



Instituto Politécnico de Tomar

Escola Superior de Tecnologia de Tomar

Andreia Filipa Francisco Henriques

Análise de um Processo Fermentativo para Desenvolvimento de um Produto Alimentar

Relatório de Estágio

Orientado por:

Doutor Valentim Nunes, IPT

Eng.º Marco Alves, Inov´Linea

Relatório de Estágio
apresentado ao Instituto Politécnico de Tomar
para cumprimento dos requisitos necessários
à obtenção do grau de Mestre
em Tecnologia Química

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e namorado, especialmente aos meus pais por todo o esforço que fizeram, incentivo e apoio que me foram dando durante todo o meu percurso académico e para a realização deste trabalho. Sem eles era impossível a concretização deste objetivo.

RESUMO

O presente trabalho resulta de um estágio efetuado no laboratório INOV LINEA (Centro de Transferência de Tecnologia Alimentar), que é parte integrante da Tagusvalley – Associação para a Promoção e Desenvolvimento do Tecnopolo do Vale do Tejo, localizada em Abrantes.

O estágio previsto no plano curricular do curso de Mestrado em Tecnologia Química, ministrado pelo Instituto Politécnico de Tomar, decorreu nos meses Fevereiro a Julho de 2014 e teve como tema proposto “Análise de um Processo Fermentativo para Desenvolvimento de um Produto Alimentar”, sendo este também o principal objetivo.

Inicialmente foi efetuada pesquisa bibliográfica subordinada aos temas: fermentação alcoólica e fermentação acética, também foi efetuada pesquisa relativamente a diversas matérias-primas, tais como: bolota, batata, batata-doce, alfarroba, framboesa, figo da índia, marmelo, pimento, romã, tremoço, castanha, figo e kiwi. Depois da análise feita à pesquisa bibliográfica efetuada, nomeadamente a todos os parâmetros críticos e características da matéria-prima, foi escolhida como matéria-prima a framboesa e como principal produto alimentar a desenvolver, o vinagre de framboesa. O principal motivo pela escolha da framboesa foi a identificação, por parte dos produtores, da necessidade de aproveitamento de produto não conforme, ou seja, produto que pode ser vendido para processamento mas não pode ser vendido ao consumidor final. O vinagre de framboesa foi obtido pelo processo de fermentação alcoólica seguido de fermentação acética.

Anteriormente à realização das fermentações alcoólica e acética para desenvolvimento do produto alimentar (vinagre de framboesa), foram realizados ensaios de fermentação acética e alcoólica com marmelo a fim de identificar problemas de ordem operacional e experiência a nível de fermentações.

Posteriormente foi efetuada uma fermentação alcoólica com morango utilizando uma diferente espécie de levedura para avaliar o seu comportamento.

Durante as fermentações alcoólicas e acéticas, foram registados vários parâmetros, tais como: temperatura, pH, DO (oxigénio dissolvido) e foram retiradas amostras para análise de °Brix.

Palavras-chave: Framboesa; Vinagre; Fermentação alcoólica; Fermentação acética

ABSTRACT

The current work is the result of a work placement in the INOV LINEA - Center for Transference of Food Technology, integrated in the TAGUSVALLEY – Association for the Promotion and Development of the Tagus Valley, located in Abrantes.

The work following the curricular requirements of the curricular plan of the Master program in Chemical Technology, lectured at the Polytechnic Institute of Tomar, was done in the months of February to July in 2014.

The main objective was “The development of a food product” obtained by fermentation.

Initially it was made a bibliographical research under the topics: alcoholic fermentation and acetous fermentation. It was also carried out research for several raw materials, such as: Acorn, potatoes, sweet potatoes, carob, raspberry, prickly pear, quince, plums, pomegranate, lupine, chestnuts, figs and kiwis.

After the analysis of the bibliographical research performed, including all critical parameters and characteristics of the raw material, it was chosen the material more adapted to the conditions of fermentation and possible food product development.

The raw material chosen was the raspberry and the food developed was raspberry vinegar. The main reason for the choice of raspberry is the fact that this product was identified, by producers, to need to be used as non-compliant product, that is, the product t can be processed but it cannot be sold to the final consumer. The raspberry vinegar was obtained by alcoholic fermentation process followed by acetous fermentation.

Prior to the completion of the alcoholic and acetic fermentations to food product development (Raspberry vinegar), other fermentations were carried out trials in order to identify operational problems and experience the level of fermentation. Alcoholic fermentation was carried out also with strawberry using a different strain of yeast.

During the alcoholic and acetic fermentations, it was recorded several parameters, such as: temperature, pH, DO (Dissolved Oxygen) and samples were taken for analysis of °Brix.

Keywords: Raspberry; Vinegar; Alcoholic fermentation; Acetic fermentation

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho. Sem eles era impossível a concretização deste objetivo.

Ao Doutor Valentim Nunes pela orientação e disponibilidade prestada durante a realização deste trabalho e à Doutora Dina Mateus por tornar possível a concretização deste estágio, assim como a todos os docentes do Instituto Politécnico de Tomar, que contribuíram para todos os ensinamentos adquiridos durante o meu percurso académico.

Ao INOV´LINEA, em especial ao Engenheiro Marco Alves, pela excelente orientação, ajuda, disponibilidade, simpatia e transmissão de conhecimentos durante a realização do estágio, à Engenheira Joana Grácio por ter aceite a realização do estágio e simpatia prestada durante o mesmo. Também quero agradecer à Engenheira Catarina Pereira por momentos de descontração, boa disposição e ajuda. A todos um muito obrigado pela oportunidade e experiência laboratorial que adquiri.

Agradeço também aos meus pais, avós, irmão, namorado e amigos por toda a motivação, paciência, ajuda e companhia durante os meses de realização deste trabalho. Obrigado a todos por nunca me deixarem desistir.

Quero agradecer em especial aos meus pais por todo o esforço que fizeram para a concretização deste objetivo e ao meu namorado pela paciência e incentivo nos momentos mais difíceis.

Índice

Índice de figuras	XV
Índice de tabelas	XIX
Lista de Abreviaturas	XXI
1. Introdução.....	1
1.1 Enquadramento do tema.....	2
1.2 O INOV`LINEA.....	3
1.3. Fundamentos teóricos e Revisão Bibliográfica.....	4
1.3.1. O vinagre	4
1.3.2 Legislação e qualidade do vinagre	6
1.3.3 Produção de vinagre	8
1.3.4. Fermentação	9
1.3.4.1. Fermentação alcoólica.....	9
1.3.4.2. Fermentação acética	15
1.3.4.3. Processo de Orléans.....	18
1.3.4.4. Processo Alemão	20
1.3.4.5. Processo Submerso.....	21
1.3.5. Matérias-primas	23
1.3.5.1. A framboesa	24
1.3.5.2. O marmelo e o morango.....	28
2. Materiais e Métodos	33
2.1. Fermentador de laboratório com controlo de temperatura.....	33
2.2. Depósito de plástico à temperatura ambiente.....	35
2.3. Depósito de plástico em estufa climatizada	36
2.4. Fermentação alcoólica e acética do marmelo.....	37
2.5. Fermentações alcoólicas e acéticas da framboesa.....	43
2.5.1. Fermentação alcoólica da framboesa com concentração da polpa	43

2.5.2. Fermentações alcoólicas da framboesa no depósito de plástico em estufa climatizada	48
2.5.3. Fermentação acética da framboesa em depósito de plástico	50
2.5.4. Fermentação acética da framboesa no fermentador de laboratório com controlo de temperatura.....	51
2.6. Fermentação alcoólica do morango	52
2.7. Métodos analíticos	57
2.7.1. Medição de pH.....	57
2.7.2. Medição do °Brix	57
2.7.3. Medição do teor alcoólico.....	59
2.7.4. Acidez Total.....	61
2.8. Cálculos de rendimento	62
2.9. Cálculo da acidez total	70
3. Resultados e Discussão	73
3.1. Fermentação alcoólica de marmelo	73
3.2. Fermentação acética de marmelo.....	74
3.3. Fermentações alcoólicas da framboesa.....	76
3.3.1. Fermentação com concentração da polpa	76
3.3.2. Fermentações alcoólicas no depósito de plástico em estufa climatizada	78
3.4. Fermentações acéticas da framboesa	81
3.4.1. Fermentação acética em depósito de plástico	81
3.4.2. Fermentação acética no fermentador de laboratório com controlo de temperatura	83
3.5. Fermentação alcoólica do morango	85
4. Conclusão.....	91
5. Referências bibliográficas.....	93
6. Referências webgráficas	97

Índice de figuras

Figura 1 – INOV´LINEA.....	1
Figura 2 - Esquema da fermentação alcoólica	10
Figura 3 - Morfologia das leveduras.....	14
Figura 4 - Recipiente usado no processo de Orléans para a produção de vinagre...	19
Figura 5 - Gerador para a produção de vinagre no processo Alemão	20
Figura 6 - Acetificador Frings em aço inoxidável	22
Figura 7 - Fruto framboesa	25
Figura 8 - Tonalidades da framboesa vermelha.....	25
Figura 9 - Fruto marmelo.....	28
Figura 10- Fruto morango.....	30
Figura 11 - Fermentador de laboratório New Brunswick Bioflo® 115.....	34
Figura 12 - Visor tátil de controlo de parâmetros do fermentador de laboratório...	34
Figura 13 - Sistema para retirada de amostras no decorrer da fermentação alcoólica	35
Figura 14 - Depósito de plástico à temperatura ambiente para fermentações acéticas	35
Figura 15 - Retirada de amostra de vinagre.....	36
Figura 16 - Depósito de plástico em estufa climatizada para fermentações alcoólicas	36
Figura 17 - Fluxograma para elaboração de vinagre de marmelo	37
Figura 18 - Marmelos triturados	39
Figura 19 - A – levedura desidratada, B – Dissolução da levedura em água	40
Figura 20 –A – Fermentação alcoólica, B – Amostras de fermentado alcoólico de marmelo	41
Figura 21 - A – Aspeto do mosto após término da fermentação, B – Filtração do mosto fermentado, C – Fermentado alcoólico de marmelo após filtração a vácuo.....	41
Figura 22 - Vinagre de marmelo.....	42
Figura 23 - Framboesa ultracongelada	43

Figura 24 - Fluxograma para elaboração de vinho de framboesa com concentração da polpa	44
Figura 25 - Trituração e polpa de framboesa: A- Trituração da framboesa, B – Polpa de framboesa	45
Figura 26 - Esquema de montagem da concentração da polpa	45
Figura 27 - Fermentação alcoólica da framboesa em fermentador de laboratório com controlo.....	46
Figura 28 - A – Separação do mosto fermentado, B – Decantação do mosto fermentado, C – Amostras de mosto fermentado para centrifugar, D – Centrifugação das amostras, E – Amostra de mosto fermentado centrifugado, F - Fermentado alcoólico de framboesa	47
Figura 29 - Fluxograma para elaboração de vinho de framboesa realizado no depósito de plástico.....	48
Figura 30 – A - Fermentação acética da framboesa no depósito de plástico, B – Vinagre de framboesa.....	51
Figura 31- Fluxograma da fermentação alcoólica do morango.....	52
Figura 32 - Morangos utilizados na experiência	54
Figura 33 - Mosto de morango	55
Figura 34 - Fermentação alcoólica do morango em fermentador de laboratório com controlo de temperatura.....	56
Figura 35 - Fermentação alcoólica do morango terminada.....	56
Figura 36 - Medidor de pH.....	57
Figura 37 – Refratómetro	58
Figura 38 – Vinocalc - ferramenta online para determinação do teor alcoólico residual	59
Figura 39 - Determinação do teor alcoólico residual	61
Figura 40 - Evolução do °Brix e da % etanol, ao longo do tempo, para a fermentação alcoólica de marmelo	73
Figura 41 - Evolução do pH e da acidez total, ao longo do tempo, para a fermentação acética de marmelo.....	75
Figura 42 - Evolução do °Brix e da % etanol, ao longo do tempo, para a fermentação alcoólica de framboesa com concentração da polpa	76

Figura 43 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, para a 1ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico	78
Figura 44 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, para a 2ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico	80
Figura 45 - Evolução do pH e da acidez total, ao longo do tempo, para a fermentação acética da framboesa realizada no depósito de plástico	82
Figura 46 - Evolução do pH e acidez total na fermentação acética da framboesa realizada no fermentador de laboratório	84
Figura 47 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, na fermentação alcoólica de morango	85

Índice de tabelas

Tabela 1 - Principais características dos vinagres de acordo com a legislação nacional.	6
Tabela 2 - Classificação taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
Tabela 3 - Comparação das várias matérias-primas	24
Tabela 4 - Composição nutricional da framboesa	27
Tabela 5 - Composição nutricional do marmelo.....	29
Tabela 6 - Composição nutricional do morango.....	31
Tabela 7 - Condições gerais da fermentação alcoólica de marmelo.....	38
Tabela 8 - Condições iniciais da polpa de marmelo	39
Tabela 9 – Peso e °Brix da polpa de framboesa, antes e após concentração	45
Tabela 10 - Condições gerais da fermentação alcoólica da framboesa	48
Tabela 11 - Condições iniciais da polpa de framboesa.....	49
Tabela 12 – Condições gerais da fermentação alcoólica do morango.....	53
Tabela 13 - Valores de densidade para soluções açucaradas.....	64
Tabela 14 - Dados para realização dos cálculos de rendimento da fermentação alcoólica do marmelo.....	65
Tabela 15 - Dados para realização dos cálculos de rendimento da fermentação acética do marmelo.....	67
Tabela 16- Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de marmelo	73
Tabela 17 – Dias de fermentação, valores de pH e % de acidez para a fermentação acética de marmelo	74
Tabela 18 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de framboesa com concentração da polpa	76
Tabela 19 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a 1ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico.....	78
Tabela 20 – Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a 2ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico.....	79

Tabela 21 - Dias de fermentação e valores de pH e %acidez para a fermentação acética da framboesa realizada no depósito de plástico	81
Tabela 22 - Tempo de fermentação (h) e valores de pH e %acidez para a fermentação acética da framboesa realizada no fermentador de laboratório	83
Tabela 23 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de morango	85
Tabela 24 - Rendimento em produto, produtividade e rendimento das fermentações alcoólicas de marmelo, morango e framboesa	87
Tabela 25- Rendimento em produto, produtividade e rendimento das fermentações acéticas de marmelo, morango e framboesa.....	89

Lista de Abreviaturas

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

ageitec – Agência Embrapa de Informação Tecnológica

PMEs – Pequenas e Médias Empresas

SIR – Sistema da Indústria Responsável

I&D – Inovação & Desenvolvimento

DO – Oxigénio dissolvido

ATP – Adenosina tri-fosfato

1. Introdução

O estágio realizado no INOV LINEA (Centro de Transferência de Tecnologia Alimentar) (Figura 1) teve como tema “Análise de um Processo Fermentativo para Desenvolvimento de um Produto Alimentar”.

O INOV LINEA é parte integrante da Tagusvalley – Associação para a Promoção e Desenvolvimento do Tecnopolo do Vale do Tejo, localizada em Abrantes.



Figura 1 – INOV LINEA

Fonte: INOV LINEA, 2014

1.1 Enquadramento do tema

Atualmente, um dos principais objetivos das empresas consiste em desenvolver e introduzir novos produtos no mercado. Durante o estágio, o principal objetivo de todos os trabalhos desenvolvidos foi o estudo de um processo fermentativo para desenvolvimento de um produto alimentar, nomeadamente vinagre de fruta, o vinagre de framboesa. Foram realizadas diversas experiências de fermentações alcoólicas e fermentações acéticas com matérias-primas diferentes. As matérias-primas utilizadas foram o marmelo, a framboesa e o morango.

Para cumprimento do objetivo, primeiramente foi realizada uma fermentação alcoólica e uma fermentação acética de marmelo para estudo do processo fermentativo e aquisição de experiência. A fermentação alcoólica foi realizada em fermentador de laboratório com controlo de temperatura e foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a fermentação acética foi realizada num depósito de plástico à temperatura ambiente e foi utilizado como inóculo, vinagre de diospiro não pasteurizado.

Seguidamente foram elaboradas três fermentações alcoólicas e duas fermentações acéticas de framboesa. Estas fermentações foram realizadas com o intuito do desenvolvimento do produto alimentar proposto no objetivo, o vinagre de framboesa. Nas fermentações alcoólicas foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e, como inóculo, nas fermentações acéticas, foi utilizado vinagre não pasteurizado proveniente de uma indústria vinagreira. Uma das fermentações alcoólicas foi realizada em fermentador de laboratório com controlo de temperatura e foi feita a concentração da polpa, as outras duas foram realizadas num depósito de plástico em estufa climatizada à temperatura de 30°C. A fermentação acética da framboesa foi realizada num depósito de plástico à temperatura ambiente.

Finalmente foi realizada uma fermentação alcoólica de morango, utilizando uma espécie diferente de levedura, a *Saccharomyces bayanus*, para avaliar o seu comportamento na fermentação. Esta fermentação foi realizada num fermentador de laboratório com controlo de temperatura.

1.2 O INOV`LINEA

O INOV`LINEA parte integrante do Tagusvalley – Tecnopolo do Vale do Tejo, localizado em Abrantes, é uma infra-estrutura de apoio à inovação no setor alimentar, tem uma área total de 735 m² e possui uma nave industrial, uma sala de provas, um laboratório, uma cozinha, gabinetes técnicos e uma sala de formação.

Tem como objetivos principais:

- O apoio a empresas do setor agroalimentar;
- Aumento da qualidade de produção e melhoria da competitividade do setor;
- Promoção de transferência de tecnologia e inovação na indústria alimentar.

As principais linhas de atuação são:

- Novos produtos;
- Processamento e conservação;
- Valorização dos produtos tradicionais, enquadrados na dieta mediterrânea:
- Produtos autóctones: Hortofrutícolas, como marmelo, romã, tomate, diospiro;
- Azeites e azeitonas;
- Produtos cárnicos como enchidos, preparados e outros.
- Fomento e experimentação de tecnologias de conservação inovadoras.

No âmbito do SIR (Sistema da Indústria Responsável) disponibiliza um espaço industrial licenciado para preparação e fabrico de compotas, doces, geleias, marmeladas, concentrados ou purés, produtos cárnicos entre outras atividades económicas promovendo o desenvolvimento do setor com um conceito de incubadora produtiva e possibilitando as PMEs a testarem no mercado os produtos resultantes de ensaios.

Enquanto centro de transferência de tecnologia, o INOV`LINEA trabalha de forma intensiva a vertente da inovação privilegiando a relação com o mercado, de forma a aplicar o conhecimento científico resultante dos processos de I&D, responde a necessidades concretas do sector agroalimentar promovendo um retorno financeiro através da melhoria da competitividade do setor, faz reprodução de processos industriais do setor hortofrutícola, olivícola e do processamento de carnes, à escala real, para uma maior eficácia em scale-up

e ainda, realiza estudos e faz valorização de produtos tradicionais que se enquadrem na denominada dieta mediterrânea.

As empresas têm ainda a possibilidade de realizar testes em várias tecnologias, retirando várias vantagens, uma vez que não há necessidade da aquisição de equipamentos, dos serviços da empresa (humanos e infra-estruturas) e de paragem das linhas produtivas. (INOV LINEA, 2014)

1.3. Fundamentos teóricos e Revisão Bibliográfica

1.3.1. O vinagre

O vinagre, assim como o vinho, é conhecido desde a antiguidade (COSTA et al., 2006) A palavra vinagre deriva etimologicamente do latim *Vinum acre*, da qual deriva a locução francesa *vin aigre*, equivalente em português a vinho azedo. (CRUZ, 2012)

O vinagre é um produto conhecido há muito tempo, as primeiras referências datam de há cerca de 10 000 anos, data em que se referenciou a produção de vinho e conseqüentemente de vinagre, sendo a produção referenciada na cultura babilónica há cerca de 5000 AC.

No século XVII Glauber obteve vinagre ao passar vinho através de rolhas de madeira, método utilizado até hoje.

Becker, na segunda metade do século XVII, foi o primeiro a constatar que o ar era imprescindível para a obtenção de vinagre e Rozier comprovou a afirmação em 1786 com a experiência da bexiga cheia de ar que esvaziava com o avanço da reação.

Em 1837, Kutzing, um botânico alemão, verificou a responsabilidade do microorganismo na formação do ácido acético e relatou as suas experiências sobre a “mãe do vinagre”.

Berzelius, químico prestigiado do século XVIII, afirmava em 1839 que a transformação de etanol a ácido acético era um processo exclusivamente químico de ordem catalítica. (PEDROSO, 2003)

Em 1790 Lavoisier comprovou definitivamente a responsabilidade do oxigénio na fermentação acética e Pasteur mostrou com detalhes a necessidade de um ser vivo para a transformação de etanol em ácido acético.

A primeira equação química foi descrita por Döbereiner em 1822 e a identificação dos microorganismos foi feita por Knieriem e Mayer em 1873. (POLA et al., 2008)

O vinagre consiste num alimento do grupo dos condimentos obtido por fermentação alcoólica de matérias-primas açucaradas ou amiláceas, que converte açúcares em etanol, seguido de fermentação acética, que converte o etanol em ácido acético. Foi mencionado pelos povos antigos como condimento aromatizante, conservador, bebida refrescante e medicamento, tendo como a primeira indicação técnica redigida no século XIII por Gerber que o submeteu à destilação. (POLA et al., 2008) Foi recomendado, também, para tratar de disfunções respiratórias, feridas e úlceras, devido às suas propriedades desinfetantes e anti-inflamatórias.

Na antiga China, o jarro com vinagre era tido como símbolo da vida. Já há 5000 anos, os egípcios, babilónios, indianos, gregos e persas conheciam a arte da fabricação do vinagre e a sua versatilidade. O vinagre era mais do que um tempero picante para os alimentos, era o único meio de conservar a carne, peixe e os legumes. Somente assim os alimentos perecíveis podiam ser transportados por longas distâncias. (PEDROSO, 2003) Nas guerras, o vinagre era utilizado pelos soldados, principalmente quando atuavam em ambientes húmidos e fazia parte da alimentação diária, para prevenir possíveis contaminações microbianas, para desinfetar e temperar alimentos. Durante as epidemias de cólera, o vinagre foi utilizado para desinfeção, sendo recomendado lavar as mãos antes e depois de visitar um doente e lavar as frutas e verduras antes do consumo com vinagre.

A qualidade do vinagre produzido pode ser influenciada pela matéria-prima utilizada na sua elaboração, pelo processo de acetificação utilizado e ainda pela presença ou não de processos de envelhecimento em madeira. (CRUZ, 2012)

1.3.2 Legislação e qualidade do vinagre

O Decreto-Lei n.º 174/2007 de 08 de Maio, estabelece as normas a que deve obedecer o fabrico e a distribuição do vinagre comercializado em Portugal.

Na tabela 1, encontram-se apresentadas as principais características dos vinagres comercializados em Portugal de acordo com a legislação nacional.

Tabela 1 - Principais características dos vinagres de acordo com a legislação nacional.

Parâmetro	Vinagres de vinho	Outros vinagres
Acidez total (g/L ácido acético)	≥ 60	≥ 50
Álcool residual (%; v/v)	≤ 1.5	$\leq 0.5\%$
Aspetto	Límpido, podendo admitir-se ligeiro depósito ou turvação.	-
Cor, Aroma e Sabor	Próprios da natureza da matéria-prima e dos ingredientes facultativos indicados no rótulo.	

Segundo a legislação, os vinagres classificam-se, quanto à sua origem em:

- **Vinagre de vinho:** vinagre obtido exclusivamente do vinho pelo processo biológico de fermentação acética;
- **Vinagre de fruta e vinagre de bagas:** vinagre obtido da fruta ou bagas de fruta pelo processo biológico de fermentação alcoólica e acética;
- **Vinagre de sidra:** vinagre obtido da sidra pelo processo biológico da fermentação acética;
- **Vinagre de álcool:** vinagre obtido do álcool destilado de origem agrícola pelo processo biológico de fermentação acética;
- **Vinagre de cereais:** vinagre obtido, sem destilação intermédia, pelo processo biológico de dupla fermentação, alcoólica e acética, de cereais cujo amido tenha sido convertido em açúcares pela diástase de cevada maltada ou por qualquer outro processo;
- **Vinagre de malte:** vinagre obtido, sem destilação intermédia, pelo processo biológico de dupla fermentação, alcoólica e acética, de cevada maltada com ou sem

a adição de cereais, cujo amido foi convertido em açúcares unicamente pelo processo da diástase de cevada maltada;

- **Vinagre de malte destilado:** vinagre obtido pela destilação do vinagre de malte, sob pressão reduzida, contendo apenas os constituintes voláteis do vinagre de malte de que deriva;
- **Outros vinagres:** vinagres de outros produtos de origem agrícola de dupla fermentação não contemplados nas alíneas anteriores, designadamente de mel, de cerveja, entre outros;
- **Vinagres aromatizados e vinagres com especiarias:** os vinagres referidos nas alíneas anteriores aos quais sejam adicionadas plantas ou partes de plantas aromatizantes, especiarias e extratos aromatizantes, que sejam organolepticamente perceptíveis. (DECRETO LEI N.º 174/2007)

A legislação nacional estabelece ainda que no fabrico de vinagre só podem ser utilizadas matérias-primas em conveniente estado de conservação e que se apresentem isentas de substâncias ou matérias estranhas à sua normal composição, bem como de microorganismos patogénicos ou de substâncias destes derivados em níveis suscetíveis de prejudicarem a saúde do consumidor. No entanto, no fabrico de vinagres do setor vitivinícola só podem ser utilizados vinhos cujas características estejam conformes com o estabelecido na legislação em vigor, podendo, contudo, apresentar excesso de acidez volátil. (DECRETO LEI N.º 174/2007)

Na preparação do vinagre é permitida a adição de:

- Plantas ou partes de plantas aromatizantes, especiarias e extratos aromatizantes;
- Sumos de fruta ou concentrados de sumo de fruta;
- Mel;
- Açúcar;
- Sal.

Na preparação do vinagre é proibida a adição das seguintes substâncias:

- Aromatizantes artificiais;
- Óleos de semente de uva, naturais ou artificiais;
- Resíduos de destilação, resíduos de fermentação ou os seus subprodutos;
- Substâncias extraídas de bagaço de todos os tipos;
- Ácidos de todos os tipos, com exceção daqueles naturalmente contidos nas matérias-primas utilizadas ou contidos em qualquer substância cuja adição nestas seja permitida, como sejam, designadamente, os aditivos. (DECRETO LEI N.º 174/2007)

1.3.3 Produção de vinagre

O vinagre é considerado um complemento indispensável à alimentação humana, pela ação nutritiva e biorregulatória. É produzido por dois processos bioquímicos distintos, ambos resultantes da ação de microorganismos, a fermentação alcoólica, pela ação das leveduras sobre matérias-primas açucaradas e amiláceas e a fermentação acética, pela ação das bactérias aeróbias do género *Acetobacter*.

O fabrico do vinagre permite a utilização de matérias-primas inaproveitáveis para o consumo dos estabelecimentos industriais de frutas, e, especialmente de propriedades rurais, que de outra forma, não poderiam competir no mercado. (BORTOLINI et al., 2001)

Os vinagres de frutas são considerados superiores em qualidades sensoriais e nutritivas, quando comparados a outros tipos de vinagres, além de apresentarem elevados teores de vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos provenientes do fruto e da fermentação alcoólica. (CRUZ, 2012)

O vinagre, com o passar do tempo, torna-se mais suave com odor e sabor mais agradáveis devido às reações que ocorrem durante o processo de envelhecimento, com reações de esterificação que retiram os ácidos e álcoois do meio, fornecendo ésteres aromáticos. Outro tipo de reação que ocorre é as de oxidação do grupo aldeído, que conferem aspereza ao vinagre. Os vinagres de vinhos de frutas necessitam de alguns meses de envelhecimento, enquanto os vinagres de álcool algumas semanas apenas. (SUMAN, 2012)

1.3.4. Fermentação

As fermentações utilizadas para produção de vinagre, são a fermentação alcoólica e a acética.

A fermentação ocorre em duas etapas:

- 1) **Glicólise**, em que há degradação da molécula de glicose em ácido pirúvico;
- 2) **Redução do ácido pirúvico**, que conduz à formação dos produtos de fermentação.

Na glicólise, a glicose é oxidada e formam-se duas moléculas de ácido pirúvico. O agente oxidante é o NAD^+ que é transformado em NADH. Nesta etapa são formadas duas moléculas de ATP (adenosina tri-fosfato).

O ácido pirúvico, ou moléculas orgânicas que se formam a partir dele, são aceitadoras dos elétrons do NADH, o que permite regenerar o NAD^+ . O NAD^+ pode, assim, voltar a ser utilizado na oxidação da glicose com formação de duas moléculas de ATP.

Os produtos finais da fermentação dependem da molécula orgânica que é produzida a partir do ácido pirúvico.

Nas fermentações alcoólicas, o ácido pirúvico é convertido em etanol e CO_2 (dióxido de carbono), nas fermentações acéticas, o etanol produzido na fermentação alcoólica é convertido em ácido acético. (QUINTAS et al., 2008)

1.3.4.1. Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica tem sido utilizada desde a mais remota antiguidade. Há mais de 4000 anos os egípcios fabricavam pão e produziam bebidas alcoólicas a partir de cereais e frutas, sem conhecer a causa do processo fermentativo. Os primeiros indícios que a fermentação era um fenômeno microbiológico apareceram por volta dos séculos XIV e XV. (MONGELO, 2012)

A fermentação é um processo catabólico anaeróbico em que há degradação de moléculas de açúcar, no interior das células de microorganismos (leveduras), com produção de etanol e CO₂, havendo libertação de energia química e térmica. (CAETANO et al., 2011)

A fermentação alcoólica pode ser explicada pelo seguinte esquema (figura 2):

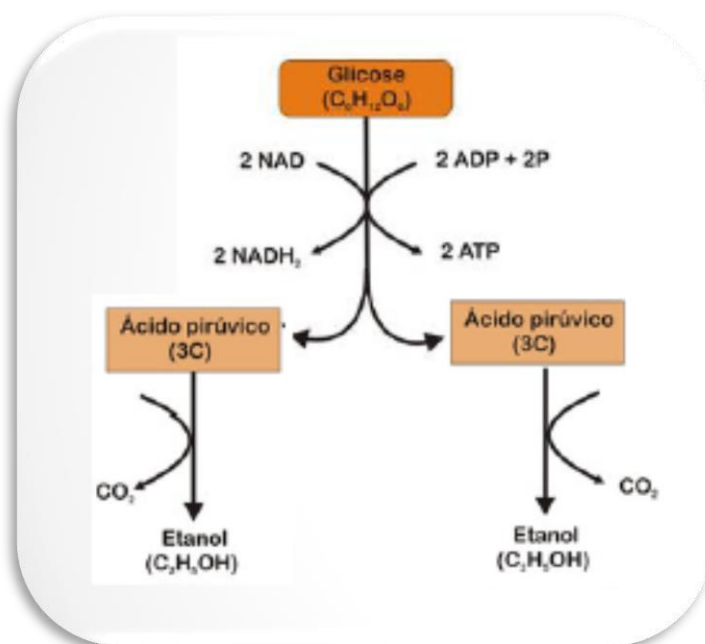


Figura 2 - Esquema da fermentação alcoólica

Fonte: SILVA et al., 2013

A produção de álcool por microorganismos pode ser resumida na seguinte equação:



A fermentação alcoólica pode ser feita com leveduras presentes nos sumos de fruta e em outras matérias-primas naturais, ou então com fermento. Para obtenção de um aroma agradável no produto final é mais recomendado partir de uma cultura pura de *Saccharomyces cerevisiae*. (POLA et al., 2008)

A levedura como entidade viva independente, realiza a fermentação do açúcar com o objetivo de conseguir energia química necessária à sua sobrevivência, sendo o etanol

apenas um subproduto deste. A célula de levedura possui compartimentos para a adequação da sua atividade metabólica. (SALVATO, 2010)

As principais características que tornam as leveduras microorganismos interessantes para os processos industriais são:

- Capacidade de desenvolvimento em substrato barato e facilmente disponível;
- Facilidade de obtenção e multiplicação;
- Utilização de nutrientes nas suas formas mais simples;
- Possibilidade de cultivo independente do ambiente;
- Pequena exigência de água e de área;
- Formação de produtos de valor nutritivo. (RIO, 2004)

A fermentação alcoólica industrial pode ser dividida em três fases: pré-fermentação, fermentação principal e pós fermentação.

A pré fermentação inicia-se quando as leveduras são adicionadas ao mosto devidamente preparado. A fermentação principal inicia-se após aproximadamente 5 ou 6 horas e verifica-se o aumento da produção de álcool, pouca espuma, grande libertação de CO₂ e aumento da temperatura. Segundo Antonini (2004), a pós-fermentação é caracterizada pela diminuição lenta e gradual da temperatura do mosto, diminuição da libertação de CO₂ e não há formação de espumas. Esta fase dura entre 6 a 8 horas. O mosto fermentado é denominado vinho. Geralmente, este processo inicia-se com a colocação da matéria-prima com substrato no biorreator, seguida da inoculação do microorganismo responsável pelo processo biológico e aguarda-se para que o processo ocorra. Após um determinado tempo de fermentação, retira-se o caldo fermentado do reator e executam-se as operações unitárias necessárias para a recuperação do produto. (PACHECO, 2010)

- **Fatores que afetam o desempenho do processo fermentativo**

A fermentação alcoólica é um processo que depende de diversos fatores para além do tipo de levedura utilizada. Entre estes fatores destacam-se a temperatura, a taxa de oxigénio, o pH e a natureza química dos nutrientes.

Temperatura

As leveduras apresentam uma baixa tolerância a temperaturas extremas apresentando uma temperatura ótima, que maximiza a atividade da levedura e para temperaturas acima ou abaixo desta o desempenho é limitado. Além disso apresentam uma temperatura máxima que corresponde à temperatura mais elevada à qual se deteta crescimento da população. Além de afetar a atividade fermentativa a temperatura também pode ser responsável pela formação de produtos secundários.

pH

Outro fator com elevada influência na fermentação é o pH do meio, sendo que o valor ótimo para a maioria das leveduras varia entre 3 e 6. Embora o pH não afete diretamente a capacidade fermentativa das leveduras, afeta a sua capacidade de reprodução e por isso, de forma indireta, afeta a fermentação.

Oxigénio

O fornecimento e o controlo de oxigénio são parâmetros de elevada importância mesmo para sistemas anaeróbios. O oxigénio é sempre necessário para a manutenção da viabilidade celular em casos de baixa concentração de substrato. Sem o fornecimento de oxigénio os microorganismos não conseguem reproduzir-se, o que faz com que a limitação por oxigénio possa funcionar como método de controlo da flora microbiana, ao condicionar a taxa de crescimento celular dos microorganismos e assim controlar o processo de fermentação.

Nutrientes

O tipo de nutrientes presentes no mosto é também um fator de elevada importância para a fermentação já que, na fase de crescimento exponencial, a multiplicação celular pode ser

limitada pela escassez de substrato, entretanto precocemente em crescimento estacionário, podendo provocar o início da fase de morte dos microorganismos levando ao termo do processo de fermentação. (NOGUEIRA, 2009)

- **Levedura *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus***

Neste trabalho foram utilizadas diferentes espécies de leveduras, a *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação alcoólica do marmelo e da framboesa e a *Saccharomyces bayanus* na fermentação alcoólica do morango.

- ***Saccharomyces cerevisiae***

A *Saccharomyces cerevisiae* é uma espécie de levedura utilizada há milhares de anos na panificação e na fermentação de bebidas alcoólicas, sendo a levedura fermentativa por excelência, tendo sido utilizada igualmente nos últimos anos para produção de bioetanol. É também muito importante como organismo modelo, quer em estudos fisiológicos (efeitos de diversos tipos de stresse – osmótico, oxidativo, etanol e ácidos fracos) quer na área da Biologia Celular e Molecular, sendo o microorganismo eucariótico mais estudado e aquele cujo genoma foi o primeiro a ser sequenciado. (VIANA, 2009)

O género *Saccharomyces*, foi descoberto há 150 anos e desde então, passou por várias mudanças. A primeira publicação sobre taxonomia de leveduras foi anunciada por Guilliermond, em 1912. O género *Saccharomyces* compreendia 46 espécies divididas em 6 grupos separados de acordo com a atividade fermentativa sobre açúcares. Ocorreram outras divisões e foram descritas novas espécies, resultando em 41 espécies dentro do género *Saccharomyces* no ano de 1970. (GUIMARÃES, 2005)

A classificação taxonómica da espécie *Saccharomyces cerevisiae* foi proposta em 1883 por Meyen ex E.C. Hansen (VIANA, 2009) e encontra-se na seguinte tabela (tabela 2).

Tabela 2 - Classificação taxonómica de *Saccharomyces cerevisiae*

Super reino	<i>Eukaryota</i>
Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Género	<i>Saccharomyces</i>
Espécie	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Fonte: Adaptado de VIANA, 2009

As colónias apresentam uma coloração que varia entre o branco (predominantemente) e o creme (ocasionalmente), são convexas e lisas. (VIANA, 2009)

Existem vários formatos para a célula de levedura, esféricas, ovoides ou cilíndricas (Figura 4). O seu tamanho pode variar bastante, de 1 a 5µm de diâmetro a 5 a 15µm de comprimento. (ALVES, 2008)



Figura 3 - Morfologia das leveduras

Fonte: SANTOS, 2008

O género *Saccharomyces* normalmente são fungos unicelulares diploides que se reproduzem assexuadamente por brotamento, ou sexuada por esporulação (meiose, segregação e formação de haploides) e cruzamento com formação de diploides. São capazes de dividir-se cada 90 minutos em condições nutricionais adequadas. Este género é composto por dez espécies, as quais são divididas em três grupos.

A temperatura ideal para o seu crescimento pode variar entre 28 e 30°C e o seu desenvolvimento é favorecido em meio ácido. As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são

classificadas como facultativas, tendo a habilidade de se ajustar metabolicamente em condições de aerobiose como em condições de anaerobiose. (CARVALHO, 2001)

Saccharomyces cerevisiae e espécies filogeneticamente próximas são as mais empregadas pelo homem, que as utilizam nas várias indústrias de fermentação alimentícia e de bebidas. (RIO, 2004)

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* também possui a capacidade de retirar metais pesados da água, podendo ser usada como bio acumulador desses metais, sendo uma ótima alternativa para a descontaminação ambiental. (RIO, 2004) Durante a fermentação alcoólica, converte os açúcares fermentescíveis em etanol, produzindo igualmente um elevado número de compostos voláteis responsáveis pelo aroma do vinho, tais como ácidos gordos, álcoois superiores e ésteres. (VIANA, 2009)

- **Saccharomyces bayanus**

A levedura *Saccharomyces bayanus*, é uma levedura de uma espécie diferente da *Saccharomyces cerevisiae*, embora resulte da hibridação entre três espécies de leveduras, incluindo essa (*Saccharomyces eubayanus*, *Saccharomyces uvarum* e *Saccharomyces cerevisiae*).

A levedura *Saccharomyces bayanus* também é utilizada na produção de fermentados alcoólicos. (LIBKIND, 2011)

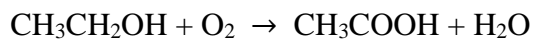
1.3.4.2. Fermentação acética

Hoje em dia, o processo de produção de vinagre é igual ao que era há milhares de anos, embora tenha sofrido alterações no desenvolvimento da tecnologia.

Na fermentação acética o etanol é oxidado em ácido acético por meio de bactérias acéticas em meio aeróbio (presença de oxigênio). Além do ácido acético são produzidas pequenas quantidades de outros produtos como aldeídos, cetonas, ésteres e outros ácidos orgânicos, sendo o acetaldeído o composto secundário predominante. (SUMAN, 2012) Não

é comum o uso de culturas puras, mas sim de uma microflora mista de *Acetobacter* contendo diferentes espécies ou variedades dessa bactéria. (PEDROSO, 2003)

A seguinte equação demonstra a oxidação realizada pelas bactérias acéticas:



- **Fatores que afetam o desempenho da fermentação acética**

A fermentação acética deve realizar-se com o controlo de alguns fatores que, desconhecidos, prejudicam seriamente o trabalho das bactérias ou, a qualidade do vinagre. Os principais fatores são: a concentração alcoólica, acidificação inicial, suprimento de oxigénio, perturbação da película de bactérias, temperatura e pH.

A produção de um bom vinagre depende de uma série de fatores como a espécie do microorganismo, a matéria-prima, a concentração de álcool, a temperatura de fermentação (na faixa de 20° a 30°C), a quantidade de O₂, pH ótimo na faixa de 5 e 6, a maturação e a conservação, a clarificação, o envase, e a pasteurização. (SUMAN, 2012)

Concentração alcoólica

O teor alcoólico afeta muito o desenvolvimento das bactérias ou a qualidade do vinagre, sendo que as concentrações acima dos 13% de álcool dificultam a acetificação, sendo o álcool oxidado de maneira incompleta.

Acidificação Inicial

Para que a acidificação se processe em boas condições e sejam evitadas as fermentações paralelas indesejáveis, há necessidade de haver certa acidez no líquido a ser acetificado, pelo qual é normal a adição de vinagre forte não pasteurizado, na porção de 1:3 a 1:4 do vinho.

Suprimento de oxigénio

A acetificação do álcool é primordialmente uma oxidação e depende de abundante suprimento de oxigénio para realizar-se normalmente.

A falta deste elemento prejudica a vida aeróbia das bactérias e, conseqüentemente, a produção de vinagre.

Perturbação da película de bactérias

As bactérias nos processos lentos desenvolvem-se em forma de uma fina película sobrenadante chamada “mãe do vinagre”, que é constituída de bactérias acéticas e uma substância polímera gelatinosa produzida pelos próprios microorganismos que se mantém em contato com o ar ambiente. A perturbação dessa película acarreta o seu rompimento e, conseqüente, imersão. Submersas, as bactérias continuam a utilizar-se dos elementos nutritivos da matéria-prima, porém pela privação do ar, deixam de produzir ácido acético.

Temperatura

As bactérias envolvidas na preparação do vinagre têm preferência em determinadas temperaturas de crescimento. Desenvolvem-se rapidamente entre 27° a 30°C e crescem lentamente abaixo desse limite, e acima mostram-se fracas, podendo perder a capacidade funcional se não retomarem ao seu ótimo de temperatura.

pH

Em termos de pH, as bactérias acéticas podem mostrar crescimento ótimo entre 5 e 6,5, embora mostre grande capacidade de sobreviver em pH entre 3 e 4. (SUMAN, 2012)

- **Bactérias acéticas**

As bactérias acéticas pertencem à família *Acetobacteraceae* e apresentam-se em dois gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*. O grupo de bactérias com melhor produtividade de fermentação acética são as *Acetobacter*. (CASSONI, 2008) As principais espécies de *Acetobacter*, utilizadas na produção de vinagre, apresentam-se em forma de bastonetes e cocos, formando correntes e filamentos. O melhor rendimento obtido é entre os 25°C e 30°C, embora suportem temperaturas mínimas de 4°C a 5°C e máxima de 43°C. No entanto temperaturas inferiores a 15°C e superiores a 35°C reduzem a atividade bacteriana e conseqüente fermentação acética lenta. Quanto ao álcool, a maior parte das espécies suporta

até 11,0% v/v e em relação ao ácido acético, 10,0% v/v. Quando jovens são gram-negativas e as células velhas são gram-variáveis. Apresentam a capacidade de oxidar a molécula de etanol e do ácido acético a CO₂ e H₂O. Formam uma película na superfície da cultura, vulgarmente chamada de “mãe do vinagre”.

Embora existam mais de 100 espécies e variedades do género *Acetobacter*, poucas são aquelas com qualidades industriais, isto é, produzir concentrações elevadas de ácido acético; não formar material viscoso; de preferência, não ter capacidade para completar a oxidação até dióxido de carbono e água; ter tolerância a concentrações razoáveis de ácido acético e trabalhar a temperaturas entre 25°C e 30°C.

São encontradas em frutas e vegetais e estão envolvidas na acidificação bacteriana de sumos de frutas e bebidas alcoólicas, cerveja, vinho, produção de vinagre e fermentação de sementes de cacau.

Além do ácido acético são produzidas pequenas quantidades de outros produtos como aldeídos, cetonas, ésteres e outros ácidos orgânicos, sendo o acetaldeído o composto secundário predominante.

São de interesse industrial as bactérias *Acetobacter aceti*, *A.xylinoides*, *A.acetigenum*, *A. Schuetzenbachii*, *A. Curvum* e *A. rances*. A *aceti* suporta 11% de álcool e produz 6,5% de ácido acético, a sua temperatura ótima de crescimento é os 34°C entre os extremos de 5°C e 42°C. (PEDROSO, 2003)

Os principais processos industriais utilizados para a fabricação de vinagres são baseados nos métodos de Orléans, Alemão ou Submerso. (PEDROSO, 2003)

1.3.4.3. Processo de Orléans

Conhecido também como lento, superficial ou estacionário, é o processo mais antigo (surgiu em 1670) utilizado até hoje para a fabricação caseira de vinagre.

O vinagre é elaborado em barris de mais ou menos 200 litros de capacidade, providos de duas aberturas nas extremidades cobertas com tecido e um tubo em forma de J até ao fundo. As aberturas laterais permitem a entrada de ar necessário para a oxidação acética e

impede a entrada de insetos e outros corpos estranhos. O tubo em forma de J serve para a adição de vinhos sem ruptura da película sobre o líquido ou movimentação de partículas decantadas. (COSTA et al, 2006)

O procedimento consiste em colocar no barril cerca de um terço da sua capacidade com vinagre não pasteurizado e adicionando quantidades de vinho ou fermentado de fruta entre 10 a 15 litros por semana, durante um mês. Ao fim de cinco semanas extraem se aproximadamente 20 litros de vinagre, substituindo-se por outro tanto de vinho novo, repetindo-se desta forma o processo ao longo do tempo. (PEDROSO, 2003)

A temperatura ambiente para este processo não deve exceder os 25°C, evitando-se assim perdas de álcool por evaporação. (CRUZ, 2012)

Quando é cuidadosamente produzido, o processo de Orléans, produz vinagre de muito boa qualidade, praticamente límpido, dispensando clarificações e filtrações. No entanto, é um processo que ocupa muito espaço e de baixa produtividade, sendo apenas viável para a produção doméstica de vinagre. O único fator limitante para a quantidade produzida é o fornecimento de oxigénio, uma vez que o equipamento não possui nenhum tipo de aerador. (PEDROSO, 2003)

Na figura seguinte (figura 4) estão representados os recipientes utilizados para obtenção de vinagre pelo processo de Orléans.

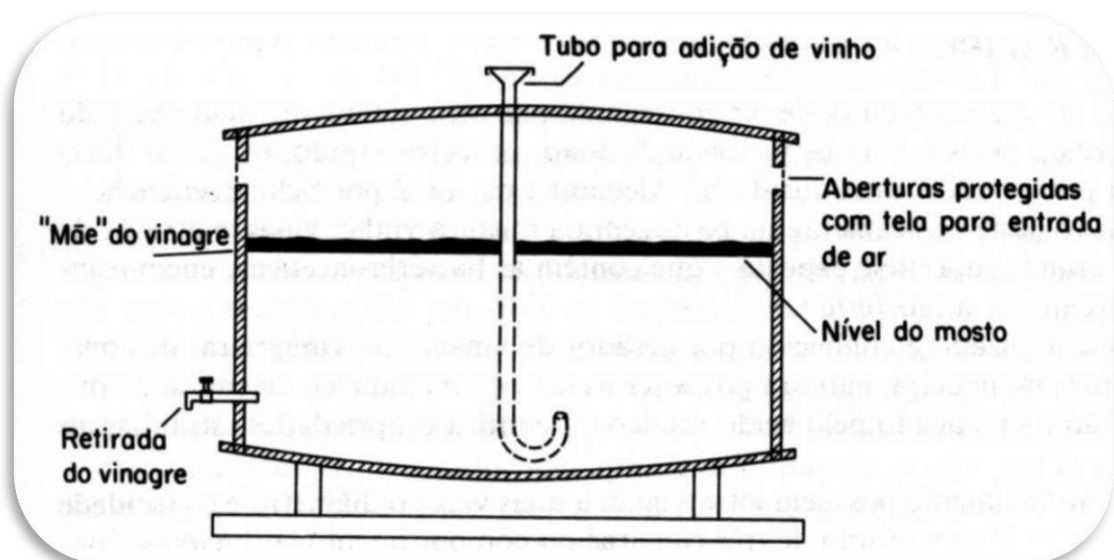


Figura 4 - Recipiente usado no processo de Orléans para a produção de vinagre

Fonte: PEDROSO, 2003

1.3.4.4. Processo Alemão

Os processos rápidos, como é o caso do processo Alemão, são bastante utilizados atualmente. Foram idealizados por Boerhave no começo do século XVIII, ao descobrir que a transformação do vinho em vinagre era bastante rápida quando deixava passar o vinho, através de um recipiente cheio de bagaços de maçã. (PEDROSO, 2003) Atualmente são utilizados recipientes geradores, empacotados com material de enchimento dos mais diversos tipos e materiais (por exemplo, a madeira). As bactérias acéticas colonizam a superfície do material e oxidam o etanol em ácido acético.

A matéria-prima é recirculada desde a parte inferior da tina até a parte superior. Este material passa pela madeira, sabugo ou carvão, onde as bactérias acéticas ficam fixadas, transformando o conteúdo alcoólico em ácido acético. Uma vez corrido o processo total, descarrega-se a metade da tina de depósito, voltando a introduzir-se a mesma carga de vinho base.

Através deste processo, obtém-se vinagre de boa qualidade, porém com baixo rendimento.

Na figura seguinte (figura 5) está representado o gerador utilizado para a produção de vinagre utilizado no processo Alemão.

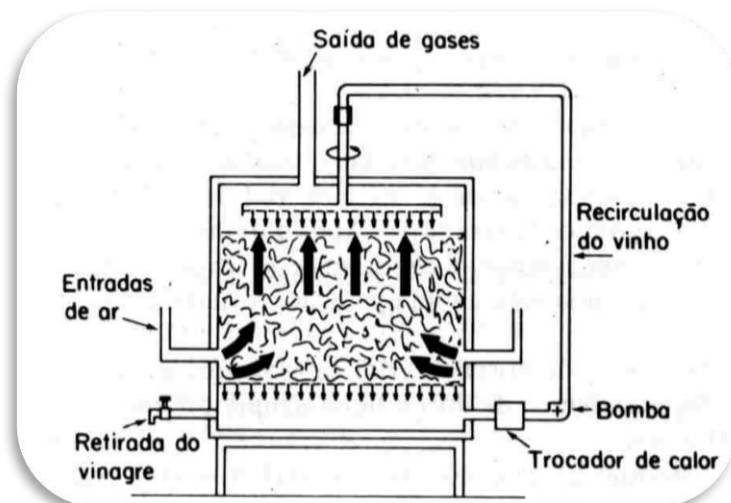


Figura 5 - Gerador para a produção de vinagre no processo Alemão

Fonte: PEDROSO, 2003

Os geradores têm tamanho e formas diferentes. Geralmente são de forma cilíndrica e têm no fundo, um suporte perfurado que sustenta o material de enchimento. O ar a ser utilizado na oxidação, passa pelos orifícios de suporte. O material de enchimento deve formar uma grande superfície, para permitir o contato íntimo entre o líquido e o ar, facilitando as trocas, sendo utilizadas vulgarmente aparas de madeira. Sobre o material de enchimento descansa uma placa crivada, para permitir uma perfeita distribuição do vinho que cai de um bico aspersor, colocado na parte superior

A acidez aumenta progressivamente conforme o líquido vai sendo passado, sucessivamente, duas ou três vezes pelo mesmo gerador ou através de geradores em série.

Sendo o processo exotérmico, o líquido deve ser arrefecido antes de entrar novamente no gerador. (CRUZ, 2012)

1.3.4.5. Processo Submerso

Os processos submersos surgiram em 1950. O método baseia-se em manter a cultura de bactérias acéticas submergidas no vinho a acetificar, com fornecimento abundante de ar. Após a acetificação da matéria-prima, é feita a descarga de uma parte de vinagre, sendo repostada com uma parte de vinho, sem parar o processo. O processo de transformação leva em média 20 horas. (CRUZ, 2012)

O substrato alcoólico, por este processo, pode ser fermentado trinta vezes mais rapidamente que por qualquer outro processo. Neste processo, o ar deve ser controlado cuidadosamente, pois um decréscimo da pressão parcial de oxigénio altera o metabolismo bacteriano. (PEDROSO, 2003)

Trata-se de um sistema muito eficiente e extremamente rápido, pois há um contato muito íntimo entre as bactérias acéticas, o oxigénio e o álcool, por todo o líquido. As perdas são mínimas por evaporação, pois o oxigénio ao invés de ser borbulhado continuamente, só é administrado quando a pressão interna cai, devido ao consumo deste.

O vinagre produzido por este processo apresenta-se turvo, com qualidade inferior aquele obtido pelo método lento (processo de Orléans). (CAMARGO et al., 2013) No entanto, pode apresentar vantagens, tais como maior eficiência e rendimentos elevados

O equipamento mais utilizado para a produção de vinagre em cultura submersa é conhecido por acetificador de Frings, fabricado e patenteado pela Heinrich Frings-Bonn, Alemanha.

A produtividade média destes acetificadores é igual a $\frac{1}{4}$ do seu volume útil em litros de vinagre a 10% ao dia.

Na figura 6 está representado o acetificador Frings em aço inoxidável utilizado na produção de vinagre. (PEDROSO, 2003)



Figura 6 - Acetificador Frings em aço inoxidável

Fonte: POLA et al., 2008

Apesar dos processos descritos anteriormente (processo de Orléans, lento e submerso) serem os mais utilizados para a produção de vinagre, existem outros que surgiram após a observação de que o oxigénio era o fator limitante do processo de acetificação.

Estes processos são:

- Processo por gerador de mergulho;
- Processo Mackin;
- Processo Bourgenois;
- Processo Fardon;

- Gerador por sifonagem;
- Tambor rotatório;
- Acetificador por injeção de ar em jatos;
- Fermentador em torre. (POLA et al., 2008)

1.3.5. Matérias-primas

Neste trabalho foram usadas três matérias-primas: framboesa, marmelo e morango, sendo a framboesa a principal matéria-prima utilizada.

Com as matérias-primas disponíveis na empresa, nomeadamente marmelo e morango foram realizadas experiências de fermentação para adquirir experiência e identificar problemas de ordem operacional.

Foi elaborada uma tabela com diversas matérias-primas e respetivos constituintes (tabela 3). A matéria-prima foi escolhida tendo em conta vários parâmetros, tais como: constituintes mais relevantes para a elaboração de uma fermentação (hidratos de carbono), disponibilidade e facilidade de obtenção da matéria-prima e também pelo interesse da indústria na valorização de produto de refugo.

Tabela 3 - Comparação das várias matérias-primas

Matéria-prima	Água (g)	Proteína (g)	Gordura total (g)	Total de Hidratos de Carbono disponíveis (g)	Total de Hidratos de carbono (Monossacáridos) (g)	Mono + Dissacáridos (g)
Framboesa	84,3	0,9	0,6	5,1	5,1	5,1
Batata doce (crua)	67,2	1,0	0	28,3	30,6	7,9
Bolota		6 - 7	24 - 24,2	41 - 42		
Alfarroba (farinha de alfarroba)	3,2	3,2	0,3	85,6	92,1	42,0
Figo da Índia	87,55	0,73	0,51	9,57		
Pimento (cru)	92,8	1,6	0,6	2,7	2,7	2,5
Romã	83,3	0,4	0,4	12,0	12,0	12,0
Marmelo	9,9	5,1	2,0	70,0	76,1	17,2
Castanha (pilada)	9,9	5,1	2,0	70,0	76,1	17,2
Tremoço (cozido e salgado)	66,1	16,4	2,4	7,2	7,9	0,5
Figo (5 variedades)	79,1	0,9	0,5	16,3	16,3	16,3
Figo seco	25,6	2,3	0,6	58,3	58,4	58,3
Batata (crua)	76,0	2,5	0	19,2	21,1	1,2
Kiwi	82,9	1,1	0,5	10,9	10,9	10,9

Fonte: Adaptado de INSA, Março 2014

A framboesa foi escolhida para cumprir o objetivo principal do trabalho, foram feitas fermentações alcoólicas e acéticas para desenvolvimento do produto alimentar, o vinagre de framboesa.

1.3.5.1. A framboesa

A framboesa é um fruto suculento de sabor doce ou levemente ácido, originário do centro e norte da Europa e de parte da Ásia. (GUIMARÃES, 2012) De acordo com a taxonomia pertence à família das *Rosaceae*, género *Rubus*, e subgénero *Idaeobatus*. Muitas destas espécies têm sido alvo de contínua melhoria e seleção, no entanto, apesar de toda a diversidade, as framboesas vermelha e preta são as mais produzidas (SOUSA et al, 2007). É

uma planta de grande rusticidade, com algumas exigências climáticas, que se adapta a climas temperados-frios e frios. (AYALA, 1999)

Possui de 10 a 20 mm de diâmetro e é, frequentemente, confundida com a amora por possuírem várias características em comum, mas há algumas diferenças que permitem diferenciá-las. A mais evidente é o facto de a framboesa ser um fruto oco, enquanto o da amora é consistente (Figura 7). (SOUZA et al., 2007)



Figura 7 - Fruto framboesa

Fonte: DIETA E SAÚDE, 2014

Quando maduro, este fruto torna-se muito delicado, dificultando o seu transporte e manuseio. (AYALA, 1999)

Por ser um fruto não-climatérico (não amadurece após colheita), a framboesa deve ser colhida madura, com todas as características desejáveis para consumo. (PIO, 2007)

De acordo com as espécies e as cultivares, a coloração dos frutos varia do amarelo ao preto, incluindo tons alaranjado, rosa, vermelho claro e intenso púrpura (Figura 8).



Figura 8 - Tonalidades da framboesa vermelha

Fonte: SOUZA et al., 2007

As framboeseiras são auto férteis, embora a polinização com pólen de outras variedades contribua para o aumento da qualidade de produção. (ALBANO et al, 2005)

As cultivares mais generalizadas e cultivadas em Portugal são as de fruto vermelho de sabor agridoce, aroma agradável, polpa com pequenas sementes e textura granulada. (SOUZA et al.,2007)

De acordo com a Tabela de Composição de Alimentos do INSA (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge) (tabela 4), podemos verificar que a framboesa é muito rica em água. Além disso, fornece quantidades apreciáveis de fibra, vitamina C (antioxidante), cálcio, potássio, magnésio e ferro.

A água e os açúcares dominam a composição dos frutos maduros, sendo os açúcares mais comuns a frutose, a glucose e a sacarose, existindo também vestígios de maltose.

Os ácidos orgânicos constituem componentes intervenientes no sabor e aroma dos frutos, contribuindo quantitativamente para o teor de sólidos solúveis. Afetam diretamente o sabor e o aroma dos frutos, regulam o pH celular e influenciam o aparecimento de diferentes pigmentos no interior dos tecidos.

Nas cultivares de framboesa vermelha os principais ácidos são o cítrico e o málico. (SOUZA et al., 2007)

Tabela 4 - Composição nutricional da framboesa

Componentes	Por 100g
Energia, kcal	34,0
Macroconstituintes	
Água, g	84,3
Proteína, g	0,9
Gordura total, g	0,6
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	5,1
Mono + dissacáridos, g	5,1
Fibra alimentar, g	6,7
Vitaminas	
Vitamina A, µg	2,0
Vitamina C, mg	30,0
Minerais	
Sódio (Na), mg	1,0
Potássio (K), mg	229,0
Cálcio (Ca), mg	26,0
Fósforo (P), mg	23,0
Magnésio (Mg), mg	20,0
Ferro (Fe), mg	0,5
Zinco (Zn), mg	0,3

Fonte: Adaptado de INSA, Março 2014

Designa-se por **alimento funcional**, um alimento em relação ao qual está demonstrado possuir um efeito benéfico, relevante na melhoria do estado de saúde, bem-estar e na redução do risco de doenças. Este efeito vai além da satisfação das necessidades nutricionais.

Os pequenos frutos como a framboesa, possuem teores característicos e específicos de compostos fenólicos, constituídos essencialmente por antocianinas, flavonoides, proantocianinas e ácidos fenólicos, catequinas e isoflavonoides, compostos reconhecidos pela capacidade antioxidante. (SOUZA et al., 2007)

Os antioxidantes desempenham um papel importante na saúde humana, uma vez que os níveis de antioxidantes celulares podem sofrer variações quando o organismo entra em contato com fatores oxidantes exógenos como a poluição do ar, tabagismo, e consumo excessivo de álcool. Estes níveis de defesa podem ser reestabelecidos através do consumo

de antioxidantes naturais presentes nos alimentos ou em suplementos vitamínicos. (NOVAES et al., 2013)

1.3.5.2. O marmelo e o morango

- **O marmelo**

O marmeleiro (*Cydonia oblonga Miller*) é uma planta arbustiva da família das Rosáceas. Os frutos, os marmelos, são pomos amarelos muito perfumados, cobertos de pilosidade. A espécie, originária da região do Cáucaso, difundiu-se progressivamente até à Europa Central e países mediterrânicos.

Na Antiguidade, eram usados como plantas medicinais pelos Gregos, e eram conservados em mel pelos Romanos.

O marmelo é cultivado por toda a Europa e tem diversas utilizações. Por possuírem forte acidez ($\text{pH} \approx 4$), dureza e adstringência, raramente são consumidos in natura. Industrialmente, podem ser utilizados em marmelada, geleia, sopa, licor, xarope e em finos pratos salgados.

A pectina presente neste fruto, pode ser empregue na área alimentar como aditivo alimentar, na área farmacêutica e cosmética. (NUNES et al.,2010)



Figura 9 - Fruto marmelo

Fonte: JARDIM DAS IDEIAS, 2014

De acordo com a Tabela de Composição de Alimentos do INSA (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge) (tabela 5), o marmelo tem um elevado teor em água e fornece quantidades apreciáveis de fibra, cálcio, potássio, fósforo e magnésio.

Tabela 5 - Composição nutricional do marmelo

Componentes	Por 100g
Energia, kcal	39,0
Macroconstituintes	
Água, g	83,6
Proteína, g	0,3
Gordura total, g	0,2
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	9,3
Mono + dissacáridos, g	9,3
Fibra alimentar, g	6,0
Vitaminas	
Vitamina A, µg	2,0
Vitamina C, mg	14,0
Minerais	
Sódio (Na), mg	4,0
Potássio (K), mg	198,0
Cálcio (Ca), mg	14,0
Fósforo (P), mg	14,0
Magnésio (Mg), mg	7,0
Ferro (Fe), mg	0,1
Zinco (Zn), mg	0,1

Fonte: Adaptado de INSA, Março 2014

- **O morango**

O morangueiro é uma planta herbácea, rasteira e pertence à família *Rosaceae*, ou seja, da mesma família das rosas. Botanicamente a parte comestível é um pseudofruto, originário do receptáculo floral que se torna carnoso e succulento. Os frutos verdadeiros são pequenos aquênios, vulgarmente denominados “sementes” (QUINATO, 2007) (Figura 10).

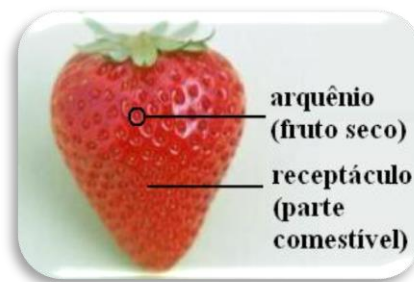


Figura 10- Fruto morango

Fonte: BIOGIL, 2011

O morango tornou-se uma cultura há relativamente pouco tempo, cerca de 250 anos atrás. As variedades que consumimos hoje são resultado de cruzamentos de espécies diferentes que ocorriam naturalmente na Europa (França e Rússia) e na América (Chile e Estados Unidos). Apresenta matérias aromáticas que atuam nos nervos e olfato e do gosto aumentando o apetite. É uma fruta que apresenta benefícios para a saúde como maléficos em alguns casos. Tem efeito estimulante do apetite, facilita a digestão e é excelente alimento para o fígado pelo seu elevado teor de açúcares naturais. (QUINATO, 2007)

O morango possui bioflavonoides anticancerígeno, como a antocianina (de coloração avermelhada) e o ácido elágico. Assim, com todas estas características, o morango, é benéfico na prevenção e cura de infecções, cicatrizações e também contribui para um bom funcionamento do sistema nervoso, cardíaco e digestivo. Além disso, oferece resistência aos tecidos, ossos e dentes e a sua ingestão pode reduzir o colesterol e prevenir o escorbuto (deficiência de vitamina C). (FRUTIBAIRRADA, 2013)

De acordo com a Tabela de Composição de Alimentos do INSA (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge) (tabela 6), o morango tem um elevado teor em água e é uma fonte importante de algumas vitaminas, como a vitamina C, vitamina A e vitamina B9 e fornece quantidades apreciáveis de potássio, cálcio, fósforo e magnésio.

Tabela 6 - Composição nutricional do morango

Componentes	Por 100g
Energia, kcal	46,0
Macroconstituintes	
Água, g	90,1
Proteína, g	0,6
Gordura total, g	0,4
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	5,3
Mono + dissacáridos, g	5,3
Fibra alimentar, g	2,0
Vitaminas	
Vitamina A, µg	4,0
Vitamina C, mg	47,0
Vitamina B9 (ácido fólico)	47,0
Minerais	
Sódio (Na), mg	2,0
Potássio (K), mg	138,0
Cálcio (Ca), mg	25,0
Fósforo (P), mg	26,0
Magnésio (Mg), mg	10,0
Ferro (Fe), mg	0,8
Zinco (Zn), mg	0,1

Fonte: Adaptado de INSA, Março 2014

2. Materiais e Métodos

Neste trabalho foram realizadas oito fermentações com três matérias-primas distintas (marmelo, morango e framboesa). De acordo com o objetivo principal do trabalho, a principal matéria- prima utilizada foi a framboesa.

- Uma fermentação alcoólica e uma fermentação acética de marmelo;
- Três fermentações alcoólicas e duas fermentações acéticas de framboesa.
- Uma fermentação alcoólica de morango com uma espécie alternativa de levedura.

As fermentações ocorreram em fermentador de laboratório com controlo de temperatura e em depósito de plástico à temperatura ambiente e em estufa climatizada.

As fermentações foram realizadas segundo fluxogramas elaborados contendo as etapas a realizar para cada uma delas.

As fermentações alcoólicas foram realizadas todas em processo descontínuo.

As fermentações acéticas foram realizadas em sistema estático semelhante ao processo de Orléans (depósito de plástico) e em sistema dinâmico (fermentador de laboratório com controlo de temperatura, agitação e arejamento).

Todos os processos de fermentação, assim como a preparação dos respetivos equipamentos, foram feitos tendo em conta boas práticas para a diminuição da probabilidade de qualquer contaminação possível.

2.1. Fermentador de laboratório com controlo de temperatura

O fermentador de laboratório utilizado tem marca New Brunswick, modelo Bioflo[®] 115 com controlo de temperatura (Figura 11).

Este equipamento é composto por:

- Um vaso com capacidade de 14L;
- Uma camisa de aquecimento;
- Uma sonda de pH;
- Uma sonda de DO.

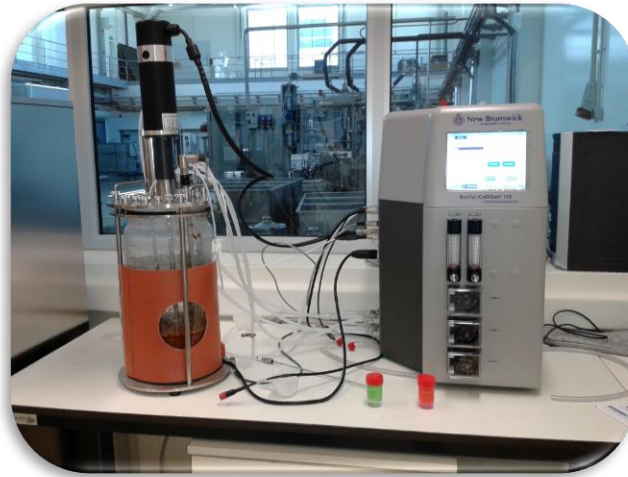


Figura 11 - Fermentador de laboratório New Brunswick Bioflo® 115

O fermentador é provido de um visor com ecrã tátil onde é possível controlar a temperatura e monitorizar o pH e a DO (Figura 12).

LoopName	PV	Setpoint	Out%	Mode	Units	Casc
Agit	0	200	0.0	Off	RPM	None
Temp	19.5	30.0	0.0	Off	DegC	None
pH	9.36	7.00	0.0	Off	pH	None
DO	67.3	85.0	-100.0	Off	%DO	None
Air (1)	100.0	100.0	100.0	O2 Enh	%	None
O2 (2)	0.0	0.0	0.0	O2 Enh	%	None

Figura 12 - Visor tátil de controlo de parâmetros do fermentador de laboratório

As sondas de pH e DO devem ser calibradas antes de dar início a uma fermentação para obtenção de resultados corretos.

Este equipamento possui também um sistema para retirada de amostras para realização de análises necessárias no decorrer da fermentação alcoólica e é apresentado na figura seguinte (Figura 13).



Figura 13 - Sistema para retirada de amostras no decorrer da fermentação alcoólica

2.2. Depósito de plástico à temperatura ambiente

O depósito de plástico em que foram conduzidas algumas fermentações acéticas apresenta-se na figura abaixo (Figura 14).



Figura 14 - Depósito de plástico à temperatura ambiente para fermentações acéticas

O depósito de plástico é provido de uma entrada de ar, pois sem este as bactérias acéticas não sobrevivem. Esta entrada tem de estar selada com tela para impedir a entrada de insetos e outros corpos estranhos e permitir apenas a entrada de ar.

A torneira localizada na parte inferior do depósito de plástico serve para a retirada de amostras para a realização de análises necessárias no decorrer da fermentação acética (Figura 15).



Figura 15 - Retirada de amostra de vinagre

2.3. Depósito de plástico em estufa climatizada

O depósito de plástico, no qual foram efetuadas fermentações alcoólicas, é o que se apresenta na figura seguinte (Figura 16).



Figura 16 - Depósito de plástico em estufa climatizada para fermentações alcoólicas

Como podemos verificar na figura acima (Figura 16), o depósito de plástico contém uma mangueira mergulhada num recipiente com água. Este sistema permite a saída de CO₂ e impede a entrada de O₂. A torneira na parte inferior do depósito de plástico é utilizada para a retirada de amostras para a realização de análises necessárias no decorrer da fermentação alcoólica.

O depósito de plástico é introduzido numa estufa climatizada à temperatura de 30°C, temperatura na qual decorre a fermentação alcoólica.

2.4. Fermentação alcoólica e acética do marmelo

As fermentações do marmelo foram efetuadas com o principal intuito de identificar problemas de ordem operacional e adquirir experiência a nível das fermentações. Foi realizada uma fermentação alcoólica em fermentador de laboratório com controlo de temperatura e uma fermentação acética num depósito de plástico à temperatura ambiente (sistema tradicional).

O objetivo destas fermentações foi a obtenção de vinagre de marmelo.

As etapas das fermentações foram realizadas segundo o fluxograma seguinte (Figura 17).

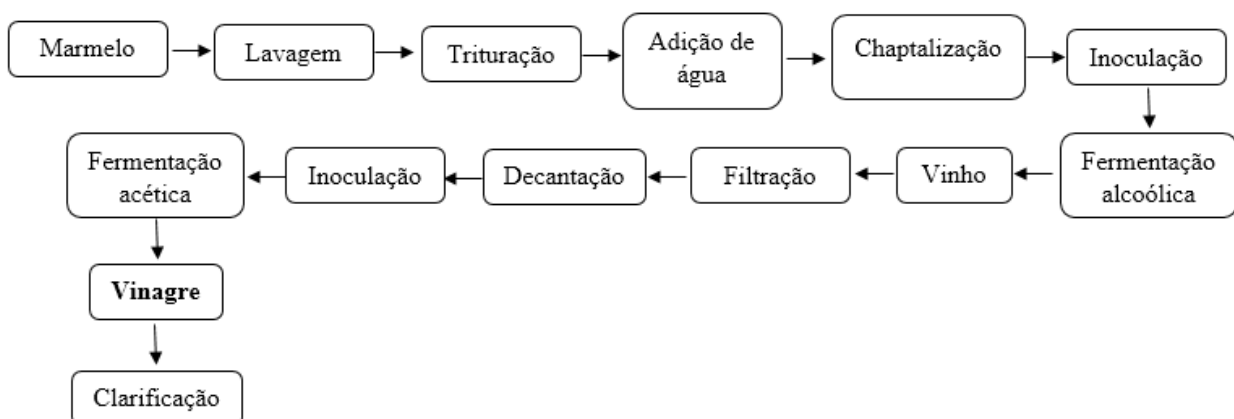


Figura 17 - Fluxograma para elaboração de vinagre de marmelo

O primeiro passo efetuado foi a preparação da matéria-prima, que consistiu na lavagem e trituração dos marmelos. Seguidamente foi feita a preparação do mosto na qual foi feita a adição de água e sacarose.

A etapa de adição de sacarose é dado o nome de etapa de chaptalização. Por fim, inoculou-se a levedura e procedeu-se à fermentação alcoólica e fermentação acética, que foram realizadas tendo em conta determinadas condições.

Tabela 7 - Condições gerais da fermentação alcoólica de marmelo

Temperatura trabalho	30°C
°Brix	19,0 – 20,0
Teor alcoólico pretendido	9° - 10°

A levedura utilizada na fermentação alcoólica foi a *Saccharomyces cerevisiae* desidratada, sendo necessário o seu preparo antes de proceder à inoculação. A temperatura de trabalho na qual foi conduzida a fermentação alcoólica no fermentador de laboratório foi na ordem dos 30°C.

Relativamente à etapa de chaptalização, foi feito um acerto do °Brix para cerca de 20, para se conseguir obter um fermentado alcoólico com teor alcoólico entre 9° a 10°.

A fermentação acética foi conduzida no depósito de plástico, sendo a temperatura de trabalho a temperatura ambiente. Foi inoculado vinagre de diospiro não pasteurizado (contendo as bactérias acéticas necessárias para possível desenvolvimento da fermentação acética) ao fermentado alcoólico de marmelo. Depois do vinagre de marmelo obtido, procedeu-se à clarificação. Este processo obteve-se através de decantação.

- **Preparação da matéria-prima**

- 1) Mergulharam-se os frutos em NaClO (hipoclorito de sódio) e deixou-se repousar durante 30 minutos;
- 2) Após os 30 minutos, passaram-se os frutos por água corrente, retirou-se o caroço e cortaram-se de forma a poderem ser triturados;

- 3) Trituraram-se os frutos na bimby, obtendo uma polpa bastante espessa.



Figura 18 - Marmelos triturados

Após a preparação da matéria-prima, colocou-se a polpa num recipiente, pesou-se e efetuaram-se análises de pH e °Brix. Foram retiradas e analisadas 3 amostras de polpa.

As características iniciais da polpa foram as seguintes:

Tabela 8 - Condições iniciais da polpa de marmelo

Massa	1725g
pH	3,8
°Brix	14,3

- **Preparação do mosto**

- 1) Adicionou-se ao mosto aproximadamente 3L de água para obter uma polpa mais diluída, sendo mais fácil de conduzir a fermentação;
- 2) Como o °Brix medido (14,3°Brix) foi inferior ao pretendido (19°-20° Brix) adicionou-se 550g de sacarose para obter o °Brix pretendido.

Depois da preparação do mosto, este apresentou um volume total de 3,5L e um °Brix de 19.

- **Preparação do fermento**

Foi necessária a preparação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* antes da sua inoculação ao mosto.

A preparação da levedura foi efetuada de acordo com as indicações do fabricante e consistiu nos seguintes passos:

- 1) Pesou-se um pouco de levedura desidratada e dissolveu-se em água para uma concentração final de 10%;
- 2) Levou-se à estufa a 30°C, durante 30 minutos.

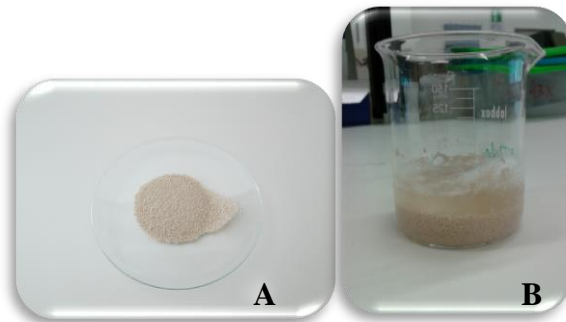


Figura 19 - A – levedura desidratada, B – Dissolução da levedura em água

- **Inoculação e Fermentação alcoólica**

Depois das etapas de preparação da matéria-prima e do mosto, foi efetuada a inoculação da *Saccharomyces cerevisiae* dando início à fermentação alcoólica.

Durante a fermentação alcoólica foram retiradas amostras do mosto e efetuadas análises de °Brix para proceder ao cálculo do teor alcoólico. A temperatura foi controlada e os parâmetros de pH e DO foram monitorizados.

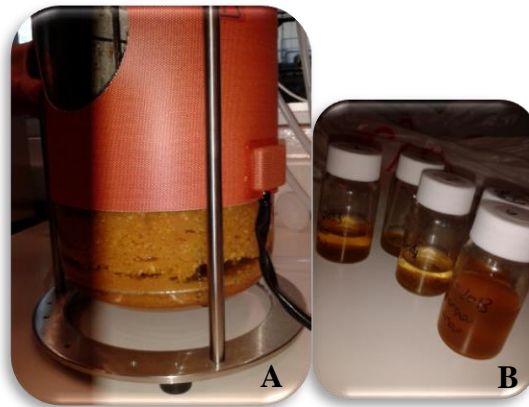


Figura 20 –A – Fermentação alcoólica, B – Amostras de fermentado alcoólico de marmelo

- **Finalização da fermentação alcoólica**

Após o término da fermentação alcoólica no fermentador de laboratório, separou-se a parte líquida da parte sólida. A parte líquida obtida contendo ainda restos de polpa foi filtrada por filtração a vácuo, obtendo assim o fermentado alcoólico de marmelo pretendido (vinho de marmelo). Após a obtenção do fermentado alcoólico foi medido o teor alcoólico deste e calculado o respetivo rendimento.

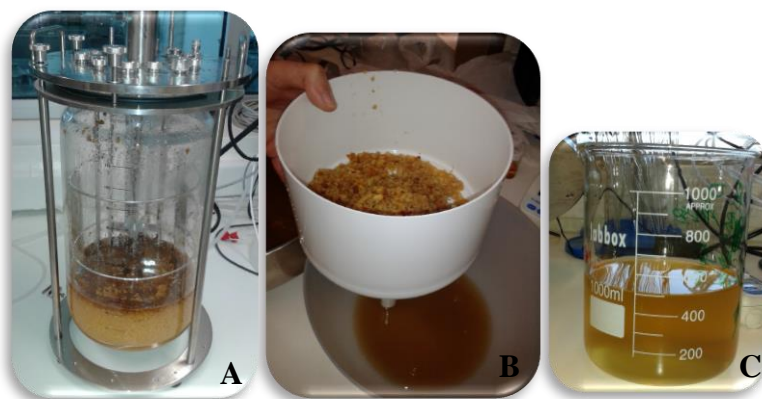


Figura 21 - A – Aspeto do mosto após término da fermentação, B – Filtração do mosto fermentado, C – Fermentado alcoólico de marmelo após filtração a vácuo

- **Condução da fermentação acética**

Com o fermentado alcoólico de marmelo (vinho de marmelo) obtido, procedeu-se à fermentação acética para obtenção do vinagre de marmelo. No decorrer da fermentação acética, foram retiradas amostras de mosto e foram efetuadas titulações para cálculo da acidez total. A temperatura foi controlada e o valor de pH foi monitorizado ao longo de todo o processo. A fermentação acética foi parada quando os valores de acidez calculados permaneceram constantes.

A fermentação acética foi feita de acordo com os seguintes passos:

- 1) Inoculou-se ao fermentado de marmelo, vinagre de diospiro não pasteurizado;
- 2) Deixou-se repousar e ao longo do tempo foi se retirando amostras de vinagre para cálculo da acidez total;
- 3) Depois do vinagre de marmelo obtido, retirou-se o vinagre para recipientes e deixou-se repousar (processo de clarificação).



Figura 22 - Vinagre de marmelo

2.5. Fermentações alcoólicas e acéticas da framboesa

Foram efetuadas três fermentações alcoólicas e duas fermentações acéticas de framboesa. Duas fermentações alcoólicas foram feitas no depósito de plástico com estufa climatizada, a outra em fermentador de laboratório com controlo de temperatura. No caso das fermentações acéticas, uma delas foi feita em depósito de plástico à temperatura ambiente e a outra em fermentador de laboratório com controlo de temperatura. Na fermentação alcoólica efetuada no fermentador de laboratório foi feita a concentração do mosto.

Para realização das fermentações da framboesa, foi utilizada framboesa ultracongelada (Figura 23) e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Antes de proceder à inoculação, foi necessário o preparo da levedura.



Figura 23 - Framboesa ultracongelada

2.5.1. Fermentação alcoólica da framboesa com concentração da polpa

A realização da fermentação alcoólica realizada no fermentador de laboratório com controlo de temperatura teve como principal objetivo a comparação do rendimento da fermentação alcoólica realizada com concentração da polpa e fermentação alcoólica realizada com adição de sacarose. Tanto a concentração da polpa como a adição de sacarose

ao mosto, têm como finalidade o aumento da concentração de açúcares no mosto, para obter bons rendimentos de fermentação.

Esta fermentação foi realizada de acordo com o seguinte fluxograma (Figura 24).

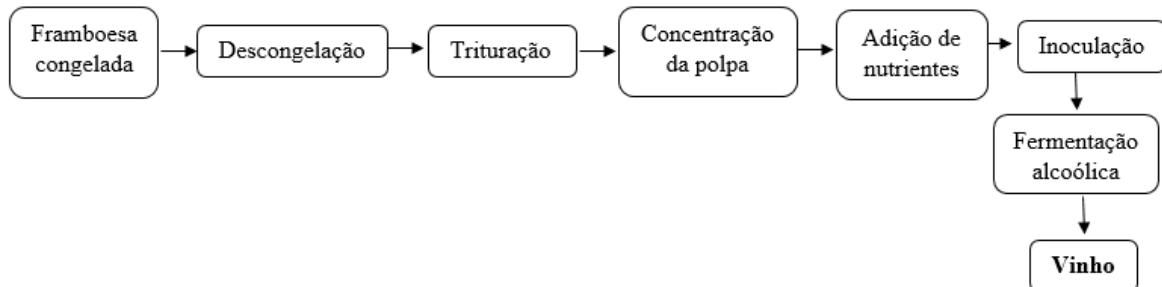


Figura 24 - Fluxograma para elaboração de vinho de framboesa com concentração da polpa

Antes de proceder à fermentação alcoólica da framboesa, esta foi descongelada e de seguida foi triturada. Seguidamente foi feita a preparação do mosto na qual foi feita a concentração da polpa e a adição de nutrientes. Por fim, inoculou-se a levedura e procedeu-se à realização da fermentação alcoólica, tendo em conta determinadas condições.

A temperatura de trabalho na qual foi conduzida a fermentação alcoólica foi cerca dos 30°C.

Foram efetuadas análises de °Brix e pesagem da polpa, antes e depois da concentração.

- **Preparação da matéria-prima**

- 1) Deixou-se descongelar à temperatura ambiente a framboesa;
- 2) Após a descongelação da framboesa, triturou-se com um passe vite;
- 3) Depois de obtida a polpa, procedeu-se à concentração.

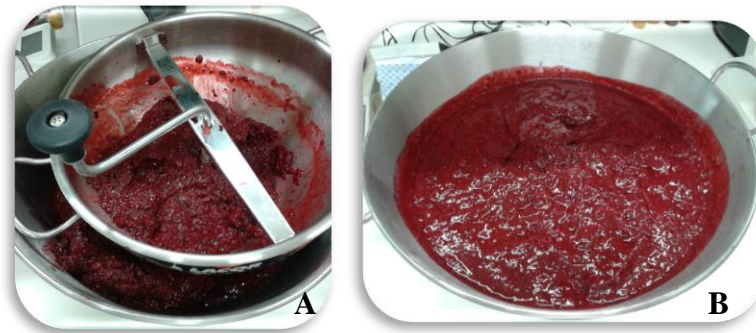


Figura 25 - Trituração e polpa de framboesa: A- Trituração da framboesa, B – Polpa de framboesa

- **Concentração da polpa**

A concentração da polpa foi feita através de uma evaporação sob vácuo a uma temperatura cerca de 80°C e o esquema foi o seguinte (Figura 26):



Figura 26 - Esquema de montagem da concentração da polpa

Foi feita a pesagem e análise do °Brix da polpa de framboesa, antes e após a concentração e os resultados foram os apresentados na tabela seguinte (tabela 9).

Tabela 9 – Peso e °Brix da polpa de framboesa, antes e após concentração

Antes da concentração		Após concentração	
Peso	°Brix	Peso	°Brix
9000g	11,12	6000g	14,15

- **Preparação do mosto**

- Foram adicionados à polpa de framboesa os seguintes nutrientes, nas seguintes concentrações:

- ✓ 0,2g/L de Sulfato de amónio
- ✓ 1,0g/L de Fosfato de amónio
- ✓ 0,1g/L de Sulfato de magnésio

- **Preparação do fermento**

Antes da inoculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi necessário a sua preparação prévia.

A preparação da levedura foi efetuada de acordo com as indicações do fabricante.

- **Inoculação e fermentação alcoólica**

Depois das etapas de preparação da matéria-prima e do mosto, foi efetuada a inoculação da *Saccharomyces cerevisiae* dando início à fermentação alcoólica.

Durante a fermentação alcoólica foram retiradas amostras do mosto e efetuadas análises de °Brix para proceder ao cálculo do teor alcoólico. A temperatura foi controlada e os parâmetros de pH e DO foram monitorizados.



Figura 27 - Fermentação alcoólica da framboesa em fermentador de laboratório com controlo de temperatura

- **Finalização da fermentação alcoólica**

Após o término da fermentação alcoólica no fermentador de laboratório, foi efetuada a separação da parte sólida da parte líquida. Primeiro a separação foi feita através de decantação e depois centrifugação do mosto, durante 5 minutos a 250 rpm.

Após a obtenção do fermentado alcoólico foi medido o teor alcoólico e calculado o respectivo rendimento.



Figura 28 - A – Separação do mosto fermentado, B – Decantação do mosto fermentado, C – Amostras de mosto fermentado para centrifugar, D – Centrifugação das amostras, E – Amostra de mosto fermentado centrifugado, F - Fermentado alcoólico de framboesa

2.5.2. Fermentações alcoólicas da framboesa no depósito de plástico em estufa climatizada

Foram efetuadas duas fermentações alcoólicas realizadas no depósito de plástico em estufa climatizada.

As fermentações foram realizadas segundo o seguinte fluxograma (Figura 29):

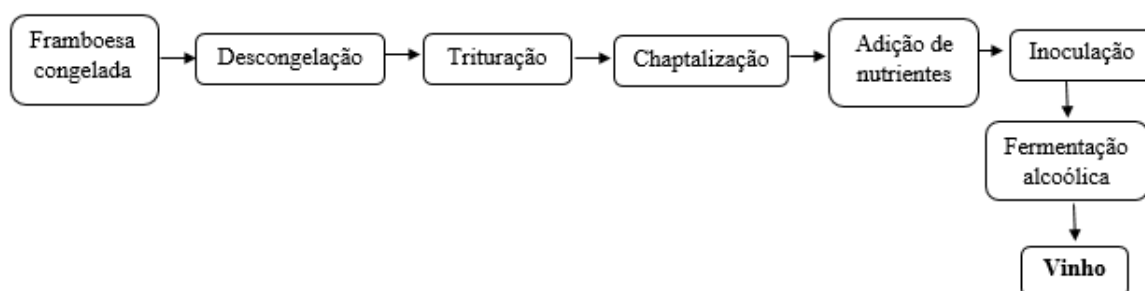


Figura 29 - Fluxograma para elaboração de vinho de framboesa realizado no depósito de plástico

O procedimento foi igual para as duas fermentações alcoólicas. Antes de proceder à fermentação alcoólica da framboesa, esta foi descongelada e de seguida foi triturada. Seguidamente foi feita a preparação do mosto na qual foi feita a adição de sacarose (etapa de chaptalização) e a adição de nutrientes. Relativamente à etapa de chaptalização, foi feito um acerto de °Brix para cerca de 20, para conseguir obter um teor alcoólico entre 9° e 10°. Por fim, inoculou-se a levedura e procedeu-se à realização da fermentação alcoólica, tendo em conta determinadas condições.

Tabela 10 - Condições gerais da fermentação alcoólica da framboesa

Temperatura trabalho	30°C
°Brix inicial	19,0 – 20,0
Teor alcoólico pretendido	9° - 10°

- **Preparação da matéria-prima**

- 1) Deixou-se descongelar à temperatura ambiente a framboesa;
- 2) Após a descongelação da framboesa, triturou-se com o passe vite.

Após a preparação da matéria-prima, pesou-se a polpa e efetuaram-se análises de °Brix e foram medidos os parâmetros temperatura e pH.

Tabela 11 - Condições iniciais da polpa de framboesa

	1ª Fermentação	2ª Fermentação
Massa (g)	7420	10000
pH	3,4	3,2
°Brix (g/100g)	12,5	12,8

- **Preparação do mosto**

- 1) Adicionou-se à polpa de framboesa os seguintes nutrientes, nas seguintes concentrações:
 - ✓ 0,2g/L de Sulfato de amónio
 - ✓ 1,0g/L de Fosfato de amónio
 - ✓ 0,1g/L de Sulfato de magnésio
- 2) Adicionou-se aproximadamente 580g e 700g de sacarose à primeira e à segunda fermentação respetivamente.

Após a preparação do mosto, a polpa de framboesa apresentava um valor de 19,9 e 20,1 °Brix para a primeira e para a segunda fermentação respetivamente.

- **Preparação do fermento**

A preparação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi efetuada de acordo com as indicações do fabricante.

- **Inoculação e fermentação alcoólica**

Depois das etapas descritas anteriormente, foi efetuada a inoculação da *Saccharomyces cerevisiae* dando à fermentação alcoólica.

No decorrer das fermentações alcoólicas foram retiradas amostras de mosto e efetuadas análises de °Brix para proceder ao cálculo do teor alcoólico.

- **Finalização da fermentação alcoólica**

Após o término das fermentações alcoólicas no depósito de plástico, foi efetuada a separação da parte líquida d parte sólida através de decantação.

Após a obtenção dos fermentados alcoólicos, foi medido o teor alcoólico destes e calculados os respetivos rendimentos.

2.5.3. Fermentação acética da framboesa em depósito de plástico

Com o fermentado alcoólico de framboesa obtido, procedeu-se à realização da fermentação acética para obtenção de vinagre de framboesa. Esta fermentação acética foi realizada no depósito de plástico à temperatura ambiente. A fermentação acética foi parada só quando os valores de acidez calculados permaneceram constantes.

A fermentação acética foi feita de acordo com os seguintes passos:

- 1) Inoculou-se o fermentado alcoólico de framboesa no depósito de plástico com vinagre de fruta não pasteurizado proveniente de uma indústria vinagreira;
- 2) Deixou-se repousar e ao longo do tempo foi se retirando amostras de vinagre para cálculo da acidez total;
- 3) Depois do vinagre de framboesa obtido, retirou-se o vinagre para recipientes e deixou-se repousar (processo de clarificação).



Figura 30 – A - Fermentação acética da framboesa no depósito de plástico, B – Vinagre de framboesa

2.5.4. Fermentação acética da framboesa no fermentador de laboratório com controlo de temperatura

Com o fermentado alcoólico de framboesa (vinho de framboesa) obtido, procedeu-se à fermentação acética realizada no fermentador de laboratório com controlo de temperatura e agitação para obtenção de vinagre de framboesa. Nesta fermentação como em qualquer outra fermentação acética, houve arejamento, necessário para as bactérias acéticas desempenharem a sua função.

O caudal de arejamento foi de 0,45 vvm e a velocidade de agitação de 250 rpm.

Foi inoculado vinagre de fruta não pasteurizado, proveniente de uma indústria vinagreira, ao fermentado de framboesa e a aproximadamente a meio da fermentação foi adicionado cerca de 20% do volume em vinho.

No decorrer da fermentação acética, foram retiradas amostras de mosto e efetuadas titulações para cálculo da acidez total. A temperatura foi controlada e o pH foi monitorizado ao longo de todo o processo. A fermentação acética foi parada quando os valores de acidez se mantiveram constantes.

Depois de obtido o vinagre, retirou-se para recipientes e deixou-se repousar (processo de clarificação).

2.6. Fermentação alcoólica do morango

Esta fermentação foi realizada com o intuito de utilizar uma espécie diferente de levedura usada na fermentação alcoólica do marmelo e comparar os respetivos desempenhos de cada uma na condução de uma fermentação alcoólica. A matéria-prima utilizada foi o morango, matéria-prima disponível na empresa.

A levedura utilizada para condução da fermentação alcoólica do morango foi a *Saccharomyces bayanus* e foi necessário proceder à sua preparação antes da inoculação.

A fermentação alcoólica do morango foi efetuada no fermentador de laboratório com controlo de temperatura. As etapas de fermentação foram realizadas segundo o seguinte fluxograma (Figura 31).

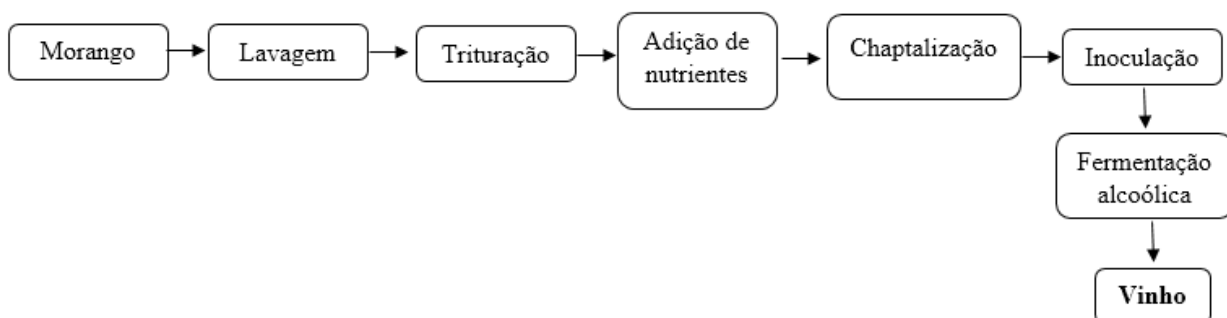


Figura 31- Fluxograma da fermentação alcoólica do morango

O primeiro passo efetuado foi a preparação da matéria-prima, que consistiu na lavagem e trituração dos frutos, seguidamente, procedeu-se à preparação do mosto com a adição de nutrientes e sacarose (etapa de chaptalização). Por fim, inoculou-se a levedura e procedeu-se à fermentação alcoólica, tendo em conta determinadas condições.

Tabela 12 – Condições gerais da fermentação alcoólica do morango

Temperatura trabalho	30°C
°Brix inicial	19,0 – 20,0
Teor alcoólico pretendido	9° - 10°

A adição de nutrientes ao mosto foi efetuada para suprir possíveis insuficiências nutricionais.

Relativamente à etapa de chaptalização, foi feito um acerto do °Brix para cerca de 20, para se conseguir obter um fermentado alcoólico com teor alcoólico entre 9° a 10°.

A temperatura de trabalho na qual foi conduzida a fermentação alcoólica no fermentador de laboratório foi na ordem dos 30°C.

- **Preparação da matéria-prima**

- 1) Mergulharam-se os frutos em NaClO e deixou-se repousar durante 30 minutos;
- 2) Passados os 30 minutos, trituraram-se os frutos com um passe vite e colocou-se a polpa num recipiente.

Após a preparação da matéria-prima, colocou-se a polpa num recipiente, pesou-se e mediu-se o °Brix. Sendo a massa=8000g e o °Brix= 7,4.



Figura 32 - Morangos utilizados na experiência

- **Preparação do mosto**

1) Adicionou-se à polpa de morango os seguintes nutrientes, nas seguintes concentrações:

- ✓ 0,2g/L de Sulfato de amónio
- ✓ 1,0g/L de Fosfato de amónio
- ✓ 0,1g/L Sulfato de magnésio

2) Adicionou-se aproximadamente 1200g de sacarose.

Após a preparação do mosto a polpa de morango apresentava um °Brix de 21.



Figura 33 - Mosto de morango

- **Preparação do fermento**

Antes da inoculação da levedura *Saccharomyces bayanus* foi necessário a sua preparação prévia.

A preparação da levedura foi efetuada de acordo com as indicações do fabricante e consistiu nos seguintes passos:

- 1) Pesou-se um pouco de levedura e misturou-se um pouco de água para uma concentração final de 10%;
- 2) Adicionou-se um pouco de açúcar;
- 3) Levou-se à estufa a 30°C, durante 30 minutos.

- **Inoculação e fermentação alcoólica**

Depois das etapas de preparação da matéria-prima e do mosto, foi efetuada a inoculação da *Saccharomyces bayanus* dando início à fermentação alcoólica.

Durante a fermentação alcoólica foram retiradas amostras do mosto e efetuadas análises de °Brix para proceder ao cálculo do teor alcoólico, a temperatura foi controlada e os parâmetros DO e pH foram monitorizados.



Figura 34 - Fermentação alcoólica do morango em fermentador de laboratório com controlo de temperatura

- **Finalização da fermentação alcoólica**

Após o término da fermentação alcoólica no fermentador de laboratório, efetuou-se a separação da parte sólida da parte líquida através de centrifugação. Centrifugou-se o mosto durante 5 minutos a 4000 rpm.

Após a obtenção do fermentado alcoólico foi medido o teor alcoólico deste e calculado o respetivo rendimento.



Figura 35 - Fermentação alcoólica do morango terminada

2.7. Métodos analíticos

Antes e durante as fermentações foram realizadas diversas análises. Estas são: medição de pH, medição do °Brix, medição do teor alcoólico e cálculo da acidez total.

2.7.1. Medição de pH

A medição do pH foi feita com um medidor de pH CONSORT C931 (figura 36).



Figura 36 - Medidor de pH

Este aparelho é constituído por um eléctrodo e um circuito potenciómetro. O aparelho é calibrado (ajustado) de acordo com os valores referenciados em cada solução de calibração. Para a calibração, normalmente utiliza-se tampões de pH 7,0 e 4,0. Uma vez calibrado o aparelho estará pronto para efetuar medições.

A leitura do aparelho é feita em função da leitura da tensão que o eléctrodo gera quando submerso na amostra. A intensidade da tensão medida é convertida para uma escala de pH. O aparelho faz essa conversão, tendo como uma escala usual de 0 a 14.

2.7.2. Medição do °Brix

O °Brix ou índice refratométrico mede o teor de sólidos solúveis totais (SST) que são na sua maioria açúcares.

O °Brix é medido no decorrer das fermentações alcoólicas. Há medida que o °Brix diminui o teor alcoólico aumenta, o que significa que as leveduras estão a consumir os açúcares e a produzir álcool, tal como pretendido.

A medição do °Brix foi feita com um refratómetro HANNA Instruments Inc e modelo HI 96801 apresentado na figura seguinte (Figura 37).



Figura 37 – Refratómetro

O refratómetro é um instrumento ótico utilizado para medir o índice de refração.

O índice de refração de uma solução aquosa de sacarose varia conforme a concentração de sacarose. O refratómetro mede o índice de refração e relaciona com o valor de concentração.

- **Calibração**

Antes de qualquer medição o refratómetro deve ser calibrado. A calibração é feita da maneira seguinte:

- 1) Ligar o refratómetro no botão “on / off”;
- 2) Gotejar 1 a 2 gotas de água destilada no local em que é introduzida a amostra a analisar;
- 3) Pressionar o botão “Read”;
- 4) Verificar se o valor mostrado no ecrã é igual a 0.0. Caso o valor seja igual a 0,0 o aparelho está calibrado se o valor mostrado no ecrã for diferente de 0,0 passar ao passo 5);
- 5) Pressionar o botão “Zero”;

- 6) Verificar que o valor mostrado no ecrã é igual a 0,0;
- 7) O aparelho está calibrado.

2.7.3. Medição do teor alcoólico

O teor alcoólico foi medido de duas formas, segundo uma ferramenta online chamada Vinocalc (<http://www.musther.net/vinocalc.html#monitorferment>), ao longo do processo, e através de destilação e picnometria no final do processo.

- **Medição do teor alcoólico com ferramenta online**

The image shows a web-based form titled "Monitor Ferment Progress with a Refractometer:". It contains eight input fields for numerical data, each with a label to its left. At the bottom of the form is a "Reset" button. The labels and their corresponding input fields are: "Initial °Brix (refractometer)", "Current °Brix (refractometer)", "Initial Gravity", "Current Gravity (SG)", "Current Gravity (°Brix hydrometer)", "True °Brix", "Residual Sugar (g/L)", and "Current alcohol (%v/v)".

Figura 38 – Vinocalc - ferramenta online para determinação do teor alcoólico residual

Fonte: VinoCalc, 2013

A ferramenta Vinocalc funciona da seguinte maneira:

Primeiro é introduzido o °Brix inicial medido através do refratómetro no campo (Initial °Brix (refractometer)). À medida que as fermentações alcoólicas decorrem são retiradas amostras e são feitas as medições do °Brix, estas medições vão sendo colocadas no

campo “Current °Brix (refractometer)”. Com estes dois valores, é dado o teor alcoólico no campo (Current alcohol (%v/v)) e o valor de °Brix corrigido, dado que à medida que o teor alcoólico aumenta o valor de °Brix medido pelo refratómetro é afetado pela presença de etanol, necessitando de ser corrigido.

- **Medição do teor alcoólico e teor alcoólico residual através de destilação e picnometria**

Para medição do teor alcoólico e teor alcoólico residual foi utilizado um método adaptado do Regulamento (CEE) N.º 2676/90 da Comissão de 17 de Setembro de 1990, que determina os métodos de análise comunitários aplicáveis no setor do vinho.

Primeiramente, a amostra foi destilada. Depois de obtida a mistura binária de etanol e água, segue-se a determinação da densidade do destilado alcoólico. Esta determinação é feita através da picnometria.

A densidade em relação à água pura é uma ferramenta utilizada para determinar a % de álcool em soluções hidroalcoólicas, a uma dada temperatura. Pode ser medida por vários aparelhos, sendo o picnómetro, densímetro de leitura direta e hidrómetro calibrado, os mais utilizados. Neste trabalho o aparelho utilizado para determinar a % de álcool foi o picnómetro.

O método com picnómetro consiste na medida de massa de um volume conhecido de líquido num recipiente denominado picnómetro. O mesmo é calibrado em relação à massa da água pura a 20°C. Da relação destas massas e volumes resulta a densidade relativa à água.

- **Procedimento**

- 1) Lavar o picnómetro, enxaguar com álcool e, posteriormente com éter;
- 2) Deixar secar naturalmente e pesar;
- 3) Encher o picnómetro com água a 20°C e pesar;
- 4) Lavar e secar o picnómetro e proceder da mesma forma com a amostra.

A equação usada para determinar a densidade relativa é a seguinte:

$$\frac{m_{am} - m_p}{m_{H_2O} - m_p} = \text{Densidade relativa } 20^\circ\text{C}/20^\circ\text{C} \quad (1)$$

Em que,

m_{am} = massa do picnómetro com a amostra

m_p = massa do picnómetro vazio

m_{H_2O} = massa do picnómetro com a água

Por fim, obtém-se a graduação alcoólica do destilado alcoólico a 20°C utilizando a tabela referente à conversão de densidade em % de álcool em volume. O resultado é expresso em % de álcool em volume.



Figura 39 - Determinação do teor alcoólico residual

2.7.4. Acidez Total

Para calcular a acidez total das amostras das fermentações acéticas foram realizadas titulações ácido-base. Foi utilizado NaOH 1M (hidróxido de sódio) como titulante e como indicador ácido-base foi utilizado a fenolftaleína.

As titulações ácido-base foram efetuadas segundo os seguintes passos:

- 1) Com o auxílio de uma pipeta, transferiu-se 10mL de titulado (vinagre) para um gobelé;
- 2) Adicionou-se água destilada até perfazer um volume total de 200mL;
- 3) Adicionou-se 4 a 5 gotas de indicador fenolftaleína, ao titulado;
- 4) Completou-se o volume de uma bureta com solução titulante (NaOH 1M).

Com os passos acima efetuados, iniciou-se então a reação abrindo vagarosamente a torneira da bureta, deixando cair gota a gota o titulante sobre o titulado. Quando a cor do titulado mudou bruscamente, fechou-se a torneira da bureta, pois esta mudança de cor significa que a reação foi completa. Como o indicador ácido-base utilizado foi a fenolftaleína, no ponto de viragem ou ponto de equivalência (mudança de cor do titulado), a solução passou de incolor a rosa.

Finalmente, verificou-se o volume de titulante que foi necessário para neutralizar o titulado. Com o volume inicial e final procedeu-se aos cálculos de acidez total.

2.8. Cálculos de rendimento

Foram feitos os cálculos de rendimento para as fermentações alcoólicas e acéticas realizadas.

Os rendimentos calculados para cada fermentação foram: o rendimento em produto, a produtividade e o rendimento da fermentação.

As equações para realização dos cálculos foram as seguintes:

- **Rendimento em produto**

$$Y_{P/S} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \quad (2)$$

(FONTAN et al., 2011)

Em que, nas fermentações alcoólicas **P₀** e **P_f** são as concentrações (g/L) inicial e final do etanol e **S₀** e **S_f** são as concentrações (g/L) inicial e final de sacarose.

Nas fermentações acéticas, **P₀** e **P_f** são as concentrações (g/L) inicial e final de ácido acético e **S₀** e **S_f** são as concentrações (g/L) inicial e final de etanol.

- **Produtividade**

$$P_r = \frac{P_{EXP}}{t} \quad (3)$$

(FONTAN et al., 2011)

Em que, nas fermentações alcoólicas **P_{EXP}** é a concentração (g/L) de etanol experimental e nas fermentações acéticas **P_{EXP}** é a concentração (g/L) de ácido acético experimental. Para ambas as fermentações, **t** é o tempo de fermentação em h (horas).

- **Rendimento da fermentação (%)**

$$R = \frac{P_{EXP}}{P_{TEO}} \times 100 \quad (4)$$

(FONTAN et al., 2011)

Em que, nas fermentações alcoólicas **P_{EXP}** é a concentração (g/L) de etanol experimental e **P_{TEO}** é a concentração (g/L) de etanol máximo teórico.

Nas fermentações acéticas **P_{EXP}** é a concentração (g/L) de ácido acético experimental e **P_{TEO}** é a concentração (g/L) de ácido acético máximo teórico.

Para a resolução dos cálculos, é necessário calcular a % de etanol em m/v, uma vez que o valor que obtemos está em v/v. No caso das fermentações alcoólicas, uma vez que a densidade varia com a concentração de sacarose (°Brix), é necessário calcular uma nova concentração inicial e final da sacarose (S_0 e S_f) tendo em conta a densidade correspondente ao °Brix da amostra.

Nas fermentações acéticas, é necessário corrigir a concentração inicial de etanol (S_0), tendo em conta o volume de inóculo adicionado.

Na tabela 13 encontram-se os valores de densidade para soluções açucaradas.

Tabela 13 - Valores de densidade para soluções açucaradas

°Brix	Densidade (20°C)
1,0	1,0039
2,0	1,0078
3,0	1,01173
4,0	1,01569
5,0	1,01968
6,0	1,02369
7,0	1,02773
8,0	1,03180
9,0	1,03590
10,0	1,04003
11,0	1,04418
12,0	1,04837
13,0	1,05259
14,0	1,05683
15,0	1,06111
16,0	1,06542
17,0	1,06976
18,0	1,07413
19,0	1,07853
20,0	1,08297
21,0	1,08744

Fonte: SUCRANA, 2009

Exemplo de cálculo para fermentação alcoólica:

Os dados utilizados para a elaboração dos cálculos do rendimento da fermentação alcoólica do marmelo foram os seguintes:

Tabela 14 - Dados para realização dos cálculos de rendimento da fermentação alcoólica do marmelo

	Inicial	Final
°Brix (g/100g)	19	1,4
%Etanol (ml/100ml)	0	10,5
Tempo de fermentação (h)	190	

- **Cálculo do rendimento do produto**

O cálculo é efetuado através da equação (2) e os valores S_0, S_f, P_0 em g/L são conhecidos sendo 190,14 e 0 respetivamente. P_f é igual a 105mL/L sendo o cálculo deste em g/L efetuado sabendo a densidade (d) do etanol, que é igual a $0,789\text{g/cm}^3$.

Então,

$$m = P_f = 0,789 \times 105 = 82,845\text{g}$$

Existem 82,845g de etanol num litro de mosto, ou seja $P_f = 82,845\text{g/L}$.

Consultando a tabela 13, podemos verificar que a densidade para um °Brix= 19 é $1,0785\text{g/cm}^3$. O valor de densidade utilizado para °Brix=1,4 foi o do valor para °Brix=1. O valor de densidade para °Brix=1 é $1,0039\text{g/cm}^3$.

- **Cálculo da concentração inicial e final de sacarose**

Para S_0 com °Brix = 19

$$V = \frac{1}{d} = \frac{1}{1,0785} = 0,92\text{ L}$$

$$S_0 = \frac{S_0}{V} = \frac{190}{0,92} = 204,915\text{ g/L}$$

Para Sf com °Brix = 1,4

$$V = \frac{1}{d} = \frac{1}{1,0039} = 0,996 \text{ L}$$

$$Sf = \frac{S0}{V} = \frac{14}{0,996} = 14,055 \text{ g/L}$$

Substituindo os valores calculados na equação (2):

$$Y_{P/S} = \frac{Pf - P0}{S0 - Sf} = \frac{82,845 - 0}{204,915 - 14,055} = 0,434 \frac{\text{g etanol}}{\text{g sacarose}}$$

O rendimento em produto é igual a 0,434 g etanol/ g sacarose.

- **Cálculo da produtividade**

O cálculo é efetuado através da equação (3). A concentração do etanol experimental (P_{EXP}) é a concentração de etanol final (Pf) e é igual a 82,845g/L. Sabendo que $t=190h$.

Substituindo na equação (3):

$$Pr = \frac{P_{EXP}}{t} = \frac{82,845}{190} = 0,436 \frac{\text{g}}{\text{h}}$$

A produtividade é igual a 0,436g.L⁻¹h⁻¹.

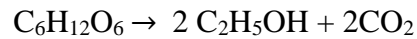
- **Cálculo do rendimento da fermentação alcoólica**

O cálculo é efetuado através da equação (4):

$$R = \frac{P_{EXP}}{P_{TEO}} \times 100 = \frac{82,845}{(204,915 - 14,055) \times 0,511} \times 100 = 84,94\%$$

O rendimento da fermentação alcoólica é igual a 84,94%.

O valor 0,511 foi calculado tendo em conta a razão das massas moleculares da glicose e do etanol da equação da fermentação alcoólica.



$$Y_t = \frac{2 \times \text{Me}}{\text{Mg}} \quad (5)$$

Em que,

Me= Massa molecular do etanol

Mg= Massa molecular da glicose

A massa molecular do etanol é igual a 46g/mol e a massa molecular da glicose é igual a 180g/mol. Substituindo na equação (5):

$$Y_t = \frac{2 \times 46}{180} = 0,511$$

Exemplo de cálculo para fermentação acética:

Os dados utilizados para a elaboração dos cálculos do rendimento da fermentação acética do marmelo foram os seguintes:

Tabela 15 - Dados para realização dos cálculos de rendimento da fermentação acética do marmelo

	Inicial	Final
%Ácido acético (g/ml)	3,30	5,52
%Etanol (ml/100ml)	10,5	0,5
Tempo de fermentação (h)	552	

- **Cálculo do rendimento em produto**

O cálculo é efetuado através da equação (2). Os valores de Sf, P0 e Pf em g/L são conhecidos, sendo 0,5; 33,0 e 55,2 respetivamente. S0 e Sf são calculados em g/L tendo em conta a densidade do etanol, que é igual a 0,789g/cm³. S0 tem de ser calculado tendo em conta o volume de inóculo adicionado, neste caso o volume é igual a 0,3L. O volume de vinho é de 2,6L. Assim:

$$S0_{\text{corrigido}} = S0 \times \frac{V_{\text{vinho}}}{(V_{\text{vinho}} + V_{\text{inóculo}})}$$

$$S0_{\text{corrigido}} = 0,105 \times \frac{2,6}{(2,6+0,3)} \times 100 = 9,4137 \%$$

Existem 9,4137 mL de etanol em 100 mL de vinho, ou seja, 94,137mL de etanol em 1L de vinho.

Então, para obtermos o valor de S0_{corrigido} em g/L, temos em conta a densidade, fica:

$$m = S0_{\text{corrigido}} = 0,789 \times 94,137 = 74,275 \text{ g}$$

Existem 74,275 g de etanol num litro de mosto, ou seja S0= 74,275 g/L.

Substituindo na equação (2):

$$Y_{P/S} = \frac{Pf - P0}{S0 - Sf} = \frac{55,2 - 33,0}{74,275 - 3,945} = 0,316 \frac{\text{g ácido acético}}{\text{g etanol}}$$

O rendimento em produto é igual a 0.316 g ácido acético/ g etanol.

- **Cálculo da produtividade**

A concentração de ácido acético experimental (P_{EXP}) é a diferença entre concentração de ácido acético final (Pf) e inicial (P0).

Sabendo que $t=552$ h e substituindo na equação (3):

$$Pr = \frac{P_{EXP}}{t} = \frac{55,2-33,0}{552} = 0,04 \frac{g}{L \cdot h}$$

A produtividade é igual a $0,04 g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$.

- **Cálculo do rendimento da fermentação acética**

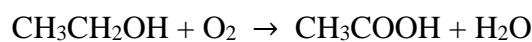
A concentração de ácido acético máximo teórico (P_{TEO}) é a dada pelo produto entre a quantidade de etanol consumida e o fator 1,3. P_{EXP} é a diferença entre concentração de ácido acético final (Pf) e inicial (P0).

Substituindo na equação (4):

$$R = \frac{P_{EXP}}{P_{TEO}} \times 100 = \frac{55,2-33,0}{(74,275-3,945) \times 1,3} \times 100 = 24,28 \%$$

O valor do rendimento da fermentação é igual a 24.28 %.

O valor 1,3 foi calculado tendo em conta a razão das massas moleculares do ácido acético e do etanol da equação da fermentação acética.



$$Y_t = \frac{Ma}{Me} \quad (6)$$

Em que,

Y_t = Rendimento teórico

Ma = Massa molecular do ácido acético

Me= Massa molecular do etanol

A massa molecular do ácido acético é igual a 60 g/mol e a massa molecular do etanol é igual a 46 g/mol. Substituindo na equação (6):

$$Y_t = \frac{60}{46} = 1,3$$

2.9. Cálculo da acidez total

Para calcular a acidez total foi utilizada a seguinte equação:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{(V_f - V_0) \times 0,6004}{\text{volume da amostra}} \times 100 \quad (7)$$

(Regulamento (CEE) N.º 2676/90 da Comissão de 17 de Setembro de 1990)

Em que V_f é o volume final e V_0 é o volume inicial em mL.

O fator 0,6004 tem em conta a massa molar do ácido acético, o número de hidrogénios ionizáveis e fatores de conversão para que se obtenha o resultado em g ácido acético/100mL.

Exemplo de cálculo:

Na fermentação acética de marmelo foram retiradas 3 amostras, às quais foi analisado a acidez total. Para a primeira amostra, V_0 é igual a 0 mL, V_f é igual a 7,9mL e o volume da amostra é igual a 10mL.

Substituindo na equação (7):

$$\% \text{ Acidez} = \frac{(7,9-0) \times 0,6004}{10} \times 100$$

$$\% \text{ Acidez} = 4,74$$

Para as restantes amostras da fermentação acética de marmelo e restantes fermentações acéticas, o cálculo da % acidez total foi efetuado de modo semelhante.

3. Resultados e Discussão

3.1. Fermentação alcoólica de marmelo

Tabela 16- Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de marmelo

Tempo (h)	pH	°Brix	°Brix real	Etanol (% v/v)
0,00	4,05	19,0	19,0	0
46,00	4,17	18,3	17,7	0,9
69,00	4,12	12,2	9,6	6,1
75,00	4,13	14,0	12,0	4,6
94,00	4,08	12,0	9,4	6,3
100,00	4,08	10,8	7,7	7,2
166,00	3,94	7,2	2,8	9,8
173,00	3,97	6,33	1,6	10,4
190,00	3,98	6,2	1,4	10,5

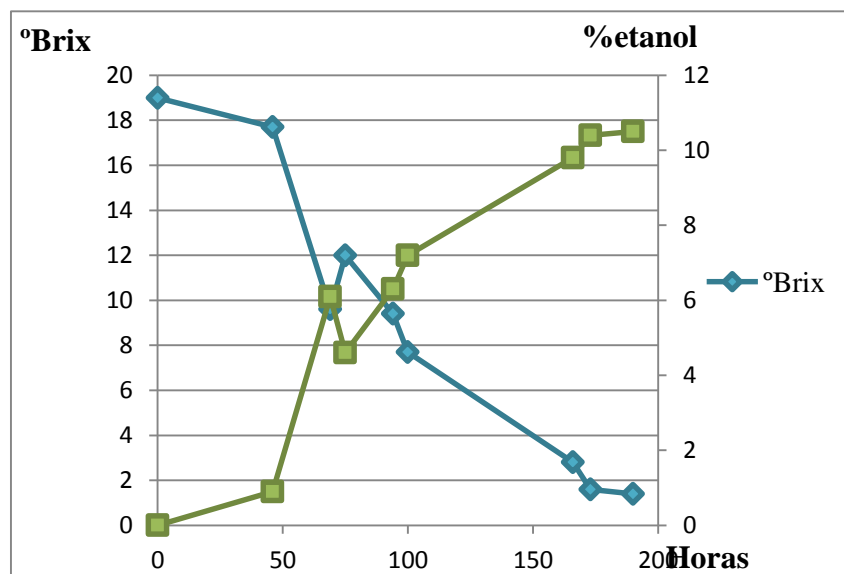


Figura 40 - Evolução do °Brix e da % etanol, ao longo do tempo, para a fermentação alcoólica de marmelo

Como podemos verificar na tabela 16, a fermentação alcoólica de marmelo realizada no fermentador de laboratório, decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C e teve uma duração de 190 horas. A temperatura foi sempre controlada e o pH foi monitorizado.

À medida que a fermentação alcoólica ocorreu, foram retiradas amostras para análise de °Brix. Como podemos verificar visualmente no gráfico (Figura 40), o °Brix foi diminuindo, terminando nos 1,4 °Brix e a % etanol aumentando ao longo do tempo, terminando nos 10,5 % de etanol.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento de fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,434 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ sacarose}}$$

$$Pr = 0,436 \frac{g}{L \cdot h}$$

$$R = 84,94\%$$

O rendimento em produto para a fermentação alcoólica de marmelo foi 0,434g de etanol/g de sacarose, o que significa que foram produzidas 0,434g de etanol por cada grama de sacarose consumida. A produtividade foi de 0,436 g.L⁻¹h⁻¹, o que significa que foram produzidas 0,436g/L de etanol, por hora e o rendimento da fermentação foi de 84,94%.

3.2. Fermentação acética de marmelo

Tabela 17 – Dias de fermentação, valores de pH e % de acidez para a fermentação acética de marmelo

Dias	pH	%Acidez
0	3,23	3,30
17	3,02	4,74
23	3,01	5,52

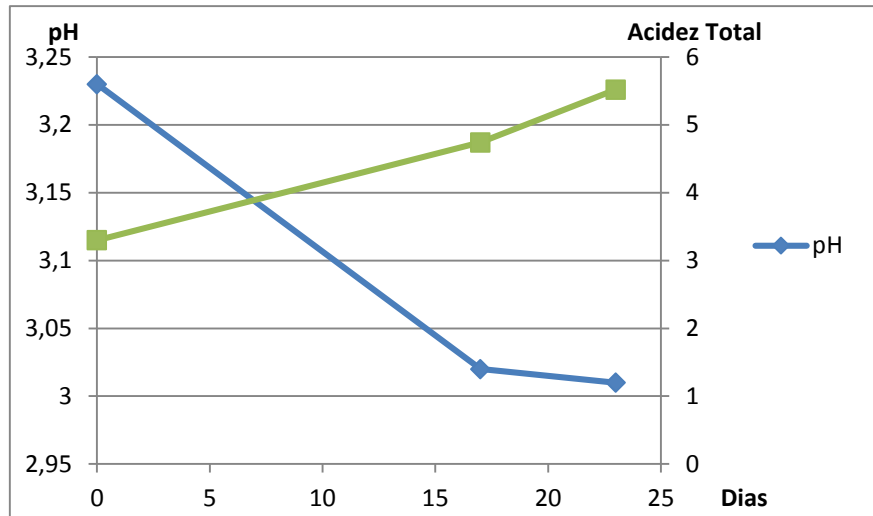


Figura 41 - Evolução do pH e da acidez total, ao longo do tempo, para a fermentação acética de marmelo

A fermentação acética de marmelo realizada no depósito de plástico, decorreu à temperatura ambiente e teve a duração de 23 dias. Foram retiradas amostras no decorrer da fermentação e analisados os parâmetros de pH e acidez total.

O pH variou entre os 3,23 e 3,01 e a % acidez total final foi de 5,52.

Como podemos verificar no gráfico (Figura 41), o pH decresceu à medida que a acidez foi aumentando.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,316 \frac{g \text{ ácido acético}}{g \text{ etanol}}$$

$$\Pr = 0,042 \frac{g}{h}$$

$$R = 24,28 \%$$

O rendimento em produto foi de 0,316g de ácido acético/g de etanol, o que significa que foram produzidas 0,316g de ácido acético por cada grama de etanol consumida. A produtividade foi de 0,04 g.L⁻¹h⁻¹, o que significa que foram produzidas 0,04g/L de ácido acético, por hora. O rendimento da fermentação foi igual a 24,28%.

3.3. Fermentações alcoólicas da framboesa

3.3.1. Fermentação com concentração da polpa

Tabela 18 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de framboesa com concentração da polpa

Tempo (h)	pH	°Brix	°Brix real	Etanol (%v/v)
0,00	3,2	15,1	15,1	0
24,00	3,03	8,5	6	5,9
36,00	3,01	8,5	6	5,9
108,00	3,07	8,5	6	5,9
132,00	3,03	8,5	6	5,9
252,00	3,03	8,5	6	5,9
300,00	3,07	8,5	6	5,9
348,00	3,05	7,5	4,6	6,7

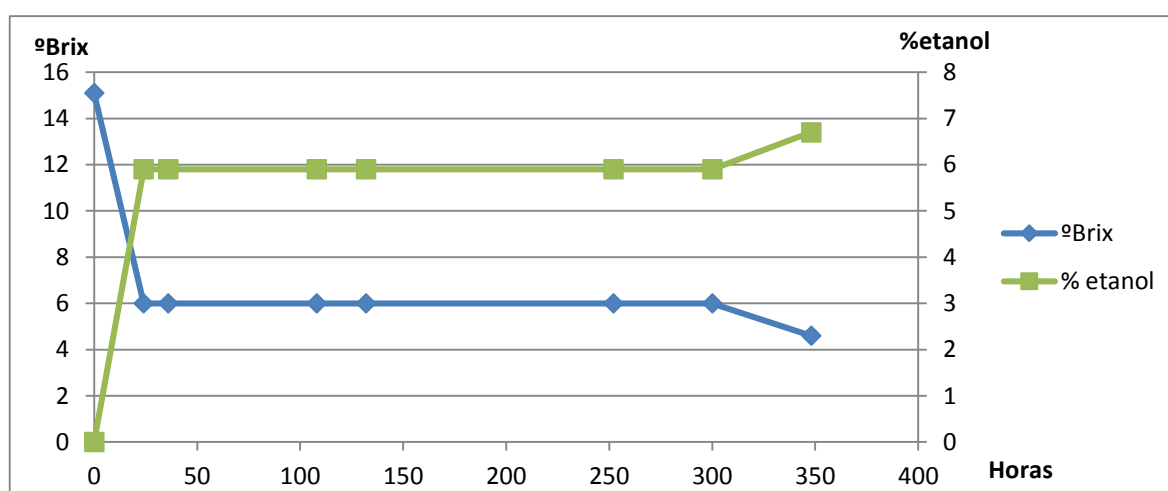


Figura 42 - Evolução do °Brix e da % etanol, ao longo do tempo, para a fermentação alcoólica de framboesa com concentração da polpa

A fermentação alcoólica da framboesa com concentração do mosto, realizada no fermentador de laboratório decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C e teve a duração de 348 horas. Como podemos verificar no gráfico (Figura 42), o °Brix teve uma descida acentuada nos primeiros dias, de 15,1 °Brix para os 6°Brix, permanecendo constante durante vários dias e sofrendo uma ligeira quebra, terminando nos 4,6°Brix. Por sua vez, a % de etanol evoluiu de forma inversa, apresentando uma subida acentuada nos primeiros dias até aos 5,9 % de etanol, permanecendo constante durante vários dias, sofrendo uma ligeira quebra, terminando nos 6,7 % de etanol.

Para os cálculos, considerou-se as 36 horas, pois a partir daí não houve alterações no °Brix e na % de etanol.

A alteração aparente no último momento de análise foi devida à entrada de água no reator, levando a uma diminuição do °Brix por diluição pelo que o aumento da % de etanol não é real.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,471 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ sacarose}}$$

$$Pr = 0,970 \frac{g}{L \cdot h}$$

$$R = 92,23 \%$$

O rendimento em produto foi de 0,471g de etanol/ g de sacarose, o que significa que foram produzidas 0,471g de etanol por cada grama de sacarose consumida. A produtividade foi igual a 0,970 g.L⁻¹h⁻¹ o que significa que foram produzidas 0,970g/L de etanol, por hora. O rendimento da fermentação foi de 92,23%.

3.3.2. Fermentações alcoólicas no depósito de plástico em estufa climatizada

- 1ª Fermentação

Tabela 19 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a 1ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico

Tempo (h)	°Brix	°Brix real	pH	Etanol (%v/v)
0,00	20,1	20,1	3,4	0
21,45	17,4	16,2	3,31	2,7
44,90	9,5	5,5	3,31	9,1
112,85	9,1	5	3,4	9,4

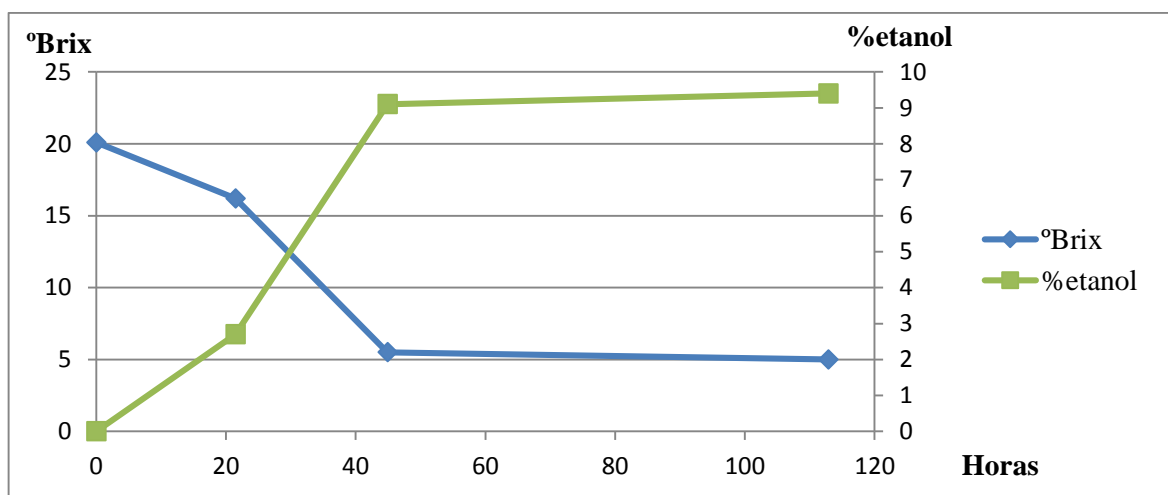


Figura 43 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, para a 1ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico

A fermentação alcoólica realizada no depósito de plástico em estufa climatizada decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C, o pH esteve entre os 3,31 e os 3,4 e teve uma duração de 112,85 horas.

Através do gráfico (Figura 43), podemos verificar que o °Brix diminui até a um valor de 5,5, mantendo-se praticamente constante durante várias horas, terminando nos 5 °Brix. A % de

etanol teve um comportamento inverso, pelo que sofreu um aumento até aos 9,1%, permanecendo constante e terminando nos 9%.

Para os cálculos, considerou-se as 44,90 horas, pois a partir daí não houve alterações significativas no °Brix e na % de etanol.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,445 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ sacarose}}$$

$$Pr = 1,599 \frac{g}{h}$$

$$R = 87,07\%$$

O rendimento em produto foi de 0,445g de etanol/ g de sacarose, o que significa que foram produzidas 0,445g de etanol por cada grama de sacarose consumida. A produtividade foi igual a 1,59 g.L⁻¹h⁻¹ o que significa que foram produzidas 1,59g/L de etanol, por hora. O rendimento da fermentação foi de 87,07%.

- **2ª Fermentação**

Tabela 20 – Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a 2ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico

Tempo (h)	°Brix	°Brix corrigido	Etanol (%v/v)	pH
0	19,9	19,9	0	3,2
23,5	18,5	17,7	1,6	3,21
42,5	9	4,9	9,3	3,2
47	8,4	4,1	9,7	3,21

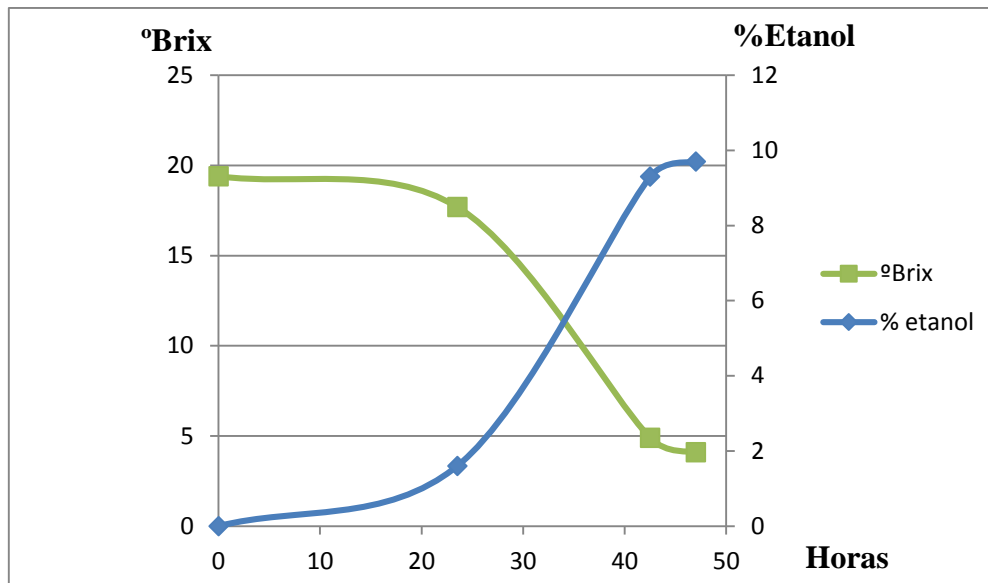


Figura 44 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, para a 2ª fermentação alcoólica de framboesa realizada no depósito de plástico

A segunda fermentação alcoólica realizada no depósito de plástico em estufa climatizada decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C, com pH nos 3,2, 3,21 e teve uma duração de 47 horas.

Como podemos verificar no gráfico (Figura 44), o °Brix diminui dos 19,9 °Brix, terminando nos 4,1 °Brix. A % de etanol foi aumentando, terminando nos 9,7 %.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,440 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ sacarose}}$$

$$Pr = 1,628 \frac{g}{h}$$

$$R = 86,12\%$$

O rendimento em produto foi de 0,440g de etanol/g de sacarose, o que significa que foram produzidas 0,440g de etanol por cada grama de sacarose consumida. A produtividade foi de 1,628 g.L⁻¹h⁻¹ o que significa que foram produzidas 1,628g/L de etanol, por hora e o rendimento da fermentação foi de 86,12%.

3.4. Fermentações acéticas da framboesa

3.4.1. Fermentação acética em depósito de plástico

Tabela 21 - Dias de fermentação e valores de pH e %acidez para a fermentação acética da framboesa realizada no depósito de plástico

Dias	pH	%Acidez
0	3,23	3,33
3	3,27	3,45
5	3,23	3,69
6	3,25	3,9
6	3,23	3,87
7	3,31	4,2
8	3,28	4,62
10	3,21	5,94
11	3,06	7,35
12	3,02	8,17
13	2,99	8,83
16	2,92	9,13
17	2,96	9,13
18	2,96	9,19
20	2,96	9,19

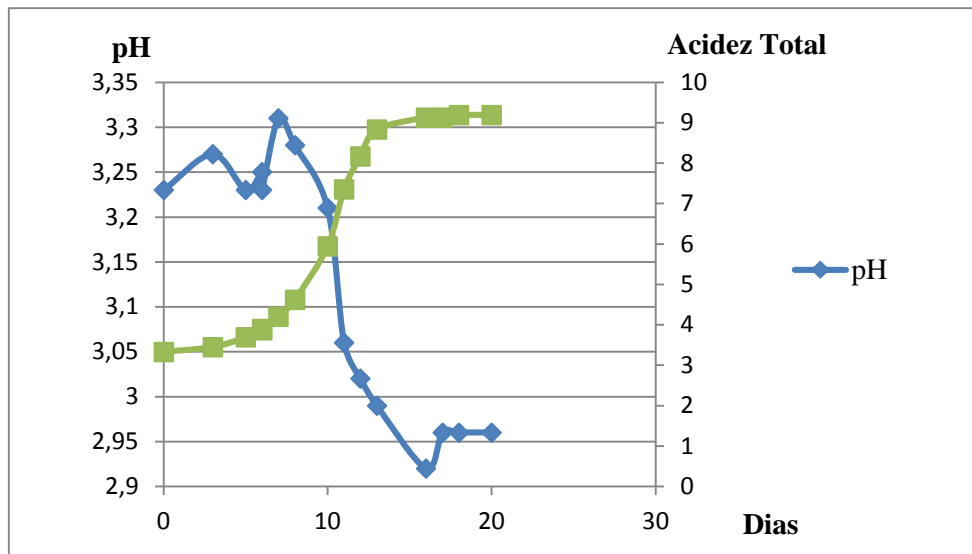


Figura 45 - Evolução do pH e da acidez total, ao longo do tempo, para a fermentação acética da framboesa realizada no depósito de plástico

A fermentação acética realizada no depósito de plástico, decorreu à temperatura ambiente, com um pH entre os 2,92 e os 3,28 e a % final de acidez foi de 9,19.

Podemos verificar no gráfico (Figura 45) que o pH apresentou algumas variações, mas no geral foi sempre decrescendo e a % de acidez aumentando.

Para os cálculos, considerou-se apenas os 18 dias, pois a partir daí, não se verificaram alterações na % de acidez.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 1,055 \frac{g \text{ ácido acético}}{g \text{ etanol}}$$

$$Pr = 0,144 \frac{g}{h}$$

$$R = 81,16\%$$

O rendimento em produto foi de 1,055 g de ácido acético/ g de etanol, o que significa que foram produzidas 1,055g de ácido acético por cada grama de etanol consumida. A produtividade foi de 0,144 g.L⁻¹h⁻¹ o que significa que foram produzidas 0,144g/L de ácido acético, por hora e o rendimento da fermentação de 81,16%.

3.4.2. Fermentação acética no fermentador de laboratório com controlo de temperatura

Tabela 22 - Tempo de fermentação (h) e valores de pH e %acidez para a fermentação acética da framboesa realizada no fermentador de laboratório

Tempo (h)	pH	%Acidez
0	3,2	3,30
25	3,31	3,66
48,5	3,09	4,17
52,5	3,02	4,38
71,5	3,07	5,25
101,5	3,11	4,55
166	3,05	5,52
168,5	3,06	5,52
173,5	3,06	5,43
190,5	3,08	5,43

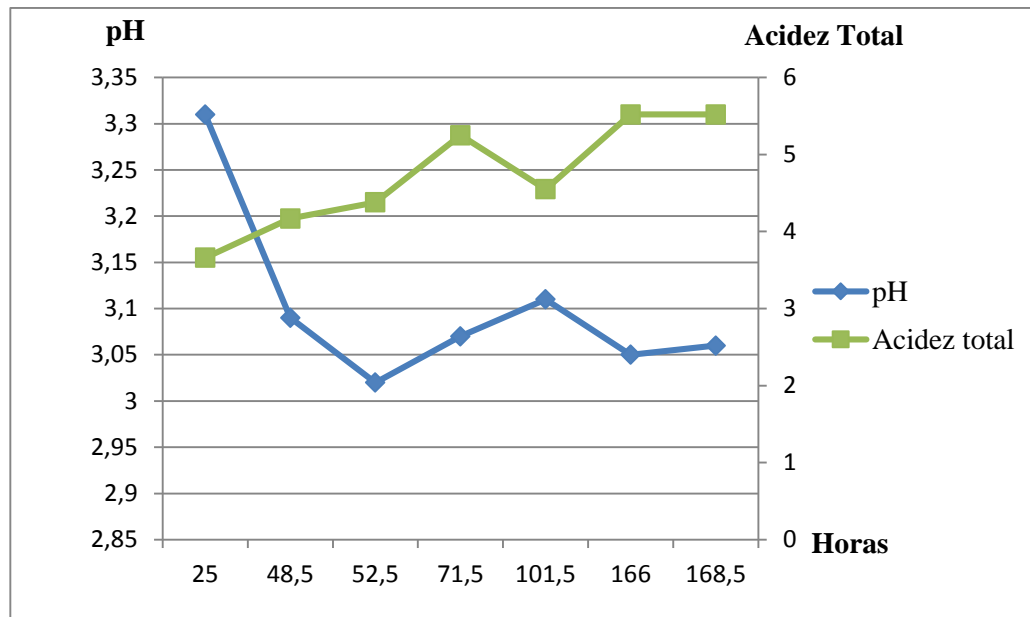


Figura 46 - Evolução do pH e acidez total na fermentação acética da framboesa realizada no fermentador de laboratório

A fermentação acética realizada no fermentador de laboratório com controlo de temperatura, decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C, com pH entre os 3,02 e 3,31 e terminou com uma acidez final de 5,43%.

Podemos verificar no gráfico (Figura 46) que o pH sofreu variações, mas no geral foi decrescendo e a acidez foi aumentando.

Para os cálculos, considerou-se as 173,5 horas, pois a partir daí, a % de acidez não sofreu alteração.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,451 \frac{g \text{ ácido acético}}{g \text{ etanol}}$$

$$Pr = 0,163 \frac{g}{h}$$

$$R = 34,72\%$$

O rendimento em produto foi de 0,451 g de ácido acético/ g de etanol, o que significa que foram produzidas 0,451g de ácido acético por cada grama de etanol consumida. A produtividade foi de 0,163 g.L⁻¹h⁻¹ o que significa que foram produzidas 0,163g/L de ácido acético, por hora e o rendimento da fermentação de 34,72%.

3.5. Fermentação alcoólica do morango

Tabela 23 - Tempo de fermentação (h) e valores de °Brix, °Brix real e etanol (%v/v) para a fermentação alcoólica de morango

Tempo (h)	pH	°Brix	°Brix real	Etanol (%v/v)
0	4,03	21	21	0
20,5	3,23	15,7	13,6	5
28,5	3,21	11,5	7,9	8,4
44	3,39	7,1	1,8	11,5
52,5	3,68	6,5	1,0	11,9
74,5	3,23	6,3	0,7	12,1
140,5	3,32	6,3	0,7	12,1

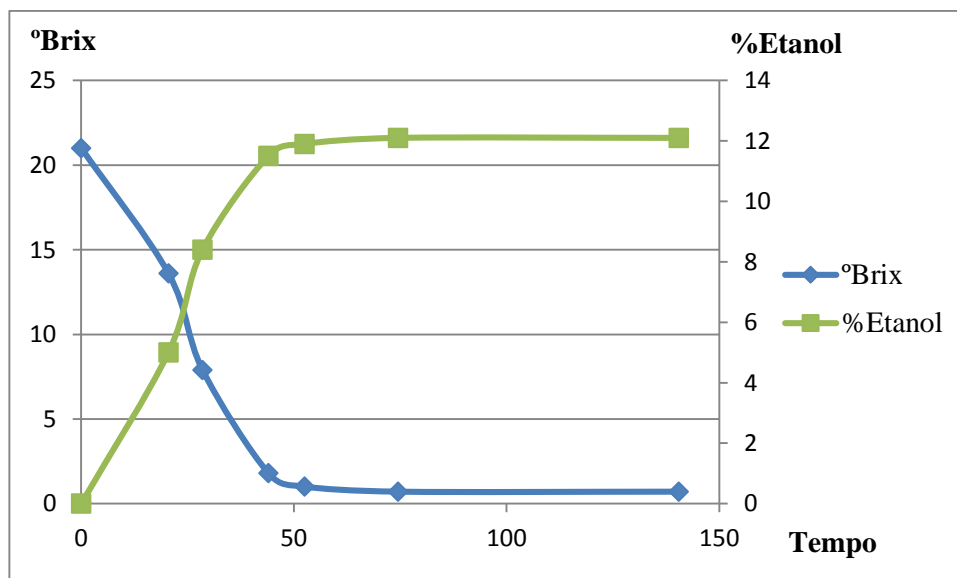


Figura 47 - Evolução do °Brix e %etanol, ao longo do tempo, na fermentação alcoólica de morango

A fermentação alcoólica de morango realizada no fermentador de laboratório, decorreu a uma temperatura na ordem dos 30°C, pH entre 3,21 e 4,03 e teve uma duração de 140,5 horas.

Através do gráfico (Figura 47) podemos verificar que ao longo do processo de fermentação, o °Brix diminuiu bruscamente até às 50 horas, de 21 °Brix para 1°Brix, depois estabilizou, terminando nos 0,7°Brix. Em relação à % etanol, ocorreu inversamente o contrário do que aconteceu com o °Brix. A % etanol aumentou bruscamente até às 50 horas, até aos 11,9 % de etanol e manteve-se praticamente constante a partir desse tempo, terminando nos 12,1% de etanol.

Para os cálculos, considerou-se as 52,5 horas, uma vez que não houve grandes alterações a partir daí, no °Brix e na % de etanol.

Os valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento da fermentação foram os seguintes:

$$Y_{P/S} = 0,430 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ sacarose}}$$

$$Pr = 1,788 \frac{g}{L \cdot h}$$

$$R = 84,19\%$$

O rendimento em produto foi de 0,430g de etanol/ g de sacarose, o que significa que foram produzidas 0,430g de etanol por cada grama de sacarose consumida. A produtividade foi de 1,788 g/L de etanol, por hora e o rendimento da fermentação foi de 84,19%.

Tabela 24 - Rendimento em produto, produtividade e rendimento das fermentações alcoólicas de marmelo, morango e framboesa

Fermentações alcoólicas		$Y_{P/S}$ (g etanol/g sacarose)	Pr ($g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$)	R (%)	%Etanol final	°Brix Inicial - Final	Tempo de fermentação (h)
Marmelo / fermentador de laboratório		0,434	0,436	84,94	10,5	19,0 – 1,4	190
Morango/ fermentador de laboratório		0,430	1,788	84,19	11,9	21,0 – 1,0	52,5
Framboesa	1ª Depósito de plástico	0,445	1,599	87,07	9,1	20,1 – 5,5	44,90
	2ª Depósito de plástico	0,440	1,628	86,12	9,7	19,9 – 4,1	47,0
	Polpa concentrada/ fermentador de laboratório	0,471	0,970	92,23	5,9	15,1 – 6,0	36,0

Analisando a tabela 24, podemos verificar que os rendimentos em produto ($Y_{P/S}$) para qualquer uma das fermentações, são muito próximos. O valor mais elevado é 0,471g etanol/g sacarose e corresponde à fermentação alcoólica de framboesa com polpa concentrada.

Em relação à produtividade (Pr) obtiveram-se valores com alguma dispersão, desde 0,436 $g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$ para a fermentação alcoólica de marmelo a 1,788 $g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$ para a fermentação alcoólica de morango. Ambas as fermentações alcoólicas de framboesa realizadas em depósito de plástico obtiveram valores muito próximos, aproximadamente de 1,600 $g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$

A fermentação de marmelo apresentou o valor mais baixo de produtividade devido ao tempo de fermentação ser muito mais elevado que o das outras fermentações alcoólicas e possivelmente pela não adição de nutrientes ao mosto antes da fermentação, o que levou a carência nutritiva e consequente pior desempenho da levedura.

Os valores dos rendimentos de fermentação (R) obtidos foram muito próximos, embora o valor da fermentação alcoólica de framboesa com polpa concentrada se destaque entre os outros, sendo de 92,23%, mas, apesar de ter valores de rendimento em produto e rendimento de fermentação mais elevados, a produtividade não é a melhor em comparação com as outras fermentações alcoólicas. O teor alcoólico final é bastante baixo e não é adequado para o fabrico de vinagre. Este facto não se consegue explicar apenas pelo valor de °Brix inicial ser inferior ao das restantes fermentações alcoólicas, uma vez que o °Brix final indica que ficou ainda uma parte significativa de açúcares por consumir.

As fermentações alcoólicas de framboesa revelaram uma maior quantidade de açúcares residuais, ou seja, quantidade de açúcares que ficaram por consumir. Nas fermentações alcoólicas de marmelo e morango os valores obtidos foram mais baixos.

Relativamente ao teor alcoólico, as fermentações alcoólicas de framboesa apresentaram valores mais baixos e a fermentação alcoólica de morango, o valor mais elevado. Estes factos poderão estar relacionados com algumas características das matérias-primas e/ou com a adequabilidade das diferentes espécies de levedura utilizadas em relação às matérias-primas.

Analisando os resultados obtidos para o rendimento de fermentação e produtividade obtidos por outros autores, para fermentações alcoólicas de frutas, os resultados obtidos neste trabalho são da mesma ordem de grandeza.

Assim por exemplo para o morango, o trabalho “Caracterização Físico – química do fermentado de morango” elaborado por Andrade et al., refere valores de produtividade de $0,134 \text{ g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ e rendimento de fermentação de 82,38%. Para o Kiwi, o trabalho “Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi ” elaborado por Bortolini et al., refere valores de produtividade entre 0,7 e $2 \text{ g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ e rendimento de fermentação entre 75% e 92%. Para a amora preta, o trabalho “Produção de vinagre como estratégia de aproveitamento tecnológico da amora-preta: Avaliação do processo submerso e do processo lento” elaborado por Lima, refere valores de rendimento de fermentação de 75%. Com estes valores de produtividade e rendimento de fermentação, podemos verificar que os valores obtidos neste trabalho, estão dentro da gama desses valores.

Tabela 25- Rendimento em produto, produtividade e rendimento das fermentações acéticas de marmelo, morango e framboesa

Fermentações acéticas		Y _{p/s} (g ácido acético/g etanol)	Pr (g.L ⁻¹ h ⁻¹)	R (%)	%ácido acético inicial - final	% Etanol inicial - final	Tempo de fermentação (h)
Marmelo		0,316	0,042	24,28	3,30 – 5,52	10,5 – 0,5	528
Framboesa	Depósito de plástico	1,055	0,144	81,16	3,33 – 9,19	9,4 – 0,2	408
	Fermentador de laboratório	0,451	0,163	34,72	3,30 – 5,43	9,7 – 0,67	173,5

Analisando a tabela 25, podemos verificar, claramente, que os maiores valores obtidos para o rendimento em produto (Y_{P/S}) e rendimento de fermentação (R) foram os da fermentação acética de framboesa realizada no depósito de plástico, tendo valores de 1,055g ácido acético/g etanol e 81,16% respectivamente. No entanto a maior produtividade (Pr) obtida foi de 0,163 g.L⁻¹h⁻¹ e corresponde à fermentação acética de framboesa realizada no fermentador de laboratório Os menores valores de rendimento em produto, produtividade e rendimento de fermentação foram 0,316 g ácido acético/g etanol, 0,042 g.L⁻¹h⁻¹ e 24,28% respectivamente e correspondem à fermentação acética de marmelo.

Relativamente aos valores baixos de produtividade e rendimento de fermentação para a fermentação acética de marmelo, estes poderão ser devidos à qualidade do inóculo utilizado, uma vez que, não foi possível averiguar a sua viabilidade em termos microbiológicos.

As diferenças entre a fermentação acética de framboesa realizada no depósito de plástico e no fermentador de laboratório, ao nível de, rendimento em produto, rendimento de fermentação e % ácido acético final, poderão ser devidas à diferente frescura do inóculo utilizado ou alguma condição ambiental menos favorável no fermentador de laboratório.

Comparando os valores obtidos de produtividade e rendimentos de fermentação neste trabalho, com valores obtidos por outros autores, verificamos que a produtividade é baixa para todas as fermentações. Em relação aos rendimentos de fermentação, a fermentação acética de framboesa realizada no depósito de plástico está dentro da gama de valores, enquanto que, a fermentação acética de marmelo e a fermentação acética de framboesa realizada no fermentador de laboratório têm valores de rendimento baixos.

Assim, para o kiwi, o trabalho “Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi” elaborado por Bortolini et al., refere valores de produtividade entre 0,3 e

1,7 g.L⁻¹h⁻¹ e rendimentos de fermentação entre 81% e 93%. Para a amora, o trabalho “Produção de vinagre como estratégia de aproveitamento tecnológico da amora-preta: Avaliação do processo submerso e do processo lento” elaborado por Lima, refere valores de rendimento de fermentação de 72%.

Relativamente à qualidade final dos vinagres obtidos, o vinagre de marmelo apresentou um valor de acidez de 5,52% e um valor de álcool residual de 0,5%. Os vinagres de framboesa obtidos, apresentaram valores bastante diferentes, sendo que o vinagre de framboesa obtido, realizado no fermentador de laboratório obteve um valor de 5,43% de acidez e 0,67% de álcool residual, e, o vinagre de framboesa obtido, realizado no depósito de plástico, um valor de 9,19% de acidez e de 0,2% de álcool residual.

Comparando estes valores com os valores do Decreto-Lei n.º 174/2007 de 08 de Maio ($\geq 50\text{g/L}$ para a % de acidez e $\leq 0,5\%$ para o álcool residual), podemos verificar que apenas o vinagre de framboesa obtido, realizado no fermentador de laboratório, apresentou um valor de 0,67 % de álcool residual, ou seja, um valor um pouco acima do limite por lei.

4. Conclusão

Neste trabalho foram desenvolvidos e analisados diferentes processos fermentativos com vista ao desenvolvimento de um produto alimentar.

As matérias-primas utilizadas, nomeadamente marmelo, framboesa e morango mostraram potencial para realização das fermentações alcoólicas. Em relação às fermentações acéticas, apenas se pode concluir que a framboesa mostrou potencial.

Pode-se concluir também que ao nível das fermentações alcoólicas, em todas as experiências foi possível, embora com rendimentos e teores de açúcares residuais variáveis, a produção de etanol. Este facto indica que as leveduras utilizadas em cada um dos casos são adequadas para o processo. Para as fermentações acéticas, foi possível obter o produto final, embora o processo necessite de maior otimização. Confirmou-se ainda que a qualidade do inóculo é de extrema importância neste tipo de processo biológico.

Em particular a framboesa, de todos os processos estudados, o processo de chaptalização revelou-se o mais adequado para a obtenção de um fermentado alcoólico passível de ser sujeito a uma fermentação acética, uma vez que o processo de concentração utilizado não permitiu a obtenção de um mosto adequado. A fermentação acética em sistema estático (depósito de plástico), foi a que permitiu obter melhores resultados, embora, seja importante repetir mais experiências com o sistema dinâmico (fermentador de laboratório), de forma a otimizar o processo e a despistar possíveis problemas que possam ter ocorrido no decorrer do trabalho. Tanto para as fermentações alcoólicas e acéticas obtiveram-se rendimentos de fermentação semelhantes à bibliografia, embora para a produtividade os valores são inferiores.

Relativamente à qualidade final dos vinagres obtidos, vinagres de framboesa e vinagre de marmelo podemos concluir que os valores de % de acidez estão dentro dos limites da lei e apenas o valor de % de álcool residual para o vinagre de framboesa obtido, realizado no fermentador de laboratório, está um pouco acima do valor limite por lei.

Como sugestões de trabalho futuro a desenvolver a partir do trabalho realizado, para além da repetição de experiências de fermentações acéticas e alcoólicas em sistema dinâmico, será ainda importante avaliar a fermentação alcoólica de framboesa com a

levedura *Saccharomyces bayanus* e numa fase posterior avaliar o impacto das diferentes alternativas de processo na qualidade físico-química e sensorial de produto final.

Como conclusão geral, desenvolveram-se e caracterizaram-se diversos processos fermentativos que permitiram a obtenção do produto alvo, o vinagre de framboesa. Assim cumpriram-se os objetivos principais do trabalho.

5. Referências bibliográficas

ALBANO, S., SALVADO, E., MEXIA, A., **Polinização. In Manual do morangueiro.** Eds. Maria Graça Palha, INIAP/EAN, 2005.

ALVES, M.F., **Potencialidades Biotecnológicas da Algaroba (*Prosopis juliflora Sw, DC*) para a produção de fermento biológico** – Tese Doutorado em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, PB, 2008.

ANDRADE, M.B., PERIM, G.A., SANTOS, T.R.T., MARQUES, R.G., **Physical and Chemical Characterization of Strawberry Unfermented**, v.3, n.1, 18-25, 2014

AYALA, J.F de La, **Amora - framboesa – groselha – kiwi – mirtilo e sua comercialização**, Porto Alegre, Cinco Continentes, 1999.

BORTOLINI, 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**, Campinas, 236-243, 2001.

CAETANO, A.C.G., MADALENO, L.L., **Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais**, Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal, Vol. 2, n.1, 27-37, 2011.

CAMARGO, C., GOMES, D., POMBO, J., PINA, K., **Vinagre** – Trabalho em Engenharia Bioquímica, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, Belém- PA, 2013.

CARVALHO, R.S, **Interações entre leveduras e bactérias durante a fermentação alcoólica** – Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2001.

CASSONI, V., **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (Manipueira) por acetificação** – Dissertação em Mestrado em Agronomia (Energia na

Agricultura), Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Campus de Botucatu, Botucatu- SP, 2008.

COSTA, M.C., TAKAHASHI, J.S., VILLAMONTE, M.R., **Produção de Vinagre** – Trabalho de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

CRUZ, M.A.M. da., **Vinagres comercializados em Portugal: avaliação da capacidade antioxidante e da composição fenólica** – Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar, Escola Agrária do Instituto Politécnico de Viseu, 2012.

GUIMARÃES, I.C. Universidade Federal de Lavras – **Dissertação Tecnologias para conservação e processamento de framboesa (*Rubus idaeus*)**, Lavras, 2012.

GUIMARÃES, T.M, **Isolamento, identificação e seleção de cepas de Levedura *saccharomyces cerevisiae* para elaboração de Vinho** – Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2005.

LEITE, J.L.L., **Fermentação alcoólica no setor sucroalcooleiro** – Dissertação de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Araçatuba do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, Araçatuba, 2013.

LIBKIND, D., HITTINGER, C., VALÉRIO, E., GONÇALVES, C., DOVER, J., JOHNSTON, M., GONÇALVES, P., SAMPAIO, J., **Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast**, PNAS, 108 (35), 14539-14544, 2011

LIMA, K.P., **Produção de vinagre como Estratégia de Aproveitamento tecnológico da amora-preta: Avaliação do processo Submerso e do Processo Lento** – Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

MONGELO, A.I., **Validação de Método Baseado em Visão computacional para Automação da Contagem de Viabilidade de Leveduras em Indústrias Alcooleiras** – Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MG., 2012.

NOGUEIRA, A.R.S., **Fermentação Contínua de Mosto com Leveduras Imobilizadas em Alginato** – Dissertação em Engenharia Química, Universidade de Aveiro, 2009.

NOVAES.G.M, SILVA.M.J.D., ACHKAR.M.T., VILEGAS.W., **Compostos antioxidantes e a sua importância nos organismos** – Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, Vol.11, n.2, 535-539, 2013.

NUNES, C., ROCHA, J., FERREIRA, S., SANTOS, T., **Processamento de marmelada** – Trabalho em Engenharia Alimentar, Escola Superior Agrária de Coimbra, 2010.

PACHECO, T.F., **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente** – Dissertação em Engenharia Química, Universidade Federal da Uberlândia, Uberlândia-MG, 2010.

PEDROSO, R.F.P., **Produção de vinagre de maçã em Biorreator Airlift** – Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

POLA, A.C.,GRIS, L.S., SUGUINO,W.A., **Vinagre** – Trabalho de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

QUINTAS, A., FREIRE.A.P., HALPERN.M.J., **Bioquímica Organização Molecular da Vida**, Lidel – Edições Técnicas, Lda., Lisboa, 2008.

RIBEREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A., **The Handbook of Enology: Microbiology of Wine and Vinifications**, John Wiley and Sons, Ltd Ed., v.1,2ª ed., 2006.

RIO, D.T.DEL., **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*** – Dissertação de Mestrado em Agronomia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SALVATO,F., Fermentação de mosto industrial por linhagens de Saccharomyces cerevisiae com transportador de sacarose e sobreexpressão de invertase interna: estudo comparativo com linhagens com alta e baixa atividade de invertase externa – Dissertação Mestrado em Microbiologia Agrícola, Piracicaba, 2010.

SANTOS,A.M, Fermentação alcoólica com levedura imobilizada em colmos de bambu e em fibra de coco – Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió/Al, 2008.

SILVA, D.B., SILVA.G.F., RODRIGUES, L.M., SEPULVEDA, M.F., CAMPOS, N.J., Fermentação Alcoólica – Departamento de Ciências Biológicas LCB 0208 – Bioquímica, 2013.

SOUSA, M. B., CANET, W., ALVAREZ, M. D., FERNÁNDEZ, C., Effect of processing on the texture and sensory attributes of raspberry (cv Heritage) and blackberry (cvThornfree), Journal of Food Engineering, Vol.78, 9-21, 2007.

SOUZA,M.B.,CURADO,T.,VASCONCELLOS,F.N.,TRIGO,M.J.,Framboesa – Qualidade Pós-colheita, Folhas de Divulgação Agro 556, n.6, 2007.

SUMAN, P.A., Processo de Obtenção de Vinagre de Gengibre – Dissertação de Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu - SP, 2012.

VIANA,T.M.L., Caracterização bioenergética de Saccharomyces cerevisiae em fermentação vinária – Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

6. Referências webgráficas

Agência Embrapa de Informação Tecnológica (ageitec), http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s4737dnfr3b.html (acesso em 03 de Abril 2014)

Biogil – Ciências Biológicas, Meio Ambiente, Projetos e Licenciamento Ambiental, <http://biogilmendes.blogspot.pt/2011/05/pseudofrutos.html> (acesso em 09 de Outubro 2014)

Dieta e Saúde, <http://www.corposaudavel.net/beneficios-da-cetona-de-framboesa/> (acesso em 27 de Março 2014)

Frutibairrada comércio de frutas e legumes,Lda, <http://www.frutibairrada.pt/index.php?pag=destaques> (acesso em 27 de Agosto de 2014)

INOVLINIA – Centro de Transferência de Tecnologia Alimentar, <http://www.tagusvalley.pt/inovlinea.php> (acesso em 03 de Abril 2014)

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetalheAlimento.aspx?ID=IS653> (acesso em 27 de Março 2014)

Jardim das Ideias, http://www.jardimdasideias.com.br/697-marmeleiro_a_origem_do_marmelo (acesso em 27 de Agosto de 2014)

Sucrana, Soluções de Engenharia <http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-solucoes-acucaradas.pdf> (acesso em 16 de Outubro 2014)

VinoCalc, <http://www.musther.net/vinocalc.html> (acesso em 25 de Setembro 2014)