



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

CYNTIA AKEMI TANAKA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO
ALCOÓLICO E ACÉTICO DE BANANA (*Musa* spp.)**

Londrina
2015

CYNTIA AKEMI TANAKA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO
ALCOÓLICO E ACÉTICO DE BANANA (*Musa spp.*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Raul Jorge Hernan Castro Gomez

Co-orientadora: Profa. Dra. Wilma Aparecida Spinosa

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

T161p Tanaka, Cyntia Akemi.

Produção e caracterização de fermentado alcoólico e acético de banana
(*Musa spp.*) / Cyntia Akemi Tanaka. – Londrina, 2015.
69 f. : il.

Orientador: Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez.

Coorientador: Wilma Aparecida Spinosa.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual
de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência
de Alimentos, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Alimentos fermentados – Teses. 2. Banana – Produtos – Teses. 3. Vinagre –
Teses. 4. Fermentado alcoólico – Teses. 5. *Saccharomyces cerevisiae* – Teses.
6. Bebidas fermentadas – Teses. I. Castro-Gómez, Raúl Jorge Hernan. II. Spinosa,
Wilma Aparecida. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 663.3

CYNTIA AKEMI TANAKA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO
E ACÉTICO DE BANANA (*Musa spp.*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cláudio Takeo Ueno
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dra. Sandra Garcia
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 28 de Abril de 2015.

TANAKA, Cyntia Akemi. **Produção e caracterização de fermentado alcoólico e acético de banana (*Musa spp.*)**. 2015. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2015.

RESUMO

Parte considerável (40-50%) da produção mundial de banana (*Musa spp.*) é descartada, devido ao manuseio excessivo e armazenamento inadequado, durante e após a colheita. Contudo, estes resíduos podem ser usados com propósitos industriais. Sua polpa é rica em carboidratos, tornando-a excelente matéria-prima para a produção de bebidas fermentadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar, sob parâmetros cinéticos, o desempenho da levedura *S. cerevisiae* ATCC 2345 na fermentação alcoólica de polpa de banana Prata hidrolisada com agitação (A) e estática (E) e, posteriormente, analisar a acetificação, por processo submerso, do fermentado alcoólico obtido. Foram utilizados frutos de baixo valor comercial em estágio avançado de amadurecimento e/ou com injúrias. A polpa de banana a ser fermentada foi previamente hidrolisada com o complexo enzimático PECTINEX® ULTRA SP-L (0,025 g/100 g). As fermentações alcoólicas foram conduzidas em bioreator (BIOFOCO®) a 30 °C por 71 h. Os resultados de produtividade em álcool e biomassa e o rendimento em álcool sobre o açúcar total e consumido no processo (A) foram de 1,15 g/L.h; 0,008 g/L.h; 53,91% e 60,21%; e no processo (E), 0,89 g/L.h; 0,004 g/L.h; 68,10% e 72,05%, respectivamente. Os fermentados alcoólicos produzidos apresentaram teor alcoólico de 5,73% (v/v) para o processo (A) e de 6,81% (v/v) para o processo (E). A acetificação foi realizada em bioreator (BIOFOCO®) a 30 °C por 16 dias, totalizando 7 ciclos, sendo empregado como inóculo “mãe do vinagre”. O vinagre obtido apresentou 4,41 g/100 mL de acidez total titulável e 2,62 g/100 mL de acidez volátil em ácido acético. Os fermentados alcoólicos e acético obtidos foram caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas e compostos voláteis, e apresentaram parâmetros dentro dos estabelecidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: Banana. *S. cerevisiae*. Fermentado Alcoólico. Vinagre.

TANAKA, Cyntia Akemi. **Production and characterization of banana fermented alcoholic and acetic (*Musa spp.*)**. 2015. 69p. Dissertation (Master in Food Science) – State University of Londrina, Londrina. 2015

ABSTRACT

A considerable part (40-50%) of the world production of banana (*Musa spp.*) is discarded, due to excessive handling and inadequate storage, during and after harvest. However, these wastes could be used for industrial purposes. Its pulp is rich in carbohydrates, making it an excellent raw material for the production of fermented beverages. The main objective of this work was to evaluate and compare, based on kinetic parameters, the behavior of *S. cerevisiae* ATCC 2345 during alcoholic fermentation with agitation (A) and static process (E) and then to analyze the submerged acetification process of alcoholic fermented beverage obtained. Fruits of low commercial value were used in advanced stage of maturity and/or with injuries. The banana pulp to be fermented was previously hydrolyzed with the enzyme complex PECTINEX® ULTRA SP-L (0,025 g/100 g). The alcoholic fermentations were conducted in bioreactor (BIOFOCO®) at 30 °C per 71 h. The productivity results on alcohol and biomass and the alcohol yield on total and consumed sugar in process (A) were 1.15 g/L.h; 0.008 g/L.h; 53.91% e 60.21%; and in process (E), 0.89 g/L.h; 0.004 g/L.h; 68.10% e 72.05%, respectively. The alcoholic fermented beverages produced presents an alcohol content of 5.73% (v/v) for process (A) and 6.81% (v/v) for process (E). The acetification was performed by submerged process and it was used as inoculum "mother of vinegar", in bioreactor (BIOFOCO®) at 30 °C for 16 days, totaling 7 cycles. The vinegar obtained showed 4.41 g/100 mL of titratable acidity and 2.62 g/100 mL of volatile acidity in acetic acid. The alcohols and acetic fermented were characterized for their physicochemical properties and they presented parameters within the established by Brazilian law.

Keywords: Banana. *S. cerevisiae*. Fermented Alcoholic. Vinegar.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química de alguns cultivares de banana por 100g de polpa	18
Tabela 2 -	Parâmetros do fermentado de fruta	24
Tabela 3 -	Parâmetros do fermentado acético de fruta	26

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Redução do teor de amido e acúmulo de açúcares durante a evolução da coloração amarela da casca da banana19

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Produção de vinagre.	27
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAV	Associação Nacional das Indústrias de Vinagres
AOAC	<i>Association Official Analytical Chemists</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PGNU	Unidade de Poligalacturonase, definido por NOVOZYMES®
	TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
YMB	<i>Yeast Malt Broth Bx - Brix</i>
C	Celsius
cm	Centímetro
g	Gramma
h	Hora
Kg	Quilograma
L	Litro
M	Molar
m	Massa
meq	Miliequivalente
min	Minuto
mg	Miligrama
mL	Mililitro
P	Produto
pH	Potencial Hidrogeniônico
rpm	Rotações por Minuto
S	Substrato
t	Tonelada
v	Volume
vvm	Volumes de Ar por Volume de Meio, por Minuto
X	Massa Celular

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}$	Grau
®	Marca registrada
$\%$	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	BANANA	16
3.1.1	CULTIVARES.....	17
3.1.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	18
3.1.3	AMADURECIMENTO	18
3.1.4	COLHEITA	20
3.1.4.1	PERDAS PÓS-COLHEITA.....	20
3.1.5	PROCESSAMENTO DA BANANA.....	20
3.2	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	22
3.3	FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	22
3.3.1	DEFINIÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO.....	24
3.3.2	ESTUDO CINÉTICO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	25
3.4	VINAGRE	25
3.4.1	DEFINIÇÃO E PARÂMETROS DO VINAGRE	26
3.4.2	FERMENTAÇÃO ACÉTICA	27
3.4.3	PROCESSOS DE FABRICAÇÃO	29
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
	ARTIGO	35

1 INTRODUÇÃO

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais cultivadas e consumidas no mundo (CARVALHO et al., 2009a; ZHANG et al., 2005). Contudo, parte considerável da produção mundial de banana é descartada, devido ao manuseio excessivo e armazenamento inadequado, durante e após a colheita (AKUBOR et al., 2003). Estes descartes, em condições adequadas para o consumo, podem ser usados com propósitos industriais, reduzindo perdas pós-colheita, diversificando a produção e agregando valor ao produto (ALVARENGA et al., 2011; CARVALHO et al., 2009b).

A banana constitui-se matéria-prima favorável à fermentação alcoólica, devido à concentração relativamente alta de açúcares fermentescíveis e outros nutrientes (ALVARENGA et al., 2011; ARRUDA et al., 2003; CARVALHO et al., 2009a).

De acordo com Siqueira et al. (2008), intensas pesquisas cinéticas tem sido realizadas para obter organismos fermentativos mais eficientes, substratos de baixo custo e melhores condições de fermentação. Através do conhecimento da cinética do processo, torna-se viável a transposição de um experimento de laboratório para escala industrial (HISS, 2001).

A produção de vinagre compreende essencialmente duas etapas: a conversão anaeróbica de açúcares em álcool, pela ação das leveduras, geralmente a *S. cerevisiae*, e a oxidação aeróbica de etanol em ácido acético por bactérias acéticas (HIDALGO et al., 2013; SAHA; BANERJE, 2013). A transformação de álcool em ácido acético gera um produto estável devido ao pH reduzido, e permite manter a maioria dos componentes da matéria-prima, além de produzir compostos que melhoram os atributos sensoriais do produto final (HIDALGO et al., 2013).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar, sob parâmetros cinéticos, o desempenho da levedura *S. cerevisiae* ATCC 2345 na fermentação alcoólica de polpa de banana Prata hidrolisada, com agitação (A) e estática (E) e, posteriormente, analisar a acetificação, por processo submerso, do fermentado alcoólico obtido.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar, sob parâmetros cinéticos, o desempenho da levedura *S. cerevisiae* ATCC 2345 na fermentação alcoólica de polpa de banana Prata hidrolisada, com agitação (A) e estática (E) e, posteriormente, analisar a acetificação por processo submerso do fermentado alcoólico obtido.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as características físico-químicas da polpa de banana Prata;
- Produzir hidrolisado fermentescível de banana Prata;
- Comparar os parâmetros cinéticos das fermentações alcoólicas com agitação (A) e estática (E);
- Analisar os parâmetros cinéticos da fermentação acética submersa;
- Caracterizar os fermentados alcoólicos e acético de banana Prata quanto às suas propriedades físico-químicas e compostos voláteis.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BANANA

Banana (*Musa* spp.), originária do continente asiático, é um termo geral abrangente a um número de espécies ou híbridos do gênero *Musa*, da família Musaceae. É uma das frutas mais cultivadas e consumidas no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais (CARVALHO et al., 2009a; ZHANG et al., 2005).

A popularidade do fruto deve-se, principalmente, às suas características sensoriais e nutricionais, ao preço acessível e à sua ampla disponibilidade (MATSUURA; COSTA; FOLEGATTI, 2004). Destaca-se também como uma das principais fontes de arrecadação e geração de emprego e renda (CORDEIRO, 2000).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) (2015), a Índia (24.869.490 t) liderou o ranking dos produtores em 2011, seguida pela China (10.550.000 t), Filipinas (9.225.998 t), Equador (7.012.244 toneladas) e o Brasil (6.902.184 t).

No Brasil, a banana é uma cultura bastante versátil, com grande expressão econômica e elevado alcance social, sendo cultivada de Norte a Sul do país (BORGES; SOUZA, 2004; SILVA et al., 2009). A grande extensão territorial brasileira e a localização do país na região dos trópicos tornam o Brasil um produtor privilegiado. O clima brasileiro também favorece a produção nacional de banana, que é ofertada no mercado interno durante o ano todo (ALVARENGA et al., 2013; ALVES, 1999). Em 2012, a região Nordeste produziu 2.424.974 t, a Sudeste 2.298.477 t, Sul 1.077.263 t, Norte 829.959 t e Centro-Oeste 271.511 t (IBGE, 2012).

Apesar do grande volume de produção e da ampla distribuição por todo o território nacional, a participação da bananicultura nacional no mercado externo não é significativa (CORDEIRO, 2000). Em 2011, o Brasil apareceu no 17º lugar do ranking, com apenas 110.054 t. O Equador foi o maior exportador mundial da banana com 5.778.170 t, seguida de Filipinas com 2.046.743 t, Costa Rica com 1.913.808 t, Colômbia com 1.828.281 t, entre outros (FAO, 2015).

O Brasil tem suas exportações restringidas, devido à baixa qualidade dos frutos produzidos que não atendem aos padrões internacionais; às barreiras de

entrada, como as quotas e proteções tarifárias, especialmente no mercado europeu; à dimensão do mercado interno que absorve a maioria da produção nacional; e às perdas pós-colheita que representam parcela significativa dessa produção (CERQUEIRA DE JESUS et al., 2004; CORDEIRO, 2000).

3.1.1 CULTIVARES

Os frutos do subgrupo Prata e Terra são produzidos majoritariamente na África, seguida pela América Latina e pelo Caribe. O subgrupo Cavendish é produzido, em maior quantidade, na América Latina e no Caribe, seguidos pela Ásia, África e Europa (SOTO, 2011).

Embora exista um número expressivo de variedades de banana no Brasil, poucos cultivares tem potencial agrônômico, como alta produtividade, regularidade de produção, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca e ao frio, entre outros, para serem comercializados (ALVES, 1999; CERQUEIRA DE JESUS et al., 2004; CORDEIRO, 2000; MATSUURA; COSTA; FOLEGATI, 2004).

A preferência nacional entre os cultivares disponíveis está relacionada aos padrões regionais, culturais e históricos. Os cultivares mais difundidos no Brasil são: D'Angola, Grande Naine, Maçã, Mysore, Nanica, Nanicão, Pacovan, Prata, Prata Anã e Terra (BORGES; SOUZA, 2004).

Os brasileiros manifestam clara e constante preferência pelo sabor da banana Prata (AGOPIAN et al., 2011; BORGES; SOUZA, 2004). Este cultivar apresenta cachos que pesam, em média, 15 Kg e contém de 69 a 118 bananas. O fruto possui tamanho médio, cujo comprimento varia de 10 a 13 cm e o diâmetro de 3,5 a 4,0 cm, com extremidade bem pronunciada, pontuda, casca fina de cor amarelo-ouro e endocarpo de cor creme-rósea pálido (ALVES, 1999). Segundo Borges e Souza (2004), a variedade Prata pode ser utilizada para processamento, resultando em produtos de excelente qualidade.

3.1.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição e o valor nutricional do fruto podem variar de acordo com o local de cultivo, condições climáticas, tratamentos culturais e variedade (CARVALHO et al., 2009b). De acordo com Matsuura, Cardoso e Ribeiro (2002), os atributos sensoriais da banana, tais como aroma, cor, sabor e textura são influenciados, especialmente, pelos ácidos, açúcares e compostos fenólicos.

De modo geral, a banana é uma fruta de elevado valor energético e nutricional, pois apresenta alto teor de carboidratos totais (amido e açúcares), teores consideráveis de vitaminas (A, B e C) e minerais (cálcio, fósforo, magnésio, potássio e sódio) (BORGES; SOUZA, 2004). A composição química geral de algumas variedades de banana está descrita na Tabela 1 (TACO-UNICAMP, 2011).

Tabela 1 - Composição química de alguns cultivares de banana por 100g de polpa.

Composição (g/100 g)	Banana Maçã	Banana Nanica	Banana Prata
Umidade	75,2	73,8	71,9
Proteína	1,8	1,4	1,3
Lipídeos	0,1	0,1	0,1
Carboidratos	22,3	23,8	26,0
Fibra Alimentar	2,6	1,9	2,0
Cinzas	0,6	0,8	0,8
Minerais (mg/100 g)			
Cálcio	3,0	3,0	8,0
Magnésio	24,0	28,0	26,0

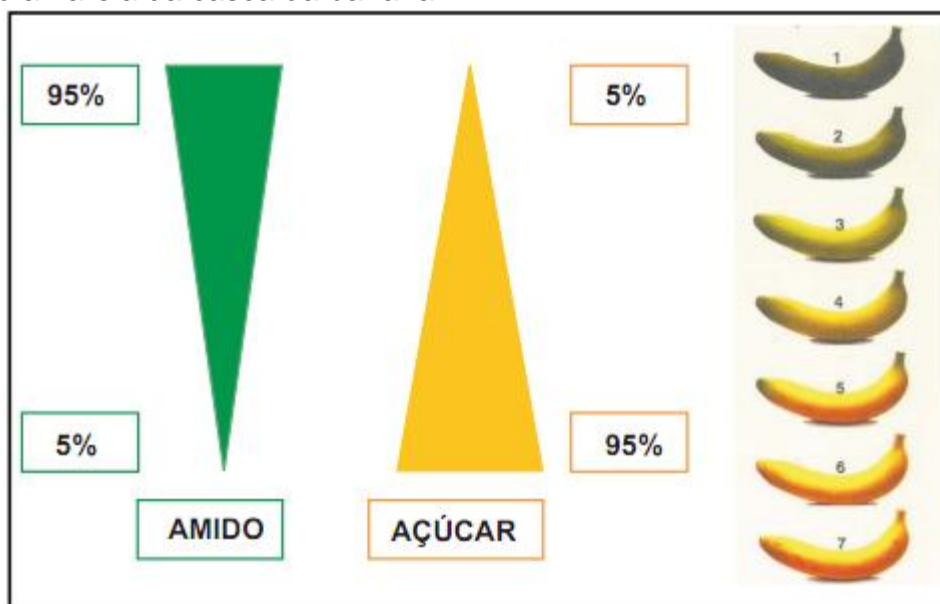
Fonte: Adaptado de TACO-UNICAMP (2011).

3.1.3 AMADURECIMENTO

Durante o amadurecimento de um fruto climatérico, como a banana, devido à atividade de inúmeras enzimas, transformações bioquímicas ocorrem e influenciam diretamente a qualidade e a aceitação do produto pelo consumidor. A transformação bioquímica mais relevante é a conversão de amido em açúcares simples, com predominância em sacarose, glicose e frutose (ADÃO; GLÓRIA, 2005; ALVARENGA et al., 2011; BORGES; SOUZA, 2004; LI et al., 2011; LIEW; LAU, 2012; MOHAPATRA et al., 2011; ZHANG et al., 2005).

Adão e Glória (2005); Borges e Souza (2004); Liew e Lau (2012) observaram que durante a maturação da banana Prata a cor da casca muda de verde para amarelo, em virtude da degradação da clorofila e da síntese de carotenóides. Manchas marrons afetam negativamente a aparência do fruto e indicam produtos demasiadamente maduros. A cor da casca é geralmente utilizada como método rápido para caracterizar o estado de amadurecimento do fruto (BOUDHRIOUA; GIAMPAOLI; BONAZZI, 2003).

Figura 1 - Redução do teor de amido e acúmulo de açúcares durante a evolução da coloração amarela da casca da banana.



Fonte: BORGES e SOUZA, 2004.

Durante o amadurecimento, há um significativo acréscimo na relação polpa/casca, devido à transferência osmótica de água e de alguns componentes químicos da casca para a polpa, resultante da maior concentração de açúcares na polpa. Tais mudanças podem explicar também a redução na concentração de minerais na banana madura (ADÃO; GLÓRIA, 2005; CARVALHO et al., 2009b; CERQUEIRA DE JESUS et al., 2004).

Nessa fase, observa-se redução de compostos fenólicos de menor peso molecular e aumento na concentração de substâncias aromáticas, em virtude do processo de biossíntese de componentes voláteis de aminoácidos e da β -oxidação. O acetato iso-amílico é considerado o principal constituinte do aroma característico da banana fresca (BOUDHRIOUA; GIAMPAOLI; BONAZZI, 2003; RINALDI; CARMO; SALES, 2010).

3.1.4 COLHEITA

A colheita requer cuidados especiais para não provocar danos que possam prejudicar a aparência e a qualidade do fruto (CORDEIRO, 2000). Por ser um fruto climatérico, a banana pode ser colhida verde, ou seja, antes do completo amadurecimento, que é atingido após o pico respiratório (BORGES; SOUZA, 2004).

O número de dias do lançamento da inflorescência até o desenvolvimento fisiológico dos frutos (idade do cacho) e a cor da casca são bons indicadores do grau de amadurecimento da banana, constituindo o principal critério para a colheita. Este sistema correlaciona o grau de maturação com a idade do cacho. A fruta deve chegar ao grau (diâmetro) dentro de certo limite de tempo, evitando perdas por maturação e colheita prematura dos cachos (ALVES, 1999; BORGES; SOUZA, 2004; CORDEIRO, 2000).

3.1.4.1 PERDAS PÓS-COLHEITA

O principal agravante da bananicultura consiste no elevado índice de perdas pós-colheita, que pode atingir 40-50% do total produzido, sendo influenciado por danos mecânicos, decorrentes do manuseio excessivo e incorreto, durante e após a colheita, e por condições inadequadas de armazenamento (ALVARENGA et al., 2011; CARVALHO et al., 2009a).

Contudo, estes resíduos podem ser usados com propósitos industriais (ALVARENGA et al., 2011; CARVALHO et al., 2009b). Dentre os sistemas de biotransformação, a produção de bebidas fermentadas alcoólicas e acéticas pode ser uma alternativa, visto que os produtos são mantidos em álcool e ácido (HIDALGO et al., 2013).

3.1.5 PROCESSAMENTO DA BANANA

A banana, em geral, consumida de forma *in natura* (MOHAPATRA et al., 2011), também apresenta grande versatilidade para os mais diversos tipos de industrialização (CARVALHO et al., 2009b). Contudo, pequena parte é utilizada no processo industrial (BORGES; SOUZA, 2004). Os principais produtos derivados da

banana são as bebidas fermentadas, chips, suco, purê e farinha (MOHAPATRA et al., 2011).

A banana constitui-se matéria-prima bastante favorável à fermentação alcoólica, devido à abundância e a concentração relativamente alta de açúcares fermentescíveis e outros nutrientes que permitem o crescimento de leveduras (ALVARENGA et al., 2011; ARRUDA et al., 2003; CARVALHO et al., 2009a).

De acordo com Alvarenga et al. (2011) e Arruda et al. (2007), a fermentação alcoólica de bananas, consideradas fora dos padrões de qualidade para consumo *in natura* e/ou excedentes, pode representar uma forma de minimizar perdas pós-colheita, além diversificar a produção e agregar valor ao produto.

Arruda et al. (2003) elaboraram bebida fermentada alcoólica a partir do suco de banana, como forma alternativa do consumo desta fruta, minimizando desperdícios. Isitua e Ibeh (2010) desenvolveram fermentados alcoólicos a partir de resíduos de bananas (*Musa acuminata*), acrescido de folhas de abóbora. Carvalho et al. (2009a) indicaram efeito positivo do perfil de açúcares e de outros nutrientes da banana na viabilidade e desempenho de leveduras cervejeiras e concluíram que o suco de banana pode ser usado como adjunto no processo de produção de cervejas. De acordo com Cheirsilp e Umsakul (2008) e Minh (2014), o fermentado alcoólico de banana apresenta ótimo aroma e pode ser considerada uma bebida alcoólica saudável.

Alves (1999) recomenda para a elaboração de bebidas fermentadas, bananas em estágio avançado de maturação, pois estarão desenvolvidas todas as características de aroma e sabor e as frutas apresentarão maiores quantidades açúcares fermentescíveis. As cascas devem ser removidas, pois além de contribuir com pequena quantidade de açúcar, constituem fonte de contaminação por microrganismos e eventuais fungicidas.

3.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Enzimas pectinolíticas ou pectinases compõem um grupo heterogêneo de enzimas que hidrolisam substâncias pécticas, complexo coloidal de polissacarídeos ácidos. Podem ser produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; KASHYAP et al., 2001; UENOJO; PASTORE, 2007).

Existem basicamente três tipos de pectinases: a pectina esterase, que remove o grupo metil éster; a despolimerase, que catalisa a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécticas; e a protopectinase, que solubiliza a protopectina para formar pectina altamente polimerizada (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

Na indústria de alimentos, as enzimas pectinolíticas podem ser aplicadas na extração de sucos de frutas e óleos cítricos, fermentação de chá e café, entre outras (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

Na fabricação de fermentados alcoólicos, as enzimas pectinolíticas melhoram a extração de componentes aromáticos e de cor e facilitam a clarificação e a filtração necessárias à bebida, aumentando o rendimento em álcool e reduzindo a formação de metanol e alcoóis superiores (BYARUAGABA-BAZIRAKE; RENSBURG; KYAMUHANGIRE, 2013; CHEIRSILP; UMSAKUL, 2008; MOHAPATRA et al., 2011). Silva et al. (2009) verificaram aumento na quantidade de açúcares redutores e sólidos solúveis e redução de amido e celulose, mediante a hidrólise enzimática.

3.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A fermentação alcoólica é uma técnica viável no desenvolvimento de novos produtos. Envolve uma reação anaeróbica que converte açúcares fermentescíveis em álcool, dióxido de carbono, biomassa celular e produtos secundários, tais como ácidos orgânicos, alcoóis superiores, aldeídos, ésteres, glicerol, metanol, responsáveis pelo aroma e sabor. Contudo, compostos secundários em excesso podem ser tóxicos (ALVARENGA et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2008; ISITUA; IBEH, 2010; SWAMI; THAKOR, DIVATE, 2014).

Os aldeídos são considerados intermediários na formação de alcoóis superiores. A maior parte da concentração de ésteres encontrada em fermentações alcoólicas ocorre por meio do metabolismo intracelular, via reação acetil-coA, entre etanol e demais alcoóis (ALVARENGA et al., 2013). O glicerol pode ser produzido como soluto compatível durante o estresse osmótico (SIQUEIRA et al., 2008). O metanol, álcool tóxico, é produzido pela hidrólise natural da pectina no mosto durante a fermentação (ALVARENGA et al., 2011).

A fermentação pode ser espontânea, realizada pela flora natural da fruta ou controlada por cepas puras (ISITUA; IBEH, 2010). O uso de cepas selecionadas desempenha um papel importante no controle do processo fermentativo, pois permite obter produtos com reprodutibilidade, qualidade previsível e tempo programado (HIDALGO et al., 2013).

A *S. cerevisiae*, cepa mais comumente utilizada no processo de fermentação alcoólica, é capaz de transformar açúcares em álcool e desenvolver atributos sensoriais essenciais (ALVARENGA et al., 2011; HIDALGO et al., 2013). Como aditivo alimentar, esta levedura é reconhecida como segura (GRAS) para consumo humano (LIN; TANAKA, 2006).

O rendimento e a produtividade de álcool, a tolerância ao estresse imposto pela alta concentração de açúcares e álcool, a resistência a temperatura e a habilidade de produzir ou não certos componentes aromáticos são fontes de interesse na escolha da cepa de levedura a ser empregada na produção de bebidas alcoólicas (ALVARENGA et al., 2011). De acordo com Carvalho et al. (2009a) e Minh (2014), a eficiência da fermentação e a qualidade do produto final estão intimamente ligadas ao desempenho das leveduras no mosto. Parmar e Rupasinghe (2013) afirmaram que melhores rendimentos em álcool podem ser alcançados pela regulação das condições da fermentação, tais como pH, temperatura e concentração de açúcares.

O processo fermentativo é exotérmico e a atividade da levedura é regulada pela temperatura. Em altas temperaturas a levedura paralisa sua atividade, provocando o término prematuro da fermentação. Baixas temperaturas permitem obter alto rendimento em álcool pela fermentação completa e por minimizar perdas por evaporação. A temperatura ótima para a maioria das leveduras em fermentados alcoólicos é de 25 a 30 °C (ARRUDA et al., 2003).

De acordo com Siqueira et al. (2008), concentrações altas de substrato inibem o crescimento e a produção de álcool por leveduras, como resultado da alta pressão osmótica. Por outro lado, baixas taxas de diluição representam economia de equipamento.

3.3.1 DEFINIÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO

A legislação brasileira, por meio do decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, define fermentado de fruta como o produto obtido pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura, podendo ser adicionado de açúcares e/ou água. Deve apresentar graduação alcoólica de 4 a 14% (v/v) a 20°C, sendo denominado “fermentado de (nome da fruta)” (BRASIL, 2009).

A bebida deverá ser obtida a partir de uma única espécie de fruta, de seu respectivo suco integral ou concentrado ou de sua polpa, que poderá ser adicionada de água. A composição química do fermentado de fruta deverá obedecer aos limites fixados na Tabela 2 (BRASIL, 2009).

Tabela 2 - Parâmetros do fermentado de fruta.

Parâmetro	Valor mínimo	Valor máximo
Graduação alcoólica (% v/v) a 20 °C	4,00	14,00
Acidez total (meq/L)	50,00	130,00
Acidez fixa (meq/L)	30,00	-
Acidez volátil (meq/L)	-	20,00
Extrato seco reduzido (g/L)	7,00	-

Fonte: Brasil (2009).

Para que o fermentado alcoólico seja considerado de qualidade é necessário que a bebida atenda aos requisitos de identidade e qualidade preconizados pela legislação vigente, devendo apresentar limpidez, teor alcoólico adequado e ausência de corpos estranhos ou em suspensão (BRASIL, 2009).

Teoricamente, qualquer fruto ou vegetal que contenha umidade, açúcares fermentescíveis e outros nutrientes para as leveduras pode servir como matéria-prima para a produção de fermentados alcoólicos, sendo necessária a adaptação do processo de acordo com a matéria-prima (VIEIRA, 2012; ALVARENGA et al., 2013; ARRUDA et al., 2003; IDISE; ODUM, 2011).

De acordo com Vieira (2012), bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores, devido à tendência de aceitação em pesquisas de consumo e à contribuição na redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis.

3.3.2 ESTUDO CINÉTICO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O estudo cinético de um processo fermentativo consiste essencialmente na análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo (biomassa X, metabólito P e substrato S), em função do tempo de fermentação. Tais valores experimentais de concentração, quando representados em função do tempo, permitem traçar curvas de ajuste, que são indicadas por $X = X(t)$, $P = P(t)$ e $S = S(t)$. Através do conhecimento da cinética do processo, torna-se viável a transposição de um experimento de laboratório para escala industrial (HISS, 2001).

De acordo com Siqueira et al. (2008), intensas pesquisas cinéticas tem sido realizadas para obter organismos fermentativos mais eficientes, substratos de baixo custo e melhores condições de fermentação.

3.4 VINAGRE

O vinagre é um produto utilizado por diversas culturas e consumido por todas as classes sociais, como condimento, saborizante, preservativo, agente de limpeza, etc. (BORTOLINI; SANT'ANNA; TORRES, 2001; SAHA; BANERJEE, 2013; SPINOSA et al., 2015).

No continente asiático, os fermentados acéticos são amplamente empregados pela população como bebida com apelo funcional, e na Europa assume outras funções, tais como desinfetante, neutralizante de odor, entre outros, alcançando alto consumo per capita (1,8 L/ano) (SPINOSA et al., 2015).

Devido à ascensão do poder aquisitivo, o uso de vinagre no Brasil tem aumentado, entretanto, o consumo ainda é considerado baixo (0,8 L/ano) (SPINOSA et al., 2015). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 170 milhões de litros de vinagre são consumidos anualmente, sendo 80% vinagre de álcool. A região Sudeste responde por 53% do

consumo nacional, seguida pelas regiões Sul (23%), Norte-Nordeste (19%) e Centro-Oeste (5%) (ANAV, 2015).

3.4.1 DEFINIÇÃO E PARÂMETROS DO VINAGRE

A FAO define vinagre como líquido permitido para consumo humano, produzido a partir de matérias-primas de origem agrícola que contenham amido e/ou açúcares, por meio de duas fermentações consecutivas: a fermentação alcoólica, pela ação das leveduras, que converte açúcares em álcool; e a fermentação acética, que transforma álcool em ácido acético através das bactérias acéticas (PARRONDO et al., 2003; SAHA; BANERJEE, 2013). De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA), o vinagre é uma solução azeda que não contém menos que 4% de ácido acético (20 °C) (SAHA; BANERJEE, 2013).

A Instrução Normativa nº 6 (2012) do MAPA estabelece para o vinagre de fruta, acidez volátil mínima de 4,0 g/100 mL (4%), expressa em ácido acético e graduação alcoólica máxima de 1% (v/v) a 20 °C. As características sensoriais e físico-químicas do fermentado acético deverão estar em consonância com a composição do produto. O fermentado acético de fruta não poderá conter microrganismo prejudicial à estabilização biológica e à qualidade do produto e deverá apresentar os parâmetros estabelecidos na Tabela 3 (BRASIL, 2012).

Tabela 3 - Parâmetros do fermentado acético de fruta.

Parâmetro	Valor	
	Mínimo	Máximo
Acidez volátil em ácido acético (g/100 mL)	4,00	-
Álcool (% v/v) a 20 °C	-	1,00
Cinzas (g/L)	1,00	5,00
Extrato seco reduzido (g/L)	6,00	-
Sulfatos (g/L de sulfato de potássio)	-	1,00
Aspecto	Ausência de elementos estranhos à sua natureza e composição	
Cheiro	Característico	
Sabor	Ácido	
Cor	De acordo com a matéria-prima de origem e composição	

Fonte: Brasil (2012).

Em linhas gerais, vinagres de frutas são considerados superiores em relação à qualidade nutricional e sensorial quando comparados a outros tipos de vinagres, por conterem inúmeras substâncias assimiláveis ao organismo, como vitaminas e ácidos orgânicos originários do fruto (BORTOLINI; SANT'ANNA; TORRES, 2001; HIDALGO et al., 2013; MARQUES et al., 2010; TESSARO et al., 2010).

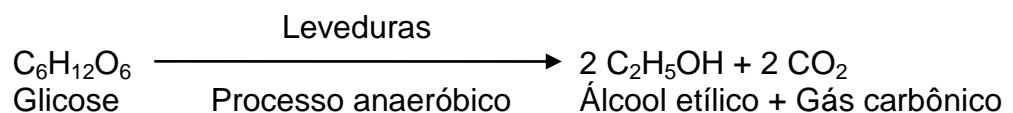
Além da matéria-prima, a qualidade final do vinagre pode ser influenciada pelo sistema de acetificação e pela presença ou não do processo de envelhecimento (MARQUES et al., 2010).

3.4.2 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

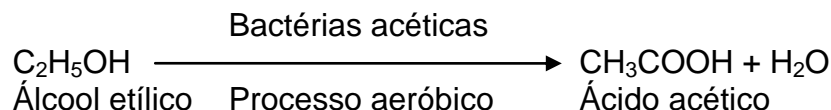
A produção de vinagre compreende essencialmente duas etapas: a conversão anaeróbica de açúcares em álcool pela ação das leveduras, geralmente a *S. cerevisiae*, e a oxidação aeróbica de etanol em ácido acético por bactérias acéticas (HIDALGO et al., 2013; SAHA; BANERJE, 2013). O Esquema 1 mostra a produção do vinagre.

Esquema 1 - Produção de vinagre.

FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA



FERMENTAÇÃO ACÉTICA



Conversão teórica

1 g de glicose 0,51 g álcool etílico 0,76 g ácido acético

Fonte: Adams e Moss (2008).

A transformação de álcool em ácido acético gera um produto estável, devido ao pH reduzido, e permite manter a maioria dos componentes da matéria-prima (HIDALGO et al., 2013).

De acordo com Parmar e Rupasinghe (2013), a taxa de ácido acético produzido depende da concentração de álcool inicial, da temperatura, da disponibilidade de oxigênio, da concentração de ácido acético e da quantidade de inóculo.

A acetificação tem sido tradicionalmente limitada ao uso de “mãe do vinagre” como inóculo. Neste caso, o produto obtido é resultado da competição entre os microrganismos, especificadamente bactérias acéticas, presentes em uma cultura mista indefinida, que não garantem o controle do processo e a qualidade do produto final. Recentemente, o uso de culturas puras na produção de vinagre tem sido testado, contudo, os resultados não são satisfatórios (HIDALGO et al., 2013).

Segundo Hidalgo et al. (2013), o tamanho, a forma e o material do acetificador também promovem efeitos importantes no desenvolvimento do processo.

Considerando a limitada disponibilidade de tecnologia para produção de fermentados acéticos, o potencial consumo do produto e a fabricação de vinagre proporcionar uma alternativa de utilização de matérias-primas excedentes, Spinosa et al. (2015) estudaram a produção de vinagre de arroz; Saha e Banerjee (2013) avaliaram a produção de vinagre de banana da variedade *Singhapuri*, utilizando bactérias do gênero *Acetobacter*. Ilha et al. (2009) encontraram rendimentos considerados econômicos na produção de vinagre de mel, através de processo rápido. Bortolini; Sant’anna; Torres (2001) analisaram a fermentação alcoólica e acética de sucos de kiwi em diferentes composições de mosto. Parmar e Rupasinghe (2013) avaliaram o uso de bagaço de maçã para produção de fermentado alcoólico e acético.

3.4.3 PROCESSOS DE FABRICAÇÃO

Existem três processos principais de produção de vinagre: processo lento ou Orleans, rápido ou Alemão e submerso (SAHA; BANERJEE, 2013; SPINOSA et al., 2015).

O processo Orleans é o mais antigo e tradicional método de elaboração do vinagre. O fermentado alcoólico é colocado para acetificar em barris de madeira adaptados. Dentre os aspectos negativos do processo, destaca-se a possibilidade de proliferação de bactérias e o baixo rendimento (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

O processo Alemão utiliza-se de gerador sob forma cilíndrica, apresentando três partes: a seção superior; a seção maior, preenchida por materiais porosos, tais como sabugo de milho, engaço de uva, entre outros, com o intuito de aumentar a superfície de contato das bactérias acéticas com o fermentado alcoólico; e a seção inferior. Os inconvenientes do processo implicam nas perdas de substâncias voláteis por evaporação e na necessidade de limpeza periódica do suporte (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

O processo submerso se baseia na presença de bactérias acéticas submersas no fermentado alcoólico a acetificar (RIZZON; MENEGUZZO, 2002). Tais bactérias demandam suprimento adequado e contínuo de oxigênio em todas as partes do acetificador. A interrupção no fornecimento de oxigênio, especialmente no final da fermentação, afeta o desempenho do mesmo. Nesse processo, as bactérias acéticas apresentam melhor habilidade de adaptação aos agentes inibidores do que no processo de acetificação rápida (SPINOSA et al., 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. Fermented and microbial foods. **Food microbial**, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2008.

ADÃO R. C.; GLÓRIA B. A. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of “Prata” banana (*Musa acuminata* x *M. balbisiana*). **Food Chem.**, v. 90, p. 705-711, May. 2005.

AGOPIAN, R. G. D. et al. Low temperature induced changes in activity and protein levels of the enzymes associated to conversion of starch to sucrose in banana fruit. **Postharvest Biol. and Tec.**, n. 62, p. 133-140, Nov. 2011.

AKUBOR, P. I. et al. Production and quality evaluation of banana wine. **Plant. Food. Hum. Nutr.**, v. 58, p. 1-6, Sep. 2003.

ALVARENGA, R. M. et al. Potential application of *Saccharomyces cerevisiae* strains for the fermentation of banana pulp. **AJB**, v. 10, n. 18, p. 3608-3615, Mai. 2011.

ALVARENGA L. M. et al. Avaliação da fermentação e dos compostos secundários em aguardente de banana e manga. **Braz. J. Food. Nutr.**, v. 24, n. 2, p. 195-201, Abr./Jun. 2013.

ALVES, E. J. **A cultura da banana. Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2 ed. rev. Brasília: Embrapa-CNPMPF, 1999. 585 p.

ANAV - **Associação Nacional das Indústrias de Vinagre**. Disponível em: <http://www.anav.com.br/clipping_interna.php?id=25>. Acesso em: 08 Abr. 2015.

ARRUDA, A. R. et al. Caracterização físico-química e avaliação sensorial de bebida fermentada alcoólica de banana. **Rev. Ciên. Agron.**, Fortaleza, v. 38, n. 4, p. 377-384, Out./Dez. 2007.

ARRUDA, A. R. et al. Processamento de bebida fermentada de banana. **Rev. Ciên. Agron.**, v. 34, n. 2, p. 161-167, 2003.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279 p.

BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 236-243, Mai./Ago. 2001.

BOUDHRIOUA, N. GIAMPAOLI, P; BONAZZI, C. Changes in aromatic components of banana during ripening and air-drying. **Lebensm.-Wiss. Technol.**, v. 36, p. 633-642, Sep. 2003.

BRASIL. Decreto nº 6871, de 04 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 de Junho de 2009. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 06, de 03 de Abril de 2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 de Abril de 2012, Seção 1, p. 17.

BYARUAGABA-BAZIRAKE, G. W.; RENSBURG, P. V.; KYAMUHANGIRE, W. Characterisation of banana wine fermented with recombinant wine yeast strains. **Am. J. Food Nutr.**, v. 3, n. 3, p. 105-116, 2013.

CARVALHO, G. B. M. et al. Banana as adjunct in beer production: applicability and performance of fermentative parameters. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 155, p. 356-365, May. 2009a.

CARVALHO, G. B. M. et al. Total soluble solids from bananas: evaluation and optimization of extraction parameters. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 153, p. 34-43, May. 2009b.

CERQUEIRA DE JESUS, S. et al. Caracterização físico química de frutos de diferentes genótipos de bananeira. **Bragantia**, v. 63, n. 3, p. 315-323, Dez. 2004.

CHEIRSILP, B.; UMSAKUL, K. Processing of banana-based wine product using pectinase and α -amylase. **J. Food Process. Eng.**, v. 31, n. 1, p. 78-90, Feb. 2008.

CORDEIRO, Z. J. M. **Banana: produção**. Brasília: Embrapa/MA, 2000. 143 p.

FAO - **Food and Agricultural Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 01 Abr. 2015.

HIDALGO, C. et al. Effect of inoculation on strawberry fermentation and acetification processes using native of yeast and acetic acid bacteria. **Food Microbiol.**, v. 34, p. 88-94, May. 2013.

HISS, H. Cinética de processos fermentativos. In: LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 2, p. 93-122.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes. 2012. **Prod. Agric. Munic.**, v. 39, p. 1-101, 2012.

IDISE, O. E.; ODUM, E. I. Studies of wine produced from banana (*Musa Sapientum*). **Int. J. Biotechnol. Mol. Biol. Res.**, v. 2, n. 12, p. 209-214, Dec. 2011.

ILHA, E. C. et al. **Tecnologia de produção de vinagre de mel**, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 86. 1. ed. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2009. 20 p.

ISITUA, C. C.; IBEH, I. N. Novel method of wine production from banana (*Musa acuminata*) and pineapple (*Ananas comosus*) wastes. **Afr. J. of Biotechnol.**, v. 9, n. 44, p. 7521-7524, Nov. 2010.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochem.**, v. 40, p. 2931-2944, Sep. 2005.

KASHYAP, D. R. et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technol.**, v. 77, p.215-227, May. 2001.

LI, W. et al. The effects of harvest maturity on storage quality and sucrose-metabolizing enzymes during banana ripening. **Food Bioprocess Tech.**, n. 4, p. 1273-1280, Oct. 2011.

LIEW, C. Y.; LAU, C. Y. Determination of quality parameters in Cavendish banana during ripening by NIR spectroscopy. **Int. Food Res. J.**, v. 19, n. 2, p. 751-758, 2012.

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Appl. Microbiol. Biot.**, v. 69, p. 627-642, Feb. 2006.

MARQUES, F. et al. Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, p. 119-126, Mai. 2010.

MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; RIBEIRO, D. E. Qualidade sensorial de frutos de híbridos de bananeira cultivar Pacovan. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 24, n. 1, p. 263-266, Abr. 2002.

MATSUURA F. C. A. U.; COSTA, J. I. P.; FOLEGATI, M. I. S. *Marketing* de banana: preferências do consumidor quanto aos atributos de qualidade dos frutos. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 48-52, Abr. 2004.

MINH, N. P. Investigation of factors affecting to banana wine (*Musa chiloicarpa* & *Musa basjoo sieb*) fermentation. **Int. J. of Multidiscip. Res. and Dev.**, v. 1, n. 3, p. 118-124, 2014.

MOHAPATRA D. et al. Post-harvest processing of banana: opportunities and challenges. **Food Bioprocess Tech.**, v. 4, p. 327-339, Apr. 2011.

PARMAR, I., RUPASINGHE, H. P. V. Bio-conversion of apple pomace into ethanol and acetic acid: Enzymatic hydrolysis and fermentation. **Bioresource Technol.**, v. 130, p. 613-620, Feb. 2013.

PARRONDO, J. et al. A note - Production of vinegar from whey. **J. Inst. Brew.**, v. 109, n. 4, p. 356-358, 2003.

RINALDI, M. M.; CARMO, N. R.; SALES, R. N. Conservação Pós-colheita de Banana Nanicão e Prata. **Embrapa Cerrados**, Planaltina, 2010.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Elaboração do vinagre**, Documentos 36. 1. Ed. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. 31 p.

SAHA, P.; BANERJEE, S. Optimization of process parameters for vinegar production using banana fermentation. **IJRET**, v. 02, n. 09, p. 501-514, Sep. 2013.

SILVA, M. B. L. et al. Qualidade físico-química e sensorial de aguardentes de banana e banana integral submetidas a hidrólise enzimática. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.20, n.2, p. 217-221, Abr./Jun. 2009.

SIQUEIRA, P. F. et al. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technol.**, v. 99, p. 8156- 8163, Nov. 2008.

SOTO, M. Situación y avances tecnológicos em la producción bananera mundial. **Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal**, v. especial, p. 013-018, Out., 2011.

SPINOSA, W. P. et al. Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. **Food Sci. Technol.**, Campinas, v. 35, n. 1, p. 196-201, Jan./Mar. 2015.

SWAMI, S. B.; THAKOR, N. J.; DIVATE, A. D. Fruit wine production: a review. **Journal of food research and technology**, v. 2, n. 3, p. 93-100, Jul./Sep. 2014.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4 ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP, 2011.

TESSARO, D. et al. Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. **Acta Sci-Technol.**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 201-205, 2010.

UENOJO M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, Mar./Apr. 2007.

VIEIRA, C. R. **Dossiê técnico: produção de fermentados a partir de frutas**. Fundação Centro Tecnológico CETEC de Minas Gerais. Jan. 2012.

ZHANG P. et al. Banana starch: production, physicochemical properties and digestibility – a review. **Carbohydr. polym.**, v. 59, p. 443-458, Mar. 2005.

Cinética da bioconversão da polpa de banana Prata – Fermentação alcoólica, acética e caracterização dos compostos voláteis e minerais dos produtos (Vinho e Vinagre)

Cyntia Akemi Tanaka¹, Flávia Imanishi Ruzon¹, Lucas Caldeirão Rodrigues Miranda¹, Diego Galvan¹, Wilma Aparecida Spinosa¹, Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez².

¹Universidade Estadual de Londrina (UEL), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Rodovia Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380, Londrina, Paraná, Brasil.

²Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Rua Marselha, 183 - Parque Residencial João Piza, Londrina, Paraná, Brasil.

*Correspondência para Wilma Aparecida Spinosa, e-mail: wilma.spinosa@uel.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a fermentação alcoólica (processo com agitação (A) e estático (E)), seguida da fermentação acética submersa, da polpa de banana Prata hidrolisada. Os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica para os metabólitos etanol e glicerol foram no processo (A): P_{p-et} 1,15 g/L.h; P_{p-gl} 0,374 g/L.h; Y_{2-et} 60,21%; Y_{2-gl} 3,10%; $Y_{p/s-et}$ 30,77% e $Y_{p/s-gl}$ 9,38% com 29 e 27 h; e no processo (E): P_{p-et} 0,89 g/L.h; P_{p-gl} 0,191 g/L.h; Y_{2-et} 72,05%; Y_{2-gl} 1,82%; $Y_{p/s-et}$ 36,82% e $Y_{p/s-gl}$ 7,55% com 47 e 45 h, respectivamente. Os parâmetros cinéticos da fermentação acética foram: tempo médio de 39,9 h; η_{AA} 53,1% e P_{AA} 0,216 g/L.h. Os produtos foram caracterizados quanto ao perfil físico-químico, conteúdo mineral e compostos voláteis. O vinho do processo (A) apresentou 5,73% de teor alcoólico e do processo (E) 6,81% (v/v). O vinagre apresentou 4,92% (m/v) de ácido acético. Nos vinhos (A) e (E) e no vinagre foram encontrados 10, 9 e 7 compostos voláteis, respectivamente.

Palavras-chave: Etanol, Ácido acético, Processo com agitação, Processo estático, Processo submerso.

Nomenclatura

(A) – processo com agitação	S_f – concentração final de açúcar (g/L)
(E) – processo estático	P_p – produtividade em etanol ou glicerol (g/L.h)
ATT – acidez total titulável (g/100 mL)	P_x – produtividade em biomassa (g/L.h)
AV – acidez volátil (g/100 mL)	r_p – taxa de produção de etanol ou glicerol, dP/dt (g/L.h)
AF – acidez fixa (g/100 mL)	r_s – taxa de consumo de açúcar, dS/dt (g/L.h)
TA – teor alcoólico (g/L)	r_x – taxa de produção de biomassa, dX/dt (g/L.h)
AT – açúcares totais (g/L)	μ_p – velocidade específica de produção de etanol ou glicerol, $r_p \cdot 1/X$ (h^{-1})
SST – sólidos solúveis totais ($^{\circ}Bx$)	μ_s – velocidade específica de consumo de açúcar, $r_s \cdot 1/X$ (h^{-1})
EST – extrato seco total (g/L)	μ_x – velocidade específica de produção de biomassa, $r_x \cdot 1/X$ (h^{-1})
ESR – extrato seco reduzido (g/L)	$Y_{p/s}$ – fator de conversão de açúcar/etanol em etanol/glicerol, r_p/r_s (g/g)
P – concentração de etanol ou glicerol (g/L)	$Y_{x/s}$ – fator de conversão de açúcar em biomassa, r_x/r_s (g/g)
S – concentração de açúcar (g/L)	$Y_{p/x}$ – fator de conversão de biomassa em etanol/glicerol, r_p/r_x (g/g)
X – concentração de biomassa (g/L)	Y_1 – rendimento em etanol/glicerol sobre o açúcar/etanol inicial (%)
N – número de células (log ou ln N/mL)	Y_2 – rendimento em etanol/glicerol sobre o açúcar consumido/etanol produzido (%)
P_0 – concentração inicial de etanol ou glicerol (g/L)	CT – concentração total (%)
X_0 – concentração inicial de biomassa (g/L)	GK – <i>Gesammte Konzentration</i> (m/v)
S_0 – concentração inicial de açúcar (g/L)	R_{GK} – rendimento GK (%)
P_f – concentração final de etanol ou glicerol (g/L)	η_{AA} – rendimento em ácido acético (%)
X_f – concentração final de biomassa (g/L)	P_{AA} – produtividade em ácido acético (g/L.h)

1. Introdução

Banana (*Musa* spp.), originária da Ásia, é um termo geral abrangente a um número de espécies ou híbridos do gênero *Musa* da família Musacea. É uma das frutas mais cultivadas e consumidas do mundo, sendo explorada principalmente nos países tropicais (Carvalho et al., 2009).

Parte considerável (40-50%) da produção mundial de banana é descartada, devido ao manuseio excessivo e armazenamento inadequado, durante e após a colheita. Estes resíduos podem ser usados com propósitos industriais, reduzindo as perdas pós-colheita, diversificando a produção e agregando valor ao produto (Alvarenga et al., 2011).

A fermentação é uma técnica viável no desenvolvimento de novos produtos. A fermentação alcoólica envolve uma reação anaeróbica, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a levedura mais comumente utilizada, que converte açúcares fermentescíveis em álcool, dióxido de carbono, biomassa e produtos secundários, tais como ácidos orgânicos, álcoois superiores, aldeídos, ésteres, glicerol, metanol, responsáveis pelos atributos sensoriais essenciais, tais como aroma e sabor (Spinosa et al., 2016). Contudo, compostos secundários em excesso podem ser tóxicos. A eficiência da fermentação e a qualidade do produto final estão intimamente ligadas ao desempenho da levedura no mosto (Alvarenga et al., 2011).

O vinagre é utilizado por diversas culturas e consumido por todas as classes sociais, como condimento, saborizante, preservativo, agente de limpeza, entre outros (Spinosa et al., 2015). Sua produção consiste em duas etapas consecutivas: a fermentação alcoólica, pela ação de leveduras, seguida da fermentação acética, onde ocorre a oxidação de álcool a ácido acético através das bactérias acéticas, em meio aeróbico, com a formação de outros compostos secundários (Parrondo et al., 2003).

Vinagres de frutas são considerados superiores em relação à qualidade nutricional e sensorial quando comparados a outros tipos de vinagres, por conterem inúmeras substâncias assimiláveis ao organismo, como vitaminas e ácidos orgânicos (Tessaro et al., 2010).

De acordo com Siqueira et al. (2008), intensas pesquisas cinéticas tem sido realizadas para obter organismos fermentativos mais eficientes, substratos de baixo custo e melhores condições de fermentação. Através do conhecimento da cinética

do processo, torna-se viável a transposição de um experimento de laboratório para escala industrial.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi obter vinho e na sequência vinagre, a partir de polpa de banana prata hidrolisada; determinar os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica (processo com agitação (A) e estático (E)) e da fermentação acética submersa; e caracterizar os produtos obtidos quanto ao perfil físico-químico, conteúdo mineral e compostos voláteis.

2. Material e métodos

2.1. Processamento e obtenção da polpa de banana Prata

Bananas (*Musa spp.*) da variedade Prata, excedentes de oferta, no estágio 8 de maturação, segundo a escala de Wills (1998) foram adquiridas no comércio local de Cornélio Procópio, Paraná - Brasil. Os frutos, previamente selecionados pela sanidade e ausência de injúrias, foram submetidos à higienização por imersão em solução de cloro ativo (100 mg/L) por 15 min. Os frutos foram enxaguados e descascados manualmente. O rendimento em polpa dos frutos foi realizado por gravimetria em balança semi-analítica (AS5000C, Marconi[®], Brasil), expresso em porcentagem (% m/m). A polpa foi triturada em liquidificador doméstico (Walita[®], Brasil) durante 5 min e acondicionada em recipientes de plástico, mantidos à temperatura de -20 °C.

2.2. Caracterização físico-química da polpa

As análises de acidez total titulável (ATT), cinzas, lipídeos, pH (PG2000, Gehaka[®], Brasil), umidade, proteínas, sólidos solúveis totais (SST) (Refratômetro - RM40, Mettler Toledo[®], EUA) foram realizadas de acordo com AOAC (2012). Os açúcares totais (AT) foram quantificados em espectrofotômetro (Genesis 6, Thermo Electron Corporation[®], EUA) a 490 nm, conforme descrito por DuBois et al. (1956). O conteúdo de carboidratos foi obtido por diferença, em porcentagem, do teor de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas para o total, em base seca. Os minerais foram determinados em espectrofotômetro de plasma induzido por argônio (ICP/OES, Optima 8300 – Perkin Elmer[®], EUA), de acordo com APHA (1998).

2.3. Hidrólise enzimática da polpa

O teor de SST da polpa foi ajustado com água destilada para 15 °Bx. Em seguida, submeteu-se à hidrólise, utilizando-se 0,025 g da enzima pectinase (Pectinex[®] Ultra SP-L) para cada 100 g de polpa de banana, à temperatura ambiente por 2 h (Alvarenga et al. 2011). A poligalacturonase Pectinex[®] Ultra SP-L (Lote KRN05639, NOVOZYMES[®], Dinamarca) apresentava atividade enzimática igual a 3800 PGNU/mL. Após a hidrólise, a enzima foi inativada por aquecimento a 121°C por 15 min e procedeu-se o resfriamento em banho de gelo.

2.4. Preparo do inóculo

Células de levedura liofilizada *S. cerevisiae* ATCC 2345, fornecidas pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello” (Campinas, São Paulo - Brasil), foram reidratadas em água destilada estéril. Em seguida, foram transferidas para o meio YMB (*Yeast Mannitol Broth*) e incubado em agitador orbital (CT-712 R, Cientec[®], Brasil) a 120 rpm, 30°C por 24 h. Paralelamente, o hidrolisado de banana (15 °Bx) foi diluído à 4, 6, 8, 10, 12 e 14 °Bx, adicionados de nutrientes (Spinosa et al., 2016). Após 24 h, 10% (v/v) do YMB contendo a *S. cerevisiae* foi transferido ao hidrolisado de banana de 4 °Bx e o material foi incubado em agitador orbital a 120 rpm, 30 °C por 24 h. Posteriormente, 10% (v/v) do hidrolisado de 4 °Bx foi transferido ao hidrolisado de banana de 6 °Bx e incubado em agitador orbital nas mesmas condições citadas. Repetiu-se a sequência anterior nas demais polpas hidrolisadas (8, 10, 12 e 14 °Bx) até se obter quantidade suficiente de inóculo (25% v/v do total), contendo 8 log de células viáveis/mL, para transferir à polpa de banana hidrolisada de 15°Bx. A contagem das células viáveis/mL foi realizada em câmara de *Neubauer* (Spinosa et al., 2016). A biomassa foi determinada segundo Alvarenga et al. (2011).

2.5. Fermentação alcoólica com agitação (A) e estática (E)

As fermentações alcoólicas com agitação a 600 rpm (A) e estática (E) foram conduzidos em biorreator (Rubia Basic, Biofoco[®], Brasil), com capacidade total e útil de 6 L e 4 L, respectivamente, dotado de agitação, aeração, controle de temperatura e pH. Em ambos os casos, o biorreator foi alimentado com mosto hidrolisado de 15 °Bx e inóculo de *S. cerevisiae* (25% v/v), obtido conforme descrito no item 2.4. As fermentações foram conduzidas a 30 °C e acompanhadas por 71 h, período em que cessou a formação de bolhas de CO₂. Ao longo da fermentação, foram retiradas amostras em intervalos de 2 h, totalizando 37 pontos amostrais. O número de células foi determinado logo após a retirada das amostras (Spinosa et al., 2016). Em seguida, foram centrifugadas (5804R, Eppendorf[®] AG, Alemanha) a 10.000 rpm por 10 min. Os sobrenadantes foram mantidos a -20 °C para posterior determinação dos parâmetros cinéticos.

2.6. Monitoramento dos processos de fermentação alcoólica

Os processos foram monitorados através dos parâmetros de ATT, SST, pH, AT, contagem de células viáveis/mL e biomassa, realizados conforme descrito nos itens anteriores. O teor alcoólico (TA) foi determinado em densímetro digital eletrônico (DDM 2911, Rudolph Research Analytical[®], EUA) e o resultado em massa por volume foi calculado utilizando tabelas de conversão predefinidas a 20 °C (CTC, 2011). O teor de glicerol foi determinado por método enzimático de triglicerídeos (Lote 40930041, Bioliquid[®], Laborclin[®], Brasil) medidos em espectrofotômetro a 510 nm (Genesis 6, Thermo Electron Corporation[®], EUA) (McGowan et al., 1983).

2.7. Parâmetros cinéticos dos processos de fermentação alcoólica

Os parâmetros determinados para os metabólitos etanol e glicerol foram: produtividade em etanol e glicerol $\{P_p = P_f - P_0/t\}$ e produtividade em biomassa $\{P_x = X_f - X_0/t\}$, expressos em g/L.h; rendimento em etanol sobre o açúcar inicial $\{Y_1 = (P_f - P_0/S_0 * 0.511) * 100\}$ e sobre o açúcar consumido $\{Y_2 = (P_f - P_0/(S_0 - S_f)) * 0.511 * 100\}$, rendimento em glicerol sobre o etanol inicial $\{Y_1 = ((P_f - P_0)_{\text{glicerol}} / P_{0\text{ etanol}} * 0.088) * 100\}$ e sobre o etanol produzido $\{Y_2 = (P_f - P_0)_{\text{glicerol}} / (P_0 - P_f)_{\text{etanol}} * 0.088 * 100\}$, expressos em %; fator de conversão de açúcar em biomassa $\{Y_{x/s} = (X_f - X_0/S_0 - S_f) * 100\}$, fator de conversão de açúcar/etanol em etanol/glicerol $\{Y_{p/s} = (P_f - P_0/S_0 - S_f) * 100\}$ e fator de conversão de etanol/glicerol em biomassa $\{Y_{x/p} = (X_f - X_0/P_f - P_0) * 100\}$, expressos em %; taxa de produção de biomassa $\{r_x = \frac{dX}{dt}\}$, taxa de consumo de açúcar $\{r_s = \frac{dS}{dt}\}$ e taxa de produção de etanol/glicerol $\{r_p = \frac{dP}{dt}\}$, expressos em g/L.h; velocidade específica de produção de biomassa $\{\mu_x = \frac{1}{X} * \frac{dX}{dt}\}$, velocidade específica de consumo de açúcar $\{\mu_s = \frac{1}{X} * \left(-\frac{dS}{dt}\right)\}$ e velocidade específica de produção de etanol/glicerol $\{\mu_p = \frac{1}{X} * \frac{dP}{dt}\}$, expressos em h^{-1} . Onde: P, X e S representam etanol ou glicerol, biomassa e açúcar e os itens subscritos $_0$ e $_f$ representam a concentração inicial e final, respectivamente. O valor de 0,511 foi considerado o rendimento estequiométrico na conversão de açúcares em etanol e 0,088 foi considerado o rendimento estequiométrico na relação etanol e glicerol (Spinosa et al., 2016). Os dados experimentais foram ajustados e comparados com os previstos pelo modelo matemático (equação polinomial de terceira ordem) utilizando o software Matlab[®] R2010a.

2.8. Inóculo do vinagre

Acetobacter sp, obtidas junto à empresa Tecnologia em Saúde Indústria de Alimentos, localizada (Assis, São Paulo - Brasil) foram utilizadas na fermentação acética submersa. Tais bactérias são selecionadas espontaneamente, em função da acidez do meio em que são mantidas (Spinosa et al., 2015).

2.9. Fermentação acética

O vinho (TA de 72 g/L a 20 °C e pH de 4,0) obtido no processo estático (E) foi utilizado na fermentação acética submersa. A acetificação foi realizada em biorreator (Rubia Basic, Biofoco[®], Brasil) conduzido a 30 °C, com agitação de 500 rpm e vazão de aeração de 1 L/min e 0,25 vvm (volume de ar por volume de meio, por minuto).

2.10. Monitoramento da fermentação acética submersa

O processo foi monitorado através dos parâmetros de ATT, pH, TA (descritos nos itens anteriores) e contagem do número de células viáveis e não viáveis de bactérias acéticas/mL em câmara de *Neubauer* com o uso de corante azul de trypan 0,2%, por 16 dias. As análises de ATT e TA foram utilizadas como parâmetros para a carga e descarga dos 7 ciclos fermentativos, realizados segundo Spinosa et al. (2015). A concentração total (CT) foi calculada pela soma da TA e ATT sendo que a CT (concentração total) inicial era de 8,0% (m/v).

2.11. Parâmetros cinéticos da fermentação acética

O rendimento R_{GK} $\{R_{GK} = (GK_{final} / GK_{inicial}) * 100\}$, conversão de álcool a ácido acético, expresso em %, foi calculado por meio da CT. O rendimento percentual em ácido acético $\{\eta_{aa} = [AA (g/L) * 0.77 / P_0 (g/L)] * 100\}$ foi obtido por meio da razão da massa do ácido acético produzido (AA) (g/L) e o TA inicial (P_0) (g/L). O valor de 0,77 foi considerado como o rendimento estequiométrico na conversão de etanol em ácido acético. A produtividade do ácido acético $\{P_{aa} = V_{aa} (L) * AA \left(\frac{g}{L}\right) / V_{total} (L) * t (h)\}$, expressa em g/L.h, foi calculado considerando V_{aa} como o volume (L) de ácido acético produzido; AA como a massa de ácido acético no volume produzido (g/L); t como o tempo de fermentação do ciclo (h); e V_{total} como volume do acetador, no caso 6 L (Spinosa et al., 2015).

2.12. Tratamento final dos vinhos e vinagre

Ao final da fermentação alcoólica ou acética, os vinhos e o vinagre bruto foram centrifugados para a retirada de material em suspensão e envasados em frascos de vidro.

2.13. Caracterização dos vinhos e do vinagre

As análises de ATT, acidez volátil (AV) e acidez fixa (AF), cinzas, TA a 20 °C, pH, SST, extrato seco total (EST) e extrato seco reduzido (ESR) foram realizados de acordo com AOAC (2012), AT baseado em DuBois et al. (1956); glicerol segundo McGowan et al. (1983) e os compostos minerais por APHA (1998). A determinação dos compostos voláteis foi realizada em cromatógrafo gasoso (QP - 2010 Plus Shimadzu[®], Japão), equipado com a coluna Stabilwax - DA[®] (Crossbond Carbowax Polietileno Glicol, 30 m × 0.18 mm × 0.18 µm espessura do filme - Restek[®], EUA) e um detector por ionização de chama (CG/FID), seguindo condições descritas por Bortoletto e Alcarde (2013). O ácido acético foi determinado por volumetria de neutralização, após destilação da amostra por arraste a vapor (MAPA, 2005).

3. Resultados e discussão

3.1. Caracterização da polpa de banana

A razão polpa/casca para banana Prata foi de 2,48 e o rendimento em polpa foi de 71,28%. A caracterização físico-química da polpa está apresentada na Tabela S1. Carboidratos são os principais constituintes da polpa da banana. Apresenta também pequenas quantidades de cinzas, lipídeos, proteínas e baixa acidez que favorecem o processo fermentativo. Os minerais determinados na polpa de banana Prata encontram-se na Tabela S2 e foram similares aos determinados por Wall (2006) em banana (*Musa* sp.) proveniente do Hawaii. Os minerais afetam o desempenho da fermentação alcoólica, uma discussão mais aprofundada da importância de cada mineral no processo de fermentação pode ser vista em Spinosa et al. (2016).

3.2. Monitoramento da fermentação alcoólica com agitação (A) e estática (E)

Durante os diferentes sistemas de fermentação alcoólica, o comportamento da levedura foi avaliado, dando ênfase aos valores máximos dos parâmetros de produção de etanol e glicerol (Figura 1). Os experimentos foram delineados com número de células e concentração de açúcares suficientes para que a *S. cerevisiae* utilizasse a rota fermentativa.

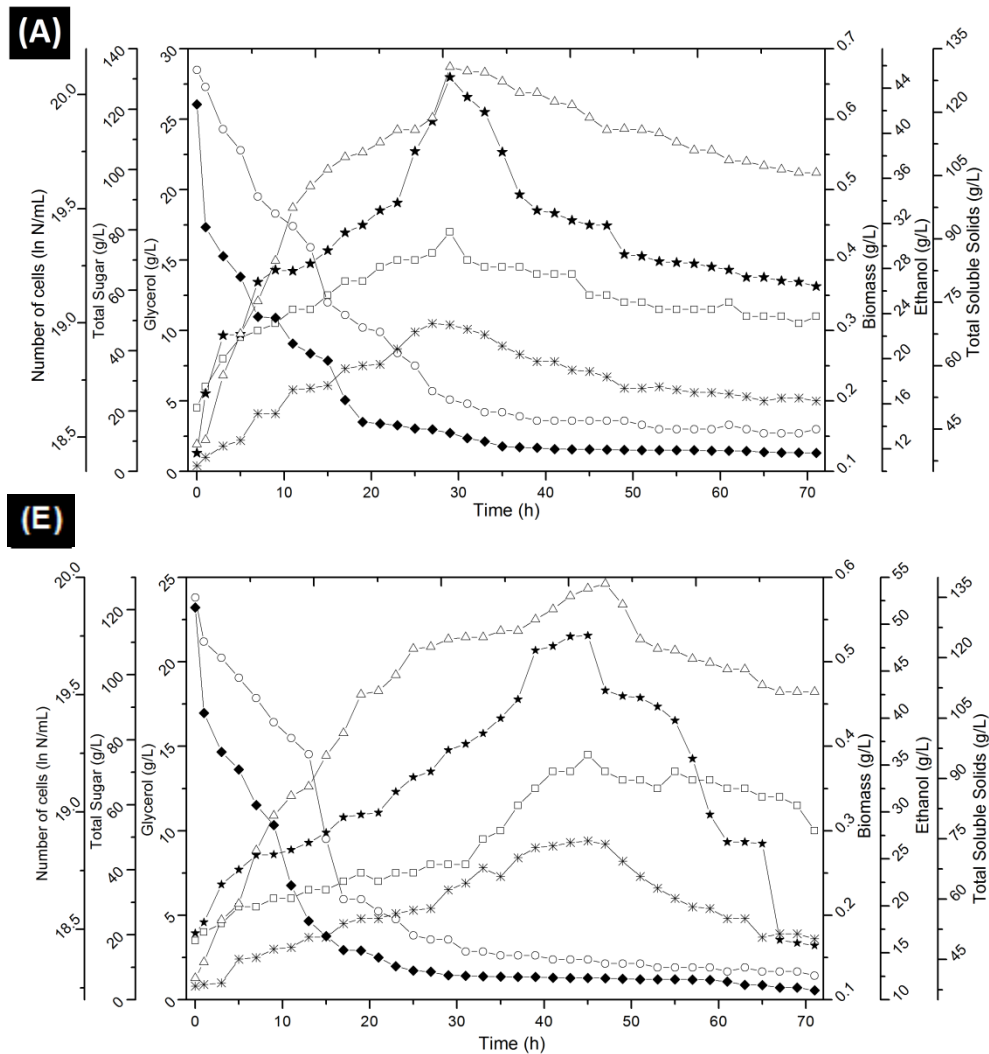


Figura 1. Processo fermentativo (A) e (E): (★) número de células; (□) produção de biomassa; (◆) consumo de AT; (△) produção de etanol; (*) produção de glicerol e (○) variação de SST versus tempo.

Em ambos os casos, o número inicial de células foi de, aproximadamente, $18,5 \times 10^8$ N/mL e a biomassa de 0,19 (A) e 0,17 g/L (E) (Figura 1). A concentração de substrato inicial, em termos de AT, nos processos (A) e (E) foram de 121 g/L. No intervalo de 0 a 29 h, AT reduziram, aproximadamente, 90% (12,7 g/L) no processo (A), enquanto a biomassa duplicou. No intervalo de 0 a 45 h da fermentação (E), houve redução de praticamente 95% de AT (6,7 g/L) e a duplicação da biomassa. Após estes intervalos, as biomassas reduziram cerca de 25% (0,3 g/L depois de 71 h de fermentação) em relação a máxima alcançada em ambos os processos (A) e (E), provavelmente devido à combinação de baixa concentração de substrato e alta concentração de álcool. Entre os fatores que afetam a habilidade de fermentação da levedura, a composição do meio é uma das mais importantes (Carvalho et al., 2009). A máxima conversão de açúcar em etanol foi obtida no tempo de 29 h com produção de 45,9 g/L de etanol e de 47 h com 54,3 g/L de etanol para os processos (A) e (E), respectivamente (Figura 1). A concentração do etanol decresceu em ambos os casos após 71 h, atingindo 36,5 g/L para o processo (A) e 42,8 g/L para o (E). Em cultivos descontínuos, como nos processos (A) e (E), elevadas concentrações de açúcares podem resultar numa repressão, conhecida como *Efeito Crabtree*, na qual as enzimas da respiração microbiana são inibidas e a produção de etanol aumenta. A *S. cerevisiae* é um microrganismo anaeróbio facultativo e a fermentação é sua rota metabólica preferencial, mesmo na presença de oxigênio. Por outro lado, a *S. cerevisiae* é capaz de oxidar o etanol produzido a dióxido de carbono e água, fato que explica o declínio deste composto durante o experimento (Win et al., 1996). A quantidade de etanol produzida nas fermentações (A) e (E) foi menor que a teórica de 62,13 g/L e 61,67 g/L, respectivamente. Alguns dados explicam porque o etanol produzido é sempre menor do que o etanol teórico, cerca de 5% de AT são convertidos em produtos secundários; 2,5% são consumidos pelas leveduras como fonte de carbono e 0,5% é açúcar residual não fermentescível. Cerca de 4% dos açúcares metabolizados pelas leveduras são convertidos em glicerol, álcool simples produzido pela *S. cerevisiae* durante a fermentação de glicose a álcool, com o intuito de manter o balanço redox. Contudo, glicerol em excesso, pode reduzir o rendimento em etanol do vinho (Byaruagaba-Bazirake et al. 2013). A máxima produção de glicerol nos processos (A) e (E) ocorreu após 27 e 45 h (Figura 1), com 10,5 g/L e 9,4 g/L, respectivamente. Fatores tais como temperatura, aeração, concentração de açúcar e estresse osmótico afetam o rendimento de

glicerol (Alvarenga et al., 2011; Siqueira et al., 2008). De acordo com Wang et al. (2001), em processos com aeração reduzida, maior quantidade de açúcar é convertida em álcool e acetato de etila, assim a produção de glicerol diminui significativamente, conforme ocorrido no processo (E) (Tabela 3). Os produtos obtidos nos processos (A) e (E) apresentaram TA de 5,73 g/L e 6,81 g/L; acetato de etila de 18,1 mg/L e 23,2 mg/L; e glicerol de 10,4 g/L e 9,2 g/L, respectivamente.

Os dados de consumo de AT corroboram com os dados de variação de SST (°Bx) em função do tempo de fermentação (h). Durante o processo fermentativo (A), os SST reduziram cerca de 60% com 29 h, e no processo (E) reduziram, aproximadamente, 70% com 47 h. No início da fermentação (A), os valores de AT e SST eram de 121,6 g/L e 13 °Bx, e com 29 h, detectaram-se 12,7 g/L e 5,2 °Bx, respectivamente. Na fermentação (E), os valores iniciais de AT e SST foram de 120,7 g/L e 13,5 °Bx, e com 47 h, verificaram-se valores de 6,6 g/L e 4,4 °Bx, respectivamente. A partir de 29 e 47 h, em ambos os processos (A) e (E), o consumo dos AT e a queda dos valores de SST foram mais vagarosas. Arruda et al. (2003) e Akubor et al. (2003), em estudo fermentativo (30 °C por 10 dias) com bananas (*Musa Sapientum*), observaram decréscimo brusco no teor de SST de 16 °Bx para 6 °Bx e de 18 °Bx para 4,8 °Bx, respectivamente. A fermentação alcoólica incompleta, com presença de açúcares residuais, é um problema crônico na indústria de fermentados de frutas, pois resultam em processo fermentativo longo, com instabilidade microbiana e surgimento de sabores desagradáveis no produto final (Wang et al., 2001). A fermentação presa (*stuck*) ocorre quando as leveduras não utilizam completamente os açúcares disponíveis, reduzindo a taxa de fermentação ou cessando-a (Swami et al., 2014).

Durante o processo fermentativo (A), o pH inicial do mosto era de 4,2, decaiu para 3,9 após 17 h, mantendo-se até 39 h. Em seguida, o pH aumentou e permaneceu em 4,0 até o final do experimento (71 h). Na fermentação (E), o pH iniciou-se em 4,1, sofrendo decréscimo para 3,9 após 13 h, valor estável até 55 h. Após esse período, atingiu e permaneceu em 4,0. Akubor et al. (2003) observaram queda de pH de 4,45 para 3,30 durante 10 dias de fermentação. Idise e Odum (2011) acompanharam a produção de vinho de banana (*M. Sapientum*) e observaram que o pH iniciou em 4,3 (0 h), reduziu para 3,4 (72 h) e terminou com 3,3 (144 h). A redução do pH, aparentemente, devido a produção de ácidos, é interessante para

inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis (Akubor et al., 2003; Idise; Oddum, 2011).

3.3. Parâmetros cinéticos dos processos de fermentação alcoólica

Os resultados experimentais de consumo de AT e produção de etanol, glicerol e biomassa em função do tempo, estão apresentados nas Figuras 2 e 3.

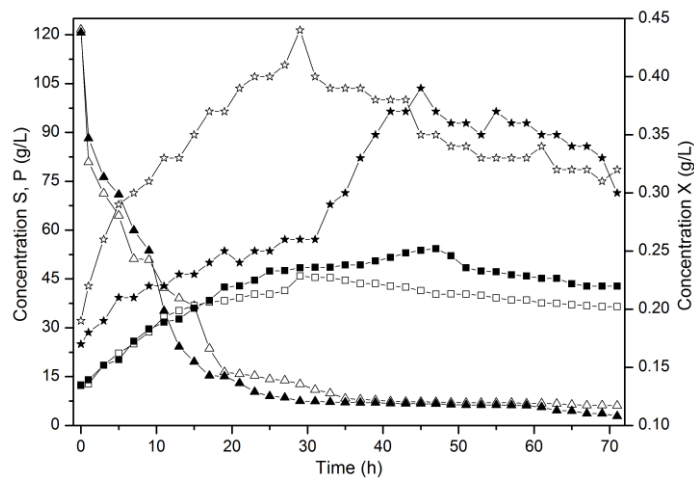


Figura 2. Monitoramento da fermentação alcoólica, processo (A) como formas abertas e (E) como formas sólidas: (Δ) consumo dos AT (S); (\square) produção de etanol (P); e (\star) produção de biomassa (X) a 30 °C por 71 h.

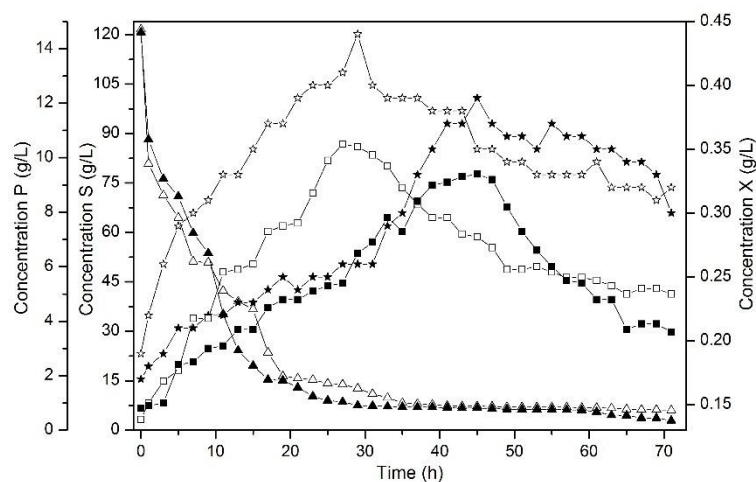


Figura 3. Monitoramento da fermentação alcoólica, processo (A) como formas abertas e (E) como formas sólidas: (Δ) consumo dos AT (S); (\square) produção de glicerol (P); e (\star) produção de biomassa (X) a 30 °C por 71 h.

O consumo dos AT (S), que foram convertidos a etanol ou glicerol (P), o número de células (N) e a biomassa (X) formada em função do tempo de fermentação (h), representados nas Figuras 2 e 3, foram obtidos através dos dados experimentais e utilizados para prever o modelo matemático gerado a partir de um ajuste polinomial de terceira ordem, conforme as equações (1–10), onde o RMSE é a raiz quadrada do erro médio.

	$\ln N(t) = 1,259 \times 10^{-5} t^3 - 0,001848 t^2 + 0,0757 t + 18,62$ ($R^2: 0,9533$; RMSE: 0,074) (1)
	$X(t) = 2,891 \times 10^{-6} t^3 - 0,0004084 t^2 + 0,0161 t + 0,2022$ ($R^2: 0,9601$; RMSE: 0,017) (2)
Agitado (A)	$S(t) = -0,000606 t^3 + 0,09326 t^2 - 4,719 t + 85,53$ ($R^2: 0,9870$; RMSE: 3,146) (3)
	$P_{\text{etanol}}(t) = 0,0003366 t^3 - 0,05129 t^2 + 2,296 t + 11,93$ ($R^2: 0,9858$; RMSE: 1,044) (4)
	$P_{\text{glicerol}}(t) = 0,0001123 t^3 - 0,01631 t^2 + 0,6632 t + 0,03539$ ($R^2: 0,9583$; RMSE: 0,526) (5)
	<hr/>
	$\ln N(t) = -1,824 \times 10^{-5} t^3 + 0,001096 t^2 + 0,008709 t + 18,59$ ($R^2: 0,9256$; RMSE: 0,111) (6)
	$X(t) = -2,314 \times 10^{-6} t^3 + 0,0001919 t^2 - 0,0003668 t + 0,1924$ ($R^2: 0,9425$; RMSE: 0,017) (7)
Estático (E)	$S(t) = -0,001013 t^3 + 0,1403 t^2 - 6,224 t + 94,28$ ($R^2: 0,9905$; RMSE: 2,857) (8)
	$P_{\text{etanol}}(t) = 0,0002176 t^3 - 0,04137 t^2 + 2,261 t + 11,84$ ($R^2: 0,9965$; RMSE: 0,681) (9)
	$P_{\text{glicerol}}(t) = -5,766 \times 10^{-5} t^3 + 0,001214 t^2 + 0,2256 t + 0,631$ ($R^2: 0,8986$; RMSE: 0,813) (10)

Os parâmetros cinéticos das fermentações alcoólicas (A) e (E) foram avaliados baseando-se nos dados experimentais e nos valores previstos pelo modelo matemático e estão apresentados nas Figuras S1 e S2. Os parâmetros obtidos estão apresentados na Tabela 1 e foram determinados após 27 e 29 h no processo (A) e 45 e 47 h no processo (E). Estes tempos representam a máxima quantidade de etanol e glicerol produzido em cada experimento, conforme as Figuras 2 e 3.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica para os processos (A) e (E).

Pro- ces- so	Tempo	X	S	P _{-et}	P _{-gl}	r _x	r _s	r _{p-et}	r _{p-gl}	μ _x	μ _s	μ _{p-et}	μ _{p-gl}	Y _{x/s}	Y _{x/p-et}	Y _{x/p-gl}	Y _{p/s-et}	Y _{p/s-gl}	P _x	P _{p-et}	P _{p-gl}	Y _{1-et}	Y _{1-gl}	Y _{2-et}	Y _{2-gl}	
		h	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L.h	g/L.h	g/L.h	g/L.h	h ⁻¹	h ⁻¹	h ⁻¹	h ⁻¹	%	%	%	%	%	g/L.h	g/L.h	g/L.h	%	%	%	%
(A)	0	0,19	121,6	12,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	29/27	0,44	12,7	45,9	10,5	0,007	7,296	1,378	0,357	0,013	8,986	4,403	0,868	0,229	0,746	2,178	30,768	9,376	0,009	1,155	0,374	53,91	2,23	60,21	3,10	
(E)	0	0,17	120,7	12,3	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	47/45	0,37	6,6	54,3	9,4	0,007	7,659	1,450	0,181	0,020	20,408	6,164	3,063	0,175	0,476	2,558	36,819	7,547	0,005	0,893	0,191	68,10	1,54	72,05	1,82	

*29 e 47 h produção máxima em etanol; 27 e 45 h produção máxima em glicerol; abreviação **et**: etanol; **gl**: glicerol.

Na Tabela 1, os valores de Y_{1-et} para o processo (A) e (E) foram de 53,91 e 68,10%, respectivamente, e valores de Y_{2-et} foram de 60,21% para o processo (A) e 72,05% para o processo (E). Os maiores valores absolutos de Y_1 e Y_2 foram obtidos no processo (E). Alvarenga et al. (2011) relataram valores de 69,16 a 94,06% para Y_1 e 72,9 a 96,41% para Y_2 . Analisando os rendimentos Y_{1-gl} e Y_{2-gl} em glicerol, o processo (A) apresentou valores superiores de rendimento quando comparado ao processo (E). Outro parâmetro a ser analisado é a produtividade, de acordo com a Tabela 1 todos os valores de produtividade (P_{p-et} , P_{p-gl} e P_x) obtidos no processo (A) foram superiores quando comparados ao processo (E).

Espera-se que o processo com maior valor para o fator de conversão em etanol ($Y_{p/s-et}$) tenha o menor valor de fator de conversão em glicerol ($Y_{p/s-gl}$), fato confirmado no processo (E) e inverso no processo (A). Este parâmetro confirma que o glicerol formado pode acarretar menor teor de etanol no vinho. Ao comparar os fatores de conversão de substrato em etanol e glicerol ($Y_{p/s-et}$ e $Y_{p/s-gl}$) tanto para o processo (A) como para o (E) ao fator de conversão de substrato para formação de biomassa ($Y_{x/s}$), tem-se a confirmação do relatado anteriormente, o microrganismo prefere a rota fermentativa independente da presença ou ausência de oxigênio.

3.4. Caracterização dos vinhos

A caracterização dos vinhos obtidos encontra-se na Tabela S1, os valores de AF foram de 0,28 e 0,32 g/100 mL; ATT de 0,39 e 0,44 g/100 mL e AV de 0,11 e 0,12 g de ácido acético/100mL para os processos (A) e (E), respectivamente. Alvarenga et al. (2011) encontraram valores de ATT entre 0,46 e 0,61 g de ácido acético/100 mL para vinhos de banana (*M. Sapientum*), valores superiores aos obtidos nas condições avaliadas. Altos teores de AV indicam atividade bacteriana, tais como bactérias lácticas ou acéticas, prejudicial à qualidade sensorial dos vinhos (Byaruagaba-Bazirake et al., 2013).

Os AT encontrados nos processos (A) e (E) foram de 12,68 e 7,29 g/L, respectivamente. As concentrações de açúcares residuais encontrados em vinhos a partir de banana foram de 6,13 a 1,20 g/L (Alvarenga et al., 2011); 4,21 g/L (Arruda et al., 2007); e 4,0 g/L (Akubor et al., 2003). Observa-se que em todos os estudos a fermentação ocorreu de forma presa (*stuck*). O TA a 20°C obtido no processo fermentativo (A) foi de 5,73% (v/v) e no processo fermentativo (E) foi de 6,81% (v/v).

Akubor et al. (2003), Arruda et al. (2007) e Alvarenga et al. (2011) encontraram, respectivamente, 5; 8,9; e 5,34 a 7,84% (v/v) de TA em vinhos de banana. A diferença dos teores obtidos pode ser explicada pela quantidade de açúcar presente no substrato e as distintas condições de operação das fermentações.

Os valores de pH dos produtos finais foram de 3,9 em ambos os processos fermentativos. Alvarenga et al. (2011) obtiveram pH entre 4,29 e 4,4; Akubor et al. (2003) de 3,3; e Arruda et al. (2007) de 4,60 em vinhos de banana. O teor de cinzas obtido foi de 11,25 g/L no processo (A) e de 8,63 g/L no processo (E). Akubor et al. (2003) encontraram 2,0 g/L e Arruda et al. (2007) 5,7 g/L. O teor de cinzas é um parâmetro utilizado para detectar fraudes em bebidas fermentadas alcoólicas. Em relação ao EST (extrato seco total), que representa a totalidade de substâncias restantes depois do processo de evaporação ou destilação, tais como hidratos de carbono, glicerina, ácidos não voláteis, combinações nitrogenadas, substâncias tânicas, álcoois superiores e minerais, foram encontrados 38,17 g/L para o processo (A) e 28,20 g/L para o processo (E). Arruda et al. (2007) obtiveram 22,09 g/L. A concentração de ESR (extrato seco reduzido) foi de 25,49 g/L para a fermentação (A) e 20,91 g/L para (E).

A Tabela S2 mostra os compostos voláteis presentes nos vinhos, em um total de 10 componentes, sendo ácidos (1), álcoois (6), éster (1), aldeído (1) e furano (1), sendo álcool *n*-butílico ausente no processo (E). Os compostos aromáticos dos vinhos podem ser influenciados pela matéria-prima, condições da fermentação, linhagem dos microrganismos, processo de produção, condições de envelhecimento e armazenamento (Versari et al., 2014).

Os produtos finais dos processos (A) e (E) apresentaram concentração de acetato de etila de 18,1 e 23,2 mg/L, respectivamente. A presença de ésteres em vinhos contribui positivamente nas características sensoriais da bebida, conferindo sabor suave e aroma frutado (Reddy et al., 2008). O ácido acético fornece aroma picante aos vinhos, no processo (A) foi encontrado 205,5 mg/L e no processo (E) 448,4 mg/L, sendo considerado o principal ácido volátil das bebidas fermentadas, reconhecido por seus efeitos negativos no perfil analítico da bebida. A concentração de acetaldeído encontrada no processo fermentativo (A) foi de 22,1 mg/L e no processo (E) de 89,9 mg/L. De acordo com Bortoletto & Alcarde (2013), os aldeídos são considerados compostos intermediários na formação de álcoois superiores e conferem sabor e aroma agradáveis aos vinhos. Os resultados de furfural foram de

2,6 mg/L no processo (A) e 3,5 mg/L no processo (E), este composto é produzido na reação de *Maillard* (Navarro, 1994). Segundo Taherzadeh et al. (1999), o furfural reduz a taxa de crescimento e a produção de etanol, sendo considerado inibidor da fermentação de glicose por *S. cerevisiae*.

Álcoois são aromatizantes, mas presentes em altas concentrações, especialmente o álcool *iso*-amílico e o metanol, são tóxicos e prejudiciais à saúde, comprometendo a qualidade do produto final (Spinosa et al., 2016). A concentração de metanol foi de 269,4 e 282,0 mg/L e do álcool *iso*-amílico foi de 175,6 e 213,0 mg/L para os processos (A) e (E), respectivamente. Alvarenga et al. (2011) obtiveram valores de 1,65 e 1,89 mg/L. De acordo com Spinosa et al. (2015), o metanol não deve exceder 350 mg/L em vinhos. A formação de metanol e álcoois superiores podem ser reduzidas pela adição de enzimas pectinolíticas ao mosto, aumentando o rendimento em etanol, além de melhorar a extração de componentes aromáticos e de cor, facilitando a clarificação e a filtração da bebida (Cheirsilp e Umsakul, 2008; Mohapatra et al., 2011).

Produtos formados com baixas concentrações de álcoois superiores são considerados de boa qualidade (Reddy et al., 2008). A concentração total dos álcoois superiores (álcool *iso*-amílico, *iso*-butílico, *n*-butílico e propílico) nos processos (A) e (E) foram de 295,8 e 352,9 mg/L, respectivamente. A concentração de glicerol encontrada nos vinhos foram de 10,4 (A) e 9,20 g/L (E), sendo o componente mais abundante entre os compostos secundários. O processo (A) apresentou menores teores de álcoois superiores, exceto para o glicerol e o álcool *n*-butílico, em comparação ao processo (E). Alvarenga et al. (2011) encontraram concentrações de álcoois superiores entre 300,4 e 2.261,9 mg/L e glicerol entre 5,75 e 7,89 g/L. O conteúdo de glicerol está relacionado à qualidade dos vinhos, este composto confere aos vinhos sabor suave e doce em quantidades entre 7 a 8 g/L (Spinosa et al., 2016).

Os compostos minerais presentes nos vinhos foram consistentes aos da polpa de banana (Tabela S2). As concentrações de cálcio, magnésio, potássio e fósforo apresentaram decréscimos após a fermentação alcoólica, em ambos os processos, isso pode estar atribuído a manutenção e multiplicação celular das leveduras. A concentração de enxofre, ferro, manganês, alumínio, silício e zinco nos vinhos aumentaram em relação à polpa, especialmente o enxofre. Os compostos sulfurados estão presentes nos vinhos em baixas concentrações e podem derivar do

metabolismo das leveduras, para a *S. cerevisiae* o H_2S é um metabolito intermediário da via da redução do sulfato, que representa uma parte da biossíntese de aminoácidos sulfurados. Outros fatores podem explicar a presença do enxofre nos vinhos como a degradação de pesticidas, a liberação e/ou metabolismo de precursores de enxofre presentes no fruto, ou até mesmo agentes de suplementação adicionados ao mosto (Thomas e Surdin-Kerjan, 1997). O boro, níquel, cobre, molibdênio e o sódio mantiveram-se praticamente constante tanto na polpa quanto nos vinhos. Em relação ao potássio (3.051,50 mg/L), a polpa apresentou maior concentração do mineral em comparação aos vinhos obtidos nos processos (A) (1.611,00 mg/L) e (E) (2.253,00 mg/L). As concentrações de potássio, cálcio (34,60 mg/L (A) e 37,23 mg/L (E)) e ferro (3,05 mg/L (A) e 3,03 mg/L (E)) obtidas neste estudo foram similares aos encontrados por Arruda et al. (2007) de 2.629,60 mg/L; 35,18 mg/L; e 1,40 mg/L, respectivamente, em vinho de banana.

3.5. Parâmetros cinéticos da fermentação acética

Os resultados relacionados ao acompanhamento dos ciclos da fermentação acética estão listados na Tabela 2. As médias foram calculadas negligenciando o primeiro ciclo, por ser considerado de adaptação (Spinosa et al., 2015).

Tabela 2. Monitoramento da fermentação acética.

Ciclo	Acetador				Produtos					Rendimentos			Células		
	t h	T °C	V ₁ L	CT ₁ %	V ₂ L	pH	A g/L	E g/L	CT ₂ %	η _{AA} %	P _{AA} g/L.h	R _{GK} %	N log/mL	CV %	CM %
1	-	30,3	3,9	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	144,5	-	-	-	1,0	2,7	68,0	3	7,1	72,7	0,078	88,8	8,6	98,9	1,1
2	-	30,1	4,0	6,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22,2	-	-	-	0,3	2,8	55,0	5	6,0	58,8	0,124	99,2	8,5	99,0	1,0
3	-	30,3	4,1	6,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21,3	-	-	-	1,0	2,8	56,0	5	6,1	59,9	0,438	98,9	8,5	99,3	0,7
4	-	30,2	4,2	6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48,3	-	-	-	1,0	2,9	59,0	3	6,2	63,1	0,204	95,9	8,3	97,5	2,5
5	-	30,3	4,3	5,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26,0	-	-	-	1,0	2,8	47,0	2	4,9	50,3	0,301	97,6	8,4	98,8	1,4
6	-	30,2	4,7	4,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50,8	-	-	-	1,0	2,9	40,0	5	4,5	42,8	0,131	98,4	8,3	97,8	2,2
7	-	30,2	4,6	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	71,1	-	-	-	1,0	2,9	41,0	7	4,8	43,8	0,096	90,8	8,1	95,3	4,7
Média*	39,9 ±20,1						49,7±8,1		5,4±0,8	53,1±8,7	0,216±0,13	96,8±3,2	8,3±0,2	97,9±1,5	2,1±1,5

t: tempo de fermentação; T: temperatura; V₁: volume de líquido no acetador; CT₁: concentração total no acetador; V₂: volume de vinagre produzido; A: acidez do vinagre; E: etanol no vinho; CT₂: concentração total no vinagre; CV: células vivas; CM: células mortas.*Média dos ciclos 2 até o 7.

Na Tabela 2 e na Figura 4, o tempo médio de acetificação do vinho de banana, considerando do 2º ao 7º ciclo, foi de 39,9 h. O menor tempo foi de 21,3 h (3º ciclo) e o maior de 71,1 h (7º ciclo). Em estudo anterior de Spinosa et al. (2015), para o processo de fermentação submerso em batelada alimentada, a 30°C, em biorreator Frings®, acompanhando 10 ciclos, o tempo médio da oxidação acética foi de 28,8 h, para vinho de arroz, variando de 21,0 a 40,5 h. O máximo teor de ácido acético no vinagre de banana (59 g/L) foi atingido após 48,3 h. Em estudo com vinagre de caju e kiwi, Silva et al. (2007) e Bortolini et al. (2001) verificaram máxima concentração de ácido acético em 50 h e 12 h, respectivamente, por processo submerso. A concentração de ácido acético no vinagre de banana variou de 59 a 40 g/L, com média de 49,7 g/L. Este valor indica a baixa taxa de conversão de álcool em ácido, visto que o vinho apresentava TA de 72 g/L. Spinosa et al. (2015) obtiveram uma concentração média de 71,1 g/L de ácido acético. O pH do vinho era de 4,0 (Tabela S1), após a fermentação acética diminuiu para 2,85 e permaneceu entre 2,8 a 2,9. Spinosa et al. (2015) e Bortolini et al. (2001) reportaram valores de pH de 2,66 e 3,6 para vinagres de arroz e de kiwi, respectivamente.

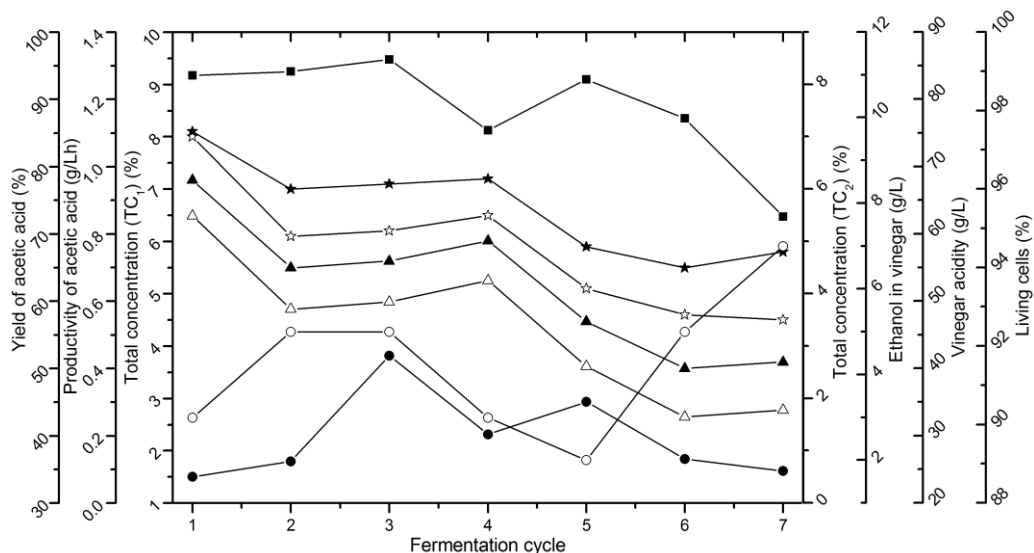


Figura 4. Monitoramento da oxidação do vinho de banana: (☆) CT₁; (★) CT₂; (Δ) rendimento em ácido acético; (▲) acidez do vinagre; (●) produtividade em ácido acético; (○) etanol do vinagre; e (■) células vivas ao longo dos 7 ciclos.

Os valores de η_{AA} apresentaram queda ao longo dos ciclos, variando de 42,8 a 63,1%, com média de 53,1%. Bortolini et al. (2001) obtiveram rendimentos superiores em vinagre de kiwi, variando de 93,24 a 98,34% e Spinosa et al. (2015) encontraram valor médio de 88,2% em vinagre de arroz. Os valores de P_{AA} variaram de 0,096 a 0,438 g/L.h, com média de 0,216 g/L.h, uma variação de 0,83 a 1,73 g/L.h no processo submerso foi reportada por Bortolini et al, (2001). Silva et al. (2007) e Spinosa et al. (2015) obtiveram valores médios de produtividade de 0,55 e 0,73g/L.h para vinagre de caju e de arroz, respectivamente. Valores de R_{GK} variaram de 90,8 a 99,2% (média de 96,8%).

A taxa de conversão de ácido acético depende de vários fatores, como a temperatura, disponibilidade de oxigênio, quantidade de inóculo, concentração inicial de álcool e ácido acético. Considera-se também que o dimensionamento do acetador tem impacto direto no tempo de fermentação e nas taxas de bioconversão. A eficiência do processo submerso está diretamente relacionada ao sistema de aeração (Spinosa et al. 2015).

3.6. Caracterização do vinagre

Os valores de AF, AT e AV foram de 1,79; 4,41; e 2,62 g/100 mL, respectivamente, expressos em ácido acético (Tabela S1). Marques et al. (2010) reportaram valores de AV para vinagres de laranja, tangerina, manga, kiwi e maçã variando de 2,74 a 4,17 g/100 mL. Bortolini et al. (2001), em vinagre de kiwi, determinaram valores de acidez entre 5,01 a 5,13% (v/v). A acidez do vinagre exerce grande influência na aceitação sensorial do produto (Marques et al., 2010). Na América do Norte, um teor de ácido acético de pelo menos 4% (m/v) é necessário para o produto ser vendido como vinagre (Parmar e Rupasinghe, 2013). O valor de ATT do vinagre obtido foi de 10,27 g/L e cinzas de 3,73 g/L, enquanto os vinagres de laranja, tangerina, manga, kiwi e maçã citados por Marques et al. (2010) apresentaram valores de cinzas entre 1,49 a 3,65 g/L. De acordo com a legislação brasileira, vinagres de frutas exigem no mínimo de 1,0 g/L e no máximo de 5,0 g/L de cinzas (MAPA, 2012). O conteúdo do EST e ESR do vinagre de banana foram de 21,23 e 10,96 g/L, o mínimo exigido pela legislação brasileira de ESR é de 6,0 g/L (MAPA, 2012). Marques et al. (2010) encontraram valores de EST entre 8,9 a 38,3 g/L para diferentes tipos de vinagres de frutas.

O vinagre obtido não apresentou TA a 20 °C (v/v), assim como todos os vinagres analisados por Marques et al. (2010). Enquanto Bortolini et al. (2001) encontraram TA entre 0,32 a 0,49% (v/v) para vinagres de kiwi. A legislação brasileira permite no máximo 1,0% de álcool (v/v) a 20 °C em vinagres de frutas. Segundo Marques et al. (2010), a presença de pequenas quantidades de álcool residual reflete favoravelmente no *flavour* dos vinagres, por formação de *buquet*. O pH do vinagre foi de 3,21, valor próximo aos reportados por Marques et al. (2010), entre 3,51 a 2,65 em vinagres de frutas.

Pode-se notar que o vinagre obtido se enquadra aos reportados na literatura e à legislação brasileira, porém, com rendimentos e produtividade inferiores, fato que pode estar atribuído à matéria-prima empregada e ao sistema de acetificação, que também influenciam na qualidade final do vinagre. Nesse sentido, os compostos voláteis do produto final foram avaliados, visto que contribuem no sabor e no aroma, característicos do substrato utilizado em ambas as fermentações alcoólica e acética (Spinosa et al., 2015; Reddy et al., 2008).

Os compostos voláteis do vinho e do vinagre são principalmente constituídos por álcoois e ésteres. O álcool *iso*-amílico é consumido durante o processo de acetificação e a concentração de ésteres aumenta durante a maturação e envelhecimento do vinagre. O teor inicial de álcool em vinagres é um fator importante para formação de determinados compostos flavorizantes, principalmente do acetato de etila (Morales et al., 2002). Comparando os valores do vinho ao do vinagre (Tabela S3), observa-se que a concentração de álcool *iso*-amílico no vinho (E) era de 213,0 mg/L, e após a fermentação acética, decresceu para 7,1 mg/L, enquanto que a concentração de acetato de etila (éster) aumentou de 23,2 mg/L no vinho (E) para 44,2 mg/L no vinagre, semelhante ao descrito por Morales et al. (2002). O metanol e o álcool *iso*-butílico diminuíram após a acetificação, enquanto que os álcoois *n*-butílico, propílico, *sec*-butílico e o glicerol estavam ausentes no produto final (Tabela S3).

A concentração de acetaldeído também diminuiu de 89,9 mg/L no vinho (E) para 8,1 mg/L no vinagre. De acordo com Reddy et al. (2010), este composto é um metabólito primário, formado na rota de conversão de etanol à ácido acético por bactérias acéticas. Após a acetificação, a concentração de ácido acético aumentou de 448,4 mg/L no vinho (E) para 49.200,0 mg/L no vinagre. Valores de furfural aumentaram de 3,5 mg/L em (E) para 15,5 mg/L no vinagre, que é um aspecto favorável, pois

assim como os ésteres, os furanos são compostos que promovem aromas doce e frutado na bebida (Spinosa et al., 2016).

Comparando os minerais do vinagre (Tabela S2) com o do vinho (E) e da polpa, houve redução na maioria dos constituintes após a acetificação, com exceção do fósforo, manganês e níquel que aumentaram. A concentração de enxofre no vinagre aumentou em relação a polpa, e decresceu quando comparado ao vinho, enquanto que o molibdênio se manteve praticamente constante em ambos os processos (fermentação alcoólica e acética). Como discutido anteriormente, os minerais são importantes, pois mantêm a integridade dos microrganismos (leveduras e bactérias acéticas).

Conclusão

O estudo revelou que é possível a fabricação de vinho e vinagre a partir de banana Prata. Estes apresentaram componentes químicos e minerais de interesse sensorial e nutricional. Os parâmetros cinéticos gerados apontam perspectivas para produção em escala, uma vez que a disponibilidade de tecnologia nesta área é limitada. O baixo custo e o impacto dos subprodutos gerados comprovam o potencial uso da matéria-prima, excedente de oferta, para o desenvolvimento de artigos com apelo gastronômico, possibilitando geração de emprego e renda. Ainda, a fabricação de compostos químicos considerados como *commodities*, como o etanol e ácido acético, a partir da utilização de matérias-primas excedentes, proporciona uma alternativa de interesse econômico ao agronegócio do país.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Universidade Estadual de Londrina – PR (UEL – PR) e CAPES pela bolsa de estudos.

Referências

Akubor, P.I., Obio, S.O., Nwodomere, K.A., Obiomah, E., 2003. Production and quality evaluation of banana wine. *Plant. Food. Hum. Nutr.* 58, 1–6.

Alvarenga, R.M., Carrara, A.G., Silva, C.M., Oliveira, E.S., 2011. Pottencial application of *Saccharomyces cerevisiae* strains for the fermentation of banana pulp. *Afr. J. of Biotechnol.* 10, 3608–3615.

American Public Health Association, A.P.H.A., 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. APHA-AWWA-WEF, Washington, DC.

Arruda, A.R., Casimiro, A.R.S., Garruti, D.S., Abreu, F.A.P., 2007. Physical-chemical characterization and sensory evaluation of a fermented alcoholic beverage of banana. *Rev. Ciên. Agron.* 38, 377–384.

Arruda, A.R., Casimiro, A.R.S., Garruti, D.S., Abreu, F.A.P., 2003. Fermented banana beverage processing. *Rev. Ciên. Agron.* 34, 161–167.

Association of Official Analytical Chemists, A.O.A.C., 2012. Official methods of analysis, 19th ed. AOAC International, Virginia, VA.

Bortoleto, A.M., Alcarde, A.R., 2013. Congeners in sugar cane spirits aged in casks of different woods. *Food Chem.* 15, 695–701.

Bortolini, F., Sant'Anna, E.S., Torres, R.C., 2001. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas* 21, 236–243.

Byaruagaba-Bazirake, G.W., Rensburg, P.V., Kyamuhangire, W., 2013. Characterisation of banana wine fermented with recombinant wine yeast strains. *Am. J. Food Nutr.* 3, 105-116.

Carvalho, G.B.M., Silva, D.P., Bento, C.V., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., Felipe, M.G.A., Silva, J.B.A., 2009. Banana as adjunct in beer production: Applicability and performance of fermentative parameters. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 155, 356–365.

Centro de Tecnologia Canavieira, C.T.C., 2011. Manual de métodos analíticos controle químico da fermentação, Second ed. CTC, Piracicaba.

Cheirsilp, B., Umsakul, K., 2008. Processing of banana-based wine product using pectinase and α -amylase. *J. Food Process. Eng.* 31, 78–90.

DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith F., 1956. Colorimetric method form determination of sugars and related substances. *Anal. Chemi.* 28, 350–356.

Idise, O.E., Odum, E.I., 2011. Studies of wine produced from banana (*Musa Sapientum*). *Int. J. Biotechnol. Mol. Biol. Res.* 2, 209–214.

Marques, F.P.P., Spinosa, W., Fernandes, K.F., Castro, C.F.S., Caliari, M., 2010. Quality pattern and identity of commercial fruit and vegetable vinegar (Acetic acid fermentation). *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas* 30, 119–126.

McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R., Zak, B., 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* 29, 538–542.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA, 2005. MET LABV-04-05 Determinação de acidez volátil. Instrução Normativa nº 24, 08.09.2005. Disponível em:
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/BEV/Lanagros/MET%20LABV-0405%20Determinacao%20de%20acidez%20volatil.pdf (acesso em 10.11.2015).

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA, 2012. Instrução Normativa nº 06, 03.04.2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. *Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 03.04.2012, Seção 1, p. 17.*

Mohapatra, D., Mishra, S., Singh, C.B., Jayas, D.S., 2011. Post-harvest processing of banana: opportunities and challenges. *Food Bioprocess Tech.* 4, 327–339.

Morales, M.L., Tesfaye, W., García-Parrilla, M.C., Casas, J.A., Troncoso, A.M., 2002. Evolution of the aroma profile of sherry wine vinegars during an experimental aging in wood. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3173–3178.

Navarro, A.R., 1994. Effects of furfural on ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: mathematical models. *Curr. Microbiol.* 29, 87–90.

Parmar, I., Rupasinghe, H.P.V., 2013. Bio-conversion of apple pomace into ethanol and acetic acid: Enzymatic hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technol.* 130, 613–620.

Parrondo, J., Herrero, M., García, L.A., Díaz, M., 2003. A note – Production of vinegar from whey. *J. Inst. Brew.* 109, 356–358.

Reddy, L.V., Reddy, Y.H.K., Reddy, L.P.A., Reddy, O.V.S., 2008. Wine production by novel yeast biocatalyst prepared by immobilization on watermelon (*Citrullus vulgaris*) rind pieces and characterization of volatile compounds. *Process. Biochem.* 43, 748–752.

Reddy, L.V.A., Kumar, Y.S., Reddy, O.V.S., 2010. Analysis of volatile aroma constituents of wine produced from Indian mango (*Mangifera indica* L.) by GC-MS. *Ind. J. Microbiol.* 50, 183–191.

Silva, M.E., Torres Neto, A.B., Silva, W.B., Silva, F.L.H., Swarnakar, R., 2007. Cashew wine vinegar production: Alcoholic and acetic fermentation. *Braz. J. Chem. Eng.* 24, 163–169.

Siqueira, P.F., Karp, S.G., Carvalho, J.C., Sturm, W., Rodríguez-León, J.A., Tholozan, J.L., Singhania, R.R., Pandey, A., Soccol, C.R., 2008. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. *Bioresource Technol.* 99, 8156–8163.

Spinosa, W.A., Santos Júnior, V., Galvan, D., Fiorio, J.L., Gomez, R.J.H.C., 2015. Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. *Food Sci. Technol. Campinas* 35, 196–201.

Spinosa, W.A., Santos Júnior, V., Galvan, D., Fiorio, J.L., Gomez, R.J.H.C., 2016. Fermentation kinetics of rice syrup, with high content of dextrose equivalent, by *Saccharomyces cerevisiae* and characterization of volatile compounds from wine. *J. Food Process. Pres.* XX, X–X.

Swami, S.B., Thakor, N.J., Divate, A D., 2014. Fruit wine production: a review. *Journal of food research and technology.* 2, 93-100.

Taherzadeh, M.J., Gustafsson, L., Niklasson, C., Lidén, G., 1999. Conversion of furfural in aerobic and anaerobic batch fermentation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biosci. Bioeng. 87, 169–174.

Tessaro, D., Larsen, A.C., Dallago, R.C., Damasceno, S.G., Sene, L., Coelho S.R.M., 2010. Alcohol and acetic fermentation appraisal for vinegar production from orange juice. Acta Sci. Technol. 32, 201–205.

Thomas, D.E., Surdin-Kerjan, Y., 1997. Metabolism of sulfur amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiol. Mol. Biol. R. 61, 503–532.

Versari, A., Laurie, V.F., Ricci, A., Laghi, L., Parpinello, G.P., 2014. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. Food Res. Int. 60, 2–18.

Wall, M.M., 2006. Ascorbic acid, vitamin A and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. J. Food Compos. Anal. 19, 434–445.

Wang, Z., Zhuge, J., Fang, H., Prior, B.A., 2001. Glycerol production by microbial fermentation: A review. Biotechnol. Adv. 19, 201–223.

Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D., 1998. Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruits vegetables & ornamentals, Fourth ed. UNSW Press, Sydney.

Win, S.S., Impoolsup, A., Noonhorm, A., 1996. Growth kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* in batch and fed-batch cultivation using sugarcane molasses and glucose syrup from cassava starch. J. Ind. Microbiol., Amsterdam 16, 117-123.

Cinética da bioconversão da polpa de banana Prata – Fermentação alcoólica, acética e caracterização dos compostos voláteis e minerais nos produtos (Vinho e Vinagre)

Cyntia Akemi Tanaka¹, Flávia Imanishi Ruzon¹, Lucas Caldeirão R. Miranda¹, Diego Galvan¹, Wilma Aparecida Spinosa^{1*}, Raúl J. H. Castro-Gómez².

* Correspondência para: Wilma Aparecida Spinosa, E-mail: wilma.spinosa@uel.br

Material Suplementar

Tabela S1. Características físico-químicas da polpa de banana Prata, vinhos e vinagre obtidos nos processos (A) e (E).

Componentes	Polpa ^{****}			Vinho – Agitado (A)			Vinho – Estático (E)			Vinagre		
	m [*]	dp ^{**}	cv ^{***}	m [*]	dp ^{**}	cv ^{***}	m [*]	dp ^{**}	cv ^{***}	m [*]	dp ^{**}	cv ^{***}
AF (g/100 mL)	-	-	-	0,28	±0,006	0,021	0,32	±0,010	0,031	1,79	±0,005	0,003
ATT (g/100 mL)	0,37	±0,025	0,069	0,39	±0,006	0,015	0,44	±0,001	0,023	4,41	±0,005	0,001
AV (g/100 mL)	-	-	-	0,11	±0,006	0,051	0,12	±0,000	0,000	2,62	±0,000	0,000
AT (g/L)	83,95	±0,806	0,034	12,68	±0,549	0,043	7,29	±0,499	0,007	10,27	±0,257	0,025
Cinzas (g/L)	3,01	±0,050	0,059	11,25	±0,047	0,004	8,63	±0,378	0,044	3,73	±0,057	0,015
EST (g/L)	-	-	-	38,17	±0,511	0,014	28,20	±0,264	0,009	21,23	±0,420	0,019
ESR (g/L)	-	-	-	25,49	±0,530	0,029	20,91	±0,382	0,008	10,96	±0,112	0,011
TA a 20 °C (v/v)	-	-	-	5,73	±0,000	0,000	6,81	±0,000	0,000	0,00	±0,000	0,000
pH	4,86	±0,000	0,000	4,00	±0,023	0,007	4,00	±0,012	0,006	3,21	±0,001	0,002
SST (°Bx)	24,30	±0,100	0,004	5,47	±0,058	0,010	5,50	±0,000	0,000	-	-	-
Carboidratos	93,20	±0,133	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipídios	1,38	±0,030	0,078	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteínas	2,41	±0,006	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibra Bruta (%)	0,00	±0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-

m*: média; dp**: desvio padrão; cv***: coeficiente de variação; %Base seca****.

Tabela S2. Conteúdo mineral da polpa de banana Prata, vinhos e vinagre obtidos nos processos (A) e (E).

Mineral (mg/L)	Polpa		Vinho – Agitado (A)		Vinho – Estático (E)		Vinagre	
	m*	dp**	m*	dp**	m*	dp**	m*	dp**
P	195,00	±1,21	139,95	±1,86	140,90	±1,56	381,85	±2,82
K	3.051,50	±8,56	1.611,00	±6,34	2.253,00	±5,77	1.544,00	±5,75
Ca	46,64	±0,41	34,60	±0,50	37,23	±0,43	24,90	±0,39
Mg	303,60	±1,63	188,00	±1,14	150,30	±0,91	144,65	±0,93
S	55,87	±0,62	154,80	±1,72	186,25	±2,31	68,78	±1,46
Na	26,99	±1,87	25,35	±1,98	29,26	±1,82	8,07	±0,09
B	1,09	±0,01	0,78	±0,02	1,08	±0,02	0,59	±0,01
Cu	1,68	±0,02	1,71	±0,03	1,67	±0,02	0,13	±0,01
Fe	2,72	±0,05	3,05	±0,02	3,03	±0,03	1,02	±0,02
Mn	1,70	±0,06	2,68	±0,09	3,02	±0,02	3,09	±0,03
Zn	1,79	±0,03	2,85	±0,02	2,65	±0,03	1,73	±0,02
Al	0,93	±0,01	1,52	±0,02	3,06	±0,02	0,34	±0,01
Mo	0,01	±0,01	0,03	±0,01	0,01	±0,01	0,01	±0,01
Ni	0,12	±0,03	0,09	±0,01	0,09	±0,02	0,23	±0,01
Si	18,44	±1,90	19,18	±2,32	24,82	±2,12	17,94	±1,89

m*: média; dp**: desvio padrão.

Tabela S3. Compostos voláteis dos vinhos de banana obtidos nos processos (A) e (E) e vinagre de banana.

Compostos (mg/L)		Vinho – Agitado (A)			Vinho – Estático (E)			Vinagre		
		RT	m*	dp**	RT	m*	dp**	RT	m*	dp**
Ácido	Ácido acético	-	205,5	±4,91	-	448,4	±9,52	-	49.200,0	±456,90
	Álcool metílico	3,030	269,4	±5,23	3,031	282,0	±4,75	3,020	97,3	±8,17
	Álcool iso- amílico	7,864	175,6	±4,18	7,861	213,0	±6,69	7,867	7,1	±2,53
Álcoois	Álcool iso- butílico	6,439	73,1	±3,42	6,442	84,8	±4,13	6,437	1,3	±0,12
	Álcool n- butílico	6,872	0,9	±0,17	-	nd	-	-	nd	-
	Álcool propílico	5,518	46,2	±1,99	5,517	55,1	±2,34	-	nd	-
	Álcool sec- butílico	-	nd	-	-	nd	-	-	nd	-
	Glicerol	-	10.400,0	±102,30	-	9.200,0	±98,71	-	nd	-
	Aldeídos	Acetaldeído	1,724	22,1	±2,18	1,724	89,9	±3,22	1,724	8,1
Éster	Acetato de etila	2,874	18,1	±1,34	2,874	23,2	±2,25	2,872	44,2	±5,17
Furanos	Furfural	11,134	2,6	±0,28	11,133	3,5	±0,37	11,131	15,4	±1,27

m*: média; dp**: desvio padrão; RT: tempo de retenção (min.), nd: não detectado.

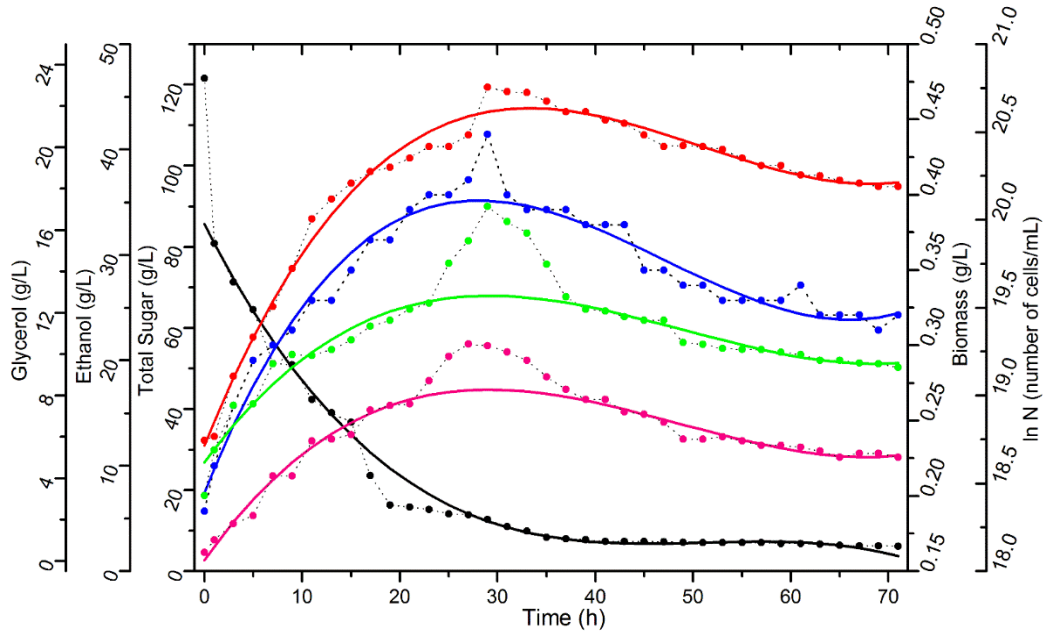


Figura S1. Monitoramento do processo (A): consumo de substrato, formação de produtos (etanol e glicerol), número de células e biomassa durante 71 h de fermentação a 30 °C. Linhas: preta (açúcar total); vermelha (etanol); rosa (glicerol); azul (biomassa) e verde (ln N de número de células/mL), onde (·····) experimental; – modelo).

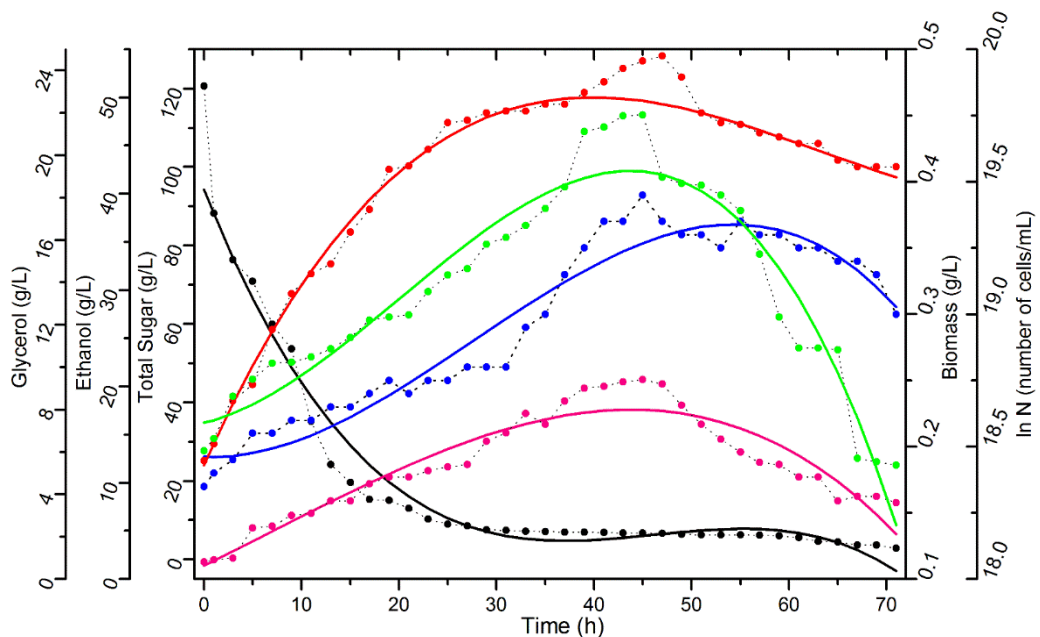


Figura S2. Monitoramento do processo (E): consumo de substrato, formação de produtos (etanol e glicerol), número de células e biomassa durante 71 h de fermentação a 30 °C. Linhas: preta (açúcar total); vermelha (etanol); rosa (glicerol); azul (biomassa) e verde (ln N de número de células/mL), onde (·····) experimental; – modelo).

Destaques

- Potencial uso de banana Prata para produção de vinho e vinagre;
- Determinar e investigar os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica e acética;
- Comparar os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica em processo com agitação e estático;
- Monitoramento de fermentação por processo submerso para produção de vinagre;
- Perfil físico-químico, compostos minerais e voláteis dos produtos finais.

Graphical Abstract

