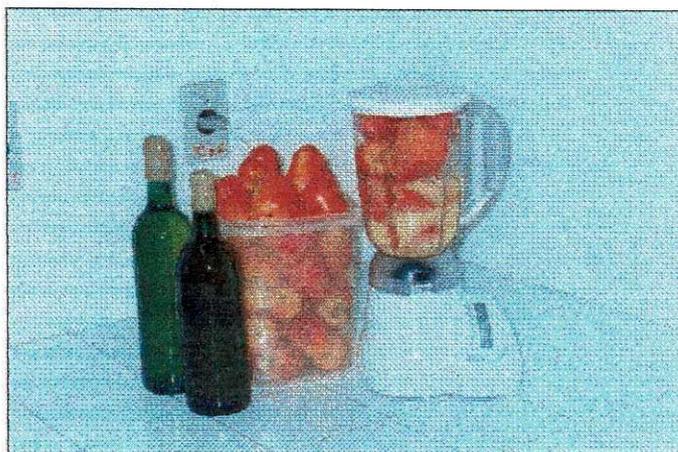


**Figura 3.4** – Pesagem (A), após descastanhagem (B)

### 3.2.1 d) *Extração do suco*

Esta etapa do processo visa obter um suco natural livre de fibras. A despulpagem do pedúnculo foi realizada por um processo mecânico com o auxílio de um liquidificador doméstico, obtendo uma massa pastosa. Em seguida foi feita a separação do suco da parte

fibrosa, o bagaço, através de uma filtragem em tecido de algodão bastante limpo, fazendo-se torções para a direita e para a esquerda (Figura 3.5).



**Figura 3.5** – Triturador para obtenção do suco

### 3.2.1 e) Clarificação

A etapa de clarificação (Figura 3.6) visa a remoção da pectina que é um polissacarídeo encontrada em níveis mais elevados em frutas de origem tropical. Sua presença no mosto ocasiona o surgimento de uma substância conhecida como o metanol que, se ingerida pelos seres humanos, podem causar doenças. A clarificação foi realizada com o uso de uma solução de gelatina a 10% (comercial, incolor e inodora), numa proporção de 3 mL/litro de suco, adicionando-a ao suco e a homogeneizando. Após 10 minutos, aproximadamente, observou-se uma floculação da gelatina com a pectina. Logo em seguida foi feito novamente uma filtragem similar a anterior, separando a pectina que floculou com a gelatina do suco clarificado, este apresentando-se com aspecto mais límpido que antes desta etapa.



**Figura 3.6** – Clarificação do suco

### 3.2.1 f) *Sulfitação e adição de nutrientes*

A sulfitação foi realizada com o fim de desinfectar o suco, tendo a finalidade de eliminar fenômenos indesejáveis durante a fermentação, como o escurecimento e a proliferação de microrganismos. O metabissulfito de potássio, foi adicionado ao mosto numa concentração de 3 gramas para cada 10 litros de suco clarificado. Dissolveu-se previamente o sal em uma porção de suco e, a seguir, com agitação, misturou-se essa solução ao restante do líquido.

A adição de nutrientes, fósforo e nitrogênio, foi realizada visando suplementar, satisfatoriamente, as necessidades do microrganismo. Esses dois nutrientes foram adicionados ao suco nas formas de fosfato de potássio e sulfato de amônio, nas concentrações de 0,6 e 0,2 gramas para cada litro de suco, respectivamente. Os reagentes podem ser observados na Figura 3.7.



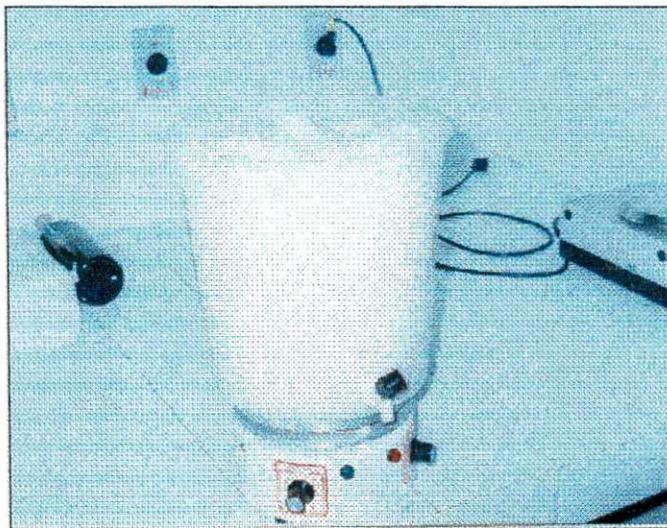
**Figura 3.7** – Reagentes utilizados para a produção do vinho de caju

### 3.2.1 g) *Chaptalização*

A Chaptalização é a etapa do processo caracterizada pela a adição do substrato, a sacarose, ao mosto. Isso para obter um produto com a graduação alcoólica dentro das legislação brasileira, que prediz a graduação de vinhos, devendo está no intervalo de 10 a 13°GL (AQUARONE & ZANCANARO Jr., 1983). Foi adicionado 210 gramas de sacarose para cada litro de suco. Esta quantidade foi dividida em duas partes, onde a primeira adição foi de 30g/L, a segunda adição (180g/L) só foi feita após ter sido consumida, aproximadamente, toda a sacarose primeiramente adicionada. Esta divisão é feita para evitar a inibição do microrganismo pelo o substrato.

### 3.2.1 h) Fermentação

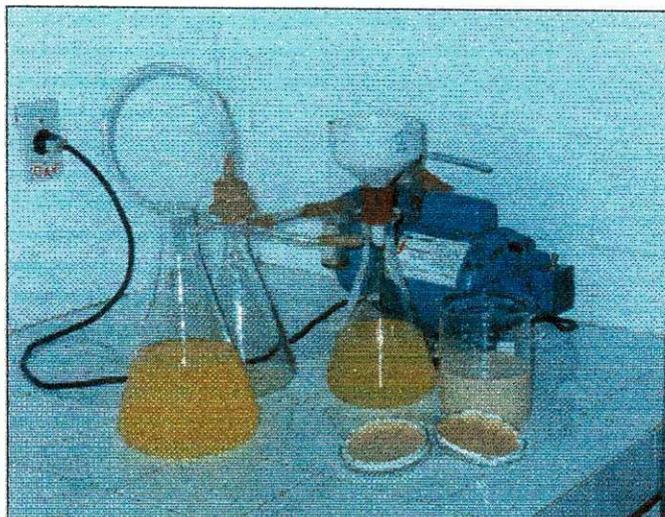
A fermentação consiste na inoculação do mosto pelo o microrganismo. Onde o microrganismo utilizado foi o *Saccharomyces cerevisiae*, fermento de panificação, este utilizado por ser mais acessível e de fácil manipulação, uma vez que tentamos simplificar o máximo o processo. A fermentação foi conduzida em reator batelada agitado com capacidade de 10 litros. Foram adicionadas 20 gramas do inóculo para cada litro de mosto. Houve um acompanhamento, em intervalos de duas horas, da concentração de substrato, até que a mesma alcance valores próximos de zero. Com isso foi adicionada a segunda adição de sacarose, repetindo-se os mesmos passos até que o substrato seja consumido até níveis próximo de zero com a finalidade de se obter um vinho de caju do tipo seco (Figura 3.8). Com o fim da segunda fermentação iniciamos a remoção do microrganismo.



**Figura 3.8** – Bioreator, durante a fermentação alcoólica do vinho de caju.

### 3.2.1 i) Filtração à vácuo

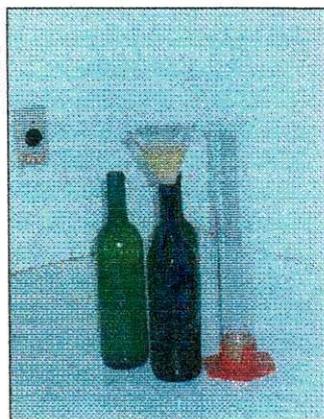
A filtração à vácuo foi realizada com a finalidade de se retirar os resíduos do agente fermentativo (Figura 3.9). Foram utilizados dois kitassatos de 1.000mL, um filtro de porcelana, papéis de filtro tarja preta, um compressor e mangueiras para conexão.



**Figura 3.9** – Filtração à vácuo.

### 3.2.1 j) Engarrafamento

O engarrafamento foi feito em garrafa apropriada para vinhos de vidro verde escuro, com o fundo côncavo e rolhas de cortiça, vedadas com fita plástica adesiva (Figura 3.10).

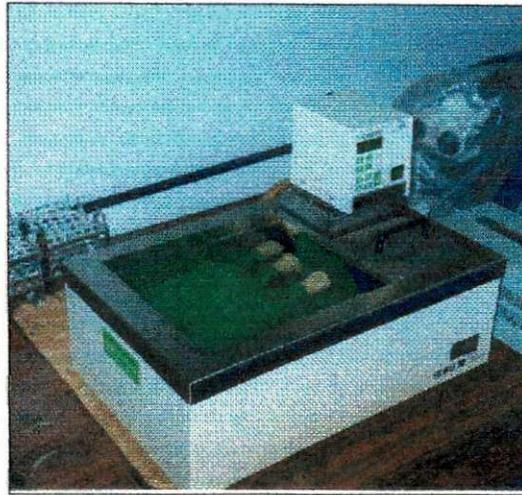


**Figura 3.10** – Engarrafamento

### 3.2.1 l) Pasteurização

O Processo de Pasteurização visa a eliminação de microrganismos indesejáveis, inclusive resíduos remanescente do fermento, por choque térmico. Foi feito em água previamente aquecida a uma temperatura de 65°C durante 30 minutos. O equipamento é

um tanque de aço inoxidável provido de serpentina de aquecimento elétrico (banho-maria). O choque térmico foi realizando, com o resfriamento das garrafas em água corrente (Figura 3.11).



**Figura 3.11** – Pasteurização em banho-maria.

O Processo de pasteurização visa a eliminação de microrganismos indesejáveis, inclusive resíduos remanescente do fermento, por choque térmico. Foi feito em água previamente aquecida a uma temperatura de 65°C durante 30 minutos. O equipamento é um tanque de aço inoxidável provido de serpentina de aquecimento elétrico (banho-maria). O choque térmico foi realizando, com o resfriamento das garrafas em água corrente (Figura 3.11).

#### 3.2.1 *m) Armazenamento*

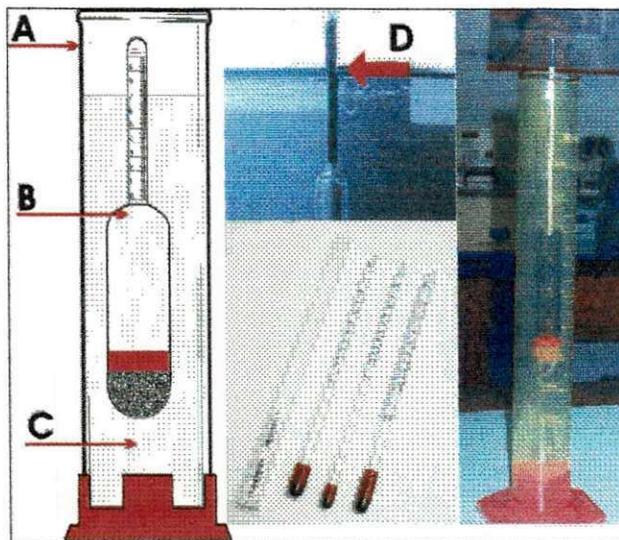
As garrafas foram mantidas deitadas em prateleiras comuns de madeira, para evitar o ressecamento das rolhas e ao abrigo da luz.

#### 3.2.2 *Metodologia das análises e cálculos*

No processo de produção do vinho de caju, durante a fermentação alcoólica, foi verificado as variáveis: concentração de sacarose (g/L), concentração de biomassa (g/L),

concentração de ácidos totais (g/100ml, expresso em ácido acético), monitoria de pH e concentração de etanol (g/L). As análises foram realizadas em períodos de duas horas, durante 48 horas de fermentação. A metodologia de cada análise citada anteriormente estão discriminadas abaixo. Também foram realizadas análises para determinar a concentração de metanol no vinho. As análises foram feitas através da cromatografia gasosa, no Laboratório de Qualidade do Álcool da GIASA S.A.

### 3.2.2 a) Determinação da concentração de sacarose



**Figura 3.13** – Figura da determinação do °Brix. A esquerda, A) proveta de 500mL; B) densímetro (sacarímetro); C) líquido a ser determinado o °Brix; No centro acima D) ponto de leitura do °Brix. No centro abaixo, vários sacarímetros de graduações diversas. A direita fotografia da determinação experimental do °Brix.

Material utilizado:

- Areômetro de °Brix escala de 0 a 10 e de 10 a 20, aferido a 20°C;
- Termômetro de 0 a 100°C;
- Proveta de 500 mL.

Técnica:

Inicialmente, para determinar a concentração de sacarose, lavou-se a proveta com o mosto e a encheu. Depois emergiu-se cuidadosamente o areômetro até o ponto de

afloramento, tendo a cautela de evitar choque com as laterais da proveta e tomando o cuidado de não molhar a haste acima deste ponto, aguardou-se por alguns segundos e fez-se a leitura anotando o °Brix não corrigido. Introduziu-se o termômetro, aguardando dois minutos e anotar a temperatura. Com o auxílio da Tabela A<sub>2</sub> em anexo, corrigiu-se o °Brix em função da temperatura, obtendo-se o °Brix *corrigido* para a temperatura de 20°C, com isso possibilitando o cálculo da concentração de sacarose expresso em gramas por litro. As equações para obter o °Brix *corrigido* e que o relaciona com a concentração de sacarose encontra-se descrita abaixo:

$$^{\circ}\text{Brix corrigido} = ^{\circ}\text{Brix não corrigido} \pm \text{o fator de correção} \quad (3.1)$$

$$S \text{ (g/L)} = (^{\circ}\text{Brix corrigido}) \times 10,13 + 1,445 \quad (\text{Curva de Calibração}) \quad (3.2)$$

onde:

S = concentração de sacarose (g/L)

### 3.2.2 b) *Determinação da Concentração de Biomassa:*

Material:

- Estufa de laboratório;
- Suporte universal;
- Papel de filtro (tarja preta);
- Funil de vidro;
- Pipeta graduada de 10 mL;
- Béquer de 100 mL;
- Relógio para marcação de tempo.

Técnica:

Pesou-se o papel de filtro seco e se fez a anotação. Colocou-se o papel de filtro no funil de vidro e o fixou no suporte universal. Retirou-se uma alíquota da amostra e se mediu 20 mL, em uma pipeta, a transferindo para o papel de filtro, realizando a filtração.

Após a filtração, transferiu-se para a estufa, o papel de filtro mais o resíduo da filtragem, a uma temperatura em torno de 50°C durante 6 horas, aproximadamente. Ao fim do tempo de secagem, pesou-se novamente o conjunto e anotou para fins de cálculo.

$$P_x (g) = P_c - P_p \quad (3.3)$$

onde:

$P_x$  = Peso da amostra da biomassa (g)

$P_c$  = Peso do conjunto (papel de filtro + amostra da biomassa), seco (g)

$P_p$  = Peso do papel de filtro seco (g)

$$X (g/L) = \frac{P_x (g)}{V_A (mL)} \times \frac{1000 (mL)}{1 (L)} \quad (3.4)$$

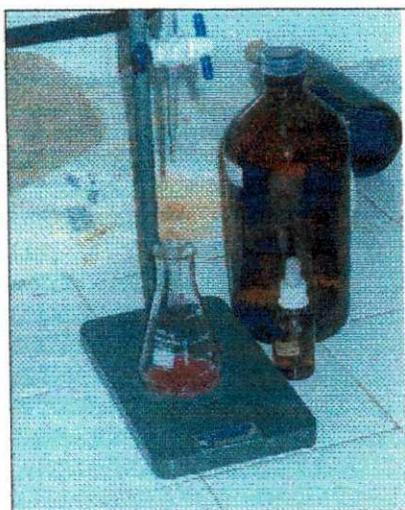
onde:

$P_x$  = Peso da amostra da biomassa (g)

$V_A$  = Volume da amostra pipetada para a filtração (20mL)

$X(g/L)$  = Concentração de Biomassa (g/L)

### 3.2.3 c) Determinação da concentração de ácidos totais



**Figura 3.15** – Titulação Volumétrica de Neutralização.

Material:

- Bureta de 50 mL
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Solução de 0,112 N de hidróxido de sódio (NaOH)
- Solução de fenolftaleína a 1,0%

Técnica:

A técnica utilizada para a determinação está baseada na Titulação Volumétrica de Neutralização. Onde se pipetou para o erlenmeyer 2 mL da amostra e adicionou 2 mL de água destilada e 3 gotas solução de fenolftaleína a 1,0% e promoveu agitação. Titulou com a solução de hidróxido de sódio até o ponto de virada, repetiu-se a titulação para nos dar confiabilidade nos dados. Anotou-se o volume gasto na titulação, para os cálculos.

$$A \text{ (g/100mL)} = \frac{N_b \times V_b \times M_{eq}}{V_A} \times 100 \quad (3.5)$$

onde:

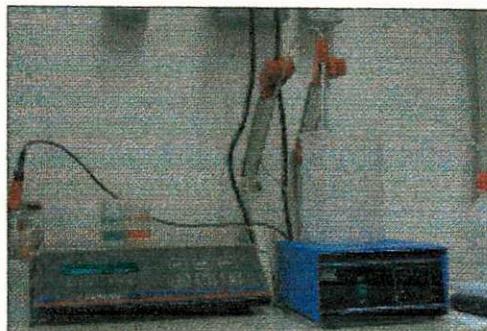
$N_b$  = normalidade da base (NaOH, 0,112N)

$V_b$  = volume da base gasto na titulação (mL)

$M_{eq}$  = miliequivalente do ácido acético (0,06)

$V_a$  = volume da amostra (mL)

A = Concentração de ácidos totais expresso em porcentagem de ácido acético (g/100mL)

3.2.2 d) *Análise de pH*

**Figura 3.16** – Equipamento utilizado na determinação do pH

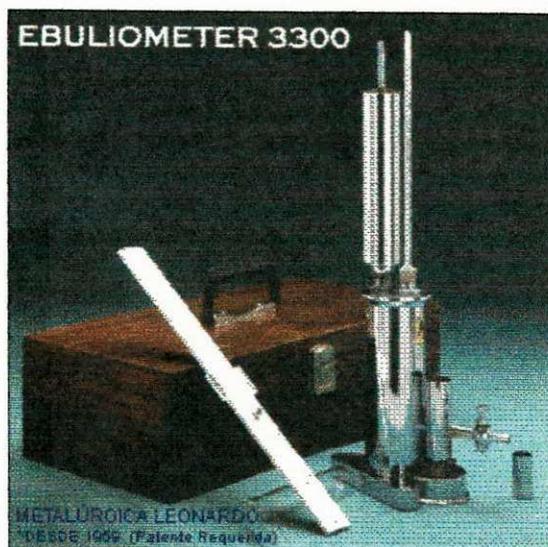
Material:

- pHmetro;
- Béquer de 100 mL
- Solução tampão pH 7,0
- Solução tampão pH 4,0
- Termômetro

Técnica:

Aferiu-se o pHmetro com solução tampão de pH = 7,0 e pH = 4,0 (pelo menos uma vez por dia). *Calibração*: transferiu-se cerca de 50 mL, da solução tampão pH = 4,0, para um béquer de 100 mL. Imergiu-se o eletrodo na solução, cobrindo o bulbo de vidro. Fez-se a leitura da temperatura e corrigir por meio do botão compensador de temperatura, girando o botão para a posição de determinação do pHmetro. Logo em seguida leu-se diretamente na escala do aparelho e fez-se a calibração necessária. Retirou-se o eletrodo, lavando-o com água destilada. Repetiu-se o procedimento para a solução tampão pH = 7,0, obtendo o pHmetro devidamente calibrado. Com isso transferiu-se 50 mL, da solução a ser analisada, para uma béquer, imergiu-se o eletrodo na solução a ser determinado o pH, cobrindo o bulbo de vidro. Fez-se a leitura da temperatura e corrigir se necessário por meio do botão compensador de temperatura e em seguida leu-se diretamente na escala do aparelho e anotou o valor do pH da solução em teste o pH lido e igual o pH da solução analisada. Retirou-se o eletrodo, lavando-o com água destilada. Voltou o botão para a posição neutra e deixou o eletrodo imerso em um béquer, contendo água destilada.

### 3.2.2 e) Determinação da concentração de etanol:



**Figura 3.17** – Ebulliômetro: equipamento utilizado para a determinação do °GL.

#### Material:

- Ebulliômetro
- Termômetro
- Régua de Conversão
- Lamparina à álcool

#### Técnica:

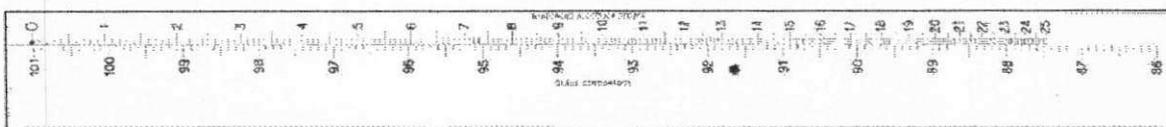
A determinação da concentração de etanol foi realizada a partir do equipamento Ebulliômetro, este determina a porcentagem alcoólica (°GL - Graus Gay Lussac). Iniciamos a verificação da concentração alcoólica com a calibração e verificação da confiabilidade do equipamento, pois o equipamento nunca foi utilizado anteriormente.

O ebulliômetro é composto de; uma caldeira, onde fica o líquido a ter seu teor alcoólico determinado, um condensador, que foi acoplado a caldeira, onde este condensa gases, provenientes do líquido contido na caldeira, principalmente o etanol volatilizado, evitando a variação da concentração alcoólica da amostra, nos mascarando o valor

verdadeiro da concentração. Criando, assim um refluxo. Ainda possui uma lamparina, que fornece aquecimento a caldeira, até que o ponto de ebulição do etanol, daí o nome ebuliômetro. Também acoplamos a caldeira uma termômetro para observa a temperatura de ebulição. E possui um tubo de ensaio de vidro com duas graduações para auxiliar a medições dos volumes utilizados, tanto nas análise com nas calibrações.

- *Calibração*: Iniciamos a calibração, após a montagem, determinando da temperatura de ebulição a água, enchendo-se o tubo de ensaio de vidro com água fria até o traço inferior (gradação para 15 mL), transferiu-se pelo orifício da caldeira, conectou-se o termômetro, em seguida acendeu-se lamparina e a conectou a caldeira. Observou-se até que a temperatura estabilizada, aproximadamente 3 minutos, anotou-se o seu valor. Finalmente deixou-se escoar a água existente na caldeira para seguir com a determinação.

A determinação da graduação alcoólica em °GL (graus Gay Lussac) se procedeu de forma similar a calibração. Pelo orifício da caldeira foi colocado um pouco da amostra a ser analisada, a fim de realizar uma lavagem na caldeira evitando assim contaminações ou possíveis diluições. O resíduo da lavagem foi escoado pela torneira da caldeira. E seguida adicionou, com auxilio do tubo de ensaio, o volume indicado no traço superior (50 mL) a amostra a ser analisada. Em seguida encheu-se o condensador com água fria, acendeu-se a lamparina bem centrada sob a caldeira e no orifício da caldeira colocou-se o termômetro para medir e anotar o valor da temperatura de ebulição da amostra, aguardou-se que a temperatura se estabilizasse, que durou aproximadamente 5 minutos.



**Figura 3.18** – Régua de conversão da temperatura de ebulição para °GL

Com a temperatura de ebulição da água e da amostra, prosseguimos com a determinação da concentração alcoólica da amostra, utilizando a régua de conversão. Primeiramente alinhamos a temperatura de ebulição da água com a marca zero da escala Gay Lussac (°GL), em seguida visualizamos diretamente a graduação alcoólica comparando a temperatura de ebulição da amostra analisada, segunda as Figuras 3.17 e 3.18.

Exemplo:

Temperatura de ebulição da água 99,8 °C

Temperatura do líquido analisado 93,1 °C

Portanto, a leitura obtida na régua será 8,4 °GL, ou seja, 8,4% de álcool puro em volume.

A partir da graduação alcoólica na escala Gay Lussac (°GL), obtivemos a concentração de etanol expressa em g/L, pela a equação Eq. (3.7). Partindo do princípio que 1°GL equivale a 1% de etanol, que por sua vez equivale a 1mL/100mL, segundo a equação (3.6).

$$1^{\circ}\text{GL} \longrightarrow 1\% \text{ de Etanol} \longrightarrow \frac{1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = \frac{1^{\circ}\text{GL}}{100} \quad (3.6)$$

$$P \text{ (g/L)} = \rho_{\text{Alcool}} \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left( \frac{^{\circ}\text{GL}}{100} \right) \times 1 \left( \frac{\text{L}}{\text{L}} \right) \quad (3.7)$$

$$P \text{ (g/L)} = 0,7895 \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{^{\circ}\text{GL}}{100} \times \frac{1000}{1} \left( \frac{\text{mL}}{\text{L}} \right) \quad (3.8)$$

onde:

$P$  = Concentração de etanol (g/L);

$\rho_{\text{Alcool}}$  = Densidade específica do etanol (0,7895 g/mL)

Para obtermos a concentração de etanol expressa em mL de etanol por litro de vinho, observa-se a equação, em anexo.

### ***Teste da Confiabilidade do Ebulliômetro (Modelo 3300)***

Foram preparadas três soluções alcoólicas nas concentrações: 5, 10 e 15% para verificar a confiabilidade no uso do ebulliômetro (Figura 3.16), os resultados dos experimentais encontram-se na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1** – Soluções alcoólicas para calibração do ebuliômetro

Concentração alcoólica (%)	Teor alcoólico experimental (%)	Erro experimental (%)
(1)	(2)	$\frac{ (2)-(1) }{2} \times 100$
5,0	5,2	3,85
10	9,95	0,50
15	14,7	2,04

### 3.2.3 Cálculos do rendimento e da produtividade da produção do vinho de caju

Foi necessário avaliar o processo de produção do vinho de caju. As variáveis que nos respaldam, nesta avaliação, foram: rendimento (%) e produtividade (g/L.h). Com isso a metodologia dos cálculos utilizada, estão disposta à seguir.

#### 3.2.3 a) Rendimento da produção do vinho de caju

O rendimento da fermentação foi calculado a partir da expressão (3.9), utilizando-se os valores das concentrações de etanol (g/L) experimentais (produzido) em função das concentrações de etanol (g/L) teóricas. Sendo expressa em porcentagem.

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{Q_{\text{EXP}}}{Q_{\text{TEO}}} \times 100(\%) \quad (3.9)$$

onde:

$Q_{\text{EXP}}$  = Concentração de etanol experimental;

$Q_{\text{TEO}}$  = Concentração de etanol teórico;

Rendimento = Rendimento do processo (%).

A concentração de etanol produzida é dada pela equação (3.9.1), expressa em mL de etanol por litro de vinho.

$$Q_{\text{TEO}} = S_{\text{Cons.}} \frac{\text{g de sacarose}}{\text{L de vinho}} \times 0,6819 \frac{\text{mL de etanol}}{\text{g de sacarose}} \quad (3.9.1)$$

onde;

$Q_{\text{TEO}}$  = Concentração de etanol teórica em mL/ L

### 3.2.3 b) *Produtividade da produção do vinho de caju*

A produtividade (velocidade de produção) da fermentação foi calculado a partir da expressão (3.10), utilizando-se os valores das concentrações de etanol (g/L) experimentais (produzido) em função do tempo de fermentação, como se segue abaixo.

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = \frac{P}{t} \quad (3.10)$$

onde:

$Q_{\text{EXP}}$  = Concentração de etanol experimental (g/L);

t = Tempo de fermentação (h);

Produtividade = Produtividade do processo (g/L.h).

### 3.2.3 c) *Rendimento em relação a fruta*

Foi verificado o rendimento em relação a fruta e o processamento para obter o suco clarificado. Com isso temos uma perspectiva para o aproveitamento da fruta para a produção do vinho de caju e a viabilidade na sua produção em escalas artesanal, micro-empresarial e industrial. Os cálculos dos rendimentos são relações simples entre os pesos e volumes, feitos na etapa da produção, citada anteriormente no item, 3.2.1 c) *Pesagens*. As relações e seus, respectivos, cálculos se encontram dispostos abaixo:

**Relação peso do suco pelo peso do pedúnculo:** esta relação nos informa, aproximadamente, quanto de suco integral é extraído do pedúnculo, expresso em porcentagem. Nos retratando quanto a fruta possui de sua parte líquida. Segundo a equação 3.11.

$$P_{\text{Suco}}/P_{\text{Pedúnculo}} = \frac{P_{\text{Suco}}}{P_{\text{Pedúnculo}}} \times 100\% \quad (3.11)$$

onde:

$P_{\text{Suco}}$  = Peso do suco integral (g);

$P_{\text{Pedúnculo}}$  = Peso do pedúnculo (g);

$P_{\text{Suco}}/P_{\text{Pedúnculo}}$  = Relação peso do suco integral pelo peso do pedúnculo (%).

**Relação Volume do Suco limpido pelo Peso do Pedúnculo:** esta relação nos informa, aproximadamente, quanto de suco limpido (após o processo de clarificação) é extraído do pedúnculo, expresso em porcentagem. Segundo a equação 3.12.

$$V_{\text{Suco}}/P_{\text{Pedúnculo}} = \frac{V_{\text{Suco}}}{P_{\text{Pedúnculo}}} \times 100\% \quad (3.12)$$

onde:

$V_{\text{Suco}}$  = Volume do suco limpido (mL);

$P_{\text{Pedúnculo}}$  = Peso do pedúnculo (g);

$V_{\text{Suco}}/P_{\text{Pedúnculo}}$  = Relação volume do suco limpido pelo peso do pedúnculo (%).

**Relação volume do vinho pelo peso do suco:** esta relação nos informa, aproximadamente, quanto de vinho é obtido a partir do suco integral, expresso em porcentagem. Segundo a equação 3.13.



$$V_{\text{Vinho}}/P_{\text{Suco}} = \frac{V_{\text{Vinho}}}{P_{\text{Suco}}} \times 100\% \quad (3.13)$$

onde:

$V_{\text{Vinho}}$  = Volume do vinho (mL);

$P_{\text{Suco}}$  = Peso do suco integral (g);

$V_{\text{Vinho}}/P_{\text{Suco}}$  = Relação volume do suco limpido pelo peso do suco integral (%).

**Relação peso do bagaço pelo peso do pedúnculo:** esta relação nos informa, aproximadamente, quanto de bagaço é obtido a partir do pedúnculo, expresso em porcentagem. Nos revelando quanto de parte fibrosa consta na fruta. Vejamos a equação 3.14.

$$P_{\text{Bagaço}}/P_{\text{Pedúnculo}} = \frac{P_{\text{Bagaço}}}{P_{\text{Pedúnculo}}} \times 100\% \quad (3.14)$$

onde:

$P_{\text{Bagaço}}$  = Peso do bagaço (g);

$P_{\text{Pedúnculo}}$  = Peso do pedúnculo (g);

$P_{\text{Bagaço}}/P_{\text{Pedúnculo}}$  = Relação peso do bagaço pelo peso do pedúnculo (%).

### 3.3 MATERIAIS UTILIZADOS NA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

#### 3.3.1 Matéria-prima

Partindo do ponto de parada da fermentação alcoólica, o vinho de caju se tornou a matéria-prima utilizada para a fermentação acética (produção de vinagre). O vinho de caju utilizado foi do tipo seco, produzido no Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEQ/CCT/UFCG.

### 3.3.2 Vidraria

Os materiais de vidro utilizados na produção do vinagre de caju foram os seguintes: béqueres de 50 a 600 mL, provetas de 100mL, bureta de 50 mL, pipetas de 10 mL, erlenmeyers de 125 mL, kitassatos de 1.000mL, bastão de vidro e funil de porcelana.

### 3.3.3 Reagentes químicos e soluções

Os reagentes químicos e as soluções utilizadas na produção do vinagre de caju foram os seguintes: água destilada, solução de hidróxido de sódio(NaOH) (VETEC Química Fina Ltda, a 0,112N), fenolftaleína (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>) (Química Moderna, a 1%), álcool etílico comercial (Tubarão, Industria Reunidas Raymundo da Fonte S/A, hidratado diluído, 46°INPM), vinagre forte (inoculante) (LAPI/DEQ/CCT/UFCG, 7,8g/100mL), vinho de caju (LEBQ/DEQ/CCT/UFCG, 9,8°GL).

### 3.3.4 Equipamentos

Os equipamentos utilizados na produção do vinagre de caju foram os seguintes: Reator 1 (com capacidade de 50.000 mL), balança analítica (Ind. e Com. Eletro-Eletrônico Gehaka Ltda, com capacidade de até 2.000 g e precisão de quatro casas decimais), termômetro (INCOTHERM, com graduação de 0 a 100°C), Banho Maria (18 BU, B.Braun Biotech International, variação de 0 a 140°C), Compressor (Modelo C, BD-503, Fanem Ltda), pHmetro (Metronic – pH ES3), ebuliômetro (Modelo 3300, Metalúrgica Leonardo Ltda, com graduação de 0 a 25°GL), suporte para bureta (Quimis Aparelhos Científicos Ltda), papel de filtro (JP40 – QUANTY, tarja preta) e mangueiras.

3.4 METODOLOGIA DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

3.4.1 Metodologia da produção do vinagre de vinho de caju

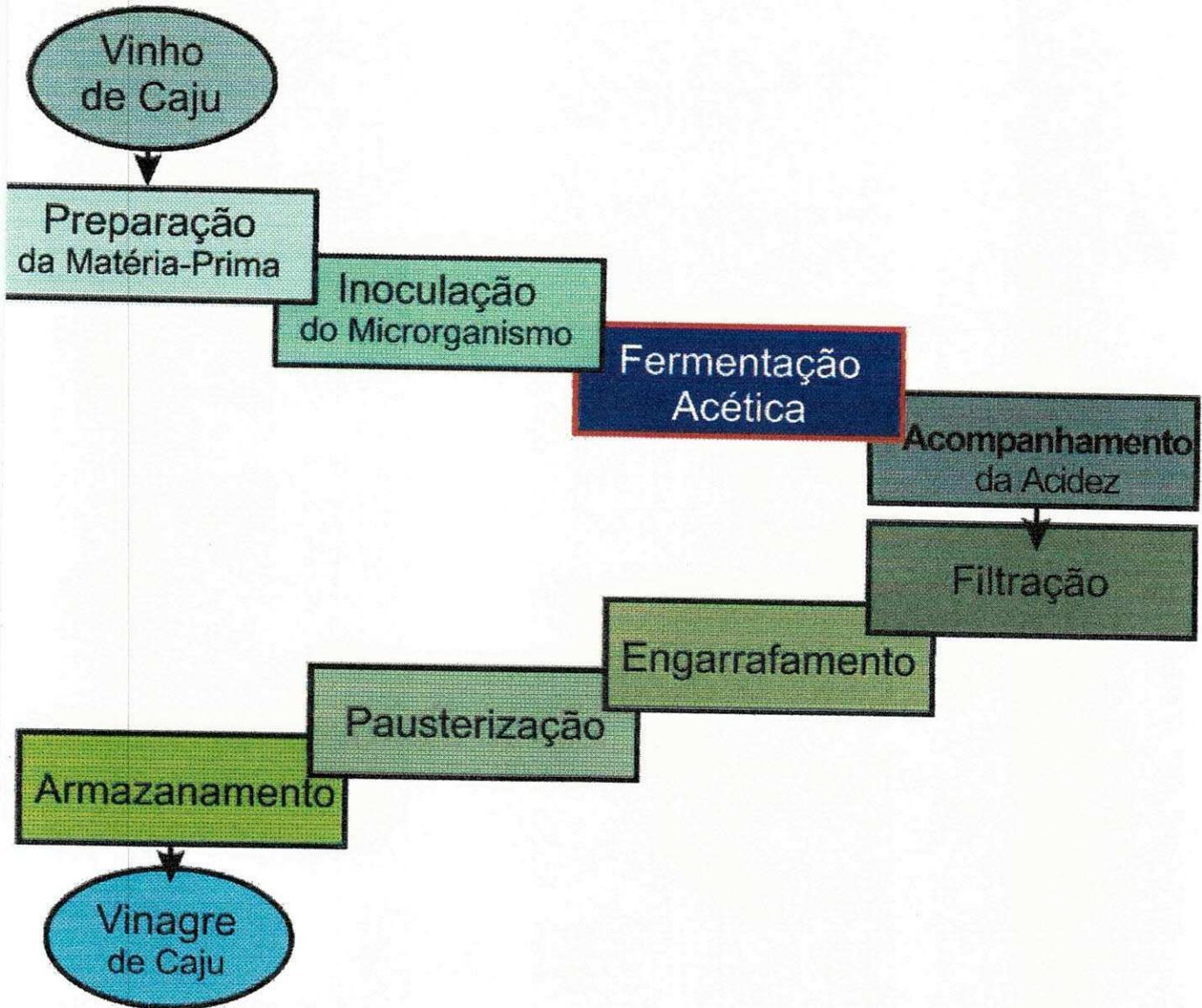
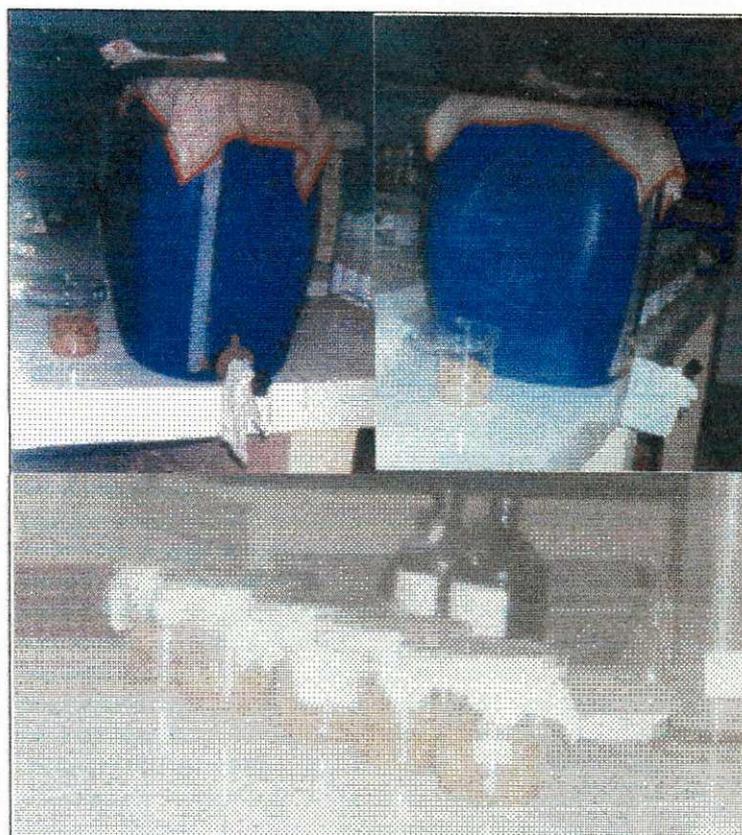


Figura 3.19 – Fluxograma da metodologia da produção do vinagre de vinho de caju



**Figura 3.18** – Reatores utilizados nos ensaios da produção de vinagre de vinho de caju. Reator 1 (A) e reatores 2 (B)

A produção do vinagre de vinho de caju foi realizada no Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEQ/CCT/UFCG. Previamente foi utilizado um reator de polietileno com a capacidade de 50 L (denominado Reator 1, Figura 3.18), o mesmo possui uma torneira na parte inferior destinada para coleta de amostras de vinagre. Tais amostras foram utilizadas para o processamento do vinagre, nas concentrações iniciais do planejamento experimental fatorial (Capítulo 3.4.2), bem como a sua inoculação, uma vez que o vinagre não foi submetido a um processo de esterilização (vinagre forte), tornando o vinagre, contidos no Reator 1, rico em microrganismo acidificantes. As experiências para o planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup>, foram conduzidas em 7 reatores confeccionados, a partir de béqueres de 600mL, (denominados como Reator 2).

#### 3.4.1 a) *Preparação da matéria-prima*

A preparação da matéria-prima se iniciou com a pesagem de 100g de bagaço de cana-de-açúcar retirado do Reator 1, adicionando 100mL de solução de vinho de caju, de

concentrações iniciais predeterminadas para cada um dos setes ensaios, com forme a Tabela 3.2, à temperatura ambiente e tempo de fermentação fixa.

#### 3.4.1 b) *Inoculação do Microrganismo*

Para a condução e processamento da oxidação acética do vinho de caju foram utilizadas bactérias acéticas presentes no vinagre forte (vinagre não pasteurizado) e no próprio bagaço de cana-de-açúcar retirado do Reator 1 de produção de vinagre de etanol do LAPI (Laboratório de Produção Industrial). Tais bactérias são selecionadas espontaneamente, em função das condições de acidez do meio em que são mantidas. Para isso foi adicionado 100mL de vinagre forte para cada um dos setes ensaios (Reator 2), com concentrações iniciais predeterminadas, conforme a Tabela 3.2.

A cinética de transformação de vinho de caju em vinagre foi seguida em termos de quantidade de ácido acético formado em diferentes intervalos de tempo da reação.

#### 3.4.1 c) *Fermentação acética*

Com a inoculação do microrganismo se deu início a fermentação acética, processo pelo qual, as bactérias acéticas, acidificam o vinho de caju, convertendo as moléculas de etanol, basicamente, em moléculas de ácido acético.

#### 3.4.1 d) *Acompanhamento da acidez durante a fermentação acética*

A concentração do vinagre forte foi determinada, pelo método de titulação volumétrica de neutralização, expressa em % de ácido acético (g / 100mL), no método utilizou-se alíquotas (2mL), com solução de hidróxido de sódio (0,127N) na presença do indicador fenolftaleína a 1,0% [similar à secção 3.2.2 c)]. Em intervalos regulares de, aproximadamente, de cinco horas.

#### 3.4.1 e) *Filtração à vácuo*

Foram realizadas duas filtrações com a finalidade de se retirar o máximo possível de resíduos da fermentação existentes no produto final [similar a secção 3.2.1 i)]. Depois das filtrações, foi realizada a análise do produto final: acidez total (pelo método de

titulação volumétrica de neutralização), para verificar se o vinagre obtido estava dentro das especificações, de acordo com a legislação brasileira, ou seja, 40 g/L ou 4,0% em ácido acético.

#### 3.4.1 f) *Engarrafamento*

O engarrafamento foi realizado em garrafas plásticas transparentes de 500mL, apropriada para vinagre e tampadas manualmente.

#### 3.4.1 g) *Pasteurização*

As garrafas fechadas foram colocadas em água a 65° C, em tanque de aço inoxidável provido de serpentina de aquecimento elétrico (banho-maria), durante 30 minutos. O resfriamento das garrafas foi realizado em outro recipiente contendo água corrente fria até a temperatura ambiente. Similar a secção 3.2.1 I).

#### 3.4.1 h) *Armazenamento*

As garrafas transparentes foram mantidas em prateleiras comuns de madeira, na posição vertical com a tampa voltada para cima, em local arejado.

### 3.4.2 *Metodologia das análises e cálculos*

#### 3.4.3 a) *Determinação da concentração de ácido acético*

A determinação da concentração de ácido acético foi realizada da mesma maneira da secção 3.2.2 c) *Determinação da concentração de ácidos totais*, no vinho de caju. Isso só é possível pelo fato de, quase toda a totalidade de ácidos presentes no vinagre, tanto durante seu processamento quanto no produto final, é composto de ácido acético. Assim, não se torna relevante à presença dos demais ácidos, podendo assim, considerar que só existe ácido acético no vinagre.

### 3.4.3 Planejamento Fatorial $2^2$ e Matriz de Planejamento Experimental Fatorial

Para a fermentação acética foi usado como matéria-prima o vinho de caju e a mesma foi conduzida pela inoculação de bactérias ácido-acéticas presentes no vinagre forte (vinagre não-pasteurizado) e no bagaço de cana-de-açúcar. Foram preparadas sete soluções com volume de 100mL, sendo 4 de concentrações diferentes e 3 de mesma concentração de vinho de caju e vinagre forte para 100g de bagaço e colocados em béqueres de 600mL (reatores). As soluções foram preparadas de acordo com a determinação dos níveis das variáveis de entrada (concentração alcoólica no vinho de caju e concentração de vinagre forte), conforme Tabela 3.2 e Tabela 3.4, tendo como objetivo quantificar os efeitos destas variáveis para uma futura otimização do processo. Os procedimentos utilizados tiveram como objetivo executar o mínimo de experimentos, reduzir custos e tempo e determinar o quanto às concentrações de álcool e ácido acético influenciam o rendimento e a produtividade no processo de fabricação de um bom vinagre. Os testes dos experimentos foram realizados em tempos regulares (24h, 48h e 72h). A acidez foi expressa em porcentagem de ácido acético (p/v), o rendimento em % e a produtividade em g/L.h.

A pesquisa foi dividida em duas partes, ambas com concentrações (níveis) diferentes. Para a primeira parte da pesquisa, os níveis codificados e reais das variáveis independentes estão apresentados na Tabela 3.2 e a Tabela 3.3 mostra as 7 combinações experimentais utilizadas, sendo denominada matriz de planejamento.

**Tabela 3.2** – Níveis das variáveis independentes do planejamento fatorial completo  $2^2$ , para a primeira etapa da pesquisa.

Variáveis	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
Conc. de etanol no vinho de caju (%)	<b>3,0</b>	<b>4,5</b>	6,0
Conc. de ácido acético (%)	0,5	1,0	1,5

**Tabela 3.3** – Matriz de planejamento experimental fatorial  $2^2$ , para a primeira parte da pesquisa.

Experimentos	Concentração de etanol do vinho de caju (%)	Concentração de ácido acético do vinagre forte (%)
1	- 1,0 (3,0)	- 1,0 (0,5)
2	+ 1,0 (6,0)	- 1,0 (0,5)
3	- 1,0 (3,0)	+ 1,0 (1,5)
4	+ 1,0 (6,0)	+ 1,0 (1,5)
5	0,0 (4,5)	0,0 (1,0)
6	0,0 (4,5)	0,0 (1,0)
7	0,0 (4,5)	0,0 (1,0)

A Tabela 3.4 apresenta os níveis codificados e reais das variáveis independentes estão apresentados e a Tabela 3.5, nos mostra as sete combinações experimentais utilizadas, sendo denominada matriz de planejamento, sendo ambas tabelas para a segunda parte da pesquisa.

**Tabela 3.4** – Níveis das variáveis independentes do planejamento fatorial completo  $2^2$ , para a primeira etapa da pesquisa.

Variáveis	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
Conc. de etanol no vinho de caju (%)	3,0	4,5	6,0
Conc. de ácido acético (%)	1,0	1,5	2,0

**Tabela 3.5** – Matriz de planejamento experimental fatorial  $2^2$ , para a primeira parte da pesquisa

Experimentos	Concentração de etanol do vinho de caju (%)	Concentração de ácido acético do vinagre forte (%)
1	- 1,0 (3,0)	- 1,0 (1,0)
2	+ 1,0 (6,0)	- 1,0 (1,0)
3	- 1,0 (3,0)	+ 1,0 (2,0)
4	+ 1,0 (6,0)	+ 1,0 (2,0)
5	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)
6	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)
7	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)

#### 3.4.4 Cálculos do rendimento e produtividade da produção do vinho de caju

Assim como no processo de produção de vinho de caju (Capítulo 3.2.3), foi necessário avaliar o processo de produção de vinagre de vinho de caju. As variáveis que nos respaldam, nesta avaliação, foram: rendimento (%) e produtividade (g/L.h), estas juntamente com o planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup> (matriz do planejamento) foram lançados no programa Statistic 5.0 e 6.0 para auxiliar os cálculos de significância estatística e na superfície de resposta. Com isso a metodologia dos cálculos utilizada, estão disposta à seguir.

##### 3.4.4 a) Rendimento da produção do vinagre do vinho de caju

O cálculo, para o rendimento, foi realizado em duas etapas: a concentração teórica foi calculada a partir da reação de conversão do etanol a ácido acético, onde 1,0 g de etanol converte-se em 1,304 g de ácido acético (100%). Por sua vez, na primeira observou-se a quantidade de ácido acético produzido em relação à concentração teórica. Segunda a equação 3.15.

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{Ac_{EXP}}{Ac_{TEO}} \times 100(\%) \quad (3.15)$$

onde:

$Ac_{EXP}$  = Concentração de ácido acético experimental;

$Ac_{TEO}$  = Concentração de ácido acético teórica (máxima).

##### 3.4.4 b) Produtividade da produção do vinagre do vinho de caju

Pela equação 3.16, nos revela a velocidade de formação de ácido acético, durante um intervalo de tempo, ou seja, a produtividade, expressa em (g/L.h).

$$\text{Produtividade}(\text{g/L.h}) = \frac{Ac_{EXP}}{t} \quad (3.16)$$

onde:

$Ac_{EXP}$  = Concentração de ácido acético experimental;

t = Tempo de fermentação acética.

## CAPÍTULO IV

---

### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este capítulo tem como objetivo apresentar os resultados e as discussões das cinéticas das fermentações alcoólica e acética do suco de caju para as produções de vinho e vinagre. Inicialmente, serão discutidos os dados levantados na fermentação alcoólica para a produção do vinho, matéria-prima para a produção do vinagre. No processo de fermentação alcoólica avaliou-se os parâmetros cinéticos:  $\mu_{\text{máx}}$ ,  $Y_x/s$ ,  $Y_p/s$ , rendimento e produtividade. Foram verificados, também, as concentrações de sacarose, etanol, biomassa (microrganismo), ácidos totais, pH e metanol. O vinho obtido foi do tipo seco (sendo o mais recomendado para a produção de vinagre), com uma graduação alcoólica acima de 10°GL, suficiente para fixar os níveis das variáveis independentes (concentrações de etanol e ácido acético), nos valores planejados.

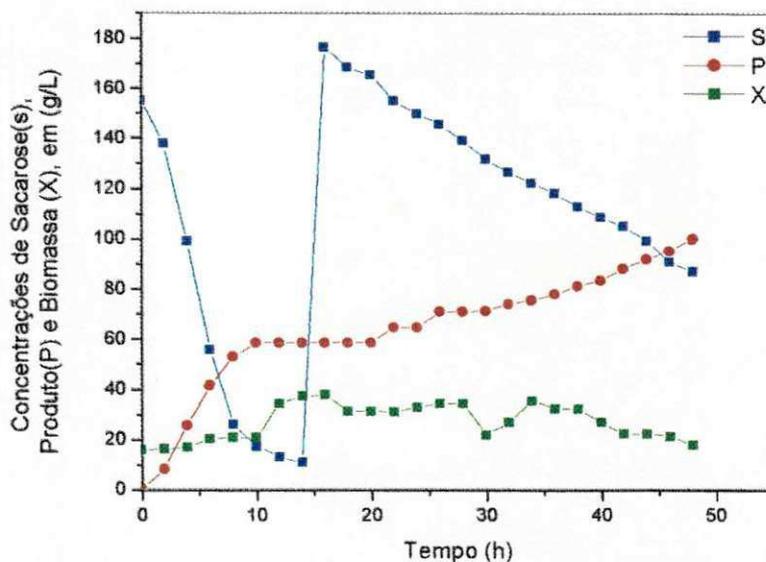
O método usado para produzir o vinho de caju foi em batelada com agitação forçada, pela facilidade de ser executado, ofertando assim, uma opção para pequenos produtores. A agitação foi promovida durante toda fermentação, de uma forma constante sem um controle rigoroso. A fermentação foi conduzida sem o controle da temperatura, no reator batelada, mas com faixa de variação significativa (27 à 34°C).

A importância de determinar os parâmetros cinéticos está voltada para o desenvolvimento de futuras modelagens e simulações matemáticas computacionais, utilizados na ampliação de escala e na otimização do processo fermentativo da produção de vinho de caju.

#### 4.1 CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO VINHO DE CAJU

Durante a fermentação alcoólica do vinho de caju, foram obtidos dados experimentais referentes as concentrações de substrato (sacarose), produto (etanol),

biomassa (microrganismo), acidez total e pH em intervalos de 2 horas, durante 48 horas de processo, num reator descontínuo. Os valores dos dados experimentais encontram-se na TABELA B<sub>4</sub>, em anexo. A partir dos dados da citada tabela construiu-se o gráfico (Figura 4.1) referentes a variação das concentrações de substrato, produto e biomassa, com o tempo de 48 horas de fermentação.



**Figura 4.1** – Cinética fermentativa da produção de vinho de caju: concentração de açúcar (S), concentração de etanol (P) e concentração de levedura (X) (expressas em g/L).

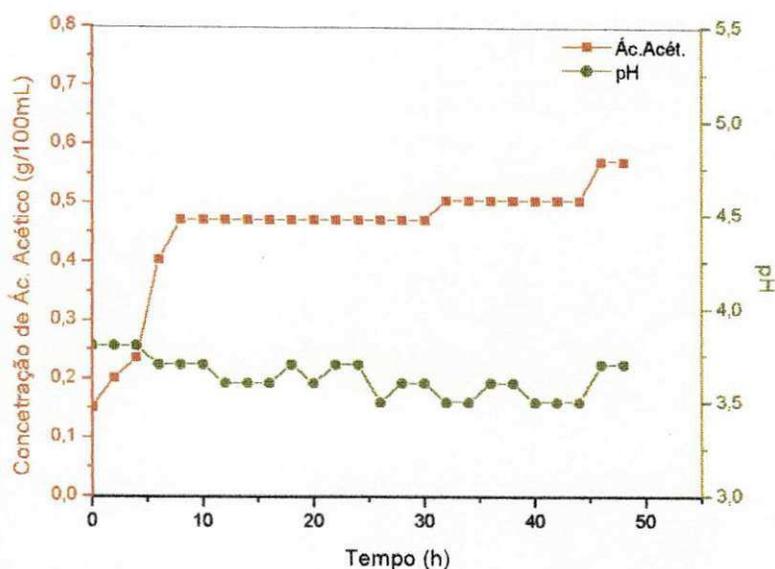
Observando-se a Figura 4.1, verifica-se os perfis de decaimento de substrato (S), crescimento de biomassa (X) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em função do tempo de fermentação.

Analisando os resultados obtidos, verifica-se que durante o processo de fermentação houve decaimento da concentração de sacarose (S) até as 14 horas de fermentação, em decorrência do consumo do substrato pelo microrganismo, até atingir níveis próximos de 10g/L. Depois de 15 horas de fermentação, foi adicionado a segunda parcela de sacarose (segunda chaptalização) o que ocasionou o aumento na concentração da sacarose. Prática corretamente executada, uma vez que as concentrações elevadas de sacarose no início da fermentação, podem causar uma inibição e retardar a fermentação, segundo BERTOLINI et al. (2001). A segunda chaptalização foi realizada objetivando um teor alcoólico final acima de 10°GL. Entretanto, com o passar do tempo, esta começou

novamente a decrescer, pela ação do microrganismo que metabolizou o substrato, verificando-se um decaimento mais lento da concentração de sacarose que na primeira chaptalização. O ocorrido se explica pela presença de maiores concentrações de produto (etanol), que segundo CARVALHO (1996), a *Saccharomyces cerevisiae*, sofre inibição pela concentração do produto, em presença de concentrações de etanol na faixa de 65 a 110g/L, sendo esta, a faixa máxima de tolerância, onde ocorre a completa eliminação do crescimento celular. Pode-se verificar que a inibição pelo produto teve início por volta das 10 horas de processo.

Através da Figura 4.1, percebe-se que a adição de sacarose promoveu a produção de etanol, como era esperado. Pode-se observar, que após as 10 horas de fermentação, ocorreu uma diminuição na velocidade de produção, tal fato pode ser explicado pelo reflexo da inibição pelo produto. Entretanto, ao final das 48 horas, obteve-se uma concentração de etanol próxima de 100g/L, resultando em um vinho com graduação alcoólica acima do desejável (10°GL). Porém deu-se continuidade ao processo para obter um vinho do tipo seco, monitorando o processo até o final da fermentação que foi no tempo de 132 horas, analisando-se o °Brix até o final da fermentação (ver Tabelas no anexo B e Figuras no anexo C). No final da fermentação analisou-se o °Brix final (teor de açúcar), graduação alcoólica do mosto, pH e acidez acética. Os dados de concentração final de sacarose e produto foram de vital importância no cálculo dos parâmetros  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ , rendimento e produtividade.

Analisando ainda a Figura 4.1, percebe-se que durante as primeiras 5 horas de fermentação, houve um pequeno crescimento do microrganismo (fase de adaptação). O que não se verificou após as 10 horas de fermentação, onde pode-se visualizar um crescimento mais acentuado que os iniciais (fase de crescimento exponencial). Observa-se, portanto, que após as 35 horas ocorre um pequeno decaimento da curva de concentração de biomassa. A utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), numa concentração de 20g/L, mostrou-se adequada para a obtenção de teores alcoólicos, dentro dos padrões exigidos para uma fermentação alcoólica. SILVA (1998) verificou que as concentrações ideais de leveduras, objetivando a produção de etanol minimizando a sua utilização para o crescimento celular, está situada em torno de 20 g de levedura para cada litro de mosto.



**Figura 4.2** – Variação da concentração de acidez total, expressa em g/100mL de ácido acético, e pH durante o tempo de produção de vinho de caju.

A Figura 4.2 apresenta a variação de acidez total, expressa em g/100mL de ácido acético e pH durante o processo de produção de vinho de caju (fermentação alcoólica), o que já era esperado, pelo fato da formação de ácidos durante a fermentação, como ácido succínico, láctico e acético, segundo BORZANI et al. (1983). Verificando-se que a partir das 10 horas de fermentação houve uma diminuição na velocidade de formação dos ácidos totais, tal fato foi observado para as demais concentrações estudadas, pois neste momento houve uma diminuição na velocidade de fermentação, pela inibição pelo produto. Observa-se, ainda, uma pequena queda no pH, própria da produção de ácidos durante o processo fermentativo, reduzindo os seus valores iniciais ( $\text{pH} = 3,8$ ) para uma faixa em torno de 3,5. Tal fato já era esperado. Segundo BERTOLINI et al. (2001), tais faixas de pH são suficientes para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir bactérias indesejáveis.

A Tabela 4.1 apresenta as concentrações das substâncias voláteis (acetaldeído, acetato de etila), metanol e álcoois superiores (N-propanol, isobutanol, N-butanol e isoamílico).

**Tabela 4.1** - Concentrações das substâncias voláteis (acetaldeído, acetona, acetato de etila), metanol e álcoois superiores (N-propanol, isobutanol, N-butanol e isoamílico).

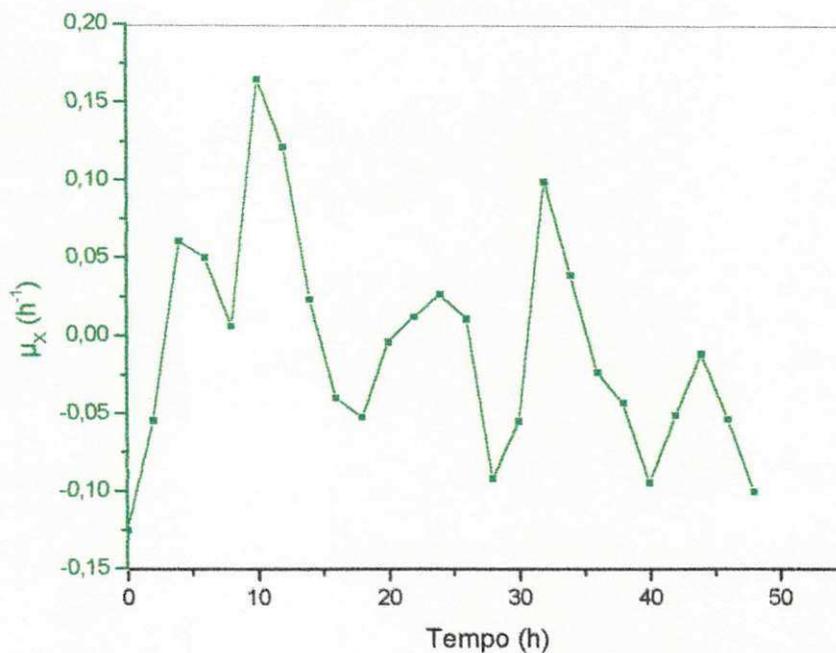
Substância	Valor (mg/100mL) *
Acetaldeído	10,15
Acetato de etila	0,60
Acetal	0,07
Metanol	1,37
N-propanol	1,87
isobutanol	5,16
N-butanol	0,17
isoamílico	22,82

\*Média de duas análises

As análises das substâncias no vinho de caju foram determinadas por cromatografia gasosa, revelando concentração de metanol de 1,37 mg/100mL. De acordo com CARDOSO (2001), o metanol presente no vinho de caju, é produzido na fermentação alcoólica através da degradação da pectina. O Ministério da Agricultura – Portaria nº 84 de 25 de Abril de 1989, citado por RIZZON & MENEGUZZO (1983), afirma que a concentração máxima de metanol permitida nos vinhos de mesa é de 35mg/100mL da bebida, pois o metanol é tóxico aos seres humanos, provocando, quando consumido vinho com concentrações acima da permitida, queda de pH do sangue do consumidor afetando o sistema respiratório, levando a cegueira e/ou até a morte. O valor da concentração de metanol encontra-se bem abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira, ou seja, abaixo da concentração considerada tóxica para a saúde do consumidor, não chegando a 5,0% da concentração máxima permitida. Isso mostra que a metodologia utilizada para a retirada da pectina foi bem conduzida, por meio do processo de operação de clarificação do suco de caju.

Com relação as outras substâncias, como o acetaldeído, acetato de etila, acetal, metanol e álcoois superiores, os teores estão dentro do permitido pela legislação vigente (AQUARONE et al., 1983). Em função de buscar valores dos parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica de produção de vinho de caju, verifica-se que os mesmos são de vital importância para realizar um estudo futuro, com êxito, da otimização dos processos, através da modelagem e simulação. Os valores dos parâmetros cinéticos (Tabela 4.2) da

concentração de biomassa em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ), da concentração de produto em relação ao substrato ( $Y_{p/s}$ ), foram calculados utilizando-se as Equações 2.12 e 2.13. O valor de  $\mu_{\text{máx}}$  foi 0,16 calculado através da Figura 4.3.



**Figura 4.3** – Variação da velocidade específica de biomassa no processo de fermentação alcoólica

Observa-se que o valor máximo da velocidade de crescimento corresponde ao processo da fermentação na primeira fase de chaptalização, reafirmando que após a segunda chaptalização já estava ocorrendo a inibição pelo produto.

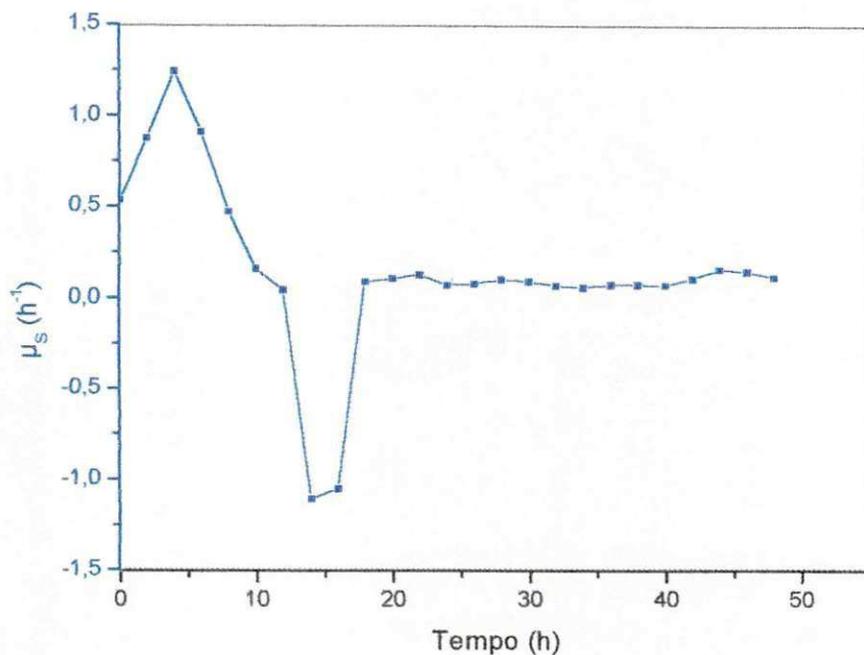


Figura 4.4 – Variação da velocidade específica de consumo de sacarose em uma fermentação alcoólica.

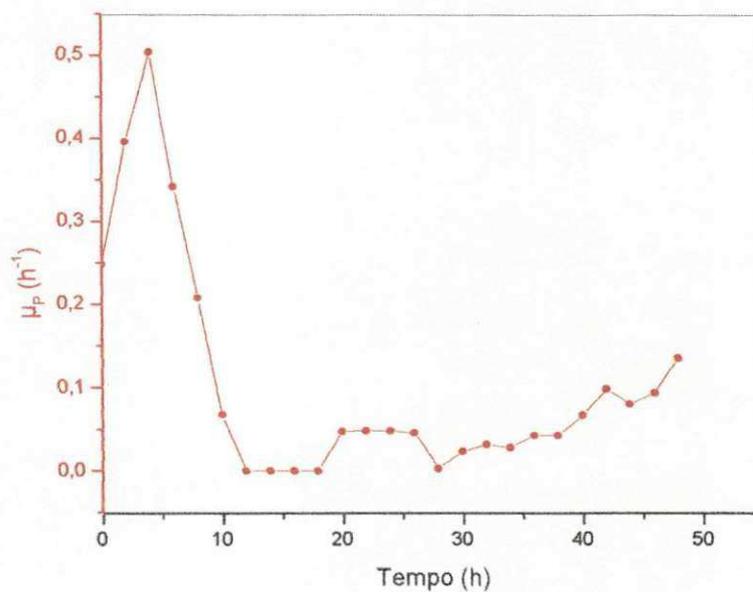


Figura 4.5 – Variação da velocidade específica de produção de etanol em uma fermentação alcoólica

As Figuras 4.3, 4.4 e 4.5 representam, a variação das velocidades específicas da fermentação alcoólica.

Devido ao fato de que a concentração microbiana ( $X$ ) aumenta durante um cultivo descontínuo, aumentando conseqüentemente a concentração de microrganismo responsável pela transformação do substrato ( $S$ ) em produto ( $P$ ), verificou-se que os valores das velocidades de transformação apresentam valores correspondentes as duas chaptalizações (adições de sacarose).

Com os resultados obtidos, verifica-se na Figura 4.3 que o pico máximo de crescimento do microrganismo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) ocorreu em torno de 10 horas de processo, correspondente a primeira chaptalização.

Depois desse tempo, observa-se um decaimento variado do pico de crescimento de leveduras devido a inibição pelo produto. Observado-se a Figura 4.4, percebe-se nas primeiras 14 horas (tempo correspondente a primeira chaptalização), que houve uma diminuição da velocidade de consumo do substrato, mantendo-se praticamente constante entre 18 e 48 horas de processo.

Através da Figura 4.5, verifica-se que a produção de etanol ( $\mu_P$ ) apresenta um perfil de velocidade semelhante ao do crescimento de substrato, onde observa-se um pico máximo nas primeiras 5 horas de fermentação, correlacionando-se muito bem.

Observando-se os dados experimentais da Tabela B<sub>3</sub>, em anexo, verifica-se que o suco de caju natural apresentou uma concentração de sólidos totais de aproximadamente 12,5 °Brix, correspondente a 128,2726 g/L de sacarose.

Verificou-se no mosto de caju um aumento na concentração de açúcares totais (pelas duas chaptalizações) para 338,2726 g/L através da adição de 210g/L de sacarose. A fermentação foi realizada com êxito visando a obtenção de um vinho do tipo seco, com concentração de açúcar residual abaixo de 20g/L, conforme legislação brasileira. O citado vinho é o mais recomendável para a produção de vinagre, pois concentração de sacarose acima de 20g/L pode causar contaminação do vinagre durante a fermentação acética.

A Tabela 4.2 apresenta os dados experimentais das velocidades específicas, calculadas através dos dados levantados na fermentação alcoólica.

**Tabela 4.2** – Resultados das velocidades específicas de crescimento, de produto e biomassa obtidos na fermentação alcoólica.

Tempo (h)	$\mu_x$ (h <sup>-1</sup> )	$\mu_s$ (h <sup>-1</sup> )	$\mu_p$ (h <sup>-1</sup> )
0	-0,125	0,535	0,2474
2	-0,0547	0,8753	0,3959
4	0,0606	1,2417	0,5039
6	0,05	0,9117	0,3415
8	0,0061	0,4719	0,2076
10	0,1646	0,1594	0,0676
12	0,1213	0,0462	0
14	0,0236	-1,1054	0
16	-0,04	-1,0501	0
18	-0,0524	0,0899	0
20	-0,004	0,1087	0,0479
22	0,0123	0,127	0,0487
24	0,0269	0,0725	0,0487
26	0,011	0,0797	0,0466
28	-0,0919	0,102	0,0029
30	-0,0551	0,0916	0,0233
32	0,09930	0,0693	0,032
34	0,0393	0,0601	0,0283
36	-0,0234	0,0744	0,0433
38	-0,043	0,0744	0,0433
40	-0,0943	0,0726	0,0672
42	-0,0511	0,1071	0,099
44	-0,0114	0,1577	0,081
46	-0,0536	0,1447	0,0943
48	-0,1	0,1158	0,1357

A Tabela 4.3 apresenta os resultados do °Brix do suco, o teor alcoólico, a concentração de sacarose, o rendimento e a produtividade do vinho de caju e ainda os

parâmetros cinéticos da fermentação:  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$  e  $\mu_{\max}$  e dados semelhantes da literatura para comparação.

**Tabela 4.3** - Valores experimentais da produção do vinho de caju x literatura

Relações	Valores experimentais	Valores literatura
°Brix do suco	12,50	13,03 *
Teor alcoólico do vinho (°GL)	13,00	10 – 14 *****
Sacarose do vinho (g/L)	7,12	abaixo de 20,0 *****
Rendimento (%)	57,57	38,65 – 47,23 **
Produtividade (g/L.h)	0,78	0,74 – 2,0 **
$Y_{x/s}$	0,061	0,0678 *
$Y_{p/s}$	0,3	0,323 *
$\mu_{\max}$	0,16 h <sup>-1</sup>	0,19 h <sup>-1</sup> ***

Fonte: \*TORRES NETO et al. (2003); \*\*BERTOLINI et al (2001); \*\*\*DOMINGUEZ et al., 1993 (citado por SILVA, (1998); \*\*\*\*BORZANI et al. (1983).

Observando-se a Tabela 4.3, percebe-se que, o suco de caju apresenta uma concentração de sólidos solúveis totais de 12,5°Brix, BERTOLINI et al. (2001) encontraram no final da extração do suco de kiwi uma concentração aproximada de sólidos solúveis totais de 14°Brix. O teor alcoólico de 13°GL e a concentração de sacarose do vinho de caju (7,12g/L) estão de acordo com as exigências da legislação brasileira, que define que tipo de vinho a ser produzido, neste caso o vinho foi do tipo seco. O rendimento (57,57%) e a produtividade (0,78g/L.h) apresentam valores similares aos encontrados por BERTOLINI et al. (2001), sendo para o rendimento entre (38,65 e 47,23g/L) e produtividade entre (0,74 e 2,0g/L.h). Os parâmetros cinéticos ( $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$  e  $\mu_{\max}$ ) calculados revelam valores coerentes em relação aos determinados por TORRES NETO (2003). ANDRIETTA & STUPIELLO (1990) estudando parâmetros de fermentação alcoólica em batelada alimentada, utilizando o substrato caldo de cana e levedura selecionada, obtiveram valores de  $Y_{x/s} = 0,03$  e  $Y_{p/s} = 0,44$ .

O vinho de fruta, conforme a legislação brasileira, deve apresentar uma graduação alcoólica entre 10 °GL e 14 °GL (BORZANI et al., 1983). Com relação ao teor alcoólico do vinho de caju produzido, verificou-se que o mesmo está dentro da especificação, ou

seja, o vinho obtido experimentalmente apresentou uma graduação alcoólica de 13 °GL, mas não foi o objetivo produzir vinho dentro das especificações da legislação brasileira, e sim, para que o mesmo pudesse ser diluído com a finalidade de ser utilizado no estudo dos valores reais das concentrações iniciais das variáveis de entrada (concentração inicial de etanol e concentração inicial de ácido acético), visando a otimização do processo de produção de vinagre de caju. Segundo AQUARONE & ZANCANARO Jr. (1983), a legislação brasileira estabelece que para produzir vinho do tipo seco, a concentração de açúcar deve ficar abaixo de 20 g/L.

Em pesquisa de mercado, feita nas regiões de Campina Grande (PB) e Juazeiro do Norte (CE), de acordo com a TABELA B<sub>1</sub>, em anexo, o vinagre de caju não foi encontrado para sua comercialização, justificando ainda mais a importância do estudo proposto no presente trabalho.

#### 4.2 CINÉTICA E OTIMIZAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

Neste item, o objetivo principal foi avaliar a influência de 2 variáveis de entrada (concentração inicial de etanol e concentração inicial de ácido acético) sobre os valores das variáveis respostas: rendimento e produtividade do processo. Analisando a influência dos efeitos sobre o rendimento e a produtividade, buscou-se definir as faixas ótimas de operação do processo em estudo. Otimizar é encontrar, neste caso, faixas ótimas de operação das variáveis estudadas que maximizem as respostas: rendimento e produtividade. Em latim o “melhor” é escrito *optimun*.

O método escolhido para estudar a otimização do processo foi o planejamento fatorial e análise de superfície de resposta. O planejamento fatorial e análise de superfície de resposta permite conduzir a otimização de maneira que possa ocorrer uma combinação completa de todos os fatores estudados, propondo a quantificação dos efeitos causados através das variáveis independentes nas respostas e as interações entre elas. Outra grande vantagem do planejamento fatorial e análise de superfície de resposta é poder progressivamente aumentar as faixas dos fatores até encontrar um modelo ajustado em relação ao fenômeno estudado que mostre parâmetros estatisticamente validados. A validação do modelo é feita através da comparação dos dados experimentais com os dados

previstos pelo modelo ajustado em função das variáveis estudadas (BARROS NETO et al., 1995).

#### *4.2.1 Estudos Preliminares da Produção de Vinagre de Vinho de Caju*

O objetivo principal do estudo preliminar foi realizar uma avaliação inicial das variáveis de entrada (concentração de etanol e de ácido acético) para a produção de vinagre de caju, com a finalidade de otimizar o processo de produção de vinagre.

A Tabela B<sub>7</sub>, em anexo, apresenta os dados experimentais da variação de acidez do vinagre formado em função de tempo da fermentação até 72 horas, do planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.

Observando a coluna referente a acidez inicial, verificou-se que as concentrações iniciais de ácido acético para os experimentos 2 e 3, não foram iguais aos níveis planejados (0,5% e 1,5% como mostra a Tabela 3.2). Revelando que houve erro na preparação das soluções para os experimentos em questão.

De acordo com a Tabela 3.2 (capítulo 3), verifica-se que as concentrações iniciais de etanol e ácido acético foram utilizadas para o tratamento estatístico, do planejamento fatorial, buscando analisar quais concentrações fornecem valores ótimos e estatisticamente significativos. Os níveis das variáveis de entrada foram escolhidos de acordo com levantamentos da literatura. Segundo AQUARONE & ZANCANARO Jr. (1983), concentrações iniciais de álcool etílico abaixo de 40g/L (4%) favorecem contaminações e pequenas perdas por evaporação e podem levar à formação de vinagres fracos, isto é, com concentração acética inferior a 4%. Concentrações alcoólicas acima de 100g/L são tóxicas à maioria das bactérias acéticas, podendo ser utilizadas somente em casos muito especiais quando se trabalha com culturas especialmente adaptadas e fermentações submersas.

As concentrações acéticas iniciais inferiores a 2% para os processos lento ou rápido e 1% para o processo submerso resultam em fermentações com tempo muito longo, levando a maiores perdas de etanol por evaporação, além de favorecer contaminações. Concentrações acéticas superiores a 3% são tóxicas para as bactérias acéticas, principalmente na fase inicial de fermentação. Na Tabela 3.3 (capítulo 3) são apresentados os níveis das variáveis de entrada, para os 7 experimentos. Desta forma, buscou-se definir os níveis das duas variáveis em estudo dentro de faixas condizentes com estudos

anteriormente feitos, com critérios técnicos bem definidos (FERREIRA, 2001, AQUARONE & ZANCANARO Jr., 1983).

Em função do tempo de fermentação acética, para o processo, observou-se que as bactérias acéticas utilizadas, presentes no vinagre forte (vinagre não pasteurizado) e no bagaço de cana-de-açúcar, não tiveram tempo suficiente nas primeiras 24 horas de metabolizar eficientemente o substrato na formação de ácido acético, mas mostraram eficiência na produção de ácido acético até 72 horas, conforme apresentado na TABELA B<sub>5</sub>, em anexo. De acordo com a equação estequiométrica representativa da transformação do etanol a ácido acético, 1,0g de etanol pode fornecer 1,304g de ácido acético.

A utilização de um planejamento fatorial completo (modelo linear) é muito importante para se realizar uma análise mais ampla das variáveis controladas de modo mais organizado e econômico com uma quantidade mínima de experimentos. Na TABELA B<sub>6</sub>, em anexo, pode-se observar a matriz de planejamento, com as respostas: rendimento e produtividade determinados experimentalmente nas combinações de níveis estudados.

Foram realizados sete experimentos, sendo que três são repetidos no ponto central.

O principal objetivo das repetições dos três experimentos no ponto central (0) foi o de permitir obter uma estimativa da variação em função do erro experimental.

As equações de regressão dos dados experimentais ajustados para o rendimento e a produtividade de vinagre (para 72 horas de fermentação), para os dados da TABELA B<sub>6</sub>, em anexo, respectivamente são:

$$\text{Rendimento} = 46,04 + 7,658\text{Cal} - 7,81 \text{Caa} + 6,17 \text{Cal} \cdot \text{Caa} \quad (4.1)$$

$$\text{Produtividade} = 0,316 + 0,1175\text{Cal} - 0,0125 \text{Caa} - 0,0025\text{Cal} \cdot \text{Caa} \quad (4.2)$$

Onde, **Cal** e **Caa** representam concentrações de álcool e ácido acético respectivamente.

Os parâmetros em negrito são os estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. As Tabelas 4.4 e 4.5 apresentam as análises das variâncias para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros, através de uma regressão, para o rendimento e produtividade, respectivamente.

**Tabela 4.4** – Análise da variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros dos rendimento para 72 horas.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	630,77	3	210,26	
Resíduos	48,94	3	16,32	12,88
F. de ajuste	47,83	1	47,83	
Erro puro	1,11	2	0,55	
Total	679,72	6		
% de variação explicada:	92,80			
% máxima de variação explicável:	99,80			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

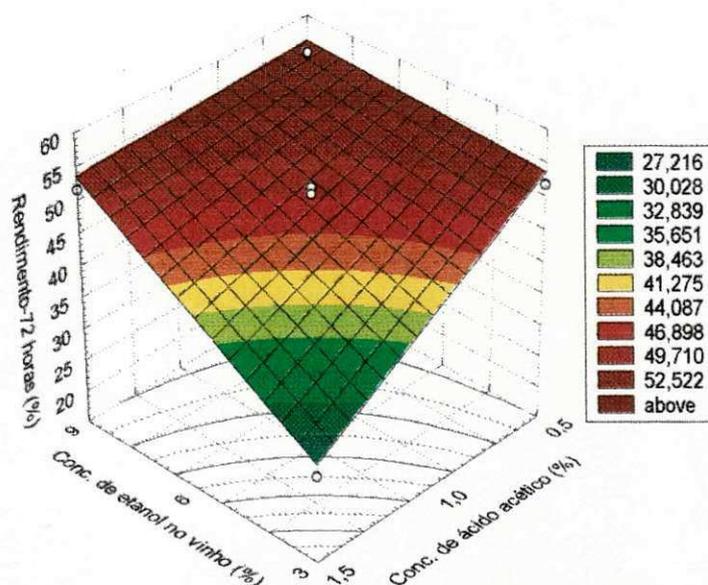
**Tabela 4.5** – Análise da variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros dos produtividade para 72 horas.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,055225	3	0,018408	
Resíduos	0,000625	3	0,000216	85,23
F. de ajuste	0,000025	1	0,000025	
Erro puro	0,000096	2	0,000048	
Total	0,055971	6	0,009328	
% de variação explicada:	98,67			
% máxima de variação explicável:	99,83			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

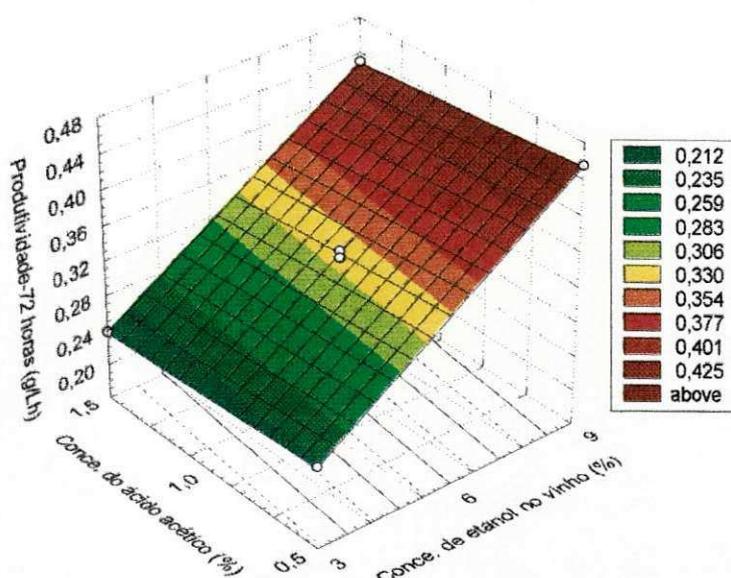
Tendo a finalidade de verificar se o modelo apresenta significância estatística, fez-se a análise de variância (% de variação explicada e teste F), utilizando-se do programa Statística, versão 5.0.

Com o teste F foi possível observar que o valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi maior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$ , para um nível de confiança de 95%. Portanto, pode-se afirmar que o modelo empírico é estatisticamente significativo, segundo BARROS NETO et al., (1995).

As Figuras 4.6 e 4.7 apresentam as superfícies de resposta mostrando os efeitos das variáveis: concentrações iniciais de álcool no vinho de caju e ácido acético sobre a produtividade e rendimento de vinagre. Foi verificado que o rendimento chegou a valores um pouco acima de 52,5% e produtividade acima de 0,42g/L.h. Analisando as Figuras 4.6 e 4.7 observa-se que, com o aumento da concentração inicial de álcool no vinho de caju, o rendimento e a produtividade de formação do vinagre aumentaram, entretanto, com o aumento da concentração do ácido acético os mesmos diminuíram. Assim, quando a concentração de etanol no vinho de caju passa do nível inferior (-1) para o nível superior (+1), o rendimento e a produtividade do vinagre crescem, ao contrário, quando a concentração do ácido acético passa do nível menor para o nível maior o rendimento e a produtividade do vinagre decrescem no tempo de fermentação de 72 horas. Observando-se as Figuras 4.6 e 4.7, verifica-se que com alta concentração de etanol ocorreram maiores rendimento e produtividade. Entretanto, com elevada concentração de ácido ocorreram menores rendimento e produtividade. Portanto, observa-se que com alta concentração de etanol e baixa concentração de ácido acético tem-se os melhores resultados.



**Figura 4.6** - Superfície de resposta : Variação de rendimento (%) de vinagre em função de concentrações iniciais de álcool e de ácido acético em vinho de caju



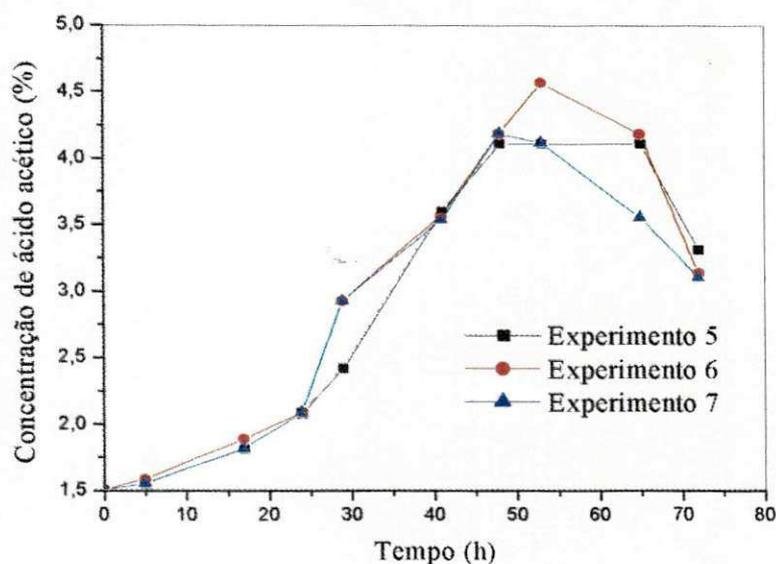
**Figura 4.7** - Superfície de resposta : Variação de produtividade (%) de vinagre em função de concentrações iniciais de álcool e de ácido acético em vinho de caju.

#### 4.2.1 Cinética e Otimização da Fermentação Acética do Vinagre de Vinho de Caju

Através dos dados levantados no estudo preliminar da fermentação acética, foi possível observar que as variáveis estudadas (concentração inicial de etanol e concentração inicial de ácido acético) apresentam influência sobre as respostas: rendimento e produtividade, nos níveis estudados. Observou-se também que o vinagre produzido encontrava-se dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira, sendo possível a otimização do processo de produção de vinagre. Com base nos dados levantados, fez-se a repetição dos experimentos anteriores buscando ampliar os resultados, mantendo-se fixos os valores das concentrações de etanol e aumentando os das concentrações de ácido acético, de acordo com a Tabela 3.4 (capítulo 3).

Os sete experimentos da fermentação acética, para a produção do vinagre de caju, ocorreu em temperatura ambiente que variou de 26 a 28°C, em processos intermediários entre o rápido e o submerso. Foi verificado que as bactérias acéticas utilizadas, presentes no vinagre não pasteurizado, mostraram eficiência na produção de ácido acético. A Figura 4.8 apresenta a cinética de produção de ácido acético até o tempo de 72 horas. Observa-se que para as três repetições no ponto central (experimentos 5, 6 e 7 da Tabela 1) há uma boa

reprodutibilidade das curvas cinéticas. Verifica-se que as curvas cinéticas dos três experimentos realizados nas mesmas condições apresentam perfis de crescimento de concentração de ácido acético no meio em fermentação até picos máximos em torno de 50 horas. Por outro lado, verifica-se que a partir das 55 horas de fermentação, começa haver uma queda na produção do vinagre devido, provavelmente, à falta de álcool presente no meio. Mesmo assim, percebe-se que o vinagre produzido encontra-se dentro das especificações, de acordo com a legislação brasileira, excetuando-se as concentrações no tempo de 65 horas para o experimento 7 e no tempo de 72 horas para todos os três experimentos.



**Figura 4.8** – Cinética de Produção de ácido acético % (p/v) da fermentação acética de vinho de caju no processo intermediário. Experimentos com concentração inicial de etanol = 4,5% e concentração inicial de ácido 1,5%.

A TABELA B<sub>7</sub>, em anexo, apresenta os dados da variação de acidez do vinagre formado, em função de tempo da fermentação até 72 h, da segunda etapa do planejamento fatorial 2<sup>2</sup>. Observando a coluna referente a acidez inicial, verifica-se que os valores das concentrações iniciais de ácido acético foram iguais aos níveis planejados (1,0%, 1,5% e 2,0%) como mostra a Tabela 3.4. Durante a fermentação acética, observou-se que as bactérias acéticas utilizadas, presentes no vinagre forte (vinagre não pasteurizado) e no bagaço de cana-de-açúcar não tiveram tempo suficiente, nas primeiras 24h, para a formação eficiente de ácido acético, mas mostraram eficiência na produção de ácido

acético a partir das 41h, conforme a TABELA B<sub>7</sub>. Verificou-se, ainda, que os resultados constantes da TABELA B<sub>7</sub>, apresentam valores de acidez para o vinagre, conforme legislação brasileira em 53 h (ensaios 2, 4, 5, 6 e 7), 65h (ensaios 2, 4, 5 e 6) e 72 h (ensaios 3 e 4). Durante a produção de vinagre de vinho de caju, foi observado também que a partir das 53 h até 72 h de fermentação, as concentrações de ácido acético começaram a diminuir, para alguns experimentos, devido a falta de álcool no meio e ao longo tempo de fermentação, por isso, o tempo final ótimo do processo deve ser conhecido. AQUARONE et al. (1983), afirmam que as bactérias acéticas não tendo mais álcool presente no meio para converter a ácido acético, a permanência das acetobacteres no vinagre pronto, passam a consumir o próprio vinagre produzido ocasionando perda de acidez devida ao consumo do ácido acético realizado por esses próprios microrganismos. Nas TABELAS B<sub>8</sub> e B<sub>9</sub>, em anexo, respectivamente, pode-se observar os resultados obtidos para o rendimento e a produtividade até 72 horas de fermentação, determinados experimentalmente nas combinações dos níveis estudados.

As equações do modelo linear ajustado para o rendimento e a produtividade de vinagre, encontra-se nas Tabelas 4.6 e 4.7, respectivamente são:

**Tabela 4.6** - Dados das Regressões Lineares ( $R^2$ ) e Equações (modelo empírico) do Rendimento para as respectivas horas da Fermentação Acética.

Horas	Equações (modelo empírico)	Coef. De Regressão ( $R^2$ )
5	Rend = <b>0,984997</b> + 0,272197Cal + 0,544394Caa + 0,272197Cal,Caa	0,72987
17	Rend = <b>7,23209</b> + 0,40830Cal - <b>2,31367</b> Caa - 0,13610Cal,Caa	<b>0,94000</b>
24	Rend = <b>13,79032</b> + 2,17758Cal - <b>8,98250</b> Caa - 1,63318Cal,Caa	<b>0,97921</b>
29	Rend = <b>22,0334</b> + 4,0830Cal - <b>13,6099</b> Caa - 3,5386Cal,Caa	<b>0,97174</b>
41	Rend = <b>46,1404</b> + <b>8,4381</b> Cal - <b>13,8820</b> Caa - <b>4,6273</b> Cal,Caa	<b>0,98729</b>
48	Rend = <b>55,4153</b> + <b>9,1623</b> Cal - <b>12,2634</b> Caa - <b>6,0612</b> Cal,Caa	<b>0,98179</b>
53	Rend = <b>57,83,161</b> + <b>9,16235</b> Cal - <b>8,59851</b> Caa - 2,67822Cal,Caa	0,89289
65	Rend = <b>49,3746</b> + 5,0745Cal - 10,4310Caa - 6,7660Cal,Caa	0,80824
72	Rend = <b>33,10519</b> + <b>8,17563</b> Cal - 4,79261 Caa + 6,76604Cal,Caa	0,89496

**Tabela 4.7** - Dados das Regressões Linear ( $R^2$ ) e Equações (modelo empírico) da Produtividade para as respectivas horas da Fermentação Acética.

Horas	Equações (modelo empírico)	Coef. De Regressão ( $R^2$ )
5	Prod = <b>0,10080</b> + 0,067200Cal + <b>0,15040</b> Caa + 0,067200Cal.Caa	0,89103
17	Prod = <b>0,184941</b> + 0,009882Cal - 0,002353Caa - 0,0Cal.Caa	0,17447
24	Prod = <b>0,23300</b> + <b>0,03150</b> Cal - <b>0,78833</b> Caa - 0,01750Cal.Caa	<b>0,98283</b>
29	Prod = <b>0,310345</b> + <b>0,046345</b> Cal - <b>0,91310</b> Caa - <b>0,034759</b> Cal.Caa	<b>0,99510</b>
41	Prod = <b>0,491122</b> + <b>0,077854</b> Cal + 0,21463Caa - 0,020488Cal.Caa	<b>0,97016</b>
48	Prod = <b>0,511929</b> + 0,68875Cal + 0,55333Caa - 0,02900Cal.Caa	0,79620
53	Prod = <b>0,490836</b> + 0,072226Cal + <b>0,089509</b> Caa + 0,003283Cal.Caa	0,84936
65	Prod = <b>0,337503</b> + 0,020077Cal + 0,036846Caa - 0,36138Cal.Caa	0,47867
72	Prod = <b>0,206988</b> + <b>0,067062</b> Cal + 0,035076 Caa + <b>0,061021</b> Cal.Caa	<b>0,90290</b>

Onde:

Cal e Caa representam concentrações de álcool e ácido acético respectivamente.

Os parâmetros em negrito são os estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. As equações do modelo linear, sendo 5 para o rendimento e 4 para a produtividade, foram escolhidas por apresentarem os coeficientes de regressão linear (em negrito), porque são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. Em função das outras equações empíricas nos tempos de 5, 53, 65 e 72 horas, para o rendimento de 5, 17, 48, 53 e 65 horas, para a produtividade não serem estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança, por este motivo, não foram construídas as superfícies de resposta.

As TABELAS B<sub>10</sub> a B<sub>18</sub>, em anexo, apresentam as análises da variância dos rendimentos e produtividades para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros, através de uma regressão.

Tendo a finalidade de verificar se o modelo apresenta significância estatística, fez-se a análise de variância (% de variação explicada e teste F), utilizando-se do programa Statística, versão 5.0.

Com o teste F foi possível observar que os valores de  $F_{\text{calculado}}$  foram maiores que os de  $F_{\text{tabelado}}$ , para um nível de confiança de 95%.

Segundo BARROS NETO et al. (1995), pode acontecer, porém, que uma regressão, embora significativa do ponto de vista do teste F, não seja útil para realizar previsões, por cobrir uma faixa de variação pequena dos fatores estudados. Portanto, para que isso não ocorra, isto é, para que uma regressão não seja apenas estatisticamente significativa, mas também útil para fins preditivos, o valor de  $F_{\text{calculado}}$  deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes o valor de  $F_{\text{tabelado}}$ .

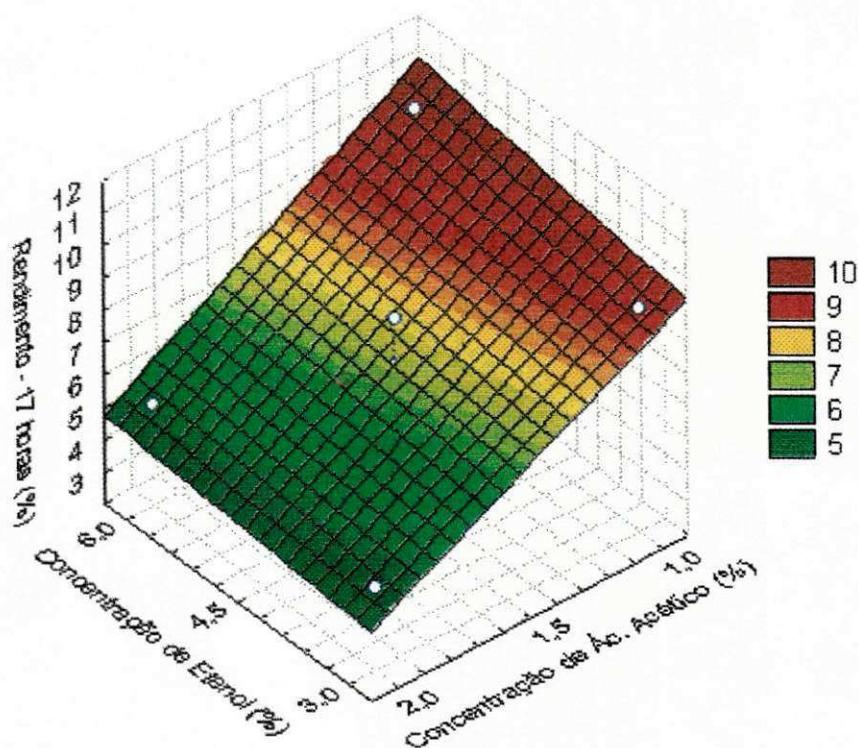
Analisando as ANOVAS (TABELAS B<sub>10</sub> a B<sub>18</sub>), verifica-se que essa condição foi satisfeita tanto para o rendimento quanto para a produtividade, em todos os tempos de fermentação, podendo desta forma, observando-se as superfícies de resposta, encontrar faixas ótimas de operação do processo, buscando ótimos rendimento e produtividade.

A Figura 4.9 apresenta a superfície de resposta que relaciona as variáveis independentes (concentrações iniciais de álcool no vinho de caju e ácido acético) em relação a resposta: rendimento. Verifica-se que, esta superfície de resposta, em 17 horas de processo, apresenta o menor rendimento. Fixando-se a concentração de ácido acético abaixo de 1,2%, para qualquer concentração de etanol (%), o rendimento será máximo (em torno de 10%). Observa-se que a Figura 4.10 apresenta a superfície de resposta mostrando as relações dos fatores (concentrações iniciais de álcool no vinho de caju e ácido acético) sobre a resposta: rendimento para tempo de 24 horas. Verifica-se que, com a concentração de ácido acético abaixo de 1,3% e concentração de etanol acima de 3,5%, obtém-se rendimento acima de 25%. Através da Figura 4.11 observa-se a superfície de resposta que relaciona os efeitos (concentrações iniciais de álcool no vinho de caju e ácido acético) em relação a resposta: rendimento para tempo de 29 horas. Verifica-se que com concentração de etanol acima de 4,0% e concentração de ácido acético abaixo de 1,3%, consegue-se rendimento acima de 40%. Na Figura 4.12 verifica-se a superfície de resposta que relacionam as variáveis independentes (concentrações iniciais de álcool no vinho de caju e ácido acético) sobre a resposta: rendimento para tempo de 41 horas. Observa-se que com concentração de etanol acima de 4,8% e concentração de ácido acético abaixo de 1,3%, tem-se rendimento em torno de 70%. Analisando a Figura 4.13, observa-se na superfície de resposta os efeitos concentração de etanol e concentração de ácido sobre a resposta: rendimento para tempo de 48 horas. Percebe-se que com concentração de etanol acima de

4,8% e concentração de ácido acético abaixo de 1,2% alcança-se o maior rendimento, que está acima de 80%.

Pode-se observar que os rendimentos foram maiores, quando a concentração inicial de etanol no vinho de caju passa do nível inferior (-1) para o nível superior (+1) e a concentração inicial do ácido acético passa do nível superior (+1) para o inferior (-1), no tempo de fermentação de até 72 horas.

Verifica-se que o melhor rendimento, um pouco acima de 80%, é alcançado para concentração inicial de etanol variando de 4,8 a 6,0% e concentração de ácido acético abaixo de 1,3%.



**Figura 4.9** – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (17 h).

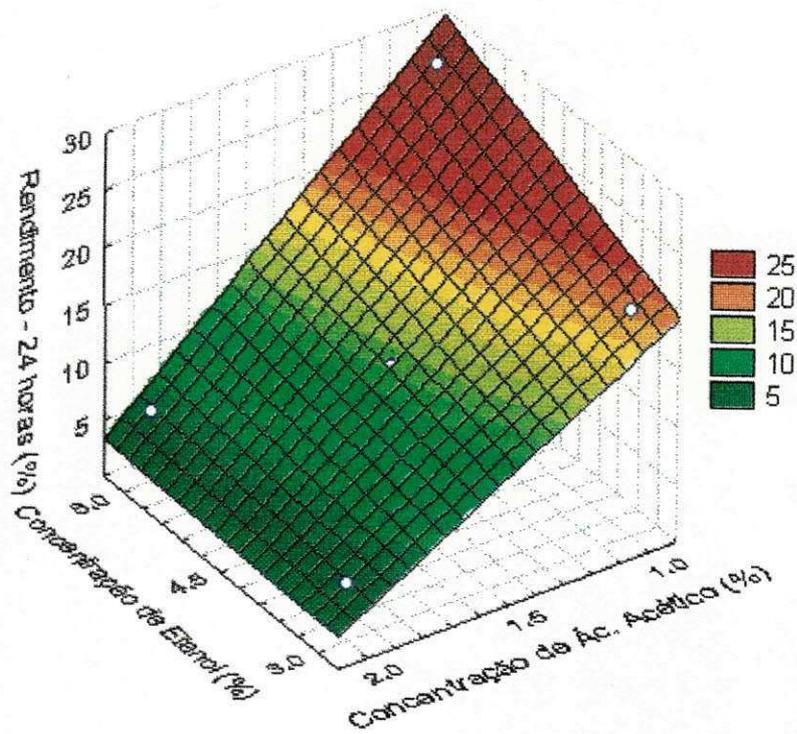


Figura 4.10 – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (24 h).

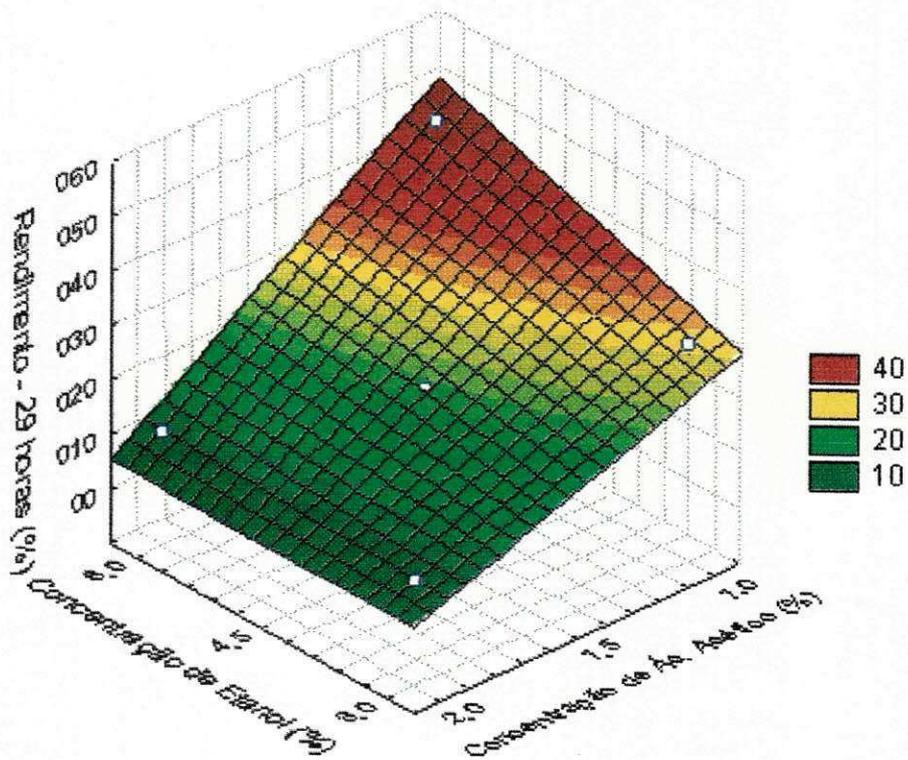


Figura 4.11 – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (29 h).

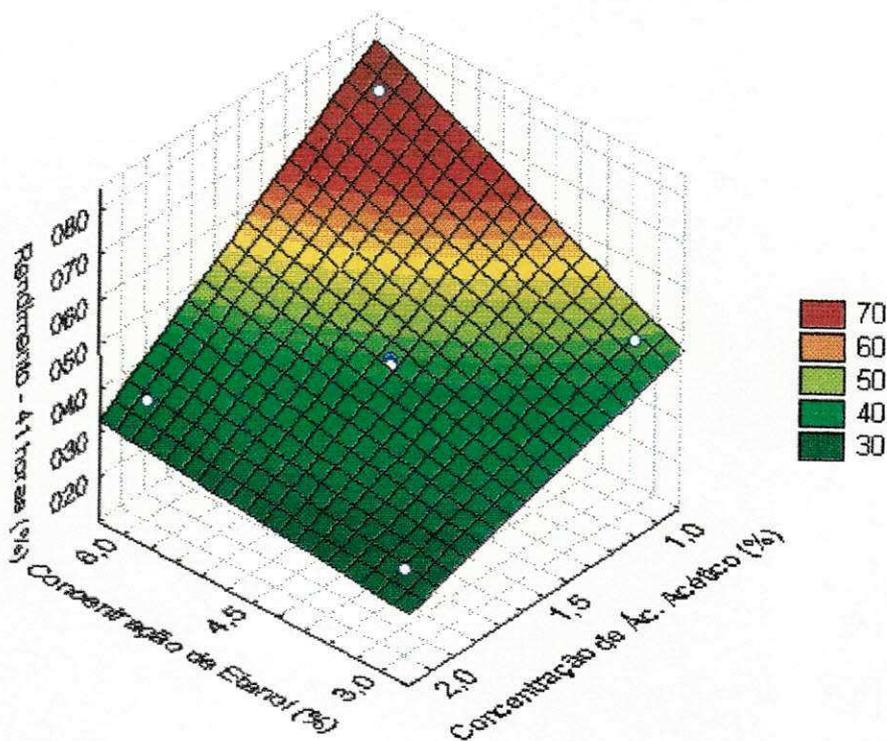


Figura 4.12 – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (41 h).

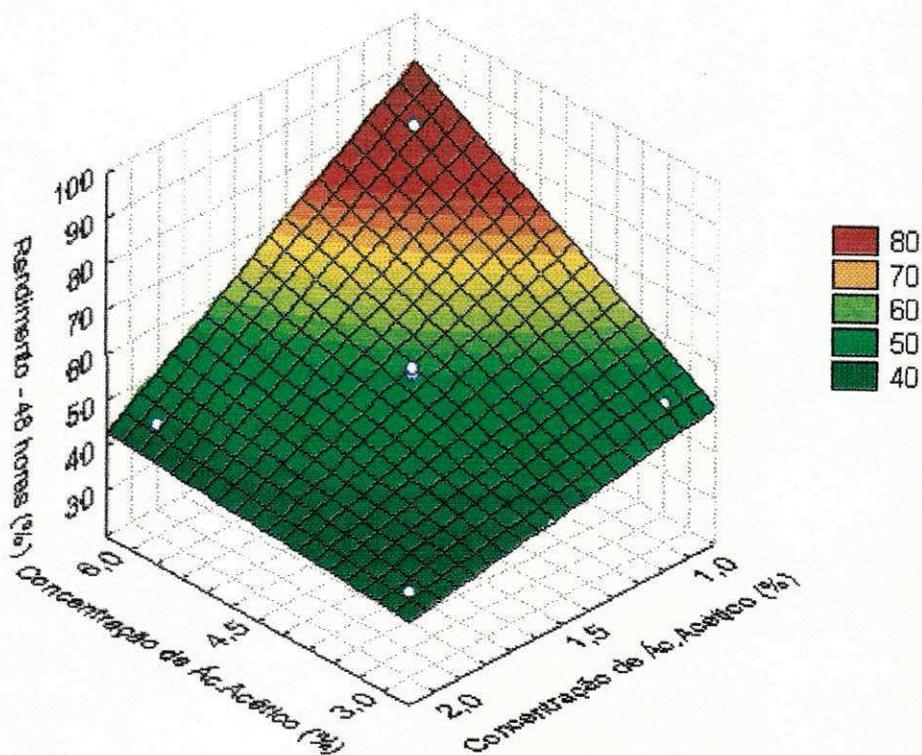


Figura 4.13 – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (48 h).

As Figuras 4.14 a 4.17 apresentam as superfícies de resposta mostrando os efeitos das variáveis independentes: concentração inicial de etanol no vinho de caju e concentração inicial de ácido acético sobre a produtividade.

Observando-se a Figura 4.14, percebe-se a presença dos efeitos concentração inicial de etanol e concentração inicial de ácido acético na produtividade, durante 24 horas. Fixando a concentração inicial de etanol acima de 4,5% e concentração inicial de ácido acético abaixo de 1,3%, obtém-se produtividade em torno de 0,35g/L.h. Analisando a Figura 4.15, verifica-se que em 29 horas de processo, com concentração inicial de etanol acima de 4,8% e concentração inicial de ácido acético abaixo de 1,3%, obtém-se produtividade acima de 0,5g/L.h.

A Figura 4.16 apresenta a superfície de resposta para tempo de 41 horas. Verifica-se que para concentração inicial de etanol acima 4,5% e para qualquer valor da concentração inicial de ácido acético, tem-se produtividade em torno de 0,55g/L.h. Através da Figura 4.17, para tempo de 72 horas, observa-se que para concentração inicial de etanol acima de 5,4% e concentração inicial de ácido acético abaixo de 1,7%, tem-se produtividade acima de 0,40g/L.h.

Pode-se observar que a produtividade do vinagre cresce quando a concentração inicial de etanol passa do nível (-1) para o (+1) e quando a concentração inicial de ácido acético passa do nível superior (+1) para o inferior (-1). Verifica-se que a melhor produtividade, que é um pouco acima de 0,55g/L.h, é alcançada para concentração inicial de etanol variando acima de 4,5 a 6,0% e para concentração inicial de ácido acético, abaixo de 1,7%.

De um modo geral, analisando as superfícies de resposta, observa-se que os melhores rendimento e produtividade, de formação do vinagre, são alcançados com altos valores da concentração inicial de álcool no vinho de caju e baixos valores da concentração inicial de ácido acético.

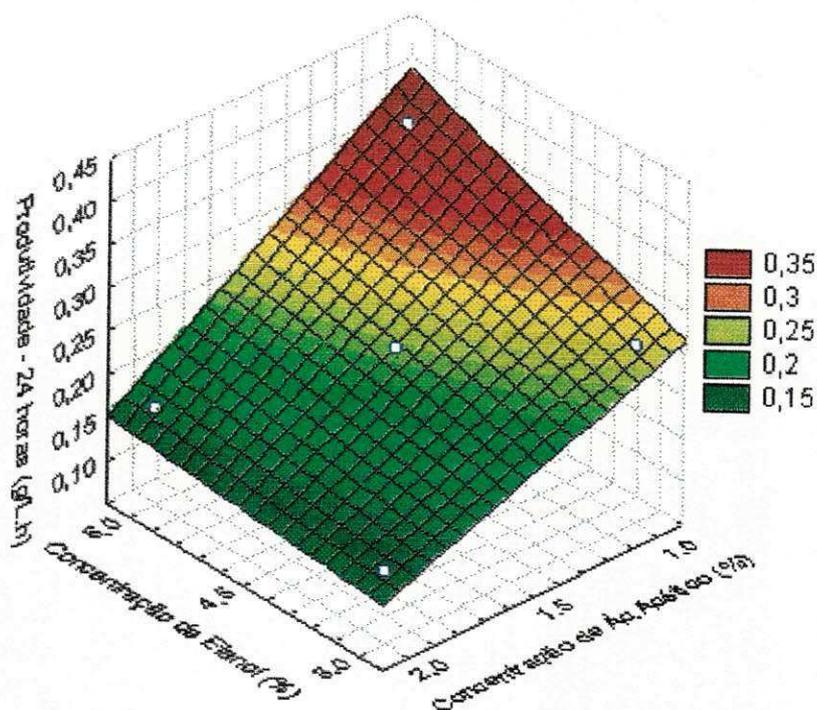


Figura 4.14 – Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (24 h).

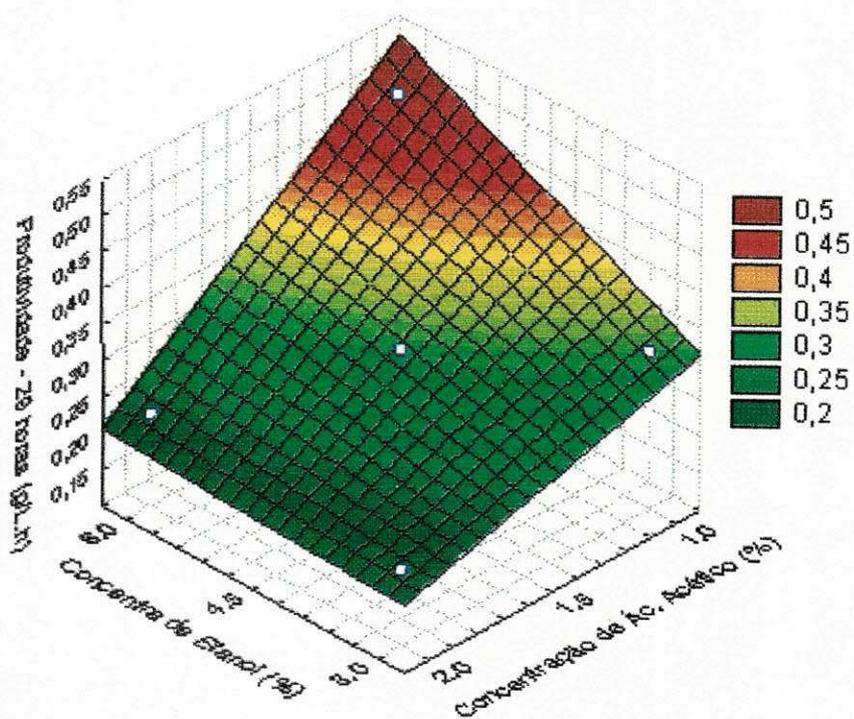


Figura 4.15 – Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (29 h).

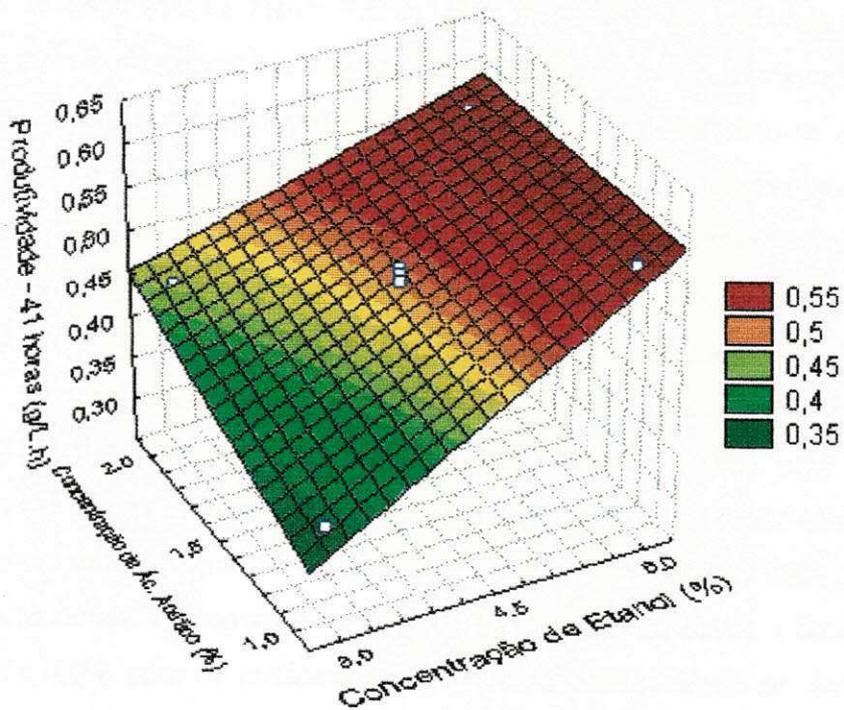


Figura 4.16 – Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (41h)

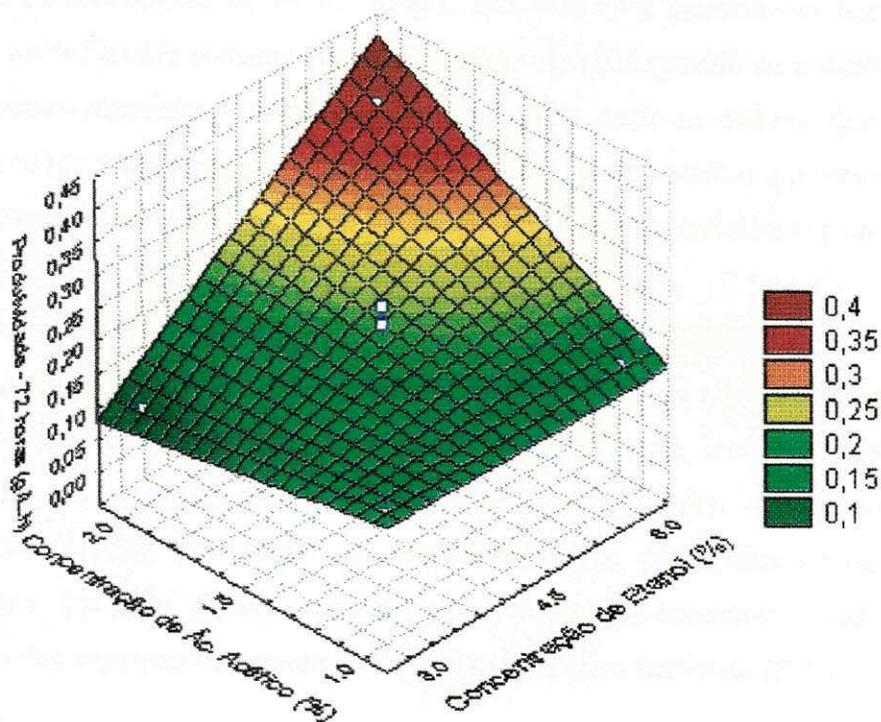


Figura 4.17– Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (72 h).

**Tabela 4.8** – Faixas de valores das variáveis que otimizam o processo

<b>Variáveis</b>	<b>Faixas de valores</b>
Cal	4,8 – 6,0 (%)
Caa	1,0 – 1,3 (%)

## CAPÍTULO V

---

### 5. CONCLUSÕES

Os sucos de caju podem ser processados, de modo artesanal ou industrialmente, produzindo vinhos e vinagres de caju de boa qualidade. As leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), utilizadas como inóculo no processo fermentativo, foram muito eficientes na conversão do mosto em vinho de caju. Portanto, a adição de sacarose comercial aumentou a produção de etanol. O rendimento da pesquisa realizada foi significativo devido ao alto teor etanol produzido. Assim, verificou-se que a eficiência da produção do vinho foi satisfatória (acima de 55 %) em relação à quantidade de sacarose consumida no processo e o valor da produtividade (1,43 g/L.h) manteve-se na média dos vinhos de frutas produzidos no Brasil.

Os vinhos de caju produzidos apresentaram teores alcoólicos de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

As bactérias acéticas presentes no vinagre forte e no bagaço de cana-de-açúcar, foram eficientes na conversão do vinho de caju em vinagre.

A produção de vinagre de caju é tecnicamente viável em função da qualidade do produto. A realização do planejamento experimental foi de grande importância para estudar a influência das variáveis de entrada sobre as respostas.

Os vinagres obtidos em 72 horas apresentaram rendimento e produtividade variando, para o tratamento preliminar entre 22,1 a 53,1% e de 0,19 a 0,42g/L.h. Para o tratamento normal, dentre os tempos de fermentação apresentados nas superfícies de resposta, o melhor rendimento variou de 43,1 a 85,1% e a melhor produtividade variou de 0,36 a 0,56g/L.

Verificou-se que com o aumento da concentração inicial de álcool no vinho de caju o rendimento e a produtividade do vinagre aumentaram, por outro lado, com o aumento da acidez os mesmos diminuíram.

Através do teste e % de variação explicada, pode-se afirmar que o modelo empírico é estatisticamente significativo.

A análise da variância, dos modelos obtidos para as superfícies de resposta, revelou que é possível otimizar o processo.

A produção de vinho de caju, principalmente na Região Nordeste, constitui-se numa alternativa tecnicamente viável minimizando o desperdício do pedúnculo.

## CAPÍTULO VI

---

### 6. PERSPECTIVA

- 6.1 Fazer análise sensorial do vinho de caju e do vinagre.
- 6.2 Expandir os níveis dos experimentos do planejamento experimental fatorial  $2^2$ , de 2 para 5: buscando otimizar o processo, ou seja, estudar o efeito de outras concentrações iniciais de etanol e ácido acético sobre a produção de vinagre de caju, analisando as faixas de valores que produzem melhores rendimento e produtividade.
- 6.3 Verificar a qualidade do vinagre produzido, segundo a legislação brasileira (massa específica a 20 °C, extrato seco a 100 °C, acidez volátil, acidez total, cinzas, teor alcoólico, pH, e análise sensorial).
- 6.4 Estudar a otimização do processo de produção da aguardente de caju.

## CAPÍTULO VII

---

### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W. **Tecnologia das fermentações**. v.1, Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo - SP, 1992.

AQUARONE, E.; ZACANARO JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E., LIMA, U.A., BORZANI, W. (coords): **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo, v.5, 1983.

ALCÂNTARA, S. R.; SWARNAKAR, R. **Utilização de Método de Superfície de Resposta para a Avaliação da Fermentação Acética**. Relatório de Iniciação Científica PIBIC / CNPq, 2002, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande - PB

ALVIM JUNIOR, F.; ANDRADE, M. E.; **O caju que um dia foi brasileiro**. Ciências Hoje, v.3, n. 18, p.66-72, 1985.

ARA, V. **Cajuäpfel-und Acerolaprodukte, woher kommen sie, wie schmecken sie**. Fluesiges Obst., v.17, p. 380-382, 1988.

BARROS NETO, B.; SCARMINO, J.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas – SP: Editora da Unicamp, 1995.

BERTOLINI, F.; SANTANNA, E.S.; TORRES, R. C. **Comportamento das Fermentações Alcoólicas e Acética de Sucos de Kiwi (Actinidia deliciosa);**

**Composição dos Mostos e Métodos de Fermentação Acética.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas – SP, v.21, n.2, p. 236-243, 2001.

BORZANI, W.; AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. **Tópicos de Microbiologia Industrial**, vol. 2, 1978, São Paulo – SP.

BORZANI, W.; AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. **Engenharia Bioquímica**, São Paulo, vol. 3, 1983.

BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for Experiments**, New York, 1978.

CARDOSO, M.G. (2001). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Editora UFLA, Brasil

CARVALHO, B. S. **Efeito da temperatura na cinética de morte celular e em fermentação alcoólica contínua com reciclo de células**. Campinas, 1996. 83p. Tese (Mestre em engenharia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

CRUESS, W. V. **Produtos Industriais de Frutas e Hortaliças**. Rio de Janeiro, vol. 1, 1973.

DIAS, A. L. M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju**. Fortaleza, 1996, 94p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.

FARIAS, F. S. E. D. V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale, L.*) em diferentes**

**condições de fermentação.** Fortaleza, 1994, 99p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.

**FERREIRA, J. M.; Estudo de Condições Ótimas pelo Método de Análise de Superfície de Resposta para Eficiência da Fermentação Acética.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, 2001.

**FUKAYA, M; PARK, Y.S.; TODA, K.** Improvement of Acetic Acid Fermentation by Molecular Breeding and Process Development, **Journal of Applied Bacteriology**, n.73, p.447-454, 1992.

**GARRUTI, D. S. Composição de voláteis e qualidade de aroma de vinho de caju –** Campinas, SP: Tese de Doutorado, [S.N.], 2001.

**GUILHERME, L. S. Vinagre. Fundação Faculdades Luiz Meneghel.** Bandeirantes – PR, 2001.

**HOLANDA, J.S.; OLIVEIRA, A.C.** Enriquecimento protéico de pedúnculo de caju com emprego de leveduras, para alimentação animal. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.33, n. 5, p.787-792, 1998.

**HAENDLER, L.; DUVERNEUIL, G.** Note sur les possibilités de transformation des fruits et des “faux fruits” de l’anacardier (*Anacardium occidentale*). Fruits, v.25, n.5, p. 379-384, 1970.

**MACIEL, M. I.; HANSEN, T. J.; ALDINGER, S. B.; LABOWS, J. N.;** Flavor chemistry of cashew apple juice, *Journal Agricultural Food Chemistry*, v.34, n.5, p. 923-927, 1986.

**MAIA, G. A.; MONTEIRO, J.C.S.;** Guimar Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. Ciências e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.21, n.1, p.43-46, 2001.

MARANGON, A. L. P.; DA SILVA, P. H. A.; MENDES, G. L. **Produção de Vinagre de Caqui**. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Viçosa – MG, 2003.

MEDEIROS, M. C. **Contribuição as estudo da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale, L.*) para a produção de aguardente**. São Paulo, 1990, 88 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Escola Politécnica, Universidade Estadual de São Paulo.

OLIVEIRA, M. E. B. **Aminoácidos livres majoritários no suco de caju (*Anacardium occidentale, L.*) – clone CCP 09**. Fortaleza, 1997. 159p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Agrária, Universidade Federal do Ceará.

PAIVA, F.F. de A.; GARRUTI, D. dos S.; SILVA NETO, R.M.da. **Aproveitamento Industrial do Caju**. Fortaleza: Embrapa - CNPAT/SEBRAE/CEARÁ, 2000.

PARK, Y.S.; M.; OKUMURA.; KAWAMURA, Y.; TODA, K. **Production of Acetic Acid by a Repeated Batch Culture with Cell Recycle of *Acetobacter Aceti***. *Biotechnology Letters*, 13 (4), 271-276, 1990.

PARK, Y.S.; TODA, K. **Multi-Stage Biofilm Reactor for Acetic Acid Production at Concentration**, *Biotechnology Letters*, 14 (7), 609 – 612, 1992.

PEDROSO, P. R. F.; LIMA, M. C. B.; MUNIZ, C. F.; NINOW, J. L.; FURGO JUNIOR, A. **Produção de Vinagre de Maçã em Biorreator *Airlift***. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Engenharia química, Florianópolis – SC, 2003.

PRIMEIRO SITE BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO CAJUEIRO / EMBRAPA

<http://www.cajucultura.cjb.net>

*E-mail*: [vitor@cnpart.embrapa.br](mailto:vitor@cnpart.embrapa.br)

Desenvolvido por: Victor Hugo de Oliveria/EMBRAPA

RIZZON, L.A.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de vinagre**, Bento Gonçalves, RS, 2001, 14 p. (Embrapa Uva e vinho. Documentos, 36).

SILVA, F.L.H. **Modelagem, Simulação e Controle de Fermentação Alcoólica Contínua Extrativa**, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Centro de Ciências Tecnologia, Universidade Estadual de Capinas - Unicamp. Campinas - SP, 1998.

SOUTO, F. C.; SILVA, F. L. H.; SILVA, W. B. **Determinação dos Parâmetros Cinéticos de Crescimento e Produção da Fermentação Alcoólica**. Relatório de Iniciação Científica, PIBIC / CNPq, 2001, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande – PB.

TORRES NETO, et al. **Utilização do suco de caju para produção de vinho**. Relatório de Iniciação Científica, PIBIC / CNPq, 2002, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande – PB.

ZARDINI, F. A.; **Construção e Operação de um Gerador de Vinagre**. Dissertação de Mestrado. UNICAMP, Campinas, 2000.

---

# ANEXOS

---

ANEXO A

Cálculos e Expressões

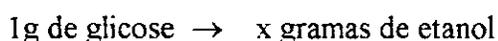
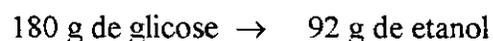
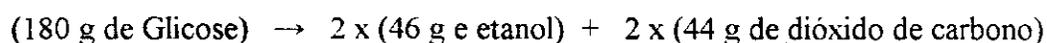
ANEXO A**1. DEDUÇÕES DE EXPRESSÕES PARA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA***1.1 Cálculo de eficiência estequiométrica, rendimento e produtividade.*

A eficiência é função da quantidade de álcool etílico e da quantidade de açúcares redutores totais do meio de alimentação. Observando-se a reação do processo fermentativo, é possível prever estequiometricamente a eficiência máxima do processo, ou seja:



ART (expresso etanol gás carbônico em glicose)

ART (açúcares redutores totais)



$$x = 0,511 \text{ g etanol/ g glicose}$$

A concentração de sacarose é calculada pela seguinte equação:

$$^{\circ}\text{Brix corrigido} = ^{\circ}\text{Brix não corrigido} \pm \text{o fator de correção}$$

Obs: O fator de correção depende diretamente do  $^{\circ}\text{Brix}$  lido e da temperatura do líquido analisado, ver Tabela B<sub>3</sub>.

$$S(\text{g/L}) = (^{\circ}\text{Brix corrigido}) \times 10,13 + 1,445 \quad (\text{Curva de Calibração})$$

onde:

S = concentração de sacarose (g/L)

A quantidade de álcool produzida é calculada matematicamente a partir do (°GL), medidos a 20°C, utilizando-se da seguinte expressão abaixo, o valor do °GL é determinado experimentalmente com a utilização do ebulliômetro.

$$\text{Quantidade de Álcool} = \frac{0,7918\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{\text{°GL}}{100\text{mL}} \times \frac{1000\text{mL}}{1\text{L}}$$

A unidade utilizada é gramas de álcool por litro (g/L) (SILVA. F.L. H., 1999).

Para obter a quantidade de etanol produzido a partir do °GL para mL de etanol por litro de solução:

$Q_{\text{EXP}}$  = Quantidade de álcool produzido

$$Q_{\text{EXP}} = \text{°GL} \times \left( \frac{\text{ml - de - etanol}}{100\text{ml - de - vinho}} \right) \times \left( \frac{1000\text{mL}}{1\text{L}} \right)$$

A determinação da quantidade de álcool teórica e dada pela equação abaixo:

$$Q_{\text{TEO}} = \text{Quantidade de Sacarose Consumida (g/l)} \times 0,6819 \frac{\text{ml - de - etanol}}{\text{g - de - sacarose}}$$

O rendimento é função do etanol produzido em relação aos açúcares consumidos, a equação abaixo expressa o rendimento em %:

$$\text{Rendimento(\%)} = \frac{Q_{\text{EXP}}}{Q_{\text{TEO}}} \times 100(\%)$$

onde:

$Q_{\text{EXP}}$  = Concentração de etanol experimental;

$Q_{\text{TEO}}$  = Concentração de etanol teórico;

Rendimento = Rendimento do processo (%).

A produtividade é função da quantidade de etanol produzido e do volume do fermentador (reator). A equação abaixo expressa a produtividade em g de etanol/ L.h.

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = \frac{P}{t}$$

onde:

$Q_{\text{EXP}}$  = Concentração de etanol experimental (g/L);

t = Tempo de fermentação (h);

Produtividade = Produtividade do processo (g/L.h).

O cálculo da acidez total do vinho de caju é dado pela equação descrita abaixo:

$$A \text{ (g/100mL)} = \frac{N_b \times V_b \times M_{eq}}{V_a} \times 100 \%$$

onde:

$N_b$  = normalidade da base (NaOH, 0,112N);

$V_b$  = volume da base gasto na titulação (mL);

$M_{eq}$  = miliequivalente do ácido acético (0,06);

$V_a$  = volume da amostra (mL);

A = Concentração de ácidos totais expresso em porcentagem de ácido acético (g/100mL).

Os parâmetros  $Y_{x/s}$  e  $Y_{p/s}$  expressam o rendimento de produção. O rendimento ( $Y_{x/s}$ ) é a quantidade de biomassa (X) formada em relação à quantidade do substrato limitante consumido (S) e o rendimento ( $Y_{p/s}$ ) é a quantidade de produto (P) formado em relação à quantidade do substrato limitante consumido (S). As equações abaixo expressam matematicamente os valores de  $Y_{x/s}$  e  $Y_{p/s}$ , respectivamente.

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S}$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S}$$

### 1.2 Exemplo de cálculo

Para os cálculos do rendimento e da eficiência da fermentação alcoólica, foram observados os seguintes dados do processo produtivo do vinho de caju, como:

- °GL do vinho de caju = 13°GL;
- Quantidade de álcool produzida = 102,934 g/L;
- Açúcares consumidos = 343,6548 g/L;
- Quantidade de álcool teórica = 184,886 g/L;
- Tempo de fermentação = 72 h.

#### 1.2.1 Cálculo do rendimento do vinho de caju

$$\text{Rendimento(\%)} = \frac{Q_{\text{EXP}}}{Q_{\text{TEO}}} \times 100(\%) = \frac{102,934}{184,886} \times 100 = 55,67\%$$

#### 1.2.2 Cálculo da produtividade do vinho de caju

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = \frac{P}{t} = \frac{102,934}{72} = 1,43 \text{ g/L.h}$$

#### 1.2.3 Cálculo dos parâmetros fermentativos: $Y_{X/S}$ e $Y_{P/S}$ .

Os dados para estes cálculos foram retirados das Tabelas 4.1 e 4.2 em anexo.

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} = \frac{37 - 16}{343,6548} = 0,061$$

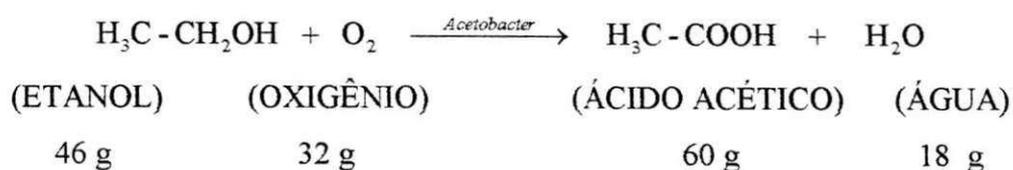
$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} = \frac{102,934}{343,6548} = 0,30$$

## 2. DEDUÇÕES DE EXPRESSÕES PARA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

### 2.1 *Deduções de expressões para acidez, rendimento e produtividade.*

#### 2.1.1 *Fator de conversão do etanol em ácido acético*

Reação estequiométrica:



46 g de etanol  $\longrightarrow$  60 g de ácido acético

1 g de etanol  $\longrightarrow$  FC g de ácido acético

FC = 1,304 g de ácido acético

Onde: FC = fator de conversão

#### 2.1.2 *Acidez máxima teórica do vinagre de uma solução alcoólica a 10%*

$$10\% = 7,89 \left( \frac{\text{g}}{100\text{mL}} \right) \times \text{FC} = 10,29 \left( \frac{\text{g de ácido acético}}{100\text{mL}} \right)$$

onde:

FC = fator de conversão (1,304 g de ácido acético)

#### 2.1.3 *Acidez experimental do vinagre de caju*

A acidez do vinagre (%), por definição corresponde ao peso, em gramas, de ácido acético em 100 mL da solução. A equação que determina a acidez é descrita abaixo:

$$A \text{ (g/100mL)} = \frac{N_b \times V_b \times M_{eq}}{V_a} \times 100 \%$$

onde:

$N_b$  = normalidade da base (NaOH, 0,112N);

$V_b$  = volume da base gasto na titulação (mL);

$M_{eq}$  = miliequivalente do ácido acético (0,06);

$V_a$  = volume da amostra (mL);

A = Concentração de ácidos totais expresso em porcentagem de ácido acético (g/100mL).

#### 2.1.4 Cálculo do rendimento do vinagre de caju

$$\text{Rendimento(\%)} = \frac{Ac_{EXP}}{Ac_{TEO}} \times 100(\%)$$

onde:

$Ac_{EXP}$  = Concentração de ácido acético experimental;

$Ac_{TEO}$  = Concentração de ácido acético teórica (máxima).

#### 2.1.5 Cálculo da produtividade do vinagre de caju

$$\text{Produtividade(g/L.h)} = \frac{Ac_{EXP}}{t}$$

onde:

$Ac_{EXP}$  = Concentração de ácido acético experimental;

t = Tempo de fermentação acética.

### 2.1.6 Exemplo de cálculo

1. Para calcular a acidez do vinagre produzido, foi utilizado uma amostra de 2,0 mL de vinagre e titulado com uma solução de NaOH de concentração 0,1N. O volume gasto da solução básica foi de 15,3 mL. Sabendo que o valor do miliequivalente-grama do ácido acético é igual a 0,06. Determinar o valor da acidez (%) do vinagre.

Dados do problema:

Normalidade da solução de NaOH:  $N_B = 0,1N$ ;

Volume gasto de NaOH na titulação:  $V_B = 15,3 \text{ mL}$

Miliequivalente-grama do ácido acético:  $Meq = 0,06$

Volume da amostra titulada de vinagre:  $V_A = 2,0 \text{ mL}$

$$A \text{ (g/100mL)} = \frac{N_b \times V_b \times M_{eq}}{V_A} \times 100\% = \frac{0,1 \times 15,3 \times 0,06}{2} \times 100\% = 4,59\%$$

2. Cálculo do rendimento e produtividade, inoculado com uma solução de vinho de caju de concentração inicial igual a 6,0%.

Densidade de etanol:  $De = 0,789 \text{ g/mL}$

Fator de conversão:  $FC = 1,304\text{g}$  de ácido acético

Concentração inicial de etanol no vinho =  $6,0\% = 6,0\text{mL}/100\text{mL} \times De = 4,734\text{g}/100\text{mL}$

Acidez máxima teórica do vinagre =  $4,734\text{g}/100\text{mL} \times FC = 6,173\text{g}$  de ác. acét./100mL

Acidez experimental do ácido acético =  $3,28\text{g}$  de ácido acético/100mL

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{Ac_{EXP}}{Ac_{TEO}} \times 100(\%) = \frac{3,28}{6,173} \times 100\% = 53,13\%$$

$$\text{Produtividade}(\text{g/L.h}) = \frac{Ac_{EXP}}{t} = \frac{3,28}{72} \times 10 = 0,45\text{g/L.h}$$

Onde: R = rendimento e P = produtividade.

## ANEXO B

### Tabelas

**TABELA B<sub>1</sub>** – Tipos de fabricantes e composição dos vinagres encontrados nos mercados de Juazeiro do Norte – CE e Campina Grande – PB.

Tipos de vinagres	Fabricante	Nacional/ Internacional	Composição	Acidez	Conservante	Corantes	Álcool Residual
Vinagre de álcool	Minhoto	Nacional	Fermentado acético de álcool e água	4%	INS-223	—	Menos que 1°GL
Vinagre de vinho tinto	Milhoto	Nacional	Fermentado acético de vinho tinto e água	4%	INS-223	—	Menos que 1°GL
Vinagre de maçã	Milhoto	Nacional	Fermentado acético de maçã e água	4%	INS-223	—	Menos que 1°GL
Vinagre de vinho branco	Milhoto	Nacional	Fermentado acético de vinho branco	4%	INS-223	—	Menos que 1°GL
Vinagre de álcool com limão	Milhoto	Nacional	Fermentado acético de álcool, aroma natural de limão.	4%	INS-223	—	—
Vinagre de álcool com alho	Milhoto	Nacional	Fermentado acético de álcool, aroma natural de alho.	4%	INS-223	—	—
Vinagre balsâmico de moderna	Minhoto / Produzido na Itália: Fábrica Federzoni Spa	Internacional	Vinagre de vinho-mosto, concentrado de ervas.	4%	INS-223	—	—
Agrin branco	Lord	Nacional	Fermentado acético de álcool e vinho branco	4%	INS-224	INS-150d	—
Agrin tinto	Lord	Nacional	Fermentado acético de álcool e vinho tinto, água.	4%	INS-224	INS-150d	—
Vinagre de álcool	Lord	Nacional	Fermentado acético de álcool	4%	—	—	—
Vinagre de álcool com limão	Lord	Nacional	Fermentado acético de álcool com essência natural de limão	4%	—	—	—

**TABELA B<sub>2</sub>** – Correção da Leitura do °Brix areométrico para a temperatura normal de 20°C

°C	Temperatura			Brix Observado		
	0	5	10	15	20	25
	Subtrair ao °Brix Observado					
15,0	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28	0,30
15,5	0,19	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28
16,0	0,17	0,18	0,20	0,22	0,23	0,25
16,5	0,15	0,16	0,17	0,19	0,20	0,22
17,0	0,13	0,14	0,13	0,16	0,18	0,19
17,5	0,11	0,12	0,15	0,14	0,15	0,16
18,0	0,09	0,10	0,11	0,11	0,12	0,13
18,5	0,07	0,07	0,08	0,08	0,09	0,09
19,0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06
19,5	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02
20,0	Adicionar ao °Brix Observado					
20,5	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03
21,0	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06
21,5	0,07	0,08	0,09	0,09	0,09	0,10
22,0	0,10	0,10	0,11	0,12	0,12	0,13
22,5	0,13	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17
23,0	0,16	0,16	0,17	0,17	0,19	0,20
23,5	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24
24,0	0,21	0,22	0,23	0,24	0,26	0,27
24,5	0,24	0,25	0,27	0,28	0,29	0,31
25,0	0,27	0,28	0,30	0,31	0,32	0,34
25,5	0,30	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37
26,0	0,33	0,34	0,36	0,37	0,40	0,40
26,5	0,36	0,37	0,39	0,40	0,43	0,44
27,0	0,40	0,41	0,42	0,44	0,46	0,48
27,5	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52
28,0	0,46	0,47	0,49	0,51	0,54	0,56
28,5	0,50	0,51	0,53	0,55	0,57	0,59
29,0	0,54	0,55	0,56	0,59	0,61	0,63
29,5	0,58	0,59	0,60	0,63	0,65	0,67
30,0	0,61	0,62	0,63	0,66	0,68	0,71

**TABELA B<sub>3</sub>** - Relações de valores experimentais da produção do vinho de caju.

<b>Pesagens</b>	<b>(Kg)</b>	<b>Volumes</b>	<b>(L)</b>
Caju integral	13,16	Suco integral	9,00
Pedúnculo	11,90	Suco p/ fermentação	8,00
Castanha	1,19	Vinho de caju	5,44
Bagaço	1,61	Etanol inicial (g/L)	0
Suco	9,63	°GL do vinho	13,00
Psuco/Ppedúnculo	80,99	Quantidade de álcool produzida	102,93
Vsuco/Ppedúnculo	45,80	Tempo de fermentação (h)	72,00
Vvinho/Psuco	56,50	Quantidade de álcool teórica	184,88
Pbagaço/Ppedúnculo	13,57	Rendimento (%)	55,67
°Brix do suco	12,50	Produtividade (g/L.h)	1,43
°Brix do vinho	0,56		
Sacarose do suco (g/L)	128,27		
Sacarose adicionada (g/L)	210,00		
Sacarose total inicial (g/L)	350,77		
Sacarose consumida (g/L)	343,65		

(Torres Neto et al, 2003)

**TABELA B<sub>4</sub>** - Dados experimentais das concentrações de biomassa, sacarose, etanol, acidez total e pH, durante 48 horas de fermentação e os valores finais das concentrações ao fim da fermentação (132 horas).

Tempo (h)	Concentração de biomassa (g/L)	Concentração de sacarose (g/L)	Concentração de etanol (g/L)	Acidez total (g/100 mL)	pH
0	15	154,712	0	0,1512	3,8
2	16	137,592	7,948	0,2016	3,8
4	16,5	98,693	25,3376	0,2352	3,8
6	20	55,640	41,1736	0,4032	3,7
8	20,5	25,757	52,6547	0,4704	3,7
10	20,5	16,944	58,1973	0,4704	3,7
12	34	12,689	58,1973	0,4704	3,6
14	37	10,663	58,1973	0,4704	3,6
16	37,5	176,288	58,1973	0,4704	3,6
18	31	168,184	58,1973	0,4704	3,7
20	31	165,146	58,1973	0,4704	3,6
22	30,5	154,712	64,1358	0,4704	3,7
24	32,5	149,647	64,1358	0,4704	3,7
26	34	145,291	70,4702	0,4704	3,5
28	34	138,807	70,4702	0,4704	3,6
30	21,5	131,413	70,4702	0,4704	3,6
32	26,5	126,348	73,6374	0,504	3,5
34	35	121,992	75,2210	0,504	3,5
36	32	117,940	77,5964	0,504	3,6
38	32	112,467	80,7636	0,504	3,6
40	26,5	108,418	83,1390	0,504	3,5
42	22	104,771	87,8898	0,504	3,5
44	22	98,997	91,8488	0,504	3,5
46	21	90,893	95,0160	0,5712	3,7
48	17,5	86,841	99,7668	0,5712	3,7
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
132	0,5	7,118	102,934	0,5544	3,6

**TABELA B<sub>5</sub>** – Resultados da acidez do vinagre formado em função do tempo de fermentação do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (tratamento preliminar da fermentação acética).

Ensaio	Acidez inicial (g/100ml)	Acidez após 24 h (g/100ml)	Acidez após 48h (g/100ml)	Acidez após 72h (g/100ml)
1	0,5025	0,7236	1,9698	2,0502
2	0,8241	0,9246	3,0150	4,1004
3	1,2864	1,3266	2,5326	2,6532
4	1,5075	1,5477	3,1680	4,5828
5	1,0050	1,2261	3,1557	3,3165
6	1,0850	1,2261	3,1000	3,3366
7	1,0850	1,2261	3,1959	3,3567

**TABELA B<sub>6</sub>** – Dados experimentais do rendimento e da produtividade para 72 horas de fermentação

Ensaio	Concentração de etanol(%)	Concentração de ácido acético(%)	Rendimento(%)	Produtividade(g/L.h)
1	-1 (3,0)	-1 (0,5)	50,10	0,21
2	+1 (6,0)	-1 (0,5)	53,07	0,45
3	-1 (3,0)	+1 (1,5)	22,14	0,19
4	+1 (6,0)	+1 (1,5)	49,80	0,42
5	0 (4,5)	0 (1,0)	49,92	0,32
6	0 (4,5)	0 (1,0)	48,63	0,31
7	0 (4,5)	0 (1,0)	48,63	0,31

**TABELA B<sub>7</sub>** - Resultados da acidez do vinagre formado (g/100mL) em função do tempo (72 horas) de fermentação do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (segunda etapa de fermentação)

Ensaio	inicial	5h	17h	24h	29h	41h	48h	53h	65h	72h
1	1,0	1,01	1,28	1,61	1,92	2,49	2,58	2,64	2,40	2,05
2	1,0	1,01	1,31	1,85	2,39	3,29	3,39	3,26	3,02	4,13
3	2,0	2,05	2,28	2,32	2,59	3,83	4,23	4,40	4,20	2,59
4	2,0	2,11	2,32	2,39	2,65	4,30	4,77	5,36	4,14	4,52
5	1,5	1,55	1,81	2,08	2,42	3,60	4,11	4,11	4,11	3,31
6	1,5	1,58	1,88	2,08	2,92	3,56	4,18	4,56	4,18	3,13
7	1,5	1,55	1,81	2,08	2,92	3,53	4,18	4,11	3,55	3,10

**Tabela B<sub>8</sub>** - Dados experimentais da rendimento (%) para 72 horas de fermentação

Ensaio	inicial	5h	17h	24h	29h	41h	48h	53h	65h	72h
1	0	0,26	8,97	19,86	29,66	48,17	51,04	53,30	45,41	34,13
2	0	0,26	10,06	27,48	44,90	74,30	77,56	73,21	65,59	101,52
3	0	0,80	4,61	5,16	9,51	29,66	36,19	38,91	35,64	9,51
4	0	1,89	5,16	6,25	10,60	37,28	44,84	54,43	34,69	40,89
5	0	1,28	8,86	16,43	25,89	59,02	73,42	73,42	73,42	50,87
6	0	2,23	10,75	16,43	39,84	58,07	75,38	86,16	75,38	45,97
7	0	1,28	8,86	16,43	39,84	57,13	75,38	73,42	57,74	44,99

**Tabela B<sub>9</sub>** - Dados experimentais da produtividade (g/L.h) para 72 horas de fermentação

Ensaio	inicial	5h	17h	24h	29h	41h	48h	53h	65h	72h
1	---	0,02	0,16	0,26	0,32	0,36	0,33	0,31	0,22	0,15
2	---	0,02	0,18	0,35	0,48	0,56	0,50	0,43	0,31	0,44
3	---	0,1	0,17	0,13	0,20	0,45	0,46	0,45	0,34	0,08
4	---	0,23	0,19	0,16	0,23	0,56	0,58	0,63	0,33	0,35
5	---	0,09	0,18	0,24	0,32	0,51	0,54	0,49	0,40	0,25
6	---	0,16	0,22	0,24	0,49	0,50	0,56	0,58	0,41	0,23
7	---	0,09	0,18	0,24	0,49	0,49	0,56	0,49	0,32	0,22

**TABELA B<sub>10</sub>** – Análise da variância do rendimento para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (17 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	22,15	3	7,38	
Resíduos	1,41	3	0,47	15,66
F. de ajuste	0,009	1	0,009	
Erro puro	1,40	2	0,702	
Total	23,57	6		
% de variação explicada:	94,00			
% máxima de variação explicável:	94,04			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>11</sub>** – Análise da variância do rendimento para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (24 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	352,37	3	117,46	
Resíduos	7,48	3	2,49	39,15
F. de ajuste	7,48	1	7,48	
Erro puro	0,00	2	0,00	
Total	359,86	6		
% de variação explicada:	97,92			
% máxima de variação explicável:	100			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>12</sub>** – Análise da variância do rendimento para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (29 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	857,68	3	285,89	
Resíduos	24,94	3	8,31	34,38
F. de ajuste	24,94	1	24,94	
Erro puro	0,00	2	0,00	
Total	882,62	6		
% de variação explicada:	97,17			
% máxima de variação explicável:	100			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>13</sub>** – Análise da variância do rendimento para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (41 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1141,30	3	380,43	
Resíduos	14,69	3	4,89	77,66
F. de ajuste	13,64	1	13,64	
Erro puro	1,05	2	0,52	
Total	1155,99	6		
% de variação explicada:	98,72			
% máxima de variação explicável:	99,90			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>14</sub>** – Análise da variância do rendimento para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (48 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1084,32	3	361,44	
Resíduos	20,10	3	6,70	53,92
F. de ajuste	18,60	1	18,60	
Erro puro	1,50	2	0,75	
Total	1104,42	6		
% de variação explicada:	98,18			
% máxima de variação explicável:	99,86			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>15</sub>** – Análise da variância da produtividade para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (24 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,030	3	0,01	
Resíduos	0,00052	3	0,47	57,14
F. de ajuste	0,00052	1	0,00017	
Erro puro	0,00	2	0,00052	
Total	0,020	6		
% de variação explicada:	98,28			
% máxima de variação explicável:	100			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>16</sub>** – Análise da variância da produtividade para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (29 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,046	3	0,015	
Resíduos	0,00023	3	0,000076	203,36
F. de ajuste	0,00023	1	0,000230	
Erro puro	0,00	2	0,00	
Total	0,047	6		
% de variação explicada:	99,51			
% máxima de variação explicável:	100			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>17</sub>** – Análise da variância da produtividade para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (41 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,027	3	0,0092	
Resíduos	0,00085	3	0,00028	32,28
F. de ajuste	0,00072	1	0,00072	
Erro puro	0,00013	2	0,000067	
Total	0,028	6		
% de variação explicada:	97,00			
% máxima de variação explicável:	99,53			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

**TABELA B<sub>18</sub>** – Análise da variância da produtividade para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros (72 h)

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de G. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,037	3	0,012	
Resíduos	0,004	3	0,0013	9,30
F. de ajuste	0,003	1	0,0035	
Erro puro	0,0004	2	0,0024	
Total	0,041	6		
% de variação explicada:	90,30			
% máxima de variação explicável:	98,84			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

## ANEXO C

### Gráficos

## 1. GRÁFICOS DO ESTUDO DA PRODUÇÃO DE VINHO DE CAJU

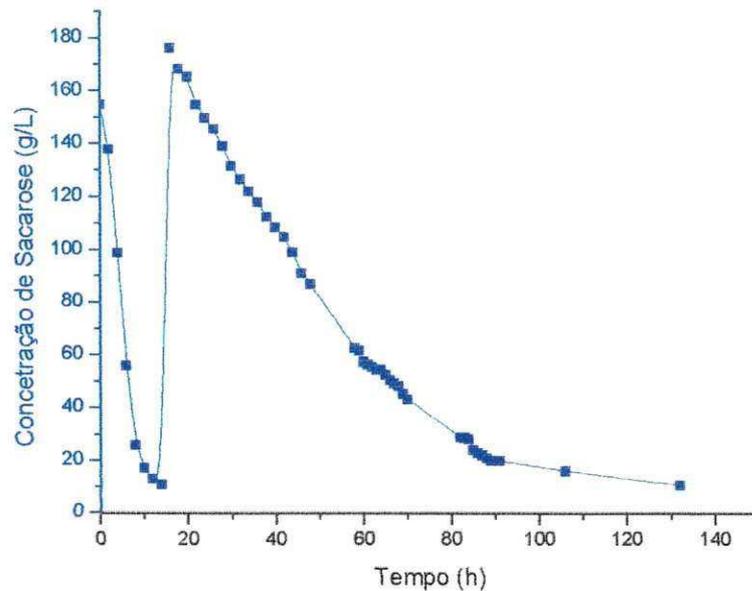


Figura C<sub>1</sub> – Curva de decaimento da concentração de substrato (sacarose, em g/L) em decorrência do tempo de fermentação, de 132 horas.

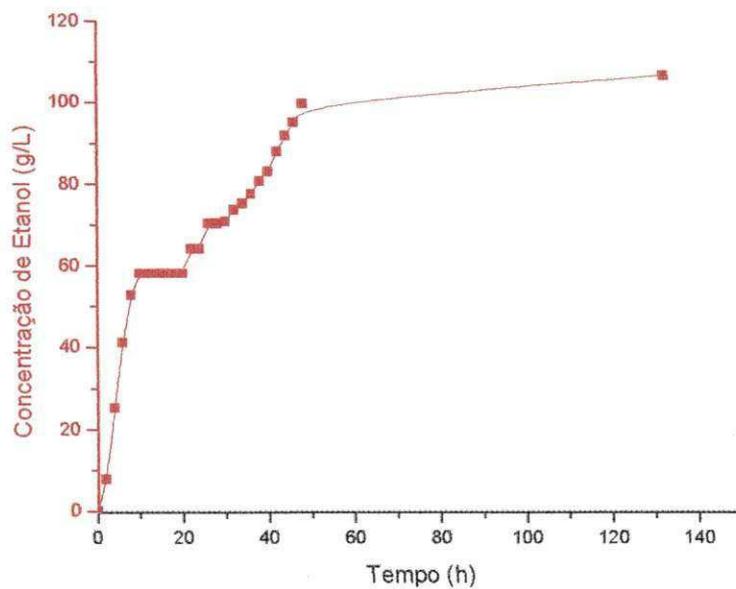
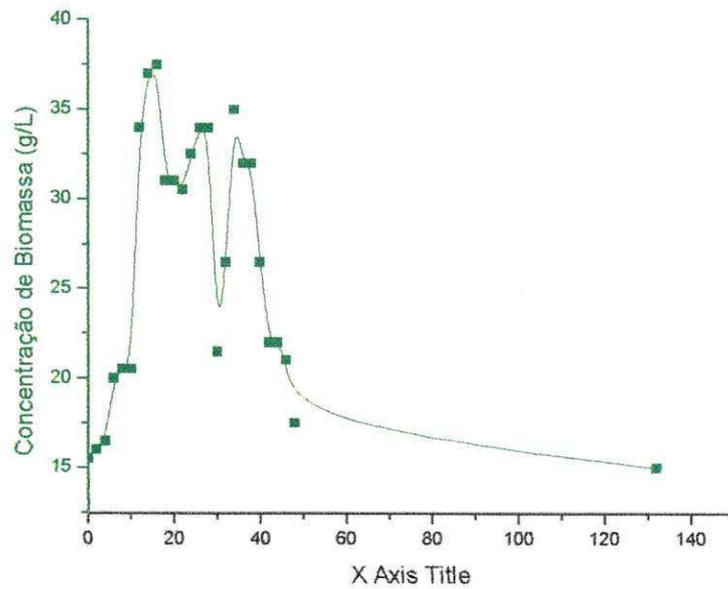
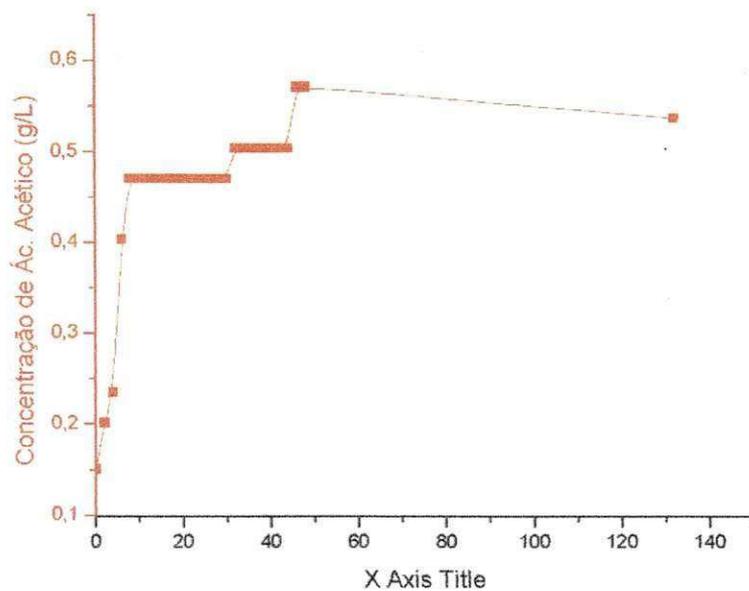


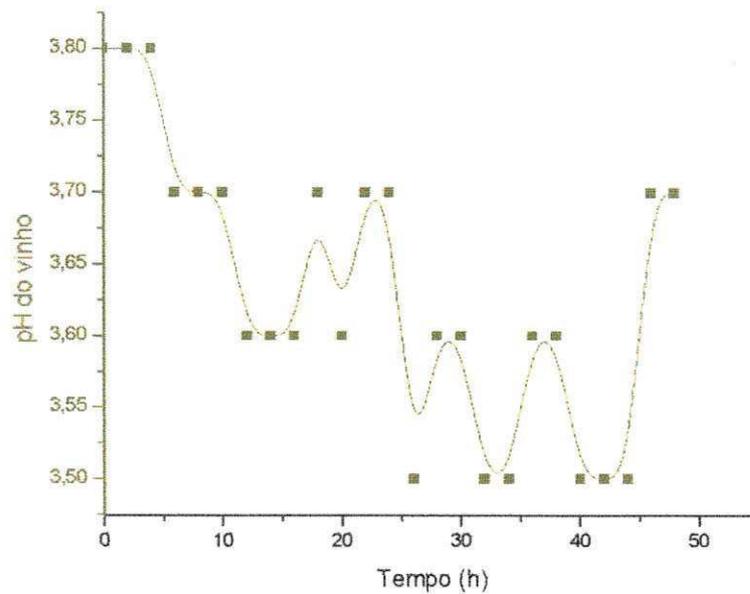
Figura C<sub>2</sub> – Curva de crescimento da concentração do produto (etanol, em g/L) em decorrência do tempo de fermentação, de 132 horas.



**Figura C<sub>3</sub>** – Curva de crescimento microbiano (biomassa, em g/L) em decorrência do tempo de fermentação, de 132 horas.

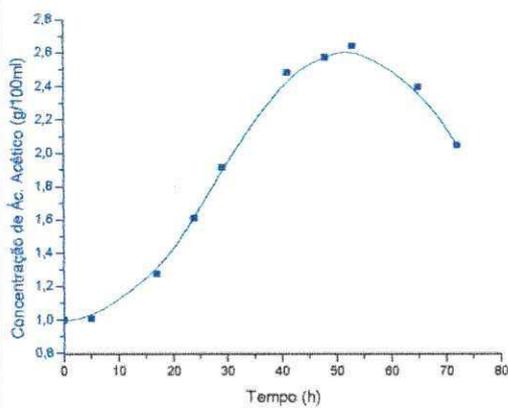


**Figura C<sub>4</sub>** – Curva de crescimento acidez total (em g/100mL) em decorrência do tempo de fermentação, de 132 horas.

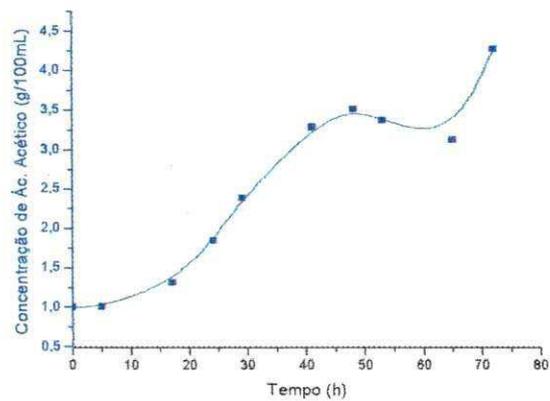


**Figura C<sub>5</sub>** – Curva que descreve o comportamento do pH durante as 132 horas de fermentação.

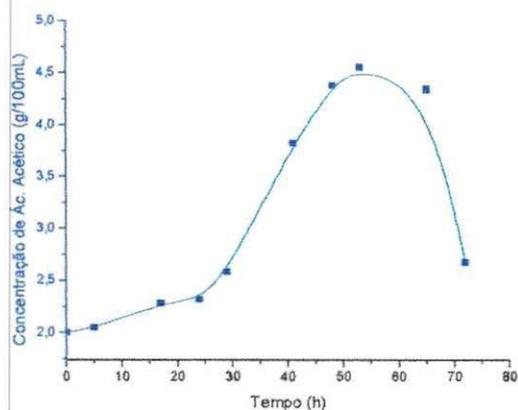
## 2. Gráficos do processamento do Vinagre de Caju



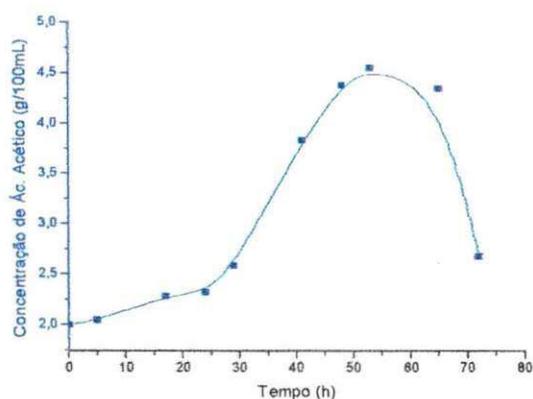
**Figura C<sub>6</sub>** – Curva que descreve variação de ácido acético (em g/100mL), durante as 72 horas de fermentação, para o 1º Ensaio.



**Figura C<sub>7</sub>** – Curva que descreve variação de ácido acético (em g/100mL), durante as 72 horas de fermentação, para o 2º Ensaio.



**Figura C<sub>8</sub>** – Curva que descreve variação de ácido acético (em g/100mL), durante as 72 horas de fermentação, para o 3º Ensaio. Mostrando que o 3º Ensaio alcançou os 4% de ácido acético, estando dentro da legislação brasileira.



**Figura C<sub>9</sub>** – Curva que descreve variação de ácido acético (em g/100mL), durante as 72 horas de fermentação, para o 4º Ensaio. Mostrando que o 3º Ensaio alcançou os 4% de ácido acético, estando dentro da legislação brasileira.

## ANEXO D

### Trabalhos Publicados

**SINAFERM 2003****ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DO VINAGRE DE CAJU**

Moacir Epifânio da Silva<sup>1</sup>, Ramdayal Swarnakar<sup>2</sup>, Flávio Luiz Honorato da Silva<sup>2</sup>

O vinagre de caju produzido por fermentação acética, com o uso do vinho de caju, é economicamente viável, apresentando vantagens, principalmente na região Nordeste, onde a quase totalidade de produção situa-se nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. O litoral nordestino é tido como centro de origem do cajueiro comum. Por outro lado, é uma matéria-prima muito barata quando comparada com outras. A produção de um vinagre de boa qualidade depende de alguns fatores, como: concentração do álcool no vinho, temperatura de fermentação, concentração do vinagre e nutrientes. Em função desta produção, na sua grande maioria usarem dados sem consistência, ou seja, sem critérios técnicos ou científicos faz-se necessário um estudo cinético e análise das variáveis que interferem no sistema. Com base nestes dados é possível fazer a otimização do processo de produção de vinagre, possibilitando resultados eficientes (altos rendimentos e altas produtividades), além de ajudar a aumentar os conhecimentos a respeito da fermentação acética. Os vinagres produzidos por vinhos de frutas apresentam qualidades sensoriais e nutritivas melhores, quando da comparação com o vinagre oriundo diretamente da matéria-prima etanol. O suco de caju pode ser utilizado para produção do vinho, aguardente (destilado da fermentação do vinho), vinagre de boa qualidade (oxidação do vinho) e refrigerante. O resultado destes estudos ajudam a evitar o desperdício de caju na região Nordeste. Este trabalho têm como objetivos estudar a cinética de oxidação do vinho fermentado para a produção de vinagre, a verificação os efeitos das variáveis de entrada (concentração de etanol no vinho, temperatura do processo, acidez inicial, etc.) sobre as variáveis respostas (eficiência, análise sensorial, qualidade físico-química e legislação vigente).

## ESTUDO DA VERIFICAÇÃO DOS EFEITOS DAS CONCENTRAÇÕES INICIAIS DE ETANOL E DE ÁCIDO ACÉTICO SOBRE A EFICIÊNCIA DA PRODUÇÃO DE VINAGRE DE VINHO DE CAJU

*Moacir Epifânio da Silva<sup>1</sup>, Flávio Luiz Honorato da Silva<sup>2</sup> e Ramdayal Swarnakar<sup>3</sup>*

Mestrando DEQ/CCT, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, 58.109-970, Campina Grande – PB<sup>1</sup>

Professor Orientador DEQ/CCT, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, 58.109-970, Campina Grande – PB<sup>2</sup>, e-mail: flhs@deq.ufcg.edu.br

Professor Orientador DEQ/CCT, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, 58.109-970, Campina Grande – PB<sup>3</sup>, e-mail: swarna@deq.ufpb.br

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale*; vinagre de caju; fermentação acética; eficiência fermentativa

**Área do Conhecimento:** III - Engenharias

**Resumo** – Atualmente a cajucultura vem se expandindo e a produção de vinagre de caju (*Anacardium occidentale*) é uma alternativa tecnicamente viável que busca reduzir o desperdício do pseudofruto uma vez que apenas 15% do pedúnculo é aproveitado pelas indústrias. Com a finalidade de otimizar o processo de vinagre de caju realizou-se um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> completo. As variáveis independentes foram concentração inicial de etanol no vinho de caju, entre 3% e 6%, e concentração de ácido acético, de 0,5% a 1,5%. O tempo de processo foi de 72 horas. O rendimento e a produtividade (eficiência fermentativa) de vinagre variaram de 22,1 a 53,1% e de 0,19 a 0,42g/L.h, respectivamente. Foi verificado que com o aumento da concentração inicial de álcool no vinho de caju o rendimento e a produtividade do vinagre aumentaram, entretanto, com o aumento da acidez os mesmos diminuíram. Portanto, através do teste F e % de variação explicada, pode-se afirmar que o modelo empírico, encontrado pela regressão dos dados experimentais, é estatisticamente significativo.

### Introdução

Define-se o vinagre como sendo um produto obtido por uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética, a partir da oxidação química (oxigênio e álcool) e biológica (bactérias do gênero acetobacter ou gluconobacter) [1]. As bactérias acéticas utilizadas neste processo são aeróbias [2].

Durante a fermentação acética, alguns fatores influenciam no processo como:

- A concentração de carboidrato no suco;
- A concentração de levedura;
- A temperatura de fermentação;
- pH do meio;
- A quantidade de oxigênio (O<sub>2</sub>);
- A clarificação, o envase, a pasteurização.

O vinagre de caju produzido por fermentação alcoólica e acética do vinho de caju, é tecnicamente viável, apresentando vantagens, principalmente na região Nordeste, onde a quase totalidade de produção de caju situa-se nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte [3]. Por outro lado, o caju é uma matéria-prima muito barata quando comparada com outras. O caju pode dar um vinagre de boa qualidade.

Em função desta produção, faz-se necessário um estudo cinético com critérios técnicos ou científicos consistentes e análise das variáveis que interferem no sistema. Com base nestes dados é possível fazer a otimização do processo de produção de vinagre, possibilitando resultados eficientes (altos rendimentos e altas produtividades).

Os vinagres produzidos por vinhos de frutas, em termos de qualidade, são muito mais apreciáveis e nutritivos, quando comparados com o vinagre oriundo diretamente da matéria-prima etanol [4].

Em pesquisas realizadas nos supermercados de Campina Grande (PB) e Juazeiro do Norte (CE), não foi encontrado para sua comercialização o vinagre de caju a partir do vinho de caju. Os produtos encontrados no mercado foram o suco de caju e o refrigerante de caju (cajuína). Assim sendo, busca-se enfatizar a produção de vinagre de caju na região Nordeste, reduzindo o desperdício desta fruta.

O laboratório de Processos industriais (LAPI) do DEQ/CCT/UFCG produz em escala comercial (aproximadamente 300 litros/mês) de vinagre, utilizando-se como matéria-prima o etanol. Este laboratório com o estudo da otimização do processo de produção de vinagre obteve ao longo destes últimos 3

## ANEXOS

anos uma boa experiência no assunto, tendo como

resultado uma dissertação de mestrado e dois trabalhos de Iniciação Científica e com estes conhecimentos adquiridos está sendo oferecida assistência técnica para pequenas empresas produtoras de vinagre da região do compartimento de Campina Grande e adjacências, bem como a venda deste produto para consumo no restaurante universitário e da população em geral.

Sabe-se que a agroindústria do caju está expandindo em função dos incentivos fiscais e subsídios dados pelo Governo Federal. O setor, atualmente, é de grande importância para minimização das distorções regionais, justificando o interesse do Poder Público brasileiro, pois é constituído de 23 indústrias de beneficiamento do fruto (castanha) e de 8 indústrias ligadas ao aproveitamento do pseudofruto (principalmente de suco), gerando serviços para 1,5 milhão de trabalhadores[5]. O objetivo do trabalho foi verificar as influências das variáveis: concentração inicial de etanol no vinho e concentração inicial de ácido acético sobre as variáveis respostas: rendimento e produtividade, na produção de vinagre de vinho de caju, utilizando-se da metodologia de planejamento fatorial.

### Metodologia

#### MATÉRIA-PRIMA

Na presente pesquisa utilizou-se como matéria-prima o vinho de caju para obtenção do vinagre e tendo como inóculo o bagaço de cana-de-açúcar.

#### MICROORGANISMOS

Para a condução e processamento da oxidação acética foram utilizadas bactérias acéticas presentes no próprio bagaço. Tais bactérias são selecionadas espontaneamente, em função das condições de acidez do meio em que são mantidas.

#### TIPOS DE REATORES UTILIZADOS

Foram realizadas as experiências em dois tipos de reatores, a saber: Reator de 30 L (denominado Reator 1) com a capacidade de alimentação de solução de vinagre forte de 5L, feito de tambor de plástico com enchimento de pedaços de cana-de-açúcar e contendo na parte inferior uma torneira para coleta de amostras de vinagre forte. Reator Descontínuo de 600 ml (denominado Reator2), com a capacidade de alimentação de solução de vinho de caju de 100 ml, usando um Becker de vidro, na escala bancada.

#### PROCEDIMENTO PARA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

Os ensaios de fermentação foram realizados usando: 100g de bagaço do reator 1 e 100ml solução de vinho de caju. Para conseguir as concentrações iniciais

de ácido acético dos níveis mostrados na Tabela 1 foi adicionado vinagre forte.

Com objetivo de quantificar os efeitos das variáveis para otimização do processo, foi usado o planejamento fatorial completo  $2^2$  mais três experimentos no ponto central, conforme Tabela 2. Os experimentos foram realizados aleatoriamente de 72h em 72h, em duplicata. A acidez foi expressa em porcentagem de ácido acético (p/v), o rendimento em % e a produtividade em g/L.h. A Tabela 1 apresenta os níveis codificados e reais das variáveis independentes e a Tabela 2 mostra as 7 possíveis combinações experimentais, sendo denominada matriz de planejamento. O principal objetivo das repetições dos três experimentos no ponto central (0) foi o de permitir obter uma estimativa da variação em função do erro experimental.

Tabela 1 – Níveis das variáveis independentes do planejamento fatorial completo  $2^2$

Variáveis	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
Concentração do vinho de caju (%)	3,0	4,5	6,0
Concentração de ácido acético (%)	0,5	1,0	1,5

Tabela 2 – Matriz do planejamento experimental fatorial  $2^2$

Experimentos	Concentração do vinho de caju	Concentração de ácido acético
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

#### DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO E PRODUTIVIDADE

As expressões utilizadas para determinar o rendimento e a produtividade são descritas nas equações (1) e (2) respectivamente.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{variação de acidez}}{\text{acidez máxima teórica}} \quad (1)$$

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{variação acidez}}{\text{tempo}} \quad (2)$$

#### Resultados e Discussões

**ANEXOS**

A Tabela 3 apresenta os dados da acidez do vinagre de caju formado em 72 horas de fermentação, conforme planejamento fatorial 2<sup>2</sup>. Os ensaios foram realizados em ordem aleatória.

**Tabela 3** – Resultados da acidez do vinagre formado em função de tempo da fermentação do planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.

Ensaio	Acidez inicial (g/100ml)	Acidez após 72h (g/100ml)
1(1 <sup>o</sup> )	0,50	2,05
2(3 <sup>o</sup> )	0,82	4,10
3(2 <sup>o</sup> )	1,29	2,65
4(4 <sup>o</sup> )	1,51	4,58
5(7 <sup>o</sup> )	1,00	3,31
6(5 <sup>o</sup> )	1,08	3,33
7(6 <sup>o</sup> )	1,08	3,35

Os dados experimentais do rendimento e da produtividade após 72 horas são apresentados na Tabela 4. As equações do modelo linear ajustado pela regressão dos dados experimentais para os rendimento e produtividade respectivamente são:

$$\text{Rendimento} = 46,04 + 7,658\text{Cal} - 7,81 \text{Caa} + 6,17\text{Cal} \cdot \text{Caa} \quad (3)$$

$$\text{Produtividade} = 0,316 + 0,1175\text{Cal} - 0,0125 \text{Caa} - 0,0025\text{Cal} \cdot \text{Caa} \quad (4)$$

Onde: Cal e Caa representam concentrações de álcool e ácido acético respectivamente. Os parâmetros estatisticamente significativos, ao nível de confiança de 95 %, estão em negrito.

**Tabela 4** – Dados experimentais do rendimento e da produtividade após 72 horas.

Experimentos	Rendimento (%)	Produtividade (g/Lh)
1(1 <sup>o</sup> )	50,10	0,21
2(3 <sup>o</sup> )	53,07	0,45
3(2 <sup>o</sup> )	22,14	0,19
4(4 <sup>o</sup> )	49,80	0,42
5(7 <sup>o</sup> )	49,92	0,32
6(5 <sup>o</sup> )	48,63	0,31
7(6 <sup>o</sup> )	48,63	0,31

As Figuras 1 e 2 apresentam as superfícies de resposta mostrando efeitos de variáveis: concentrações iniciais de álcool e ácido acético sobre o rendimento e a produtividade de vinagre, respectivamente. Observa-se que, com o aumento da concentração inicial de álcool no vinho, ocorre um significado aumento do rendimento e produtividade. Com relação à concentração inicial de ácido acético, verificou-se uma inversão, ou seja, com o aumento da concentração ocorre uma diminuição no rendimento e produtividade. Não foram observados efeitos

Dissertação de Mestrado

estatisticamente significativos das interações das duas variáveis estudadas.

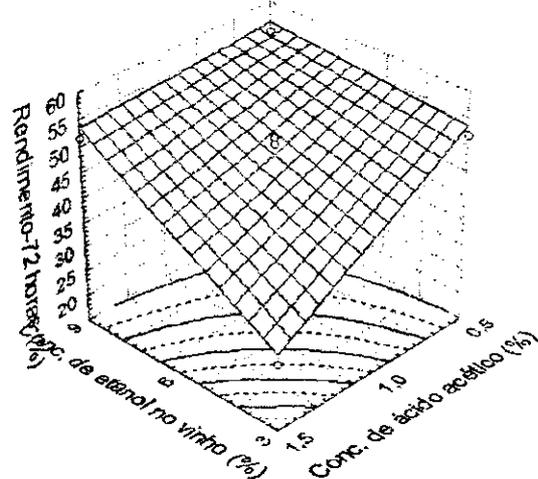


Figura 1 - Superfície de resposta: Variação de rendimento (%) de vinagre em função de concentrações iniciais de álcool e de ácido acético em vinho de caju.

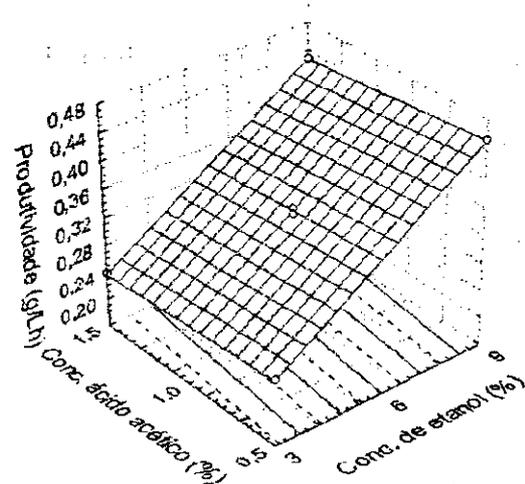


Figura 2 - Superfície de resposta: Variação de produtividade (%) de vinagre em função de concentrações iniciais de álcool e de ácido acético em vinho de caju.

A Tabela 5 apresenta a análise da variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros, através de uma regressão.

**ANEXOS**

**Tabela 5 – Análise da variância para o ajuste do modelo linear com 4 parâmetros**

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática	Teste F
Regressão	630,7765	3	210,26	
Resíduos	48,9462	3	16,32	12,88
F. de ajuste	47,8368	1	47,8368	
Erro puro	1,1094	2	0,5547	
Total	679,722	6		
% de variação explicada:	92,80			
% máxima de variação explicável:	99,80			
Ftabelado para 95% de confiança				9,28

Tendo a finalidade de verificar se o modelo apresenta *significância estatística*, fez-se a análise de variância, através do % de variação explicada e teste F. Com o teste F foi possível observar que o valor de F calculado foi maior que o valor de F tabelado, para um nível de confiança de 95%. Portanto, pode-se afirmar que o modelo empírico é estatisticamente significativo, conforme BARROS NETO, (1995) [6].

**Conclusões**

- No presente trabalho, os vinagres obtidos em 72 horas apresentaram rendimento e produtividade variando de 22,1 a 53,1% e de 0,19 a 0,42g/l.h, respectivamente.
- Foi verificado que com o aumento da concentração inicial de álcool no vinho de caju o rendimento e a produtividade do vinagre aumentaram, por outro lado, com o aumento da acidez os mesmos diminuíram.
- A análise da variância dos modelos obtidos para as superfícies de respostas revelou que é possível otimizar o processo.
- Através do teste F e % de variação explicada, pode-se afirmar que o modelo empírico é estatisticamente significativo.

**Referências Bibliográficas**

[1] AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA,U.; BORZANI, W. **Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação**. São Paulo, v.5, 1993.

[2] AQUARONE, E. ALMEIDA LIMA,U.; BORZANI, W. **Tecnologia das Fermentações**. São Paulo, v.1,1992.

[3] EMBRAPA/CNPAT –FORTALEZA/Comunicados Técnicos: nº 3(out./92), nº2(Fev./91), nº8(Fev./95), nº14(Fev./98). Informativos: nº1(Abri./93), nº2(Abri./93).

[4] BERTOLINI, F.; SANTANNA, E. S. TORRES, R. C. **Comportamento das Fermentações Alcoólica e Acética de Sucos de Kiwi (Actinidia deliciosa); Composição dos Mostos e Métodos de Fermentação Acética**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 21(2): 236-243, maio-ago. 2001.

[5] MAIA, G. A.; MONTEIRO, J.C.S.; Guimar **Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 21(1): 43-46, jan.-abr., 2001.

[6] BARROS NETO, B.; SCARMINO, J.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**, Campinas: edit. da Unicamp, 1995

Resumo para o COBEQ 2004.**ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DO VINHO DE CAJU**

Moacir Epifânio da Silva<sup>1</sup>, Alberto B. Torres Neto<sup>2</sup>, Roseany Vasconcelos Vieira<sup>2</sup>, Wagner Barros Silva<sup>2</sup>, Flávio Luiz Honorato da Silva<sup>3</sup> e Ramadaya Swarnakar<sup>3</sup>

**RESUMO**

No cenário nacional e internacional o mercado brasileiro desponta como uma grande potência na produção de frutas tropicais. Podemos dar ênfase para frutas como a laranja, o abacaxi e a banana. Também tem grande espaço a cultura do caju, que é uma iguaria originada da fauna nordestina brasileira. Entretanto é detectado um grave problema nesta cultura, pelo o alto valor comercial, que é agregado à amêndoa (a castanha), apenas cerca de 15% da produção brasileira é destinada para derivados da sua parte succulenta (o pedúnculo). Um desperdício intolerável para uma região tão carente de recursos financeiros. Porém existe uma solução viável que é tão ou mais antiga quanto o próprio homem, esta é a fermentação. A fermentação alcoólica de uvas frescas e maduras resulta em uma bebida muito valorizada pelo mundo inteiro por seu valor nutricional e o prazer de gustativo, este o vinho.

Partindo de tal princípio, este trabalho utilizou o suco de frutas frescas e maduras de caju para a produção de vinho de caju. O processo foi operado em reator batela agitada, onde no reator foram colocados o suco clarificado e o inóculo (*Saccharomyces cerevisiae*). Foram analisados, em tempos regulares, o decaimento do substrato (sacarose), o crescimento da biomassa, e a produção de etanol e de ácidos totais (e o monitoramento da variação do pH). Finalizou-se a fermentação na concentração de açúcar em torno de 20g/L, para obter um vinho do tipo suave, seguindo as legislações brasileiras, prosseguindo com engarrafamento, pausterização e armazenamento.

A partir dos dados obtidos pode-se calcular as eficiências fermentativas,  $Y_{X/S}$  e  $Y_{P/S}$ , a velocidade média de formação de etanol [produtividade (g/L.h)] e o  $\mu_{m\acute{a}x}$ . Os valores de  $\mu_{m\acute{a}x}$ ,  $Y_{X/S}$ ,  $Y_{P/S}$  e produtividade calculados, em média, foram,  $0,3h^{-1}$ ,  $0,0058(g_{biomassa}/g_{sacarose})$ ,  $0,02995(g_{etanol}/g_{sacarose})$ ,  $0,985(g_{etanol}/L.h)$ , respectivamente, apresentando bons resultado. Pela análise sensorial, usando a Escala Hedônica, verificou-se a boa aceitação do produto. Com base nos resultados obtidos tem-se base para a modelagem matemática e a simulação do processo fermentativo da produção do vinho de caju. Pode-se dar continuidade a trabalho com o estudo da produção de vinagre de caju e cachaça de caju.



## ESTUDOS CINÉTICOS DAS FERMENTAÇÕES ALCOÓLICA E ACÉTICA DA PRODUÇÃO DO VINAGRE DO VINHO DE CAJU

A. C. Feitosa<sup>1</sup>, A. B. Torres Neto<sup>1</sup>, W. B. Silva<sup>1</sup>, M. E. da Silva<sup>2</sup>, R. V. Vieira<sup>2</sup>, F. L. H. da Silva<sup>3</sup> e R. Swarnakar<sup>3</sup>

1-Alunos (colaboradores) - Departamento de Engenharia Química - Universidade Federal de Campina Grande, Campus I, Av. Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, CEP 58.109-970, Campina Grande - Pb - Brasil. Telefone. (083) 310-1521 Fax. (083) 310 1114, e-mail: [wbs\\_ufcg@yahoo.com.br](mailto:wbs_ufcg@yahoo.com.br)

2- Alunos (mestrandos) - Departamento de Pós-graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Campina Grande, Campus I, Av. Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, CEP 58.109-970, Campina Grande - Pb - Brasil. Telefone. (083) 310-1521 Fax. (083) 310 1114, e-mail: [roscanyvieira@yahoo.com.br](mailto:roscanyvieira@yahoo.com.br)

3- Professores (orientadores) - Departamento de Engenharia Química - Universidade Federal de Campina Grande, Campus I, Av. Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, CEP 58.109-970, Campina Grande - Pb - Brasil. Tel. (083) 310-1115, Fax. (083) 310-1114, e-mail: [flhs@ufcg.deq.edu.br](mailto:flhs@ufcg.deq.edu.br) e [swarna@ufcg.deq.edu.br](mailto:swarna@ufcg.deq.edu.br)

**RESUMO** - O aproveitamento do pedúnculo floral do cajueiro na produção do vinagre de vinho de caju, tem como objetivo minimizar o desperdício de 85%, do pseudofruto, na produção brasileira de caju. Tendo em vista que o caju pode produzir vinho e vinagre de boa qualidade, observou-se a necessidade de fazer um estudo cinético das fermentações alcoólica e acética dessas produções. O vinho de caju foi produzido em reator batelada agitado. Os parâmetros cinéticos obtidos foram:  $Y_{X/S}=0,061$ ,  $Y_{P/S}=0,3$ ,  $\mu_{máx}=0,16h^{-1}$  e rendimento e produtividade de 57,57% e 0,78g/L.h, respectivamente. Para o estudo da cinética e otimização da fermentação acética utilizou-se um planejamento fatorial  $2^2$ , tendo como variáveis independentes as concentrações iniciais de etanol no vinho de caju e de ácido acético (vinagre forte). Verificou-se que as faixas de valores das variáveis que otimizam o processo são de 4,8 a 6,0% e de 1,0 a 1,3%, para as concentrações iniciais de etanol e ácido acético, respectivamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** caju, vinho, vinagre, fermentação alcoólica, fermentação acética.

**ABSTRACT** - The utilization of the floral pseudo-fruit of cashew for the production of the vinegar of cashew wine has an objective of reducing the pseudo-fruit wastage, which is 85% of the Brazilian cashew production. Keeping in view that cashew produces a good quality wine and vinegar, it is needed that a kinetic study of cashew alcoholic and acetic fermentation be made. The cashew wine was produced in a stirred batch reactor. The kinetic parameters obtained were:  $Y_{X/S}=0.061$ ,  $Y_{P/S}=0.3$ ,  $\mu_{máx}=0.16h^{-1}$  and the yield and the productivity were 57.57% and 0.78g/L.h, respectively. For the kinetics and optimization of acetic fermentation study a  $2^2$  factorial experimental design was made. The independent variables studied were initial concentrations of ethanol in the cashew wine and acetic acid. It was verified that the ranges of the independent variable concentrations for the process optimization are from 4.8 to 6.0% and from 1.0 to 1.3% for ethanol and acetic acid respectively

**KEY WORDS:** cashew, wine, vinegar, alcoholic fermentation, acetic fermentation



## 1. INTRODUÇÃO

No cenário nacional e internacional o mercado brasileiro desponta como uma grande potência na produção de frutas tropicais. Pode-se dar ênfase para frutas como a laranja, o abacaxi, a banana, a acerola, o caqui, entre outras. Também tem grande espaço a cultura do caju, principalmente na região Nordeste. Entretanto é detectado um grave problema nesta cultura pelo alto valor comercial, que é agregado à amêndoa (a castanha), sendo que apenas cerca de 15% da produção brasileira está destinada para derivados da sua parte succulenta (o pedúnculo). Um desperdício intolerável para uma região tão carente de recursos alimentícios. Porém, existe uma solução viável, que é tão ou mais antiga quanto o próprio homem, a fermentação (Embrapa, 1999). Pode-se observar vários tipos de fermentação, entre elas a fermentação alcoólica e a fermentação acética.

Segundo a O.I.V. (*Office International de la Vigne et du Vin*) o vinho é definido como a bebida resultante da fermentação do mosto (suco) de uvas frescas. Então qualquer bebida resultante da fermentação que não siga os pré-requisitos segundo a O.I.V. não pode ser considerado oficialmente *vinho*. Para isso terá que ser dito desta forma "vinho" de Laranja, vinho de "Maracujá", vinho de Jabuticaba, *Vinho de Caju* entre outros (Aquarone et al., 1983).

O pedúnculo possui uma concentração elevada de pectina, passando-o ao suco, que estando presente durante a fermentação, é degradado produzindo o metanol, que é uma substância bastante tóxica e prejudicial à saúde e, se ingerido exageradamente, pode causar até a morte (Cardoso, 2001). A concentração máxima permitida de metanol no vinho é de 35 mg/100mL.

fermentação alcoólica, onde as moléculas de etanol sofrem oxidação em moléculas de ácido acético, promovida por ação de bactérias (*Acetobacter aceti*), conferindo-lhe o gosto característico do vinagre (Rizzon & Meneguzzo, 2002).

Este trabalho teve como objetivo estudar as cinéticas das fermentações alcoólica e acética, tendo, também, a finalidade de verificar os efeitos das variáveis independentes (concentração de etanol e ácido acético) sobre o rendimento e produtividade do processo, utilizando-se da metodologia de planejamento fatorial (Barros Neto et al., 1995).

## 2. METODOLOGIA

A metodologia empregada na produção do vinho de caju utilizou os seguintes procedimentos:

- Seleção dos cajus para eliminar os mais defeituosos, estragados e, principalmente, aqueles que já se apresentavam em processo de fermentação e selecionar, de preferência, os mais maduros;
- Lavagem do caju com água clorada para eliminar as sujeiras mais grosseiras e os microrganismos, deixando-o na água durante uns 30 minutos e em seguida uma lavagem em água corrente para eliminar a sujeira fina e resíduo do cloro existente;
- Pesagem do caju integral;
- Separação do pedúnculo da castanha;
- Pesagem da castanha e do pedúnculo;
- Trituração e filtração com pano de algodão do pedúnculo para obtenção do suco integral;
- Pesagem do suco integral;
- Medição do °Brix e do volume do suco integral;
- Clarificação do suco, com gelatina a 10%, em uma concentração de 3mL/L, com a finalidade de remover a pectina do mosto;
- Adicionou-se os nutrientes: nitrogênio e fósforo, na forma de sulfato de amônio e bissulfato de



## ANEXOS

- Fez-se a chaptalização (adição de sacarose), com uma concentração de 210g/L, dividida em duas partes 30g/L inicialmente e 180g/L posteriormente, para evitar a inibição pelo substrato (sacarose), com a finalidade de obter um vinho de graduação alcoólica superior a 10°GL, possibilitando a fixação dos níveis de entrada do estudo da fermentação acética do vinagre de vinho de caju;
- Inoculou-se o mosto com concentração de 20g/L de levedura (*Sacharomyces cerevisiea*, fermento de panificação comercial, Fleischmann), onde se iniciou a fermentação alcoólica.

Fez-se o acompanhamento das concentrações de: substrato (S), produto (P), biomassa (X) e ácidos totais, além de monitorar o pH, durante 48 horas de fermentação alcoólica e intervalos maiores posteriormente a estas. A análise da concentração de açúcares foi realizada por refratômetro, na determinação da concentração de etanol foi utilizado o ebuliômetro, a concentração de células foi feito pelo o método da gravimétrica, o pH por pHmetro da marca Procyon e à análise da acidez total foi utilizado o método da titulação volumétrica de neutralização. A fermentação foi interrompida quando a concentração de substrato atingiu níveis inferiores a 20g/L, caracterizando um vinho do tipo seco, propício para a produção de vinagre. Seguiu-se com uma filtração a vácuo para remoção do microrganismo, acondicionou-se em garrafas de vidro de cor verde escura e realizou-se uma pausterização, em seguida foi armazenado para a produção do vinagre de vinho de caju.

Uma vez com o vinho de caju do tipo seco pronto, pôde-se dar início a produção de vinagre de vinho de caju, com as seguintes etapas:

- Previamente foi utilizado um reator de polietileno com a capacidade de 50 L, que produzia vinagre da matéria-prima etanol. O mesmo possuía uma torneira na parte inferior

destinada para coleta de amostras de vinagre forte, que foi utilizado para inocular os reatores do presente estudo. Os experimentos para o planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup>, foram conduzidos em 7 reatores confeccionados, a partir de béqueres de 600mL;

- Preparou-se os sete experimentos de acordo com o planejamento fatorial 2<sup>2</sup>, como mostra a Tabela 1, com 100mL da solução de vinho de caju, 100g de bagaço de cana-de-açúcar e por fim adicionou 100ml de solução de vinagre forte (inoculante), retirado do reator de 50L, dando início a fermentação acética;
- Fez-se o acompanhamento da concentração de ácido acético nos sete experimentos em intervalos aproximados de 5 horas durante 72 horas de fermentação (coleta de dados);
- Ao fim das 72 horas de fermentação fez-se uma filtração a vácuo, objetivando a remoção dos vestígios do bagaço de cana-de-açúcar do vinagre;
- Após a filtração o vinagre foi colocado em garrafas plásticas brancas (semelhante as de comercialização dos demais vinagres) e tampou-as. Em seguida pausterizou-se o vinagre engarrafado, com a finalidade de esterilizar e por fim foi armazenado.

O rendimento (%) e a produtividade (g/L.h), para a produção do vinho de caju e do vinagre de vinho de caju, foram calculados a partir das Equações 1, 2, 3 e 4:

$$\text{Rendimento do vinho (\%)} = \frac{Q_{\text{EXP}}}{Q_{\text{TEO}}} \times 100(\%) \quad (1)$$

$$\text{Produtividade do vinho (g/L.h)} = \frac{Q_{\text{EXP}}}{t} \quad (2)$$

$$\text{Rendimento do vinagre (\%)} = \frac{Ac_{\text{EXP}}}{Ac_{\text{TEO}}} \times 100(\%) \quad (3)$$

$$\text{Produtividade do vinagre (g/L.h)} = \frac{Ac_{\text{EXP}}}{t_{\text{acética}}} \quad (4)$$

Onde:

$Q_{\text{EXP}}$  = Conc. de etanol experimental;

$Q_{\text{TEO}}$  = Conc. de etanol teórico;

$t$  = Tempo de fermentação (h);

$Ac_{\text{EXP}}$  = Conc. de ácido acético experimental;



26 a 29 de setembro de 2004

ANEXOS

$A_{CTEO}$  = Conc. de ácido acético teórica;  
 $t_{acética}$  = Tempo de fermentação acética;

As Equações 5 e 6, mostram os parâmetros fermentativos,  $Y_{x/s}$  e  $Y_{p/s}$ :

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (5)$$

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (6)$$

Onde:

- X = concentração final de biomassa (g/L);
- $X_0$  = concentração inicial de biomassa (g/L);
- S = concentração final de substrato (g/L);
- $S_0$  = concentração inicial de substrato (g/L).
- P = concentração final de produto (g/L);
- $P_0$  = concentração inicial de produto (g/L);
- $Y_{x/s}$  = quantidade de biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumido (rendimento em biomassa);
- $Y_{p/s}$  = quantidade de produto formado em relação à quantidade de substrato limitante consumido (rendimento em produto).

O valor da velocidade específica de crescimento celular  $\mu_x$  foi calculado através da definição da Equação 7:

$$\mu_x = \frac{1}{X} \cdot \left[ \frac{dX}{dt} \right] \quad (7)$$

Tabela 1 – Matriz do planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup>.

Experimentos	Concentração de etanol do vinho de caju (%)	Concentração de ácido acético do vinagre forte (%)
1	- 1,0 (3,0)	- 1,0 (1,0)
2	+ 1,0 (6,0)	- 1,0 (1,0)
3	- 1,0 (3,0)	+ 1,0 (2,0)
4	+ 1,0 (6,0)	+ 1,0 (2,0)
5	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)
6	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)
7	0,0 (4,5)	0,0 (1,5)

vinagre de vinho de caju, com todas as combinações de concentrações possíveis e os valores respectivos para os níveis -1, 0, +1, das concentrações de etanol do vinho de caju e de ácido acético (vinagre forte). A definição dos níveis das concentrações utilizados foram baseados em trabalho de pesquisa de Ferreira *et al* (2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Cinética da Fermentação Alcoólica do Vinho de Caju

Durante a fermentação alcoólica do vinho de caju, foram obtidos dados experimentais referentes às concentrações de substrato (sacarose), produto (etanol), biomassa (microrganismo), em intervalos de 2 horas, durante 48 horas de processo, num reator descontínuo. Verificando-se a Figura 1, observa-se os perfis de decaimento de substrato (S), crescimento de biomassa (X) e produção de etanol (P), ambos em g/L, em função do tempo de fermentação. Analisando os resultados obtidos, verifica-se que durante o processo de fermentação houve decaimento da concentração de sacarose (S) até as 14 horas de fermentação, em decorrência do consumo do substrato pelo microrganismo, até atingir níveis próximos de 10g/L. Depois de 15 horas de fermentação, foi adicionada a segunda parcela de sacarose (chaptalização) o que ocasionou o aumento na concentração da sacarose. Prática executada para minimizar a inibição pelo substrato, segundo Bertolini *et al* (2001). Com o passar do tempo, a concentração de sacarose (S), começou novamente a decrescer, pela ação do microrganismo, verificando-se um decaimento mais lento em relação à primeira etapa da fermentação (início do processo). O ocorrido se explica pela presença de maiores concentrações de produto (etanol). Pode-se verificar que a inibição pelo produto teve início por volta das 10 horas de processo.



26 a 29 de Setembro de 2004

ANEXOS

fermentação, ocorreu uma diminuição na velocidade de produção, tal fato pode ser explicado pelo reflexo da inibição pelo produto. Entretanto, ao final das 48 horas, obteve-se uma concentração de etanol próxima de 100g/L, resultando em um vinho com graduação alcoólica acima do desejável (10°GL). Deu-se continuidade ao processo para obter um vinho do tipo seco, monitorando o processo até o final da fermentação que foi no tempo de 132 horas. Os dados de concentração final de sacarose e produto foram de vital importância no cálculo dos parâmetros ( $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$ , rendimento e produtividade). Analisando a concentração de células (X), percebe-se que durante as primeiras 5 horas de fermentação, houve um pequeno crescimento celular. O que não se verificou após as 10 horas de fermentação, onde pode-se visualizar uma estabilização do crescimento. Observa-se, portanto, que após as 35 horas, começa um pequeno decaimento da curva de concentração de biomassa.

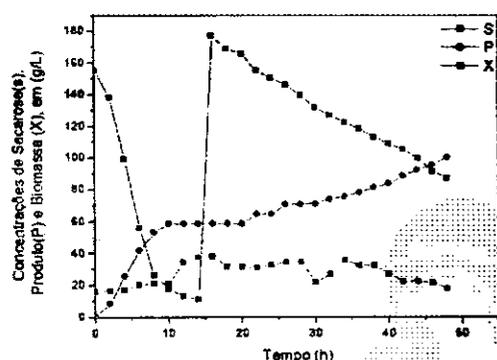


Figura 1 - Cinética fermentativa da produção de vinho de caju: concentração de açúcar (S), concentração de etanol (P) e concentração de levedura (X) (expressas em g/L).

A utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), numa concentração de 20g/L, mostrou-se adequada para a obtenção de teores alcoólicos, dentro dos padrões exigidos para uma fermentação alcoólica. SILVA (1998), verificou que as concentrações ideais de leveduras, objetivando

situada em torno de 20 g de levedura para cada litro de mosto.

Foi feita análise de cromatografia no vinho de caju que revelaram concentração média de metanol de 1,37 mg/100mL. O Ministério da Agricultura – Portaria nº 84 de 25 de Abril de 1989, citado por Rizzon *et al.* (1983), afirma que a concentração máxima de metanol permitida nos vinhos de mesa é de 35mg/100mL, pois o metanol é tóxico aos seres humanos, provocando, quando consumido vinho com concentrações acima do permitido, queda do pH do sangue do consumidor afetando o sistema respiratório, levando a cegueira e/ou até a morte. O valor da concentração de metanol encontra-se bem abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira, ou seja, abaixo da concentração considerada tóxica para a saúde do consumidor, não chegando a 5,0% da concentração máxima permitida. Isso mostra que a metodologia utilizada para a retirada da pectina foi bem conduzida, por meio do processo de operação de clarificação do suco de caju.

Tabela 2 - Valores experimentais da produção do vinho de caju x literatura

Relações	Valores experimentais	Valores literatura
Teor alcoólico do vinho (°GL)	13	10 – 14 ****
Sacarose do vinho (g/L)	7,12	Abaixo de 20,0 ****
Rendimento (%)	57,6	38,7 – 47,2 **
Produtividade (g/L.h)	0,78	0,74 – 2,0 **
$Y_{x/s}$	0,061	0,033 *
$Y_{p/s}$	0,300	0,445 *
$\mu_{m\acute{a}x}$	0,16 h <sup>-1</sup>	0,19 h <sup>-1</sup> ***

Fonte: \*Andrietta *et al* (1994); \*\*Bertolini *et al* (2001); \*\*\*Dominguez *et al.* 1993 (citado por SILVA, (1998); \*\*\*\*Borzani *et al* (1983).

a produção de etanol minimizando a sua utilização para o crescimento celular, está



A Tabela 2 apresenta os resultados do teor alcoólico, a concentração de sacarose, o rendimento e a produtividade do vinho de caju e ainda os parâmetros cinéticos da fermentação:  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$  e  $\mu_{\max}$  em comparação com os dados da literatura. O teor alcoólico de 13°GL e a concentração de sacarose do vinho de caju (7,12g/L) estão de acordo com as exigências da legislação brasileira, que define que tipo de vinho a ser produzido, neste caso o vinho foi do tipo seco (Borzani *et al*, 1983), além do que as concentrações de etanol e de açúcar no vinho de caju produzido alcançou a finalidade desejada, que era facilitar na fixação dos níveis no estudo dos efeitos das variáveis independentes sobre as respostas. O rendimento (57,57%) e a produtividade (0,78g/L.h) apresentam valores similares aos encontrados por Bertolini *et al* (2001). Os parâmetros cinéticos ( $Y_{x/s}$ ,  $Y_{p/s}$  e  $\mu_{\max}$ ) calculados revelam valores relativamente similares aos encontrados por Andrietta & Stuppiello (1990), que estudando parâmetros de fermentação alcoólica em batelada alimentada, utilizando o substrato caldo de cana e levedura selecionada, obtiveram valores de  $Y_{x/s} = 0,033$  e  $Y_{p/s} = 0,445$ . Com relação ao parâmetro  $Y_{x/s}$ , o valor deste trabalho está bem acima, chegando a ser mais de duas vezes o valor encontrado por Andrietta & Stuppiello (1990). Quanto ao parâmetro  $Y_{p/s}$ , o valor da literatura está mais alto. Isto pode ser explicado pela utilização da levedura de panificação, neste trabalho, que não apresenta boa eficiência em relação à levedura selecionada, utilizada em processos fermentativos industriais de produção de álcool etílico, como foi o caso do trabalho de Andrietta & Stuppiello (1990).

Os parâmetros cinéticos determinados, neste trabalho, são de suma importância no estudo futuro de modelagem e simulação matemática computacional do processo de produção de vinho de caju para uma ampliação de escala.

### 3.2 Cinética e Otimização da Fermentação Acética do Vinagre de Vinho de Caju

A Figura 2 apresenta a cinética de produção de ácido acético até o tempo de 72 horas.

Observa-se que para as três repetições no ponto central (experimentos 5, 6 e 7 da Tabela 1) há uma boa reprodutibilidade das curvas cinéticas. Verifica-se que as curvas cinéticas dos três experimentos realizados nas mesmas condições apresentam perfis de crescimento de concentração de ácido acético no meio em fermentação até picos máximos em torno de 50 horas. Por outro lado, verifica-se que a partir das 55 horas de fermentação, começa haver uma queda na produção do vinagre devido, provavelmente, à falta de álcool presente no meio. Mesmo assim, percebe-se que o vinagre produzido encontra-se dentro das especificações, de acordo com a legislação brasileira, excetuando-se as concentrações no tempo de 65 horas para o experimento 7 e no tempo de 72 horas para todos os três experimentos.

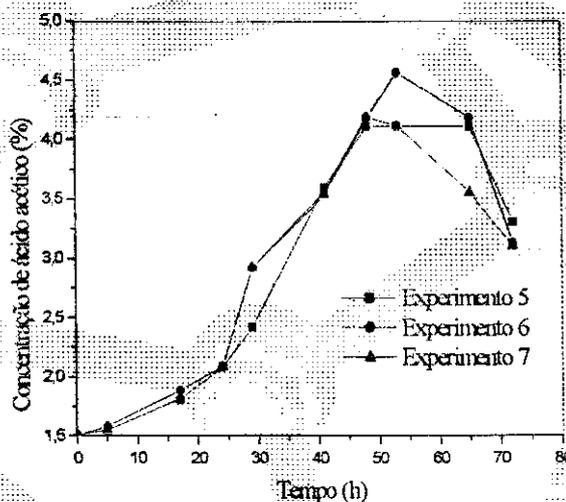


Figura 2 - Cinética de Produção de ácido acético % (p/v) da fermentação acética de vinho de caju no processo intermediário. Experimentos com concentração inicial de etanol = 4,5% e concentração inicial de ácido

**ANEXOS**

acético = 1,5% (experimentos no ponto central).

As Equações 8 e 9 apresentam os modelos empíricos lineares da regressão dos dados experimentais, para o tempo de fermentação acética de 41 horas. Os valores em **negritos** são os estatisticamente significativos, ao nível de 95% de confiança.

$$\text{Prod} = \mathbf{0,491} + \mathbf{0,078}\text{Cal} + 0,215\text{Caa} - 0,021\text{Cal.Caa} \quad (8)$$

$$\text{Rend} = \mathbf{46,14} + \mathbf{8,44}\text{Cal} - \mathbf{13,88}\text{Caa} - \mathbf{4,63}\text{Cal.Caa} \quad (9)$$

A Tabela 3 apresenta os parâmetros da análise de variância (coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e teste F).

Tabela 3 – Parâmetros da análise de variância para produtividade e rendimento no tempo de 41 horas.

Parâmetros	Produtividade (g/Lh)	Rendimento (%)
$R^2$	97,0	97,2
Teste F	32,3	34,4
$F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$	3,5	3,7

O tempo de 41 horas foi escolhido para análises das superfícies de resposta, utilizando-se dos modelos empíricos lineares (Equações 8 e 9) em função de ter apresentado os melhores valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e maior razão do teste F. Observa-se que a razão de  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  foi superior a 1. Segundo Barros Neto et al. (1995), quando o valor de  $F_{\text{calculado}}$  for maior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de confiança determinado.

A Figura 3 ilustra os efeitos das concentrações iniciais de etanol e ácido acético sobre a produtividade. Verifica-se que para uma concentração inicial de etanol acima de 4,5% e para qualquer valor da concentração inicial de ácido acético, tem-se produtividade em torno de 0,55g/L.h. Pode-se observar que a produtividade do vinagre cresce quando a

concentração inicial de etanol passa do nível (-1) para o (+1).

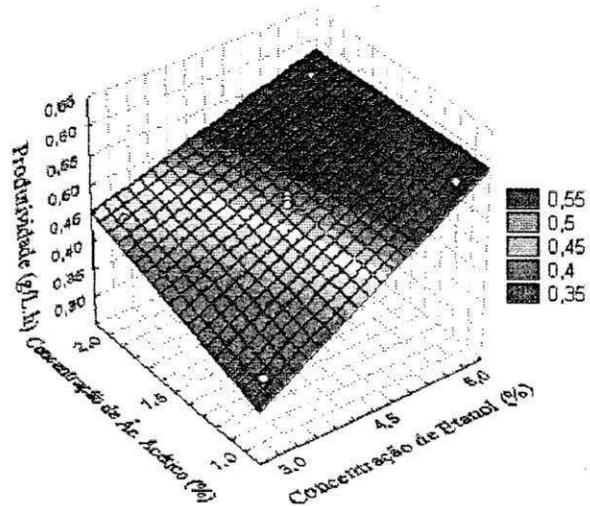


Figura 3– Superfície de resposta: variação da produtividade (g/L.h) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (41h).

A Figura 4 apresenta a superfície de resposta para o rendimento no tempo de processo de 41 horas. Observa-se que com concentração de etanol acima de 4,8% e concentração de ácido acético abaixo de 1,3%, tem-se rendimento em torno de 70%.

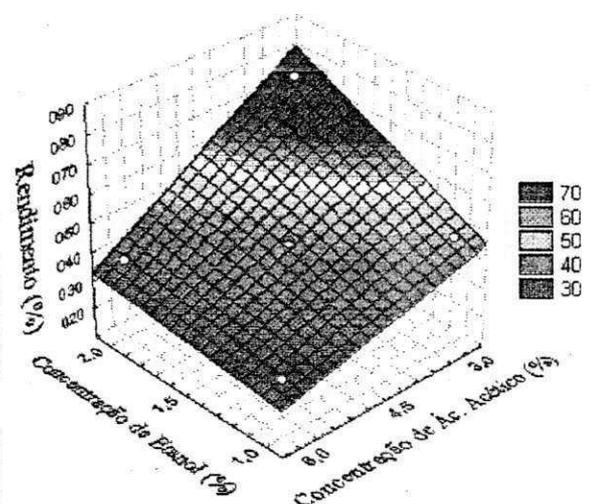


Figura 4 – Superfície de resposta: variação do rendimento (%) em função das concentrações iniciais de etanol e de ácido acético no vinagre de caju (48 h).

A partir dos resultados das superfícies de respostas pode-se observar os valores das



## ANEXOS

concentrações iniciais de etanol e ácido acético que otimizam o processo de produção de vinagre de vinho de caju. Conduzindo a operação dentro das faixas de maximização, otimiza-se o processo, com concentração inicial de etanol variando de 4,5 a 6,0% e concentração inicial de ácido acético abaixo de 1,3%, podendo-se alcançar valor máximo de produtividade acima de 0,55g/L.h e rendimento acima de 70%. Operando nestas condições produz-se o vinagre de vinho de caju dentro das especificações da legislação brasileira, ou seja, concentração de ácido acético acima de 4,0%.

## 4. CONCLUSÕES

### Quanto ao estudo do vinho de caju:

- O vinho de caju produzido foi do tipo seco com graduação alcoólica de 13°GL, suficiente para a fixação dos níveis de entrada do planejamento fatorial para o estudo dos efeitos das variáveis de entrada sobre o rendimento e a produtividade do processo;

- A concentração de metanol no vinho produzido esteve bem abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira, acerca de bebidas fermentadas.

### Quanto ao estudo do vinagre do vinho de caju:

- O processo é otimizado, operando a fermentação com concentração inicial de etanol variando de 4,5 a 6,0% e concentração inicial de ácido acético abaixo de 1,3%, podendo-se alcançar valor máximo de produtividade acima de 0,55g/L.h e rendimento acima de 70%. Nestas condições produz-se o vinagre de vinho de caju dentro das especificações da legislação brasileira, ou seja, concentração de ácido acético acima de 4,0%.

## 5. BIBLIOGRAFIA

AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.;  
BORZANI, W. Tecnologia das

Fermentações. v.1, Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo - SP, 1983.

ANDRIETTA, S. R.; STUPIELLO, J. P. Simulação e modelagem para processo de fermentação alcoólica (II) continua. Stab Açúcar, Alcool e subprodutos, Piracicaba, v.9, p. 45-51, set./dez., 1990.

BARROS NETO, B.; SCARMINO, J.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e Otimização de Experimentos. Campinas - SP: Ed. da Unicamp, 1995.

BORZANI, W.; AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. Tópicos de Microbiologia Industrial, vol. 2, São Paulo - SP, 1975.

BERTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das Fermentações Alcoólica e Acética de Sucos de Kiwi (*Actinidia deliciosa*); *Composição dos Mostos e Métodos de Fermentação Acética*. 2002.

CARDOSO, M.G. Produção de aguardente de cana-de-açúcar. Ed. UFLA, Brasil, 2001.

EMBRAPA/CNPAT - FORTALEZA / *Comunicados Técnicos: n° 3(out./92), n°2(Fev./91), Informativos: n°1 (Abri./93), n°2(Abri./93)*

FERREIRA, J. M.; SILVA, F. L. H.; SWARNAKAR, R. Estudo de Condições Ótimas pelo Método de Análise de Superfície de Resposta para Eficiência da Fermentação Acética. *Tese (Mestrado em Eng. Química), CCT/UFCG, 2001.*

RIZZON, L.A.; MENEGUZZO, J. Elaboração de vinagre, Bento Gonçalves, RS, 2001, 14 p. (*Embrapa Uva e vinho. Documentos, 36*).

SILVA, F.L.H. Modelagem, Simulação e Controle de Fermentação Alcoólica Contínua Extrativa, *Tese (Doutorado em Eng. de Alimentos) CCT, Unicamp. Campinas - SP, 1998.*