

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

PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VINAGRE DE GENGIBRE

PRISCILA APARECIDA SUMAN

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU – SP
(Maio/2012)

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

PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VINAGRE DE GENGIBRE

PRISCILA APARECIDA SUMAN

Orientadora: Prof. Dra. Magali Leonel

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU – SP
(Maio/2012)

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

S955p Suman, Priscila Aparecida, 1983-
Processo de obtenção de vinagre de gengibre (*Zingiber officinale*) / Priscila Aparecida Suman. – Botucatu: [s.n.], 2012
viii, 87 f. : il., tabs., gráfs. color., fots. color

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012
Orientador: Magali Leonel
Inclui bibliografia

1. Amido. 2. Gengibre. 3. Hidrólise. 4. Vinagre.
I. Leonel, Magali. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VINAGRE DE GENGIBRE"


ALUNA: PRISCILA APARECIDA SUMAN

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MAGALI LEONEL

Aprovado pela Comissão Examinadora


PROFA. DRA. MAGALI LEONEL


PROF. DR. MANOEL LIMA DE MENEZES


PROF. DR. CLAUDIO CABELLO

Data da Realização: 07 de maio de 2012.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo.

E a todas as pessoas que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho, e em especial:

A toda minha família que sempre me apoiou nos estudos e em todos os momentos da minha vida, de uma forma especial minha mãe Laura e meu pai Atilio, que nunca mediram esforços para me ajudar.

Ao meu namorado José Roberto de Creddo pelo amor, respeito e compreensão

A Prof.^a Dr.^a Magali Leonel pela amizade, apoio e dedicação na realização do trabalho

Aos Professores Cláudio Cabello, Manoel Menezes e Fernando Broetto pelas colaborações no trabalho.

Aos funcionários do CERAT pelo apoio no desenvolvimento do trabalho

A todos os funcionários da pós-graduação pela atenção

Aos funcionários da Biblioteca pelos serviços prestados

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos

Ao Sr. Nelson Pagotti da Cooperativa Agrícola Nossa Senhora das Vitórias localizada em Jundiá.

A Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP – Campus de Botucatu, e em especial ao curso de Pós-Graduação em Energia na Agricultura, que acreditando na minha pessoa, permitiram a realização deste curso de mestrado

A todos do Laboratório de Bebidas em especial ao Professor Waldemar Venturini, Luciana, Andressa e Juliano.

Aos meus amigos da pós-graduação: Milena, Ezequiel, Fernanda, Andressa, Felipe, Sihélio, Luciana, Ileana, Nice.

Em especial agradeço as minhas amigas Luciana Brunelli e Vanessa Cassoni pela amizade e apoio na realização deste trabalho.

Aos meus amigos: Viviane, Marcela, Graziela, Natália, Beatriz, Paula, Fernanda e Grazielle que de alguma forma fazem parte da minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMO.....	1
SUMMARY	2
1 INTRODUÇÃO.....	3
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Produção de vinagre	6
2.1.1 Histórico	6
2.1.2 Dados econômicos.....	7
2.2 Matérias-primas	10
2.2.1 Gengibre	9
2.2.2 Fécula de mandioca	11
2.2.2.1 Amido	13
2.2.2.1.1 Estrutura do amido	14
2.2.2.1.2 Composição do amido	15
2.2.2.1.3 Propriedades do amido	17
2.3 Processo de hidrólise-sacarificação do amido	19
2.4 Fermentação alcoólica	22
2.5 Fermentação acética	23
2.6 Processos de produção.....	27
2.6.1 Processo de Orleans ou lento.....	27
2.6.2 Processo Alemão ou rápido	29
2.6.3 Processos Submersos.....	30
2.7 Processamento final do vinagre	32
2.8 Fatores interferentes	33
2.8.1 Concentração alcoólica.....	34
2.8.2 Acidificação inicial.....	34
2.8.3 Suprimento de oxigênio.....	34
2.8.4 Perturbação da película de bactérias.....	34

2.8.5 Temperatura.....	35
2.8.6 pH	35
2.9 Composição de vinagres	35
2.9.1 Legislação brasileira.....	39
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1 Matéria-prima	41
3.2 Caracterização físico-química das matérias primas.....	41
3.2.1 Desidratação dos rizomas de gengibre	41
3.2.2 Composição físico-química	42
3.2.2.1 Umidade	42
3.2.2.2 Cinzas	42
3.2.2.3 Proteínas	42
3.2.2.4 Lipídios.....	42
3.2.2.5 Fibras	42
3.2.2.6 pH	43
3.2.2.7 Acidez Titulável	43
3.2.2.8 Açúcares solúveis totais	43
3.2.2.9 Amido	43
3.3 Planejamento experimental.....	43
3.3.1 Ensaio 1	44
3.3.1.1 Processo de hidrólise enzimática.....	44
3.3.1.1.1 Perfil de açúcares dos hidrolisados.....	47
3.3.1.1.2 Cálculo de rendimento dos processos.....	48
3.3.1.2 Fermentação alcoólica	48
3.3.1.2.1 Análise dos vinhos.....	48
3.3.1.3 Fermentação acética	49
3.3.2 Ensaio 2	50
3.3.2.1 Delineamento experimental.....	51
3.3.2.2 Tratamento final do vinagre	52
3.3.2.3 Análises dos fermentados acéticos	52
3.3.2.3.1 Acidez total em ácido acético.....	53

3.3.2.3.2 Extrato seco a 105°C.....	53
3.3.2.3.3 Determinação do teor alcoólico em volume	54
3.3.2.3.4 Cinzas	54
3.3.2.3.5 Ácidos orgânicos	54
3.3.2.4 Rendimento da fermentação acética	55
3.3.2.5 Análise dos dados	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
4.1 Análises dos rizomas de gengibre e da fécula de mandioca.....	57
4.2 Análise dos hidrolisados	58
4.2.1 Rendimento da hidrólise-sacarificação do gengibre e da fécula de mandioca	59
4.3 Análise dos vinhos.....	62
4.3.1 Rendimento da fermentação alcoólica.....	63
4.4 Fermentação acética	64
4.4.1 Ensaio 1	64
4.4.1.1 Avaliação dos produtos finais	66
4.4.2 Ensaio 2	66
4.4.2.1 Rendimento do processo pelo G.K.	67
4.4.2.2 Análises de cinzas e extrato seco.....	68
4.4.2.2.1 Teor alcoólico	71
4.4.2.2.2 Acidez total.....	72
4.4.2.2.3 Perfil de ácidos orgânicos.....	74
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Composição físico-química do amido de mandioca, Fonte: Cereda et al. (1990).....	15
Tabela 2 Classificação das bactérias e produção de ácido acético, Fonte: (ASAI, 1968).....	28
Tabela 3 Classificação dos vinagres brasileiros.....	39
Tabela 4 Especificações do fermentado acético.....	42
Tabela 5 Tratamentos do ensaio de fermentação acética da calda de gengibre.....	54
Tabela 6 Valores médios da composição centesimal dos rizomas de gengibre e da fécula de mandioca.....	59
Tabela 7 Resultados médios dos açúcares do hidrolisado de gengibre e fécula.....	61
Tabela 8 Balanço de massa do processo de hidrólise-sacarificação do gengibre.....	62
Tabela 9 Balanço de massa do processo de hidrólise-sacarificação da fécula de mandioca.....	63
Tabela 10 Composição média das caldas de gengibre e fécula de mandioca.....	64
Tabela 11 Comparação das análises físico-químicas do fermentado acético de gengibre com o de fécula produzido pelo mesmo processo e limites exigidos pela legislação nacional, Fonte: (BRASIL, 1999).....	68
Tabela 12 Período de acetificação, concentração final de etanol (%), produção de ácido acético (%) e rendimento GK nos diferentes tratamentos pelo processo lento.....	69
Tabela 13 Rendimentos obtidos pelo GK para vários tipos de vinagre.....	69
Tabela 14 Análise de variância para o teor de extrato seco no fermentado acético de gengibre.....	71
Tabela 15 Análise de variância para o teor de cinzas no fermentado acético de gengibre.....	72
Tabela 16 Médias de extrato seco e cinzas no vinagre de gengibre para cada tratamento.....	72
Tabela 17 Comparação das médias dos tratamentos para teor alcoólico (g/L) no fermentado de gengibre conforme o tempo de fermentação.....	73
Tabela 18 Comparação das médias dos tratamentos para acidez total (g/L) no fermentado de gengibre conforme o tempo de fermentação acética.....	75
Tabela 19 Médias dos ácidos orgânicos (g/L) no vinagre de gengibre para cada tratamento.....	77
Tabela 20 Média das análises realizadas nos tratamentos do vinagre de gengibre e limites	

exigidos pela legislação nacional, Fonte (BRASIL, 1999).....78

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Inflorescência do gengibre (a) e Rizomas de gengibre (b).....	13
Figura 2 Raízes de mandioca.....	14
Figura 3 Microscopia de grânulos de amido de gengibre (a) e mandioca (b) observados em microscópio eletrônico de varredura (aumento 1440x), Fonte: Leonel et al. (2005).....	17
Figura 4 Molécula de glicose, Fonte: (Swinkels ,1985).....	18
Figura 5 Estrutura molecular da amilose (a) e da amilopectina (b), Fonte: (Thomas; Atwell, 1999).....	19
Figura 6 Recipiente usado no processo de Orleans para a produção de vinagre, Fonte: (AQUARONE et al., 2001).....	30
Figura 7 Modelo de representação de um gerador utilizado para o processo de fermentação acética, Fonte: (MARTINELLI-FILHO, 1982).....	32
Figura 8 Acetificador-Frings em aço inoxidável, Fonte: (TAKEMOTO, 2000).....	33
Figura 9 Reator de aço-inox utilizado no processo de hidrólise-sacarificação, fechado (a) e aberto(b).....	47
Figura 10 Fluxograma do processo de hidrólise-sacarificação das suspensões de gengibre e fécula de mandioca.....	48
Figura 11 Filtro a vácuo utilizado para separar a suspensão de gengibre após o processo de hidrólise.....	49
Figura 12 Incubadora refrigerada utilizada no processo de fermentação alcoólica	50
Figura 13 Processo de fermentação acética do gengibre pelo método lento, em duas temperaturas (a) 20°C e (b) 27°C.....	53
Figura 14 Variação do teor alcoólico e acidez durante o processo de fermentação acética de vinho de gengibre (a) e fécula de mandioca (b).....	66
Figura 15 Regressões do teor de etanol para os tratamentos nos dias de fermentação acética.....	74
Figura 16 Regressões da acidez total para os tratamentos nos dias de fermentação acética.....	76

RESUMO

O rizoma de gengibre tem grande importância na indústria alimentícia. O Brasil está incluído entre os pequenos produtores mundiais de gengibre, cuja produção é destinada quase que exclusivamente para exportação. Cerca de 20% do total de gengibre produzido não atinge qualidade de exportação e, uma forma de aproveitamento desses rizomas, seria a produção de fermentado acético, sendo uma alternativa para o produtor, na diversificação de produtos derivados do gengibre, favorecendo a diminuição de perdas pós-colheita e também, elevando o valor comercial.

Este trabalho teve por objetivo geral produzir e caracterizar um vinagre de gengibre. Para alcançar este objetivo foram realizados dois experimentos os quais tiveram por objetivos específicos: produzir e caracterizar vinagre de gengibre e fécula de mandioca visando verificar a influência da composição do gengibre neste processo, e avaliar a influência de alguns parâmetros de fermentação acética sobre os parâmetros de qualidade do vinagre de gengibre.

Os fermentados acéticos de gengibre obtidos foram caracterizados quanto á: acidez total em ácido acético, cinzas, teor alcoólico, extrato seco a 105°C e ácidos orgânicos. Os resultados mostraram que as condições do processo de fermentação na temperatura de 20°C com adição de nutrientes no mosto e acidez numa proporção de 1:1 levaram uma maior acidez ao longo do tempo do processo e que o vinagre de gengibre apresentou além do ácido acético pequenas quantidades de ácido cítrico, málico e succínico, que somado a outros compostos originários do gengibre tornou-se um produto com características diferenciadas.

Palavras-chave: gengibre, vinagre, amido, hidrólise.

PROCESS FOR OBTAINING THE VINEGAR OF GINGER

Botucatu, 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura)

Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: PRISCILA APARECIDA SUMAN

Adviser: MAGALI LEONEL

SUMMARY

The rhizome of ginger has great importance in the food industry. Brazil is included among the small producers of ginger, whose production is destined almost exclusively for export. About 20% of the produced gingers do not meet export quality. One way to use these rhizomes would be the production of vinegar, which can be an alternative to the producer in the diversification of products derived from ginger, favoring the reduction of post harvest losses of rhizomes that do not meet industry standards and also increasing the commercial value. This work had as main to produce and characterize general ginger vinegar. To achieve this goal two experiments were conducted which had two objectives: to produce and characterize vinegar ginger and cassava starch in order to verify the influence of the composition of ginger in this process, and evaluate the influence of some parameters on the fermentation quality parameters ginger vinegar.

The acetic fermentation of ginger were characterized as to the: total acidity in acetic acid, ash, alcohol content, extract dried at 105°C and organic acids. The results showed that the process conditions in the fermentation temperature of 20°C with addition of nutrients in the acidity of the mash and a ratio of 1:1 led to a higher titratable acidity over time of the process and that the vinegar ginger showed in addition to acetic acid small amounts of citric acid, malic acid and succinic, which together with other compounds originating ginger became a product with different characteristics.

Keywords: ginger, vinegar, starch, hydrolyze.

1 INTRODUÇÃO

Originário do sudoeste asiático o gengibre somente se tornou uma cultura comercial no Brasil nas últimas décadas. Com relação à cultura, exige trabalho intensivo e investimento de capital, requerendo solos adequados, bem drenados e férteis, pois é uma planta esgotante. O principal interesse no cultivo do gengibre no Brasil é a exportação principalmente para os Estados Unidos, Reino Unido, Holanda, França e Canadá. Por ocasião do beneficiamento ocorre uma perda de 20 a 30%, para os rizomas que não atingem a qualidade tipo exportação, uma possibilidade de aproveitamento destes rizomas seria a produção de fermentado acético, que poderia ser obtido a partir de rizomas de baixa qualidade.

O gengibre pertence à família *Zingiberaceae*, gênero *Zingiber* e a cultivar que apresenta maior importância comercial é a *Zingiber officinale* Roscoe (MARTINS NETO, 1988; MOYLER, 1993).

A produção mundial de gengibre em 2010 foi de 1,6 milhões de toneladas, sendo a Índia o maior produtor mundial (385 mil toneladas) seguida pela China (334 mil toneladas), Nepal (210 mil toneladas), Nigéria (162 mil toneladas) e Indonésia (109 mil toneladas) (FAO, 2010).

No Brasil o gengibre é cultivado na faixa litorânea de Santa Catarina, Paraná e no Sul do Estado de São Paulo (ELPO; NEGRELLE, 2004).

O Brasil se inclui entre os pequenos produtores de gengibre, cuja produção é destinada para exportação. A quantidade de rizomas destinada à exportação representa 70 a 80% da colheita, havendo uma perda de 20 a 30% por ocasião do beneficiamento, para os rizomas que não atingem qualidade para exportação (TAVEIRA-MAGALHAES et al., 1997).

O principal uso do gengibre é na indústria alimentícia como ingrediente de diversas formulações para molhos, sopas, embutidos e em produtos de padaria e confeitaria (TAVEIRA-MAGALHÃES et al., 1997).

Leonel et al. (2005) verificaram a composição química de rizomas de gengibre do tipo caipira, cultivados em Botucatu-SP, colhidos após seis meses do plantio, e observaram rizomas com: 84,37% de umidade, 1,17% de proteína, 0,86% de lipídeos, 0,93% de fibras, 0,96% de cinzas, 11,42% de amido e 0,34% de açúcares.

Segundo Parrondo (2003) a organização para a alimentação e agricultura das nações unidas (FAO) estabelece que o vinagre é um líquido permitido para consumo humano e que deve ser produzido a partir de matérias primas de origem agrícola, que contém amido e/ou açúcares por meio de duas fermentações consecutivas, sendo a primeira fermentação alcoólica pela ação das leveduras, que transformam os açúcares em etanol e, em seguida, uma fermentação acética, pela ação de bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter*, que converte o etanol ao ácido acético, o produto principal do vinagre.

Ainda segundo Aquarone et al., (2001) uma definição de vinagre é que o mesmo consiste no alimento do grupo dos condimentos obtido por fermentação alcoólica e fermentação acética de matérias-primas açucaradas ou amiláceas como no caso do gengibre, que apresenta teor considerável de amido, podendo ser utilizado na fabricação de vinagre que é um alimento consumido em grande parte do mundo.

A fabricação de vinagre proporciona um meio de utilização de matéria-prima inaproveitável dos estabelecimentos industriais de frutas e especialmente de propriedades rurais, que de outra forma, não poderiam competir no mercado (EVANGELISTA, 1989).

Dentre os processos industriais utilizados na produção de vinagre, o mais difundido é o que utiliza cultura submersa através de forte aeração, com acetificadores do

tipo Frings. O método Orleans, mais lento, é utilizado apenas nos estabelecimentos de pequeno porte, quando o objetivo é obter um produto de melhor qualidade (AQUARONE et al., 2001).

Visando a valorização da cultura do gengibre no Brasil, bem como, o aproveitamento dos rizomas inadequados à exportação, este trabalho teve por objetivo geral produzir um vinagre a partir de rizomas de gengibre e, como objetivos específicos: comparar processo de fermentação acética de mosto de gengibre e de mandioca e verificar o efeito da temperatura, da adição de nutrientes e acidez inicial sobre a acidez total, teor alcoólico, extrato seco, cinzas e perfil de ácidos orgânicos dos vinagres obtidos de gengibre.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de vinagre

2.1.1 Histórico

Backer, na segunda metade do século XVII, foi o primeiro a constatar que o ar era imprescindível para a obtenção do vinagre (AQUARONE et al., 2001). Já em 1837, Kutzing, um botânico alemão, verificava a responsabilidade do microrganismo na formação de ácido acético e relatava suas experiências sobre a “mãe do vinagre” (AQUARONE et al., 2001).

Berzéliu, químico prestigiado do século XVIII, afirmava em 1839 que a transformação de etanol a ácido acético não passava de processo exclusivamente químico de ordem catalítica. Pasteur, entre 1864 e 1868 demonstrou, com detalhes em sua obra sobre o vinagre, a necessidade da presença de um ser vivo, segundo ele, a bactéria *Mycoderma aceti* era necessária para a produção do ácido acético (AQUARONE et al., 2001).

Na antiga China, o vinagre era símbolo da vida. Há 5 mil anos, os egípcios, babilônios, indianos, gregos e persas conheciam a arte da fabricação e versatilidade do vinagre. Além de tempero, era o único meio para conservação de carnes, peixes, legumes e muito apreciado por seu efeito refrescante. Existem relatos que os legionários, soldados, agricultores e viajantes, até na Idade média, bebiam água com vinagre para matar a sede e para a saúde (SWINGS, 1992).

Vinagres de vinho tradicionais são muito apreciados na gastronomia e seu papel econômico vem aumentando rapidamente nas regiões de importância enológica,

como o Sul da Espanha. O vinagre de vinho é um condimento importante na dieta Mediterrânea. Longe de ser o simples resultado de uma alteração no vinho, estes vinagres têm se tornado produtos singulares, preciosos e, por melhor dizer, caros (GARCIA-PARRILLA et al., 1997).

A produção do vinagre pode ocorrer como fermentação espontânea, pois os dois microrganismos necessários para sua produção estão associados a vegetais, fazendo parte de sua microbiota natural. Além disto, cada estágio apresenta condições processuais que, de certo modo, restringem a competição microbiana. Inicialmente, concentrações elevadas de açúcares favorecem a produção de etanol pela levedura. Durante a fermentação alcoólica, condições anaeróbias são criadas, o pH diminui e a concentração de etanol se eleva. No final da fermentação alcoólica, quando os açúcares são consumidos, condições aeróbias são restabelecidas, permitindo a ação de bactérias acéticas que converterão etanol em ácido acético, diminuindo ainda mais o pH dando origem ao vinagre (ADAMS, 1998).

2.1.2 Dados econômicos

O Brasil conta com um parque industrial de produção de vinagre por processo submerso composto por 60 unidades fabris. Dentre as mais significativas em termos de produção, duas são de grande porte, com 30.000 m³/ano; há seis unidades de médio porte, que, juntas, produzem 72.000 m³/ano; e existem 37 fábricas de pequeno porte, produzindo, ao todo, 28.000 m³/ano. No Estado do Rio Grande do Sul estão localizadas aproximadamente 90% dessas indústrias. Segundo dados da União Brasileira de Vitivinicultura - UVIBRA, localizada naquele Estado, a produção nacional de vinagre de vinho nos anos de 2009, 2010 e 2011 foi respectivamente de 3.460.059, 4.315.920 e 4.340.563 L. No ano de 2011, a produção de Agrin foi de 5.997.697 L. Segundo Natera et al., (2003) nos últimos anos a importância do vinagre como produto alimentício tem crescido.

Dados fornecidos pelo Ministério da Agricultura apontam que dos 170 milhões de litros de vinagre consumidos anualmente no Brasil, cerca de 80% corresponde ao vinagre de álcool. A região Sudeste responde por 53% do consumo do

produto em território nacional, seguido pelas regiões Sul (23%), Norte-Nordeste (19%) e Centro-Oeste (5%). A região da Grande São Paulo é o maior pólo produtor de vinagre, concentrando 37% da produção total nacional, enquanto o interior de São Paulo é o principal mercado, onde o consumo chega a 24% da produção nacional (BRASIL, 2012).

No Brasil, quem regulamenta o padrão de qualidade e identidade do vinagre é o Ministério da Agricultura. Este, na década de 90, regulamentou e viabilizou a comercialização da marca Agrin, marca fantasia de uma mistura composta por 90% de fermentado acético de álcool e 10% de fermentado acético de vinho tinto ou branco, puro, com acidez acética volátil mínima de 4,0g/100ml (AQUARONE; ZANCANARO, 1983; SPINOSA, 2002).

Segundo a legislação o termo Agrin é o fermentado acético de mosto de álcool de cana-de-açúcar, adicionado de borra de fermentação de vinhos tintos e brancos. Recentemente, algumas indústrias de vinagre têm usado corante caramelo ao Agrin, como substituinte a borra de fermentação de vinho.

Estima-se que o consumo nacional *per capita* de vinagre seja de, aproximadamente, 2L/ano, pois aqui no Brasil utiliza-se o vinagre basicamente como tempero. Tal índice pode ser considerado muito além daquele verificado nos Estados Unidos e na Europa, onde o produto também é utilizado em outras atividades cotidianas, como na lavagem de roupa para fixação de cor, retirada de manchas em aço inoxidável, tecidos, recipientes de alumínio, além da eliminação de odores indesejáveis do ambiente e de garrafas térmicas (UVIBRA, 2011).

No Brasil, não é permitida a fabricação e venda de vinagre artificial, isto é, vinagre produzido a partir da diluição do ácido acético obtido a partir da síntese do etileno ou da destilação seca da madeira (BRASIL, 1999).

A adulteração de um vinagre de álcool ou mesmo de ácido acético com a finalidade de fazê-lo passar por vinagre de vinho, pela adição de substâncias como melaço, vinho de uvas, vinagre de vinho, vinhaça ou corantes, constitui-se prática comum em alguns países (inclusive no Brasil) e sua identificação torna-se praticamente impossível pelas análises de rotina efetuadas pelos órgãos responsáveis pela padronização de alimentos e bebidas (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

2.2 Matérias-primas

2.2.1 Gengibre

O gengibre, *Zingiber officinale*, foi primeiramente descrito, em 1807, pelo botânico inglês William Roscoe (1753-1813). Está inserido na família *Zingiberaceae*, grupo tropical especialmente abundante na região Indo-Malásia que engloba mais de 1200 espécies de plantas incluídas em 53 gêneros. O gênero *Zingiber* inclui aproximadamente 85 espécies. O nome deste gênero, *Zingiber*, deriva de uma palavra em sânscrito que significa em forma de “chifre” em referência às protuberâncias na superfície do rizoma (STEVEN, 2011).

O gengibre é uma planta herbácea, perene, de rizoma articulado, septante, carnoso, revestido de epiderme rugosa e de cor pardacenta. Na parte superior, possui pequenos tubérculos anelados, resultantes da base de antigos caules aéreos. Na parte inferior, possui muitas raízes adventícias, cilíndricas, carnosas e de cor brancacentas. Os caules são eretos, formados por muitas folhas dísticas, sendo as basilares simples com bainhas glabras e estriadas no sentido longitudinal. As bainhas superiores são amplexicaules na base e terminam com um limbo, linear e lanceolado. As inflorescências com espigas ovóides ou elipsóides formam-se no ápice dos pedúnculos que saem do rizoma, revestidos por escamas invaginantes e imbricadas, obtusas, decrescentes da base para o ápice. As flores apresentam-se zigomorfas, hermafroditas, com coloração amarelo-esverdeada. As brácteas florais orbiculares possuem cálice e corola denteados que envolvem uma só flor. O fruto é uma cápsula que se abre em três lóculos e abriga sementes azuladas com albúmen carnoso (ELPO; NEGRELLE, 2004).

O gengibre (*Zingiber officinale*) é uma das mais antigas e populares plantas medicinais do mundo e vem sendo utilizado na medicina popular de quase todos os povos do planeta. Na China, o chá de gengibre feito de modo que pedaços do gengibre frescos são fervidos em água é indicado para tratamentos em gripes, tosses, resfriados e ressacas. No Japão, são realizadas massagens com óleo de gengibre para problemas nas articulações. Alguns fitoterapeutas têm recomendado banhos e compressas quentes de gengibre para aliviar sintomas de gota, artrite, dores de cabeça, problemas de rins, cólicas menstruais e de coluna (PALHARIN et al., 2010).

O gengibre é comercializado internacionalmente, na forma seco, além dos rizomas sob a forma de produtos derivados, tais como óleo essencial e a oleoresina. O óleo essencial contém componentes voláteis responsáveis pelo aroma, enquanto a oleoresina, contém além dos constituintes voláteis aromáticos, os componentes não voláteis, responsáveis pela pungência característica do gengibre (TAVEIRA-MAGALHÃES et al., 1997).

No Brasil, a produção de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) visando à exportação de rizomas *in natura* é recente. A fim de atender as exigências do mercado internacional por um produto de bom tamanho e sem defeitos, é realizada uma seleção onde se eliminam partes ou mesmo rizomas inteiros defeituosos, com cortes, amassados, estragados ou muito pequenos. Esse material é normalmente descartado e representa um volume apreciável (acima de 20%) da colheita. Como aproveitamento desse material descartado também é feito o óleo de gengibre realizado a partir da destilação ou arraste por vapor dos rizomas descartados na seleção.

Durante o período compreendido entre janeiro de 1996 e dezembro de 2006, o Estado de São Paulo exportou em média 4.000 t/ano de gengibre, com preços médios praticados em torno de US\$ 0,80/kg. No mesmo período o Estado do Paraná exportou em média 1.200 t/ano, por um preço aproximado de US\$0,81/kg e, Santa Catarina, participou nas exportações brasileiras gengibre, com 300 t/ano, a um preço compatível de mercado em torno de US\$0,70/kg (PARANÁ, 2012).

O Paraná destaca-se em nível nacional como maior produtor de gengibre “in natura” sendo Morretes o município de maior produção em nível estadual, com uma produtividade média de 540/t ofertadas ao mercado interno e externo-safra 2005/06 representando cerca de 70% a 90% do volume de exportações brasileiras de gengibre “in natura” e, praticamente, a totalidade do gengibre que abastece a Região Metropolitana de Curitiba-PR (PARANÁ, 2012).

A composição química do gengibre, segundo Newall et al. (2002), tem como principal componente carboidratos (até 50%); lipídeos (6-8%) dentre eles ácidos graxos livres como ácido palmítico, ácido oléico, ácido linoléico, outros; óleo-resina como os homólogos de gingerol que é seu principal componente (cerca de 33%), a zingerona e, também, os óleos voláteis, com um percentual de 1-3% que têm como constituintes o

zingibereno (principal), felandreno, canfeno, dentre outros e além do rizoma são aproveitadas as flores do gengibre, onde estudos no Brasil relatam a utilização da inflorescência no preparo de chás. A Figura 1 a e b mostra as inflorescências e os rizomas de gengibre.



Figura 1. Inflorescência do gengibre (a) e Rizomas de gengibre (b).

2.2.2 Fécula de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), da família das Euforbiáceas, é uma espécie de origem latino-americana e sua produção está voltada principalmente para o consumo humano. Mais de 80 países produzem mandioca, sendo que o Brasil participa com mais de 15% da produção mundial, com cerca de 25 milhões de toneladas de raízes. De fácil adaptação, a mandioca é cultivada em todos os estados brasileiros, situando-se entre os nove primeiros produtos agrícolas do País, em termos de área cultivada, e o sexto em valor de produção (MATSUURA et al., 2003).

A mandioca possui alto teor de amido, apresentando mais de trezentas variedades e é originária do continente americano, provavelmente do Brasil, América Central ou México (MENDES, 1992).

Por apresentar elevado teor de amido e baixos teores de gorduras, proteínas e cinzas, é uma matéria-prima adequada para obtenção de diversos produtos por hidrólise.

De acordo com Cereda (2002) a mandioca (Figura 2) é uma planta de grande importância econômica, embora seu consumo de certo modo concentre-se no Nordeste, no Norte e no Centro-Oeste, ela está presente em todo o território nacional. Mandioca, aipim ou macaxeira são alguns nomes vulgares dessa euforbiácea, vegetal com uma grande variedade de exemplares.

Segundo dados da Embrapa a produção brasileira de mandioca em 2009 se destaca nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde o Pará atinge valores de 4.548.748 toneladas, sendo o estado de maior produção e em seguida o Paraná com 3.654.710 toneladas.

Dados do CEPEA – ESALQ/USP (2011) demonstram que a produção de fécula no Brasil em 2009 tem destaque para os Estados do Paraná com produção de aproximadamente 404,26 mil toneladas, seguido dos estados de Mato Grosso do Sul produzindo cerca de 80,80 mil toneladas e São Paulo com produção de 50,73 mil toneladas.



Figura 2- Raízes de mandioca

Na Tabela 1 são apresentados dados sobre as características físico-químicas de amostras de amido de mandioca.

Tabela 1- Composição físico-química do amido de mandioca

Componente	Mandioca
% matéria seca	
Proteína (n x 6,25)	0,90
Matéria graxa	0,78
Amido	98,20
Fibras	0,60
Cinzas	0,23
Outros carboidratos	---
Amilose % amido	17,65
pH	5,9
Acidez titulavel (*)	1,29
Temperatura gelatinização	63°C

(*) ml de NaOH N 100 ml --- dados não disponíveis

Fonte: Cereda et al. (1990).

2.2.2.1 Amido

O amido é produto final do processo fotossintético e constitui reserva de carbono nas plantas. Sua formação ocorre devido à atividade combinatória de algumas enzimas, tanto nas organelas fotossinteticamente ativas, onde o amido é reserva temporária, quanto nos amiloplastos de órgãos de reserva (FRANCO et al., 2001).

Sendo a principal substância de reserva nas plantas superiores, fornece cerca 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem. A matéria prima é disponível em quantidade suficiente e os processos industriais permitem que o amido seja extraído com elevada pureza (CEREDA et al., 2001).

A Legislação Brasileira afirma que fécula e amido são sinônimos, definindo amido como o produto amiláceo extraído das partes aéreas comestíveis dos vegetais, e fécula, como o produto amiláceo das partes subterrâneas comestíveis: tubérculos, raízes e rizomas. A diferença de nomenclatura indica a origem do produto amiláceo, uma diferenciação tecnológica, e não de composição química (ABAM, 2004).

O armazenamento do amido sob forma de grânulos é um processo conveniente para a planta, uma vez que é uma fonte insolúvel de energia, a qual pode ser gradualmente tornada aproveitável através da ação de enzimas, sem aumentar a pressão osmótica (CEREDA et al., 2001).

Tem sido tradicionalmente usado na indústria de alimentos como ingrediente ao mesmo tempo com valor calórico e melhorador das propriedades funcionais em sistemas alimentícios. Dependendo do tipo, o amido pode, entre outras funções, servir para facilitar o processamento, fornecer textura, servir como espessante, fornecer sólidos em suspensão e proteger os alimentos durante o processamento (CEREDA et al., 2001).

2.2.2.1.1 Estrutura do amido

Nas células vegetais, os grânulos de amido são formados dentro de estruturas especiais denominadas amiloplastos, envolvidos por uma matriz protéica denominada estroma. Ao microscópio óptico, o grânulo de amido parece ser constituído de uma massa homogênea, mas por análise comparativa a outros grânulos, nota-se variações no formato, tamanho e simetria. Quanto ao tamanho e a forma, estes são característicos das plantas e no geral os grânulos de amido possuem diâmetro que variam de 1 a 100 μm , sendo que os originários de cereais possuem menores diâmetros e maior concentração de proteínas e lipídios (GALLIARD; BOWLER, 1987).

A maioria dos grânulos é oval, embora apresente formas redondas, esféricas, poligonais e também formas irregulares. Quando observados em microscópio eletrônico de varredura, todos os grânulos apresentam superfície lisa, sem nenhuma fissura. O tamanho dos grânulos de mandioca variou de 5 a 40 μm e a forma pode ser classificada como redonda (HOOVER, 2001).

O tamanho e a forma de grânulos de amido estão entre os fatores de importância na determinação de usos potenciais de amidos. Com relação ao amido de gengibre, Leonel et al. (2005) observaram grânulos de amido com formas circulares e ovaladas, achatadas, com tamanho variável. A amplitude de variação de diâmetros maiores dos grânulos de amido foi de 9,6 a 26,4 μm e diâmetros menores de 7,7 μm a 24,9 μm , com média de 14,5 μm (Figura 3a). As distribuições de frequências de diâmetros mostraram uma

maior variação no diâmetro maior devido às formas observadas, com maior frequência de grânulos com diâmetro maior (14 a 16 μm).



Figura 3- Microscopia de grânulos de amido de gengibre (a) e mandioca (b) observados em microscópio eletrônico de varredura (aumento 1440x). Fonte: Leonel et al. (2005).

2.2.2.1.2 Composição do amido

Quimicamente, pode-se afirmar que o amido é um polímero formado pela reação de condensação de moléculas de α -glicose (Figura 4) com eliminação de água. Amidos são polissacarídeos, ou seja: carboidratos que, por hidrólise, originam uma grande quantidade de monossacarídeos. São polímeros naturais. Portanto, os polissacarídeos são macromoléculas formadas pela união de muitos monossacarídeos.

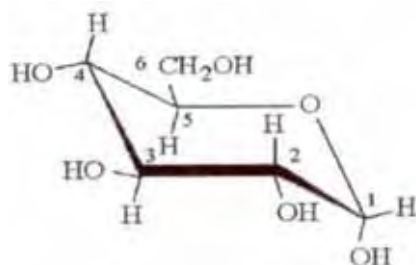


Figura 4- Molécula de glicose. Fonte: Swinkels (1985).

Segundo Biliaderis (1991) os grânulos de amido são formados, basicamente por dois polímeros, a amilose e amilopectina (Figura 5a e 5b). A funcionalidade dos amidos está diretamente relacionada a essas duas macromoléculas e também a organização física das mesmas, dentro da estrutura granular.

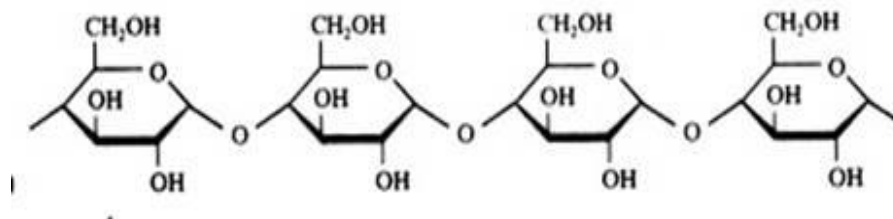
De acordo com Thomas e Atwell (1999) a amilose é um polímero essencialmente linear composto quase que exclusivamente de ligações α -1,4 de D-glucopirranose. Segundo Buléon, et al. (1998) a amilose também é constituída por cerca de 6000 resíduos de glicose unidos por ligações glicosídicas do tipo α -1,4.

Outro atributo bem conhecido da amilose é sua habilidade de formar gel, depois do grânulo de amido ter sido cozido, isto é, gelatinizado. A formação do gel decorre principalmente da reassociação (chamado de retrogradação) dos polímeros de amido solubilizados depois de cozidos e pode acontecer bem rapidamente com polímeros de cadeia linear (THOMAS; ATWELL, 1999).

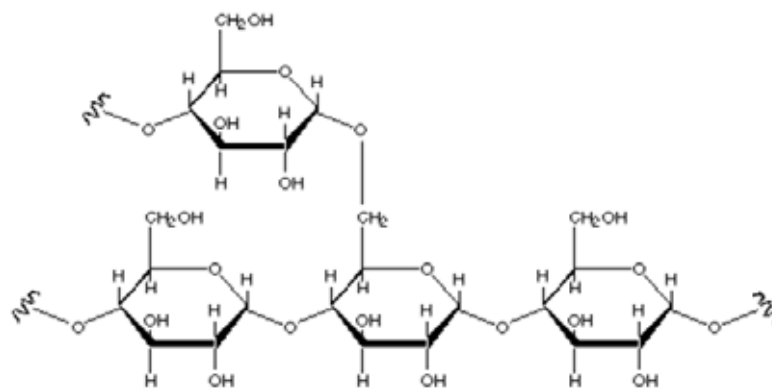
Segundo French (1984), a amilopectina é uma macromolécula altamente ramificada formada por unidades de D-glicose ligadas em α -1,4 e com 5 a 6% de ligações α -1,6 nos pontos de ramificação. A grande maioria dos amidos contém 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina e essa razão varia com a fonte botânica.

Em estudos realizados por Leonel et al. (2005) quanto ao teor de amilose, o amido de gengibre apresenta 20,38% valor próximo aos 22,2% encontrados por Reyes et al. (1982) para amido deste mesmo vegetal e inferior aos 28,2% observados por Peroni (2003). A variabilidade nos resultados encontrados na literatura pode decorrer do uso de diferentes metodologias e também de fatores como variedade e idade da planta.

De acordo com Swinkels (1985), amido de batata com aproximadamente 21% e amido de mandioca com 17% possuem baixo conteúdo de amilose quando comparados aos 28% dos amidos de milho e trigo.



(a)



(b)

Figura 5– Estrutura molecular da amilose (a) e da amilopectina (b). Fonte: Thomas; Atwell, 1999.

2.2.2.1.3 Propriedades do amido

O fenômeno de gelatinização ou gelificação do amido é extremamente importante para vários sistemas alimentícios. Grânulos de amido nativos são insolúveis em água abaixo de sua temperatura de gelificação. Eles expandem um pouco em água fria (10-20%), devido à difusão e absorção de água dentro das regiões amorfas, entretanto, esta expansão é reversível pela secagem (BILIADERIS, 1991). De acordo com Morrison (1995), nas zonas amorfas os componentes que expandem são amilose e um pouco de amilopectina. Essa expansão é limitada por ser severamente restringida pelas camadas essencialmente contínuas de amilopectina cristalina. Este autor considera que esse grau de expansão seja reversível porque as camadas cristalinas não são perturbadas.

A determinação do poder de inchamento e solubilidade é realizada em temperaturas elevadas, promovendo a quebra de pontes de hidrogênio. As moléculas de água fixam-se deixando livres grupos hidroxila e os grânulos continuam a intumescer, resultando no aumento da solubilidade do amido (LIMBERGER et al., 2008). A consequência direta do intumescimento é o aumento na solubilidade, claridade e viscosidade da pasta de amido (DINIZ, 2006). Com o aquecimento do sistema, ocorre um aumento na capacidade de absorção de água, sendo esta uma característica muito importante, uma vez que a qualidade de um alimento está frequentemente associada à retenção de água pelos grânulos de amido expandido (ASQUIERI, 1990). Poder de inchamento e solubilidade variam de acordo com a fonte dos domínios amorfos e cristalinos (SINGH et al., 2003).

Os amidos de raízes e tubérculos possuem baixa temperatura de pasta, baixa resistência ao atrito mecânico e baixa tendência a retrogradação quando comparados com amido de cereal normal, sendo estas propriedades atribuídas à ausência de lipídeos e fosfolipídeos (LIM et al., 1994).

O amido de mandioca possui um alto grau de inchamento, resultando em alto pico de viscosidade seguido de rápida quebra no gel. Durante o período de resfriamento, sua consistência aumenta um pouco, indicando baixo potencial para formação de gel. A tendência à retrogradação do amido de mandioca pode ser determinada pela afinidade dos grupos hidroxilas de uma molécula para outra ocorrendo principalmente entre as moléculas de amilose, e sua baixa tendência a retrogradação pode ser devida ao peso molecular da fração de amilose (RICKARD et al., 1991).

Além das propriedades de pasta, as propriedades térmicas dos amidos determinadas por Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) também podem ajudar a determinar sua funcionalidade (KRIEGER et al., 1997). Cada amido tem suas temperaturas características de gelatinização (temperatura inicial (T_o), de pico (T_p), de conclusão (T_c) e entalpia de gelatinização (ΔH) (TESTER, 1997). Noda et al. (1996) concluíram que esses parâmetros do DSC são influenciados, principalmente pela arquitetura molecular da região cristalina, o que corresponde à distribuição das cadeias curtas de amilopectina (DP 6-12), e não pela razão entre amilose e amilopectina da região cristalina.

A gelatinização é representada pelo intervalo de temperatura ($t_f - t_0$) e quando a temperatura final é alcançada, as duplas hélices já estão dissociadas. Altas temperaturas de transição são o resultado de um alto grau de cristalização, que indica elevada estabilidade estrutural e maior resistência a gelatinização (SINGH et al., 2003). A retrogradação descreve as mudanças que ocorrem durante o resfriamento e armazenamento de produtos que contenham amido. Basicamente, se refere à associação e recristalização do amido em água, que ocasiona precipitação, formação de gel firme e mudanças na consistência e opacidade do gel. O efeito negativo da retrogradação mais comum que ocorre em produtos processados é o decréscimo da estabilidade do produto, que diminui o tempo de armazenamento do mesmo (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996).

As propriedades da pasta do amido de gengibre, avaliadas pelo Rápido Visco Analisador por Leonel et al. (2005), mostraram temperatura de pasta ($91,1^{\circ}\text{C}$), muito superior as observadas em amido de outras tuberosas como a batata ($64,8^{\circ}\text{C}$) e a mandioca ($66,7^{\circ}\text{C}$) (LEONEL et al., 2002).

O pico de viscosidade em dada concentração é uma característica importante que distingue amidos de diferentes espécies. A viscosidade máxima do amido de gengibre encontrada por Leonel et al. (2005) foi de 76,9 RVU. O pico de viscosidade desse amido pode ser considerado bastante inferior aos encontrados em amidos de outras tuberosas amiláceas como a mandioca (247,8RVU) e a batata (753,6RVU) no trabalho de Leonel et al. (2002).

A quebra de viscosidade do amido de gengibre é próxima de zero, evidenciando elevada estabilidade térmica e mecânica, ou seja, em temperaturas elevadas e sob agitação mecânica os grânulos deste amido resistem à quebra e, portanto, a redução de viscosidade (LEONEL et al., 2005). Reyes et al. (1982) atribuíram esta elevada resistência do amido de gengibre a presença de forças de ligações homogêneas e a um elevado grau de associação entre os componentes deste amido, mantendo a estrutura granular.

2.3 Processo de hidrólise-sacarificação do amido

Para a produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas faz-se necessária a hidrólise do amido, pois este não é fermentado pela levedura alcoólica. A

hidrólise dos biopolímeros constituinte dos grânulos de amido quebra as ligações glicosídicas progressivamente, gerando cadeias mais curtas de dextrina, maltose e glicose. No processo de hidrólise, além de água, há necessidade de catalisadores químicos ou enzimáticos capazes de catalisar a quebra das ligações glicosídicas, além da temperatura.

A hidrólise do amido se dá por desdobramento total das moléculas de amilose e amilopectina, que, ao se romperem transformam-se em dextrinas cada vez mais simples e finalmente glicose. O amido não tem sabor, mas os produtos de uma hidrólise intensa apresentam sabor adocicado (FRANCO et al., 2001).

A hidrólise do amido, tanto para fins analíticos quanto para fins industriais, pode ser feita por dois processos: químico e enzimático. O método mais tradicional de hidrólise de amidos usando ácidos tem sido substituído por processos enzimáticos, contabilizados por aproximadamente 15% da porção do mercado mundial de enzimas (SONI et al., 2003).

A hidrólise enzimática de amidos não é apenas um importante processo industrial para a produção de adoçantes, xaropes e produtos químicos (etanol, acetona, etc.), mas pode também ajudar a estudar a estrutura dos grânulos de amido (LI et al., 2004).

O processo de hidrólise enzimática do amido é realizado em duas etapas: a liquefação e a sacarificação. Como o amido é uma estrutura rígida, inicia-se o processo com a gelatinização, visando facilitar a ação enzimática, o que reduz o tempo de processamento e melhora a qualidade final de produtos (TAFFARELLO, 2004).

No processo de liquefação, os grânulos de amido são dispersos em solução aquosa, aquecidos (causando a gelatinização) e hidrolisados parcial e irreversivelmente, com auxílio de enzima α -amilase. A temperatura de gelatinização varia bastante entre os amidos de diferentes fontes botânicas, oscilando na faixa de 65 a 105°C, sendo necessário muitas vezes o emprego de altas temperaturas para a total gelatinização (BEYNUM et al., 1985).

O aquecimento de uma solução de amido em tais temperaturas resulta no inchaço da região amorfa do grânulo, causando a ruptura das ligações químicas mantenedoras da estrutura ordenada e a abertura da lamela cristalina, tornando o amido altamente hidratado e vulnerável a reações químicas, como a ação das enzimas amilolíticas.

Após a liquefação, a solução de maltodextrina é hidrolisada a glicose por uma enzima desramificante, seja endoenzima (isoamilase e pululanase) ou uma exoenzima (β -amilase e glicoamilase), atuando sobre as ligações glicosídicas α -1,6 da amilopectina. O resultado dessa segunda etapa é uma solução de sacarídeos de baixo peso molecular como glicose e maltose (TAFFARELLO, 2004).

Detalhes a respeito da estrutura, organização e arranjo dos grânulos de amido podem ser obtidos estudando os resíduos resultantes da hidrólise ácida ou enzimática (BULÉON et al., 1998).

As amilases são enzimas que atuam hidrolisando cadeias de amido, sendo que as α , β e glucoamilases quebram as ligações glicosídicas α -1,4, enquanto as pululanases e isoamilase atuam nas ligações α -1,6 (EL-DASH et al., 1982; OBEL, 2001).

As α -amilases hidrolisam a cadeia de amido, produzindo dextrinas, que podem ser hidrolisadas pelas β -amilases em maltoses ou em glicose pelas amiloglicosidases. As moléculas de maltose são fermentadas mais lentamente que as moléculas de glicose (KRUGER et al., 1987).

A Termamyl é um preparado enzimático líquido e concentrado, a base de α -amilase termo-estável, produzido a partir de uma cepa selecionada de *Bacillus licheniformes*. A enzima hidrolisa as ligações α -1,4 da amilose e da amilopectina, convertendo rapidamente o amido em dextrinas e oligossacarídeos solúveis.

A Termamyl foi especificamente desenvolvida para promover a liquefação (dextrinização) do amido e produção de maltodextrinas. Possui aparência líquida não viscosa de cor marrom escuro e densidade de 1,2 g/mL. O pH ótimo de ação enzimática está entre 6 e 8 e temperatura de 90 a 105°C, devendo-se adicionar no meio de reação de 30 a 60 mg/Kg de cálcio a fim de otimizar a atividade da enzima (NOVOZYMES, 2011).

A amiloglicosidase é uma enzima sacarificante utilizada para produzir glicose a partir do amido, hidrolisando ligações tipo α -1,4 e α -1,6. A ação da amiloglicosidase é lenta no ataque inicial a amilose, pois sendo uma exoenzima, somente atua a partir da extremidade não-redutora e não penetra no interior da estrutura helicoidal da amilose (FUJII et al., 1988; OBEL, 2001).

As principais aplicações das amiloglucosidases estão no processo de panificação, produção de xaropes e álcool. Estas enzimas são termoestáveis (55 - 60°C) em soluções acidificadas (pH 4,0 - 5,5) (PIMENTEL, 1987).

Durante a hidrólise, eliminam-se gradualmente as unidades de glicose da extremidade não redutora do sacarídeo. A velocidade de hidrólise depende do tipo de ligação e do comprimento da cadeia.

A AMG é recomendada para sacarificação do amido na produção de glicose. Possui aparência líquida não viscosa de cor marrom claro e densidade 1,2 g/mL. O pH ótimo de ação enzimática está entre 4 e 4,5 e temperatura de 58 a 60°C (NOVOZYMES, 2011).

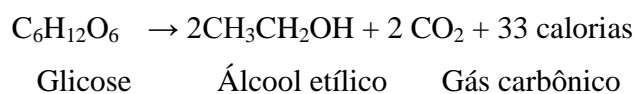
2.4 Fermentação alcoólica

A fermentação é uma transformação bioquímica provocada num substrato por fermento vivo ou por princípio ativo extraído deste fermento. O setor alcooleiro no Brasil utiliza-se de leveduras do gênero *Saccharomyces*, predominantemente a espécie *Saccharomyces cerevisiae* e suas diversas linhagens. Nas grandes indústrias produtoras de etanol são usadas leveduras de panificação prensadas e secas, ou leveduras selecionadas, com tolerância a altos teores de etanol e com boa velocidade de fermentação (BELLUCO, 2001).

As leveduras são organismos eucariotos e suas estruturas correspondem basicamente aquelas de outras células eucarióticas. As células são esféricas, elípticas ou cilíndricas, variando grandemente em suas dimensões. A reprodução ocorre por gemação, esporulação ou fissão, sendo mais comum a gemação ou brotamento (LIMA et al., 2001).

Ao iniciar o processo de produção de vinagre, primeiramente, a matéria-prima deve passar pelo processo de fermentação alcoólica e, em seguida, para fermentação acética.

No processo de fermentação alcoólica de açúcares, os principais produtos, álcool etílico e gás carbônico, são produzidos em proporções equimolares, conforme a equação de Gay-Lussac.



A fermentação alcoólica é um processo anaeróbio. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é, em geral, a principal no processo.

As fermentações alcoólicas e acéticas devem ocorrer de forma separada. Caso a fermentação acética inicie sem que a fermentação alcoólica tenha sido finalizada, ocorrerá a inibição das leveduras, proporcionando resíduos de açúcares não convertidos, gerando baixa acidez. A temperatura ideal para a fermentação alcoólica está na faixa de 25°C e o pH ótimo é 4,5 (WOOD, 1998).

Para o processo de fermentação alcoólica proporcionar um produto final de boa qualidade, o melhor é partir de uma cultura pura da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Em relação à fermentação acética, o mais indicado é utilizar uma cultura mista de bactérias acidificantes e de mesmo gênero (AQUARONE et al., 2001).

Durante a fermentação alcoólica, os açúcares são transformados em (%): de 2,5 a 3,0 em glicerol; 0,2 a 0,4 em ácido láctico; de 0,02 a 0,10 em ácido succínico; de 0,2 a 0,7 em ácido acético; de 0,05 a 0,10 em butilenoglicol; e cerca de 1 a 2 utilizados no crescimento e na respiração da levedura (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

A temperatura de fermentação é extremamente importante: a baixa temperatura permite obter alto rendimento em álcool, não só pela fermentação mais completa, mas também por minimizar a perda de evaporação. A temperatura também afeta a velocidade de fermentação e a natureza e quantidades de compostos secundários formados. A temperatura ótima para a fermentação na maioria das leveduras para vinho é de 25°C a 30°C, embora existam leveduras que atuam a baixa temperatura, ao redor de 10°C (AQUARONE, 1983).

2.5 Fermentação acética

A fermentação do vinagre, na verdade um processo oxidativo, consiste na oxidação de soluções diluídas de etanol por *Acetobacter sp.* com oxigênio do ar

para ácido acético e água. A solução alcoólica é chamada de calda. Esta deve conter etanol, água e nutrientes para a bactéria acética (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

Na fermentação acética o etanol é oxidado a ácido acético. Essa etapa é feita por bactérias acéticas em meio aeróbio (SACHS, 1990). Além do ácido acético são produzidas pequenas quantidades de outros produtos como aldeídos, cetonas, ésteres e outros ácidos orgânicos, sendo o acetaldeído o composto secundário predominante (SACHS, 1990).

A fermentação acética é realizada por um conjunto de bactérias do gênero *Acetobacter* ou *Gluconobacter*, pertencentes à família *Pseudomonaceae* (AQUARONE et al., 2001).

Para a fermentação acética não é comum o uso de culturas puras. Emprega-se uma microflora mista de *Acetobacter* contendo diferentes espécies ou variedades dessa bactéria, que é considerada a mais eficiente (AQUARONE et al., 2001, SACHS, 1990). Assim, após o término da fermentação alcoólica, inocula-se o vinho com essa mistura de bactérias úteis e ativas adicionando “vinagre forte”, que é o vinagre não diluído e não pasteurizado de uma fermentação anterior, contendo altas concentrações de bactérias acéticas (AQUARONE et al., 2001).

Embora mais de 100 espécies, subespécies e variedades do gênero *Acetobacter* tenham sido classificadas através dos anos, poucas são aquelas com qualidades industriais, isto é, produzir concentrações elevadas de ácido acético; não formar material viscoso; de preferência, não ter capacidade para completar a oxidação até anidrido carbônico e água; ter tolerância a concentrações razoáveis de ácido acético; trabalhar em temperaturas entre 25°C e 30°C (SACHS, 1990).

As bactérias do gênero *Acetobacter* são bastonetes elipsoidais, retos ou ligeiramente curvos. Quando jovens são gram-negativas e as células velhas são gram variáveis. Apresentam a capacidade para oxidar a molécula do etanol e do ácido acético a CO₂ e H₂O. Formam película ou crosta na superfície da cultura, vulgarmente chamada de “mãe do vinagre”, de onde partem os repiques. Essas películas variam de acordo com a espécie, podendo ser delgadas, espessas, contínuas ou em ilhas (AQUARONE et al., 2001).

São comumente encontradas em frutas e vegetais e estão envolvidas na acidificação bacteriana de sucos de frutas e bebidas alcoólicas, cerveja, vinho, produção de vinagre e fermentação de sementes de cacau (SACHS, 1990).

As espécies de interesse industrial são: *Acetobacter aceti*, *A. xylinoides*, *A. orleanense*, *A. acetigenum*, *A. schuetzenbachii*, *A. curvum* e *A. rances* (AQUARONE et al., 2001).

Descrições clássicas desses microrganismos informam que *A. aceti* suporta 11% de álcool e produz 6,5% de ácido acético; sua temperatura ótima de crescimento é 34°C entre extremos de 5°C e 42°C; *A. orleanense* tem um ótimo entre 20°C e 25°C, e os extremos são 15°C e 30°C (AQUARONE et al., 2001).

Esta reação ocorre em duas etapas. No primeiro passo o etanol é transformado em acetaldeído ao nível da membrana citoplasmática através da enzima álcool desidrogenase, ligada ao NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) ou ao NADP que agem como aceptores intermediários de hidrogênio, formados durante o processo de respiração, o que torna indispensável a viabilidade celular para que ocorra o processo fermentativo.

O acetaldeído formado é, então, hidratado e sofre uma nova oxidação, pela ação da enzima acetaldeído-desidrogenase ligada ao NADP, que leva a formação do ácido acético.

Assim, durante a fermentação acética, outra fonte de carbono energia, além do etanol, é também oxidada. Esta fonte, normalmente, é a glicose.

A formação de ácido acético a partir do etanol é efetivada por bactérias do ácido acético (*Acetobacter*) detectada pela primeira vez por Pasteur, citado por Asai (1968) que classificou várias espécies de *Acetobacter* quanto à produção de ácido acético (Tabela 2).

Tabela 2- Classificação das bactérias e produção de ácido acético (ASAI, 1968).

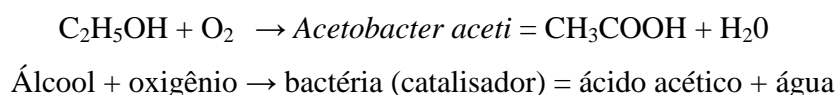
Bactérias produtoras de ácido acético	% de ácido produzido
<i>A.oxydans</i>	2,0%
<i>A.acetigenus</i>	2,7%
<i>A.xylinum</i>	4,5%
<i>A.pasteurianus</i>	6,2%
<i>A.acetis</i>	6,6%
<i>A.kuentzingianus</i>	6,6%
<i>A.ascendens</i>	9,0%
<i>A.schutzenbavii</i>	10,9%

Bioquimicamente, as linhagens de *Acetobacter* realizam processos catabólicos por aerobiose e anaerobiose e, também, a síntese de polissacarídeos. É de interesse industrial o catabolismo oxidante aeróbio de alcoóis e açúcares, usado na fabricação de ácido acético ou de vinagre. Apesar da facilidade de obtenção por via microbiana, uma grande quantidade de ácido acético é obtida por via química. No entanto, a via fermentativa é a única forma usada na fabricação do vinagre (BARUFFALDI, 1975).

A fermentação industrial de maior importância conduzida pelas bactérias acéticas superoxidativas, é a produção de vinagre. No processo de produção de vinagre não existe um rígido controle biológico entre as espécies de bactérias, pois devido a grande quantidade de ácido e álcool do substrato evita-se o crescimento de outros microorganismos que não sejam do gênero *Acetobacter* (CANHOS, 1975).

As culturas puras da bactéria do ácido acético não são usadas na prática para a produção de vinagre, pois têm mostrado serem menos eficientes do que culturas mistas. Os processos industriais também seguem esse procedimento. As próprias condições do meio, tais como pH baixo, presença de etanol, aeração e temperatura, selecionam naturalmente as espécies mais adaptadas (ZANCANARO, 1988; SPINOSA, 1996).

A fermentação acética pode ser definida como um processo aeróbio de fermentação biológica (favorável termodinamicamente), durante o qual um substrato com uma concentração de etanol de 50 a 100g/L é parcialmente oxidado pela ação da bactéria do ácido acético, para produzir ácido acético e água como mostra a equação abaixo:



O resultado é uma solução com uma alta concentração de ácido acético e uma pequena quantidade de etanol residual não convertido, junto com um bom número de produtos secundários. A maioria das variáveis que influenciam no metabolismo da bactéria do ácido acético é concentração de etanol e ácido acético, concentração de oxigênio dissolvido e concentração de SO₂, densidade da população e temperatura de cultivo (ORY et al., 1998).

2.6 Processos de produção

Os principais processos industriais utilizados para a fabricação de vinagres são baseados nos métodos de Orleans, Alemão ou Submerso.

2.6.1 Processo de Orleans ou lento

Conhecido e utilizado desde a antiguidade, teve o início de seu aprimoramento tecnológico há cerca de 200 anos, ao observar-se que quando barricas contendo vinho não estavam cheias, apresentavam “avinagramento” mais rápido devido à maior superfície em contato com o ar, e, portanto, sujeita a maior aeração. Foi então apenas um passo o estratagema de se facilitar ainda mais essa aeração através de orifícios, como manter o barril em posição horizontal, utilizar volumes de vinhos menores, promover aberturas laterais para passagem de ar, etc. (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

A Figura 6 esquematiza o recipiente utilizado para a obtenção de vinagre de vinho por esse processo.

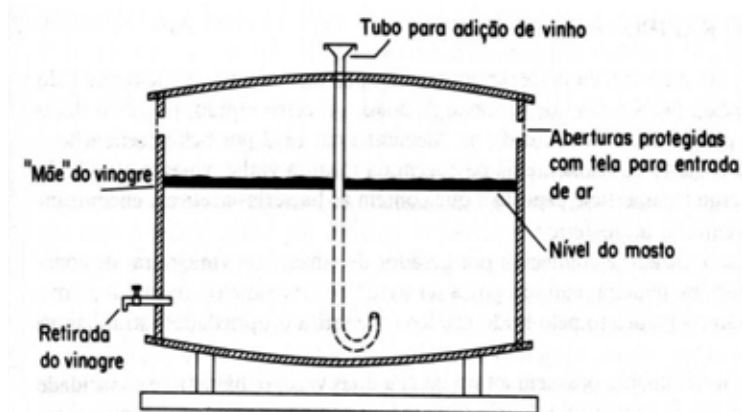


Figura 6- Recipiente usado no processo de Orleans para a produção de vinagre. Fonte: (AQUARONE et al., 2001).

O vinagre é elaborado em barris de mais ou menos 200 litros, furando-o na parte superior, fazendo-se alguns orifícios para a entrada de ar. O procedimento consiste em colocar no barril cerca de um terço de sua capacidade com vinagre, vai-se adicionando quantidades de vinho ou o fermentado de fruta entre 10 a 15 litros por semana, durante um mês. Ao fim de quatro semanas se extraem aproximadamente 15 litros de vinagre, substituindo-se por outro tanto de vinho novo, repetindo-se desta forma o processo ao longo do tempo (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

O vinagre retirado não deve conter mais que 1°GL e, caso o teor de álcool esteja mais alto, deve-se aguardar mais alguns dias de fermentação (AQUARONE et al., 2001).

A temperatura ambiente para este processo não deve exceder 25°C, evitando-se assim perdas de álcool por evaporação. Todas as entradas e janelas do prédio, assim como as aberturas do barril, devem ser protegidas com telas finas para evitar a presença de moscas e outros insetos que são atraídos pelos odores dos vinagres (AQUARONE et al., 2001).

O produto formado pelo processo lento é um vinagre de boa qualidade, praticamente limpo, que dispensa filtração ou clarificação. No entanto, este tipo de processamento é de baixa produtividade, ocupa muito espaço e atualmente é usado exclusivamente para a produção doméstica. No caso, o fator limitante para a quantidade

produzida é o fornecimento de oxigênio, já que este equipamento não conta com nenhum tipo de aerador.

2.6.2 Processo Alemão ou rápido

Os processos rápidos são bastante utilizados atualmente. Foram idealizados por Boerhave no começo do século XVIII, ao descobrir que a transformação do vinho de maçãs em vinagre era bastante rápida quando deixava passar o vinho, através de um recipiente cheio de bagaços de maçã (AQUARONE et al., 2001). Atualmente são utilizados recipientes geradores, empacotados com material de enchimento dos mais diversos (por exemplo, a madeira). As bactérias acéticas colonizam a superfície do material e oxidam etanol a ácido acético. A matéria-prima é recirculada desde a parte inferior da tina até a parte superior. Este material passa pela madeira, sabugo ou carvão, onde as bactérias acéticas ficam fixadas, transformando o conteúdo alcoólico em ácido acético. A recirculação ocorre quantas vezes forem necessárias até a total transformação (CASTELO, 2002).

Uma vez ocorrido o processo total, se descarrega a metade da tina de depósito, voltando a introduzir a mesma carga de vinho base. Um problema deste tipo de equipamento é que o material de enchimento acaba tendo que ser totalmente substituído a cada ano, pois as bactérias formam um material gelatinoso que obstrui a passagem da mistura (CASTELO, 2011).

Por este processo se obtém um vinagre bom, porém com baixo rendimento. A Figura 7 mostra o gerador utilizado para a produção de vinagre.

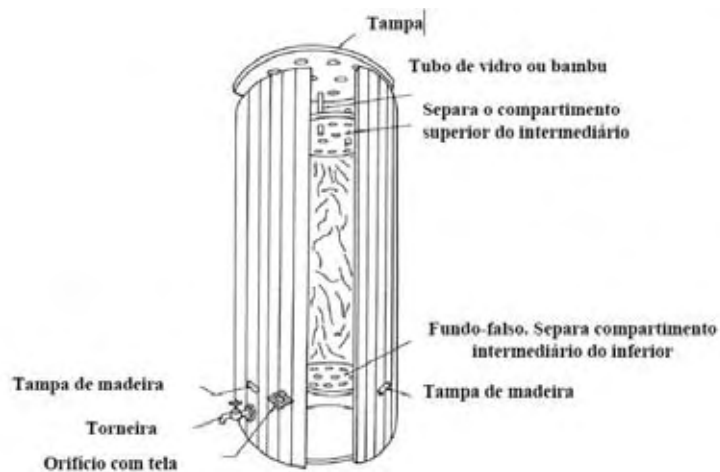


Figura 7- Modelo de representação de um gerador utilizado para o processo de fermentação acética. Fonte: (MARTINELLI-FILHO, 1982).

Os geradores têm tamanhos e formas diferentes. O tamanho varia entre 15 a 30 cm de diâmetro por 20 a 60 cm de altura. Geralmente são de forma cilíndrica e têm, no fundo, um suporte perfurado que sustenta o material de enchimento. Pelos orifícios de suporte, passa o ar a ser utilizado na oxidação. O material de enchimento deve formar grande superfície, para permitir o contato íntimo entre líquido e ar, facilitando as trocas, sendo utilizadas fibras de coco, carvão-coque, sabugo de milho ou outras. Sobre o material de enchimento descansa uma placa crivada, para permitir uma perfeita distribuição do vinho que cai de um torniquete hidráulico ou de um bico aspersor, colocado na parte superior (AQUARONE et al., 2001).

A acidez aumenta progressivamente conforme o líquido vai sendo passado, sucessivamente, duas ou três vezes pelo mesmo gerador ou através de geradores em série. Sendo o processo exotérmico, o líquido deve ser resfriado antes de entrar novamente para o gerador (AQUARONE et al., 2001).

2.6.3 Processos Submersos

Surgiram em 1950. O método se baseia em manter a cultura de bactérias acéticas submersas no vinho a acetificar, com um suprimento abundante de ar. Após a acetificação da matéria-prima, é feita a descarga de uma parte de vinagre, sendo

reposta com uma parte de vinho, sem parar o processo. O processo de transformação leva em média 20 horas (CASTELO, 2011).

O substrato alcoólico, por esse processo, pode ser fermentado trinta vezes mais rapidamente que por qualquer outro processo. Neste processo, o ar deve ser controlado cuidadosamente, pois um decréscimo da pressão parcial de oxigênio altera o metabolismo bacteriano (AQUARONE et al., 2001).

O processo de acetificação é exotérmico e assim, deve permitir, através de serpentina, a dissipação térmica, possibilitando, dessa forma, o controle da temperatura dentro de uma faixa conveniente. O ótimo de temperatura de fermentação depende da concentração do substrato, sendo a mesma por volta de 28°C. Um disco giratório no espaço livre do tanque evita a formação de excessiva espuma (CASTELO, 2011).

O processo de fermentação submersa apresenta uma série de vantagens como, alta eficiência podendo-se produzir diariamente cerca de 6% ou mais, de vinagre, rendimentos calculados em relação ao teórico, alcançam de 90 a 95%, e a praticidade que dispensa tratamentos de clarificação e de filtração, sendo onerosos e demorados.

A produtividade média desses acetificadores é igual a 1/4 de seu volume útil em litros de vinagre a 10% ao dia (AQUARONE et al., 2001). A Figura 8 mostra o acetificador Frings em aço inoxidável utilizado na produção de vinagre.



Figura 8- Acetificador Frings em aço inoxidável. Fonte: (TAKEMOTO, 2000).

2.7 Processamento final do vinagre

Antes de se colocar o produto para a comercialização este deve receber alguns tratamentos para melhorar e dar estabilidade ao produto final. Isto inclui o armazenamento após a fermentação, os processos de clarificação, filtração, envelhecimento, estabilização e envase.

Após o término da fermentação, o vinagre não deve permanecer na vinagreira, pois se isto ocorrer as bactérias não tendo mais álcool para metabolizar, começam a oxidar o ácido acético, enfraquecendo o vinagre (SACHS, 1990). Sendo assim, o vinagre já devidamente fermentado deve ser acondicionado em recipientes apropriados e serem mantidos sem o contato com o ar, pois sem oxigênio as bactérias são inibidas (SACHS, 1990).

A operação de clarificação pode ser feita por diversos processos: espontânea ou autoclarificação; físico-química, química ou desmetalização; mecânica, através de substâncias orgânicas e inorgânicas usadas como clarificantes (albumina, argilas, bentonita, caseína entre outras) (SACHS, 1990, AQUARONE et al., 2001).

A filtração pode ser definida como a separação de impurezas e de microrganismos do líquido com a ajuda de um material filtrante. É a operação que permite obter um vinagre límpido e brilhante (AQUARONE et al., 2001).

Os tipos de filtração mais utilizados são filtração a cartucho; filtração com extrato filtrante; membrana filtrante; filtro rotativo a vácuo e filtração por meio de fibras vegetais (AQUARONE et al., 2001).

De acordo com a matéria-prima utilizada, vinho ou suco de frutas, o vinagre deve ser envelhecido por um tempo superior, às vezes, um ano. Durante esse tempo, ocorrem reações de esterificação, responsáveis pelo desenvolvimento de aromas agradáveis (AQUARONE et al., 2001).

Com o envelhecimento o vinagre adquire um sabor e aroma mais suave perdendo a aspereza característica do produto novo (SACHS, 1990).

A etapa de estabilização do vinagre permite manter suas características físico-químicas e organolépticas durante o período de comercialização. Pode ser feita por métodos físicos ou químicos.

Os métodos físicos mais usados na indústria vinagreira são a pasteurização e a ultrafiltração. A pasteurização consiste em tratar o vinagre a temperaturas variáveis de 50 a 80°C de modo a destruir totalmente os microrganismos e desativar as enzimas que são predominantemente a causa mais importante das alterações (oxidação do ácido acético) do vinagre. O tratamento do vinagre mediante calor pode ser uma alternativa eficaz e segura para uma melhor conservação do produto (AQUARONE et al., 2001).

A pasteurização do vinagre pode ocorrer de duas maneiras, rápida ou alta, 75-80°C por 30-40 segundos, baixa ou lenta: 50-65°C por alguns minutos (20 a 30).

Os métodos químicos consistem na adição de substâncias que auxiliam na estabilização do vinagre. A legislação brasileira prevê como forma de estabilização do vinagre o uso de dióxido de enxofre (ANEXO II), num teor máximo de 0,02 g por 100 mL de vinagre de vinho. O vinagre deve ser embalado em material resistente que não sofra corrosão e que não transmita cor ou odores desagradáveis ao produto, geralmente são utilizadas garrafas de vidro, PVC ou polietileno, fechadas com tampas plásticas. Após o envase, é feita uma pasteurização a 60-66°C, durante 30 min. Pode-se também fazer a pasteurização contínua e embalar subseqüentemente (AQUARONE et al., 2001).

A retirada do ar é essencial para garantir a preservação do produto. Uma clarificação adequada, boa filtração, pasteurização e adição de conservantes são os parâmetros que definem a quantidade de ar a ser retirada no momento do envase (AQUARONE et al., 2001).

2.8 Fatores interferentes

A fermentação acética deve processar-se com o controle de alguns fatores que, desconhecidos, prejudicam seriamente o trabalho das bactérias ou, a qualidade do vinagre. Os principais fatores são: a concentração alcoólica, acidificação inicial, suprimento de oxigênio, perturbação da película de bactérias, temperatura e pH (MARTINELLI-FILHO, 1982).

A produção de um bom vinagre depende de uma série de fatores como a linhagem e a seleção do microrganismo, a matéria-prima, a concentração do álcool,

a temperatura de fermentação (na faixa de 20 ° a 30 °C), a quantidade de O₂, pH ótimo na faixa de 5 e 6, a maturação e a conservação, a clarificação, o envase, e a pasteurização (CASTELO, 2011).

2.8.1 Concentração alcoólica

O teor alcoólico afeta muito o desenvolvimento das bactérias ou a qualidade do vinagre, sendo que concentrações acima de 13% de álcool dificultam a acetificação, sendo o álcool oxidado de maneira incompleta. Industrialmente a concentração utilizada é de 6% de álcool etílico.

2.8.2 Acidificação inicial

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

2.8.3 Suprimento de oxigênio

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

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

2.8.4 Perturbação da película de bactérias

As bactérias nos processos lentos desenvolvem-se em forma de uma fina película sobrenadante chamada “mãe do vinagre”, que é constituída de bactérias acéticas e uma substância polímera gelatinosa produzida pelos próprios micro-organismos que se mantém em contato com o ar ambiente. A perturbação dessa película acarreta o seu

rompimento e, conseqüente, imersão. Submersas, as bactérias continuam a utilizar-se dos elementos nutritivos da matéria prima, porém pela privação do ar, deixam de produzir ácido acético.

2.8.5 Temperatura

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

Segundo Ory et al. (1998) alguns autores colocam a temperatura ótima entre 30 e 35°C, embora uma grande capacidade de adaptação a condições mais severas tenha sido relatada. Não existem referências específicas a nenhuma temperatura mínima para viabilidade, mas é considerado que um crescimento abaixo de 10°C dificilmente seja possível. Similarmente, não existem dados confiáveis sobre a temperatura máxima, mas supõe-se que seja por volta de 35°C.

2.8.6 pH

Em termos de pH a bactéria acética pode mostrar crescimento ótimo entre 5 e 6,5, embora mostre grande capacidade de sobreviver em pH entre 3 e 4 (ROMERO et al., 1994).

2.9 Composição de vinagres

A composição característica de um vinagre depende basicamente da matéria prima que o originou. Os vinagres obtidos de frutos ou de malte possuem composição mais complexa que o vinagre de álcool por conter praticamente todas as substâncias solúveis existentes na matéria-prima, ou que se formaram nos processos fermentativos alcoólicos e acéticos (AQUARONE et al., 2001).

O ácido acético ($\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}$), peso molecular 60,05616 e densidade 1,049 g/mL, é o componente principal dos vinagres quaisquer que sejam o

substrato alcoólico precedente, e sua concentração é expressa em graus acéticos (gramas de ácido acético por 100 mL de vinagre) (AQUARONE et al., 2001).

O vinagre é um produto de fácil acesso no Brasil, porém, pouco valorizado comercialmente devido, em parte, ao desconhecimento do consumidor de suas propriedades funcionais. Isto é um reflexo do pequeno número de pesquisas realizadas no país sobre este tema. Estudos realizados na Europa e Ásia comprovam o grande número de compostos funcionais presentes nos vinagres produzidos nestas regiões, aumentando ainda mais sua importância na dieta local. A descoberta do vinagre pelo homem se deu quase que simultaneamente às bebidas alcoólicas fermentadas, devido à próxima relação entre a produção de etanol e de vinagre (ADAMS, 1998).

Várias frutas originam o vinagre tais como a laranja, limão, maçã, pêra, figo, ameixa, caqui, abacaxi, pêsego, banana, amora, melancia mexerica, jaboticaba, caju, morango e uva. Podem também sofrer fermentação acética para a produção de vinagre algumas matérias-primas ricas em amidos, como batata, batata doce e mandioca que produzem os chamados vinagres de tubérculos amiláceos. Há também vinagres obtidos de materiais açucarados, como mel, melaço, xarope de açúcar, glicose, de efluentes e de aguardentes em geral. Tem se ainda o vinagre obtido a partir de cereais como cevada (existe vinagre de cerveja), centeio, trigo, milho e arroz (MORETTO, 1988; ADAMS, 1985).

O vinagre, com passar do tempo, torna-se mais suave com odor e sabor mais agradáveis devido às reações que ocorrem durante o processo de envelhecimento, com reações de esterificação que retiram ácidos e alcoóis do meio, fornecendo ésteres aromáticos. Outro tipo de reação que ocorre é as de oxidação do grupo aldeído, que conferem aspereza ao vinagre. Os vinagres de vinhos de frutas necessitam de alguns meses de envelhecimento enquanto os vinagres de álcool algumas semanas apenas. O envelhecimento deve ser conduzido de preferência em recipientes de madeira, sempre na ausência de ar, para evitar processos de oxidação do ácido acético, realizados por algumas espécies de *Acetobacter* (AQUARONE; ZANCANARO, 1983). A classificação dos tipos vinagres brasileiros é feita de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3- Classificação dos vinagres brasileiros.

Tipo de vinagre	Características
Vinagre de vinho tinto	obtido através da fermentação acética do vinho tinto
Vinagre de vinho branco	obtido através da fermentação acética do vinho branco
Vinagre de maçã	obtido através da fermentação acética do vinho de maçã
Vinagre de álcool	obtido através da fermentação acética do álcool

Fonte: (BELMONT, 2011).

Como condimento, o vinagre é usado em certos alimentos apenas com a finalidade de conferir sabor ácido ao produto, como nas saladas e maioneses. Em outros alimentos, além de conferir sabor e odor, o vinagre atua como conservante e agente de amaciamento do produto, como acontece nas carnes temperadas e legumes em conserva (ADAMS, 1998).

Cada tipo de vinagre tem seu sabor, pois na transformação do álcool em ácido acético preservam-se valiosas substâncias aromáticas das matérias-primas originais e outros ácidos orgânicos podem ser formados (SPINOSA, 2002).

Ao ser utilizado como alimento, o vinagre de frutas é mais nutritivo por conter mais substâncias assimiláveis pelo organismo, como vitaminas, ácidos orgânicos e mesmo proteínas e aminoácidos, originários do fruto e da fermentação alcoólica de que proveio. Além disso, os vinhos de fruta dão origem a vinagres mais suaves e menos agressivos ao paladar por ter seu pH atenuado pelas substâncias orgânicas presentes. O álcool etílico apresenta vantagens econômicas, pois é uma matéria prima cerca de seis vezes mais barata, se comparada ao vinho de uvas, o que incentiva a substituição do vinho de uvas por álcool de cana para a produção de vinagre, principalmente em regiões tropicais ou subtropicais com indústria alcooleira ou açucareira muito desenvolvida e com baixa produção de vinho de uvas (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

As propriedades preservativas do vinagre são utilizadas, principalmente contra fungos em pães, panetones e biscoitos, embora se saiba que as bactérias lácticas também sejam sensíveis ao ácido acético. Como agente de limpeza, o

vinagre é empregado em materiais metálicos (prata, alumínio, latão) com a finalidade de clareá-los, através de reação de oxido-redução. (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

Por outro lado, sendo uma solução ácida relativamente forte, praticamente disponível em todos os lares, o vinagre é utilizado ainda para muitas outras finalidades: anti-séptica em ferimentos e doenças da pele (varicoses e micoses); preparação de soluções medicamentosas (vinagre canforado para dores musculares, contusões e distensões, solução para gargarejos em casos de infecções da boca e garganta); e é usado ainda como solução espermicida, germicida, inseticida e solvente (AQUARONE; ZANCANARO, 1983).

Ogawa et al. (2000) sugerem que o nível de glicose pode ser abaixado pela administração oral de vinagre. Em seu estudo com culturas de células expostas a soluções de ácido acético, observaram uma inibição na atividade das enzimas dissacaridases sacarase, maltase, trealase, e lactase, responsáveis pela conversão de dissacarídeos em monossacarídeos. Soluções de outros ácidos orgânicos, como cítrico, succínico, láctico e tartárico não apresentaram esse efeito inibidor.

Os efeitos benéficos à saúde do consumo moderado de vinho têm sido amplamente estudados nos últimos anos. Estes têm sido atribuídos principalmente ao conteúdo de polifenóis e da atividade antioxidante destes compostos (ALONSO et al., 2004).

Produtos derivados do vinho, dentre eles o vinagre, também contém polifenóis e podem possuir certa atividade antioxidante, contribuindo igualmente para um efeito protetor do organismo.

Além da presença de compostos polifenólicos, o vinagre apresenta uma série de ácidos orgânicos, sendo o principal o ácido acético. Estudos comprovam o efeito bactericida e bacteriostático desses ácidos (SILVA et al., 2001), bem como, uma elevada atividade antimutagênica (LANKAPUTRA, 1998).

Saidi et al. (2001) estudou o uso do vinagre como fonte natural de ácido acético no controle da chifrada comum no trigo, doença causada por *Tilletia tritici* e *T. laevis*, que provoca perdas consideráveis da produção de trigo em todo o mundo. O vinagre provou ser uma alternativa muito efetiva no controle da doença, não apresentando efeitos negativos na germinação da semente, nem na vitalidade da muda.

Rutala et al. (2000) estudou a eficácia de produtos naturais, como vinagre, e desinfetantes comerciais comuns, contra elementos patógenos para humanos como: *Staphilococos aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. O vinagre apresentou significativa atuação contra *S. aureus* e *E. coli*.

Natera et al. (2003) estudaram a composição fenólica, compostos aromáticos e conteúdo de ácidos orgânicos de 83 amostras de vinagres de diferentes matérias primas (vinho branco, vinho tinto, maçã, mel, álcool, balsâmico e malte), com e sem envelhecimento em madeira. Observaram que os vinagres envelhecidos em madeira apresentaram maior composição fenólica e maior produção de compostos voláteis conforme o período de envelhecimento.

2.9.1 Legislação brasileira

A legislação brasileira define que vinagre ou vinagre de vinho é o produto obtido da fermentação acética do vinho e deve conter uma acidez volátil mínima de 40 g por litro expressa em ácido acético (4%). Sua graduação alcoólica não pode exceder a 1°GL e deve ser obrigatoriamente pasteurizado. Um vinagre com mais de 80 g por litro de acidez volátil é o concentrado de vinagre usado exclusivamente para diluição (BRASIL, 1999).

A legislação especifica ainda as seguintes características organolépticas para os vinagres, aspecto: líquido, límpido e sem depósito, cor: de acordo com a matéria-prima que lhe deu origem, cheiro: característico. sabor: ácido. (BRASIL, 1999).

Normas estabelecidas pela lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, aprovado pelo Decreto nº 2.314 de 04 de setembro de 1997, estabelecem aditivos e seus limites.

São considerados nutrientes os produtos utilizados na fermentação acética com o objetivo exclusivo de alimentar bactérias acéticas, sendo permitidos sais nutrientes, açúcares, aminoácidos e vitaminas, na quantidade necessária à complementação do substrato da fermentação acética, durante o processo de fermentação poderá ser injetado oxigênio ou ar industrialmente puro no fermentado e alguns ingredientes opcionais como

sais que forneçam SO₂ (dióxido de enxofre) para conservar o produto, a água atenderá obrigatoriamente às normas e os padrões de potabilidade, aprovados em legislação específica, em relação às características sensoriais e físico-químicas deverão estar em consonância com a composição do produto, o fermentado acético ou vinagre condimentado ou aromatizado poderá apresentar turbidez proveniente dos ingredientes adicionados ao fermentado acético ou vinagre.

A Tabela 4 mostra as especificações para fermentado acético.

Tabela 4- Especificações de fermentado acético.

	Acidez volátil expressa em ácido acético g/100mL		Álcool etílico % em volume a 20°C
	MÍNIMO	MÁXIMO	MÁXIMO
Fermentado acético	4,0	7,9	1,0
Fermentado acético duplo	8,0	11,9	1,0
Fermentado acético triplo	12,0	-	1,0

Fonte: (BRASIL, 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizados rizomas frescos de gengibre do tipo caipira adquiridos no CEAGESP e fécula de mandioca doada pela Fecularia de Mandioca Flor de Lótus localizada na cidade de Cândido Mota-SP.

3.2 Caracterização físico-química das matérias primas

3.2.1 Desidratação dos rizomas de gengibre

Os rizomas frescos e limpos de gengibre após determinação do teor de umidade (AACC, 2000) foram picados em fatias de 0,5cm de espessura aproximadamente e distribuídos em bandejas de alumínio para a desidratação em estufa de circulação de ar, na temperatura de 55°C.

Após a desidratação foi efetuada a moagem do material para a obtenção do pó de gengibre.

3.2.2 Composição físico-química

As análises físico-químicas dos rizomas de gengibre e da fécula de mandioca foram realizadas no Laboratório de Análises do Centro de Raízes e Amidos Tropicais, CERAT/UNESP. Todas as análises foram feitas em triplicatas segundo a metodologia da AACC (2000).

3.2.2.1 Umidade

Para a determinação do teor de umidade, as amostras foram secas em estufa até peso constante a 105°C por 8 horas, após esse período foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador e novamente pesadas.

3.2.2.2 Cinzas

Foi determinada pela combustão da matéria seca em mufla a 550°C durante 2 horas. Após esse período as amostras foram colocadas em dessecador e pesadas.

3.2.2.3 Proteínas

O teor de nitrogênio foi medido pelo método de Kjeldahl. O fator utilizado para conversão do teor de nitrogênio em proteína bruta foi de 6,25.

3.2.2.4 Lipídios

A determinação da matéria graxa foi realizada em extrator Soxhlet, utilizando éter de petróleo para a extração.

3.2.2.5 Fibras

O teor de fibras foi determinado por hidrólise ácida seguida de hidrólise alcalina, seguido de secagem em estufa a 105°C e pesado.

3.2.2.6 pH

O pH da amostra foi determinado em pHmetro à 24°C.

3.2.2.7 Acidez Titulável

A acidez total da amostra foi determinada pelo método da titulação volumétrica com solução de NaOH 0,1 N, utilizando-se como indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1%, até ser atingido o pH 8,2 a 8,3 no pH-metro, anotando-se o volume gasto.

3.2.2.8 Açúcares solúveis totais

Foram determinadas através do método de Somogy (1945) e Nelson (1944), onde representa o conteúdo total de açúcares redutores, mais a sacarose e outros possíveis açúcares solúveis presentes na amostra.

3.2.2.9 Amido

Foi determinado pelo método de hidrólise enzimática segundo metodologia ISO-6647 (International Organization for Standardization, 1987). Após a hidrólise do amido o teor de açúcar redutor foi determinado pelo método de Somogy, adaptado por Nelson (1944), sendo feita a conversão para amido pela multiplicação da porcentagem de açúcar obtida pelo fator 0.9.

3.3 Planejamento experimental

Foram realizados dois ensaios experimentais para a obtenção de fermentados acéticos.

3.3.1 Ensaio 1

Este ensaio teve por objetivo comparar o processo de obtenção de fermentado acético utilizando como matérias-primas o pó de gengibre e a fécula de mandioca, devido às características diferenciadas de composição química dos materiais.

3.3.1.1 Processo de hidrólise enzimática

Para a obtenção de açúcares fermentescíveis foi realizado inicialmente um processo de hidrólise enzimática com o pó de gengibre e a fécula de mandioca utilizando-se as condições recomendadas por Torres (2009), onde estudos indicaram a necessidade de uso de maiores quantidades de enzimas devido à alta temperatura de gelatinização do amido de gengibre e a presença de componentes como óleos e fibras inexistentes na fécula de mandioca. As recomendações do fabricante para temperatura ótima de liquefação da alfa-amilase é entre (90 - 95°C) temperatura muito próxima de gelatinização do amido de gengibre (91,1°C em estudos realizados por Leonel et al., 2005) sendo necessário maiores quantidades de enzimas para maiores rendimentos no processo.

O processo de hidrólise-sacarificação das matérias-primas foi realizado em reator de aço inox, capacidade de 18 litros, com controle de temperatura e agitação (Figura 9). Para a realização deste ensaio de hidrólise-sacarificação foram preparadas três suspensões de 15 kg cada contendo as matérias-primas em quantidade suficiente para que cada suspensão ficasse com 12% de amido.



(a)



(b)

Figura 9- Reator de aço-inox utilizado no processo de hidrólise-sacarificação, fechado (a) e aberto(b).

Na etapa de liquefação foi utilizada a enzima α -amilase Termamyl 2X, com concentração de 1,7 kg de enzima / tonelada de amido. A suspensão foi mantida por uma hora em temperatura de 105°C com um terço da dose de enzima e por mais uma hora com o restante da enzima na temperatura de 95°C.

Para o processo de sacarificação foi utilizada a enzima amiloglucosidase, AMG 300L, com concentração de 3,0 L de enzima / tonelada de amido.

Na figura 10 encontra-se detalhado o processo de hidrólise-sacarificação.

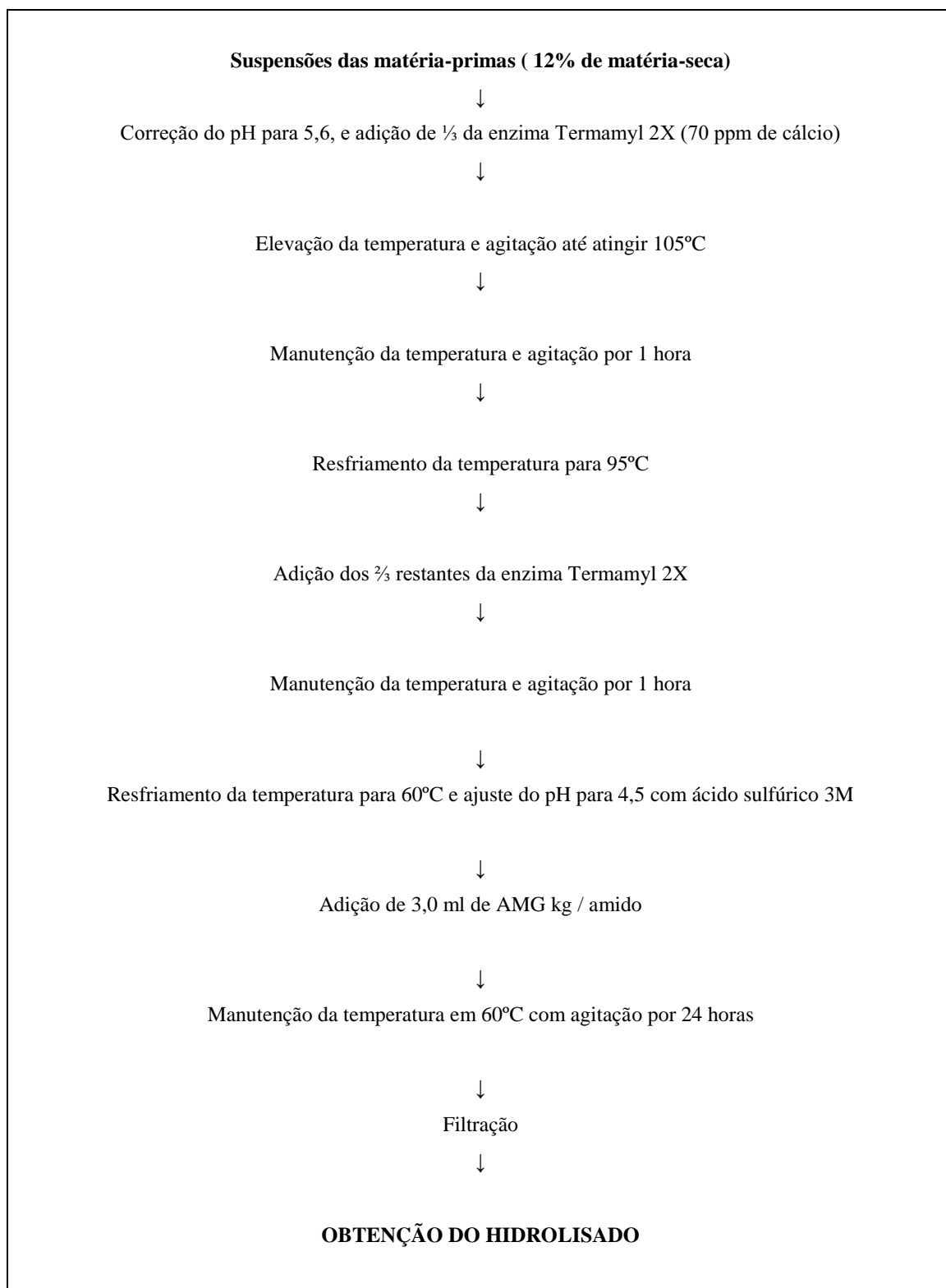


Figura 10- Fluxograma do processo de hidrólise-sacarificação das suspensões de gengibre e fécula de mandioca.

Após o processo de hidrólise a suspensão foi filtrada em filtro a vácuo marca MF DIMAN-ME, onde o hidrolisado de gengibre foi separado da parte sólida (resíduo fibroso) e submetido a análise em cromatografia líquida (Figura 11).



Figura 11- Filtro a vácuo utilizado para separar a suspensão de gengibre após o processo de hidrólise.

3.3.1.1.1 Perfil de açúcares dos hidrolisados

Após o processo de hidrólise, amostras dos hidrolisados de gengibre e de fécula de mandioca foram retiradas, centrifugadas em Centrífuga Excelsa Baby II, modelo 206-R da marca FANEM, a 4000rpm durante 15 minutos e as análises foram feitas no sobrenadante.

As amostras obtidas foram caracterizadas quanto perfil de açúcares. O perfil de açúcares foi determinado em cromatógrafo líquido, marca Varian modelo Pró-Star com duas bombas binárias e índice de refração (detector) com amostrador automático, sendo a coluna de marca BIORAD modelo AMINEX HPX 87P (fase estacionária Pb) 300 x 0,25mm, utilizando como fase móvel água e fluxo da amostra de 0,6 ml/minuto, na temperatura de 80°C.

Os perfis em área foram convertidos em concentração (g/L) a partir de curvas padrões.

3.3.1.1.2 Cálculo de rendimento dos processos

Os rendimentos dos processos foram calculados através da divisão dos valores práticos obtidos, pelos valores teóricos estabelecidos através da estequiometria das moléculas envolvidas no processo.

$$\text{Rendimento \%} = \text{Prático} / \text{Teórico} \times 100$$

3.3.1.2 Fermentação alcoólica

Para o processo de fermentação alcoólica foram utilizados erlenmeyers com capacidade para 6 litros, sendo adicionados 4 litros de hidrolisado com 1,5% de levedura, mantidos em agitação (100 rpm) em incubadora refrigerada a temperatura de 26°C, com período de fermentação de 48h (Figura 12).



Figura 12- Incubadora refrigerada utilizada no processo de fermentação alcoólica.

3.3.1.2.1 Análise dos vinhos

No final do processo de fermentação alcoólica os vinhos foram caracterizados quanto ao teor de etanol, metanol, glicerol e açúcares residuais em cromatógrafo líquido. A coluna utilizada para detecção dos compostos foi a AMINEX HPX

87H (fase estacionária H+) 300 x 0,25mm, sendo utilizado como fase móvel ácido sulfúrico 0,001N, fluxo da amostra 0,6 ml/minuto e temperatura de 50°C.

Os perfis em área dos componentes do vinho foram convertidos para concentração (gL^{-1}) a partir de soluções padrões.

3.3.1.3 Fermentação acética

As caldas (vinho) obtidas dos processos de fermentação alcoólica dos mostos de gengibre e fécula de mandioca foram inoculadas com bactérias acéticas provenientes de vinagre de caqui não pasteurizado (vinagre forte), doado pela Cooperativa Agrícola Nossa Senhora das Vitórias, Jundiaí-SP e enriquecidos com sulfato de amônio $0,1 \text{ gL}^{-1}$, fosfato de amônio $0,5 \text{ gL}^{-1}$, fosfato de potássio $0,1 \text{ gL}^{-1}$, sulfato de magnésio $0,1 \text{ gL}^{-1}$, glicose $1,0 \text{ gL}^{-1}$, citrato de potássio $0,1 \text{ gL}^{-1}$ e pantotenato de cálcio $0,001 \text{ gL}^{-1}$.

O processo adotado para realizar a fermentação acética foi o Orleans (lento), utilizando balão de fundo chato de vidro com capacidade para 10 litros como fermentador. Foram utilizados os mesmos parâmetros de fermentação para a calda de gengibre e de fécula, sendo o processo iniciado com 2 litros adicionando-se 50% (v/v) de calda (gengibre ou fécula) e 50% (v/v) de vinagre forte não pasteurizado (Figura 13).

Neste trabalho os fermentados alcoólicos utilizados continham valores menores do que 6°GL , que é o valor mínimo indicado pela literatura para dar início ao processo de acetificação. Devido a isso houve a adição de álcool comercial a 94°GL durante as culturas realizadas para se atingir os níveis de acetificação exigidos pela legislação.

A cada semana foi adicionado mais um litro das respectivas caldas totalizando 6 litros em 4 semanas. Durante o processo de fermentação acética foram feitas análises de acompanhamento verificando o teor alcoólico e acidez.

Na quinta semana retirou-se 1 litro de vinagre de cada processo, filtrou-se e os vinagres obtidos foram analisados para acidez total, teor alcoólico, cinzas e extrato seco. O vinagre de gengibre obtido foi utilizado para inoculação dos tratamentos do segundo ensaio.

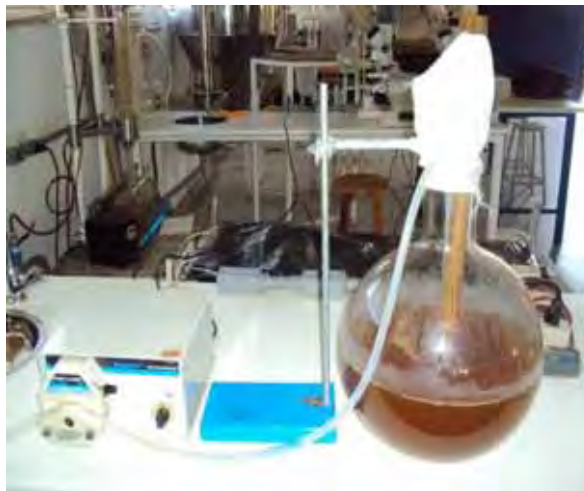


Figura 13- Processo de fermentação acética pelo método lento.

3.3.2 Ensaio 2

Realizou-se este ensaio o qual teve por objetivo avaliar o efeito de parâmetros variáveis do processo de fermentação acética na obtenção de fermentado acético de gengibre.

Os ensaios foram realizados em erlenmeyers com capacidade de 1.000 mL, adicionando um tubo de plástico para adição de calda e aeração, e mangueiras de silicone foram implantadas para a retirada de vinagre, as entradas de ar foram cobertas com papel filme para evitar a passagem de insetos (Figura 14a e 14b).

A fermentação foi conduzida com volume de trabalho de 200 ml, variando-se as temperaturas (20°C e 27°C) em incubadora refrigerada, adição ou não de nutriente e acidez sendo (1:1- 100 ml de vinagre forte e 100 ml de calda) e (2:1- 200 ml de vinagre forte e 100 ml de calda).

As caldas que receberam os nutrientes foram enriquecidas com sulfato de amônio 0,1 gL⁻¹, fosfato de amônio 0,5 gL⁻¹, fosfato de potássio 0,1 gL⁻¹, sulfato de magnésio 0,1 gL⁻¹, glicose 1,0 gL⁻¹, citrato de potássio 0,1 gL⁻¹ e pantotenato de cálcio 0,001 gL⁻¹.

Durante o processo de acetificação, a adição de calda de gengibre foi feita semanalmente, durante 4 semanas e realizadas coletas para análises de acidez e teor alcoólico. Na quinta semana foram retirados os vinagres, sendo pasteurizados a

temperatura de 65°C por 5 minutos, e analisados para os teores de cinzas, extrato seco, acidez total em ácido acético, teor alcoólico e perfil de ácidos orgânicos.

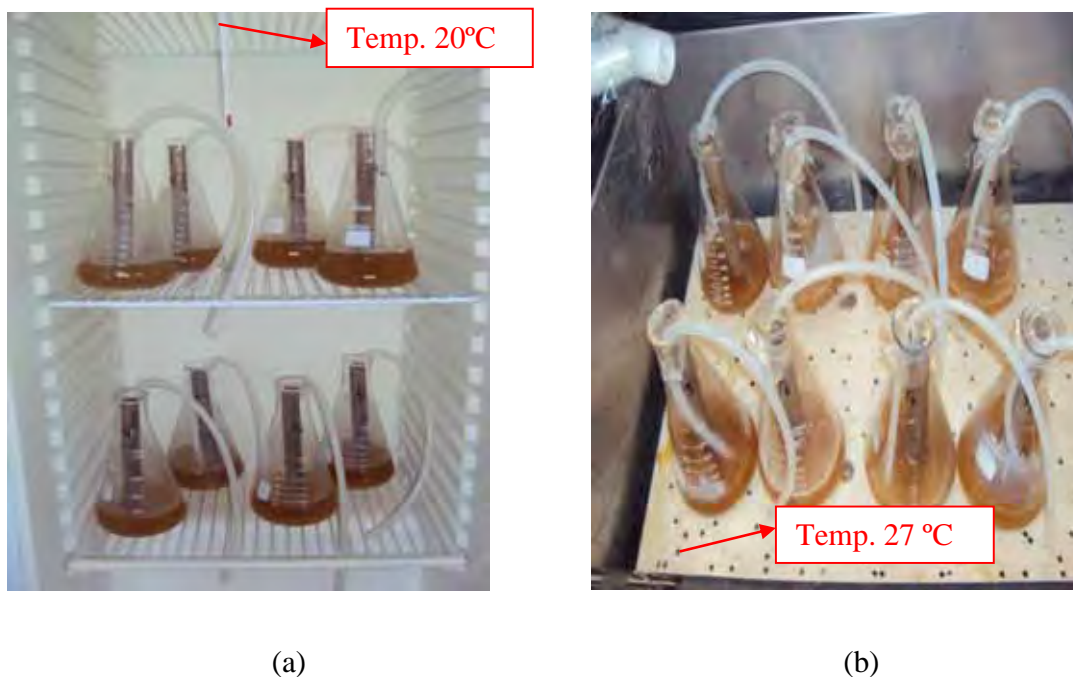


Figura 14- Processo de fermentação acética do gengibre pelo método lento, em duas temperaturas (a) 20°C, e (b) 27°C.

3.3.2.1 Delineamento experimental

O processo de fermentação acética do mosto de gengibre seguiu o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial para três fatores em dois níveis (2x2x2), totalizando oito tratamentos, com quatro repetições, tendo como variáveis independentes a temperatura, os nutrientes e a diluição da acidez inicial da calda, conforme descrito na Tabela 5.

Tabela 5- Tratamentos do ensaio de fermentação acética da calda de gengibre.

Tratamentos	Variáveis independentes					
	Codificadas			Real		
	X1	X2	X3	T	N	A
T1	-1	-1	-1	20	Com	1:1
T2	-1	-1	1	20	Com	2:1
T3	-1	1	-1	20	Sem	1:1
T4	-1	1	1	20	Sem	2:1
T5	1	-1	-1	27	Com	1:1
T6	1	-1	1	27	Com	2:1
T7	1	1	-1	27	Sem	1:1
T8	1	1	1	27	Sem	2:1

X1=T=temperatura (°C);X2=N= nutrientes; X3=A= diluição da acidez inicial

3.3.2.2 Tratamento final do vinagre

Após a produção do fermentado acético o mesmo foi conduzido à pasteurização sendo aquecido em banho Maria a temperatura de 65°C por 5 minutos e resfriado a temperatura ambiente.

3.3.2.3 Análises dos fermentados acéticos

Nos produtos finais foram realizadas as seguintes determinações: acidez total em ácido acético, resíduo seco a 105°C, teor alcoólico, cinzas e perfil ácidos orgânicos.

3.3.2.3.3 Acidez total em ácido acético

Foi utilizada a técnica (29.1.3), pelo Instituto Adolfo Lutz (1985) utilizando-se 1 ml da amostra, utilizando como indicador do ponto de viragem a solução de fenolftaleína e multiplicando-se o resultado final pelo fator 0,06.

Cálculo:

$\frac{V \times f \times 10 \times 0,06}{A} =$ acidez total em solução normal por cento p/v

A

V= nº de ml de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação

f=fator da solução de hidróxido de sódio 0,1N

A= nº de ml da amostra

3.3.2.3.2 Extrato seco a 105°C

Uma alíquota de 10 ml foi transferida com auxílio de uma pipeta para uma cápsula de porcelana de 60 ml, previamente aquecida em mufla a 550°C, por 1 hora, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Evaporada em banho-maria até secagem. Aquecida em estufa a 105°C por 2 horas. Resfriada em dessecador até temperatura ambiente. Pesada. As operações de aquecimento foram repetidas (30 minutos na estufa) e resfriamento, até peso constante, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Cálculo:

$\frac{100 \times N}{A} =$ extrato seco a 105° C por cento p/v

A

N = nº de g de resíduo seco a 105° C

A = nº de ml da amostra

3.3.2.3.3 Determinação do teor alcoólico em volume

Foi realizada a neutralização da amostra com hidróxido de sódio 5M e procedeu-se a destilação no aparelho Buchi Distillation Unit modelo K- 355 e após efetuou-se a densidade em aparelho Mettler KEM modelo DA-310 e através de uma tabela específica converteu-se a densidade em teor alcoólico (IAL, 1985).

3.3.2.3.4 Cinzas

Após a determinação do extrato seco a 105° C foi realizada a análise de cinzas segundo a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (1985).

Cálculo

$$\frac{100 \times N}{A} = \text{cinzas por cento p/v}$$

A

N: nº de g de cinzas

A: nº de ml da amostra

3.3.2.3.5 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são compostos de bastante interesse nos produtos derivados de vinho. Alguns estão originalmente presentes na uva e outras frutas e outros aparecem durante a fermentação alcoólica ou acética. A concentração e a natureza dos ácidos orgânicos presentes no vinagre podem dar informações sobre a origem da matéria prima, crescimento microbiológico e até mesmo técnicas de processamento (MORALES et al, 1998).

O perfil de ácidos orgânicos foi determinado através da análise de cromatografia líquida.

Preparo da amostra: a amostra foi centrifugada a 12000 rpm por 8 minutos e em seguida filtrada em membrana de PVDF de teflon, com porosidade de 0.22 micras. Foi utilizado para esta análise coluna de HPLC da marca Varian, modelo Pró Star,

com injetor automático e detector de IR (índice de refração). Coluna da marca Bio Rad, Aminex HPX87H, fase móvel H2SP4 0,005M, fluxo de 0,6 ml.min⁻¹ e temperatura de 65°C.

3.3.2.4 Rendimento da fermentação acética

Com base nos resultados obtidos na fermentação acética foi calculado o rendimento do processo.

Cálculo: Rendimento GK= (GK final /GK inicial) x 100

Onde: GK final= Etanol final + Ac. acético final

GK inicial= Etanol inicial + Ac. acético inicial

3.3.2.5 Análise dos dados

Os dados dos teores de extrato seco, cinzas e perfil de ácidos orgânicos no vinagre de gengibre foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa SAS. O modelo utilizado para análises dos dados foi:

$$Y_{ijkl} = m + N_i + A_j + B_k + NA_{ij} + NB_{ik} + AB_{jk} + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = é observação relativa à repetição l , do vinagre com acidez k , recebendo o nível j de nutrientes e nível i de temperatura; m = média geral; N_i = efeito do nível i de temperatura, sendo $i = 1$ e 2 ($i_1 = 20^\circ\text{C}$, $i_2 = 27^\circ\text{C}$); A_j = efeito do nível de nutriente no mosto, sendo $j = 1$ e 2 ($j_1 =$ com nutriente e $j_2 =$ sem nutriente); B_k = efeito da acidez inicial do mosto, sendo $k = 1$ e 2 ($k_1 =$ diluição 1:1e $k_2 =$ diluição 2:1); NA_{ij} = efeito da interação entre os níveis i da temperatura e j do nível de nutriente no mosto; NB_{ik} = efeito da interação entre o nível i da temperatura e o número k da acidez inicial do mosto; AB_{jk} = efeito da interação entre o nível j de nutrientes e o número k de acidez inicial; e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Para comparação das médias, foi utilizado o teste de Tukey, a 5%.

As comparações da acidez total e teor alcoólico, nos diferentes tempos de fermentação acética, para cada tratamento, foram realizadas através da análise de variância do modelo com “tratamentos”, “tempo” e interação “tratamentos x tempo”, e a seguir pela comparação entre médias de tratamentos pelo teste Tukey e pelos desdobramentos das interações significativas. O nível de significância adotado para os testes foi de 5%. Além disso, foi realizada a análise de variância da regressão polinomial dos tempos de fermentação, verificando as interações entre as regressões e os tratamentos; foram determinadas as equações de regressão e construído o gráfico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises dos rizomas de gengibre e da fécula de mandioca

Os rizomas de gengibre e a fécula de mandioca utilizados no desenvolvimento do trabalho apresentaram a composição centesimal como mostra a Tabela 6.

Tabela 6 - Valores médios da composição centesimal dos rizomas de gengibre e da fécula de mandioca.

Análises	Gengibre	Fécula
Umidade (%)	79,39 ± 1,32	13,80 ± 0,70
(g/100g de matéria seca)		
Amido	69,72 ± 0,58	85,19 ± 0,05
Cinzas	5,48 ± 0,07	0,07 ± 0,06
Açúcares totais	2,18 ± 0,03	0,09 ± 0,03
Fibras	7,05 ± 0,03	0,30 ± 0,06
Lipídios	2,50 ± 0,06	0,10 ± 0,10
Proteína	6,69 ± 0,02	0,44 ± 0,08
pH	7,4 ± 0,07	6,38 ± 0,05
Acidez	2,4 ± 0,06	1,36 ± 0,09

Os resultados obtidos na composição centesimal do gengibre utilizado mostram elevado teor de umidade, e considerável teor de amido, podendo ser utilizado como matéria-prima para processo de hidrólise-sacarificação. Em relação aos outros componentes, apresenta altos teores de proteínas, fibras e lipídeos se comparados com a fécula de mandioca, o que pode causar perdas no processo de hidrólise.

Os resultados da composição centesimal foram semelhantes aos encontrados por Taveira Magalhães et al. (1997) onde a composição centesimal do rizoma de gengibre em base seca pode variar de 5 a 13% de proteínas, 3 a 8% de lipídios, 5 a 11% de fibra bruta e 4 a 8% de cinzas. Ao comparar os valores encontrados para as inflorescências de gengibre, observam-se que as inflorescências possuem maior teor de umidade com 93%, 18% de proteínas e 19% de fibra bruta, e menores quantidades de cinzas com 0,83% sem diferirem na quantidade de lipídios dos rizomas.

Balladin; Headley (1999), analisando rizomas de gengibre *in natura*, encontraram valores médios de $87 \pm 2\%$ de umidade, sendo considerado normal para esse tipo de matéria-prima.

Segundo a legislação brasileira a fécula de mandioca deve apresentar: umidade máxima de 14% (p/p), amido mínimo de 80% de (p/p), 0,5% cinzas (p/p) e acidez máxima de 5,00 (p/p) expressa em mL de NaOH 1N/100g . Portanto, a fécula está dentro dos limites da legislação em relação à umidade, amido e acidez. Não existem limites para o teor de fibras, lipídios e proteínas (BRASIL, 1978).

4.2 Análise dos hidrolisados

A hidrólise do amido é causada por desdobramento total das moléculas de amilose e amilopectina, que, ao se romperem transformam-se em dextrinas cada vez mais simples e finalmente glicose. O amido não tem sabor, mas os produtos de uma hidrólise intensa apresentam sabor adocicado (FRANCO et al., 2001).

O processo de hidrólise-sacarificação do amido é a primeira etapa para que se obtenha componentes necessários para a fermentação alcoólica, dando seqüência a fermentação acética, obtendo-se assim o produto final.

Após o processo enzimático de hidrólise-sacarificação os hidrolisados foram avaliados em cromatógrafo líquido quanto ao perfil de açúcares presentes. Os resultados obtidos na caracterização cromatográfica dos hidrolisados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7- Resultados médios dos açúcares do hidrolisado de gengibre e fécula.

Componentes(g L ⁻¹)	Gengibre	Fécula
Glicose	85,6	90,1
Maltose	0,8	0,8
Maltotriose	0,6	1,8
Maltotetraose	0,4	0,2
Dextrinas	12,48	2,06

Analisando os dados apresentados na Tabela 7, verifica-se que o principal açúcar dos hidrolisados foi a glicose (85,6 g L⁻¹ para o gengibre e 90,1 g L⁻¹ para a fécula), contudo, verificou-se também a presença de grande quantidade de dextrinas no hidrolisado de gengibre, indicando dificuldade de ação da enzima amiloglucosidase provavelmente devido a interferência dos outros componentes do gengibre.

As amilases, de uma maneira geral, agem na superfície do grânulo de amido, provavelmente em uma imperfeição estrutural ou fissura e, depois, se estendem lateralmente formando cavidades cônicas. A ação contínua da alfa-amilase causa erosão nos grânulos que podem ser eventualmente dissolvidos completamente (FRENCH, 1975).

4.2.1 Rendimento da hidrólise-sacarificação do gengibre e da fécula de mandioca

O balanço de massa do processo de hidrólise-sacarificação das matérias-primas foi realizado através dos resultados obtidos na caracterização dos hidrolisados, bem como dos resíduos finais. As Tabelas 8 e 9 trazem em resumo, os resultados dos balanços de massa para o gengibre e fécula de mandioca respectivamente.

O processo iniciou com 39kg de água e 5,82Kg de gengibre desidratado (7,22% de umidade), portanto, 5.399g de matéria seca dos quais 3.764g eram

amido (69,72%) e 118 g de açúcares totais (2,18%), o que teoricamente daria 4.300g de açúcares totais. Decorrido o processo de hidrólise obteve-se 32.137Kg de hidrolisado contendo 9,36% de açúcares fermentescíveis (glicose e maltose), e 142 g de açúcares totais retidos no resíduo fibrosos. Com isso, o rendimento do processo foi de 73,26%.

Tabela 8- Balanço de massa do processo de hidrólise-sacarificação do gengibre.

Análises	Valores
Peso da farinha de gengibre (g)	5.820
Umidade (%)	7,22
Matéria seca inicial (g)	5.399
Amido inicial (g)	3.764
Açúcares totais iniciais (g)	118
Peso do hidrolisado (g)	32.137
Açúcares totais hidrolisado (g)	4.300
Peso do resíduo fibroso (g)	8.550
Umidade do resíduo (%)	79,48
Matéria seca residual (g)	1.754
Açúcares totais no resíduo (g)	142
Amido resíduo (g)	202
Rendimento prático (%)	73,26

Para a fécula de mandioca o processo iniciou com 38,62 Kg de água e 6,38Kg de fécula (13,80% de umidade), portanto, 5.500 g de matéria seca dos quais 4685,1g eram amido (85,19%) e 5g de açúcares totais (0,09%) o que teoricamente daria 5.211 g de açúcares totais. Decorrido o processo de hidrólise obteve-se 40.100 kg de hidrolisado contendo 9,08% de açúcares fermentescíveis (glicose e maltose), ou seja, 3.641g de açúcares. Com isso, o rendimento do processo foi de 69,99%.

Tabela 9- Balanço de massa do processo de hidrólise-sacarificação da fécula de mandioca.

Análises	Valores
Peso da fécula de mandioca (g)	6.380
Umidade (%)	13,80
Matéria seca inicial (g)	5.500
Amido inicial (g)	4.685
Açúcares totais iniciais (g)	5,0
Peso do hidrolisado (g)	40.100
Açúcares totais hidrolisado (g)	5.211
Rendimento prático (%)	69,99

Analisando os dados obtidos neste experimento verifica-se que apenas 73,26% do amido de gengibre foi hidrolisado. Este fato corrobora com a hipótese de que a grande quantidade de fibras contidas no gengibre dificulta a ação das enzimas amilolíticas com conseqüente redução na eficiência da hidrólise.

Em estudo feito por Torres (2009) utilizando as mesmas proporções das enzimas no processo de hidrólise-sacarificação do gengibre, conseguiu valores de rendimentos superiores do trabalho realizado atingindo valores de 89,71%.

A fécula de mandioca é mais suscetível a ação da alfa-amilase fúngica do que o gengibre, provavelmente devido a sua temperatura de gelatinização ser mais baixa (58-75°C) enquanto do gengibre é de (91,1°C) e porque os grãos de amido da mandioca possuem uma estrutura interna fracamente ligada (PARK et al., 1971).

Lages & Tannenbaum (1979) descreveram a produção de xarope de glicose a partir de fécula e farinha de mandioca com rendimento de 99% sendo que os sólidos não convertidos da farinha foram removidos e aproveitados para ração animal.

Leonel e Cereda (1999) utilizaram a enzima pectinase para a redução da viscosidade, na etapa de liquefação do amido do resíduo fibroso da mandioca, e observaram que 86,31% do amido foi hidrolisado com o uso da enzima.

A porcentagem de amido hidrolisado com o uso da enzima pectinase foi superior a relatada em estudo da ação de enzimas complementares Termamyl 120L e AMG 300L na hidrólise enzimática de farelo de mandioca, no qual se obteve

63,42% do total de amido hidrolisado no tratamento que utilizou apenas estas duas enzimas (LEONEL; CEREDA, 1999).

4.3 Análise dos vinhos

Decorrido o processo de fermentação alcoólica do mosto de gengibre e fécula de mandioca, os mostos obtidos foram analisadas em cromatógrafo líquido quanto aos teores de etanol, metanol, glicerol e perfil de açúcares residuais como mostra a Tabela 10.

Tabela 10- Composição média dos vinhos de gengibre e fécula de mandioca.

Componentes (g L⁻¹)	Gengibre	Fécula
Etanol	40,3	47,6
Metanol	0,9	0,5
Glicerol	0,2	0,5
Glicose	0,5	0,1

Segundo dados da literatura para se obter uma boa fermentação acética o fermentado deve conter teor alcoólico mínimo de 6,0 (% v/v). Os valores das análises realizadas para o teor de etanol das caldas de gengibre e mandioca respectivamente (4,03 e 4,76%) após a fermentação do hidrolisado, mostraram-se com valores inferiores ao recomendado, e diferentes para efeitos comparativos de acetificação inicial, sendo necessária a correção para 6 °GL.

Srikanta et al. (1987), produziram etanol a partir de farelo de mandioca e obtiveram uma eficiência total do processo com valores de 65,5 % quando fermentaram o xarope, e de 57,3% quando a fermentação ocorreu simultânea a sacarificação tendo sido o mosto acrescentado de 10 % (v/v) de fermento e suplementado com 0,1 % (NH₄)₂SO₄ , 0,05 % KH₂PO₄ e 0,02 % de extrato de levedura ao mosto. Em uma fermentação bem sucedida praticamente todo o açúcar é convertido em etanol, porém, uma pequena porcentagem de açúcar geralmente é convertida em outros subprodutos.

O teor de metanol encontrado nos vinhos de gengibre e mandioca foram respectivamente de 0,9 e 0,5 g L⁻¹. O metanol é um constituinte naturalmente presente nas bebidas alcoólicas, em quantidades pequenas em relação aos demais componentes .

Para o teor de glicerol nos vinhos observou-se valores respectivamente de 0,2 e 0,5 g L⁻¹ para gengibre e fécula de mandioca. A alta concentração de açúcares aumenta a velocidade de fermentação e a produtividade e, dentro de certos limites, acarreta menor crescimento do fermento e menor formação de glicerol por unidade de substrato processado.

4.3.1 Rendimento da fermentação alcoólica

O rendimento do processo fermentativo do gengibre e da fécula de mandioca foram calculados através da divisão de resultados práticos obtidos, pelos valores teóricos. Para o gengibre, teoricamente o processo iniciou com 30Kg de hidrolisado, onde 2.568g (8,56%) de glicose. Ao final do processo fermentativo deveria se obter 1.312,5 g de etanol ou 1.682,7 mL de etanol no vinho produzido, considerando como referencial a conversão de 100% de glicose em etanol.

Em resultados práticos 30000g de hidrolisado continha 4,03% de etanol (1.290g de etanol), portanto, o rendimento do processo de fermentação alcoólica do mosto de gengibre foi de 76,7%.

Para o processo de fermentação alcoólica da fécula de mandioca, teoricamente o processo iniciou com 30.000g de hidrolisado, onde 2.703g (9,01%) de glicose. Ao final do processo fermentativo deveria se obter 1.381,5 g de etanol ou 1.771,19 mL de etanol no vinho produzido, considerando como referencial a conversão de 100% de glicose em etanol.

No ensaio obteve-se calda com 4,76% de etanol, ou seja, 1.428,0g de etanol o que dá um rendimento de processo (prático/teórico) de 80,62%.

Vários fatores como temperatura, pH, oxigenação, contaminação bacteriana, afetam o rendimento da fermentação alcoólica, ou seja, a eficiência da conversão de açúcar em etanol. Diminuições na eficiência fermentativa decorrem de uma

alteração estequiométrica do processo levando a maior formação de produtos secundários como o glicerol, ácidos orgânicos e biomassa (LIMA et al., 2001).

4.4 Fermentação acética

4.4.1 Ensaio 1

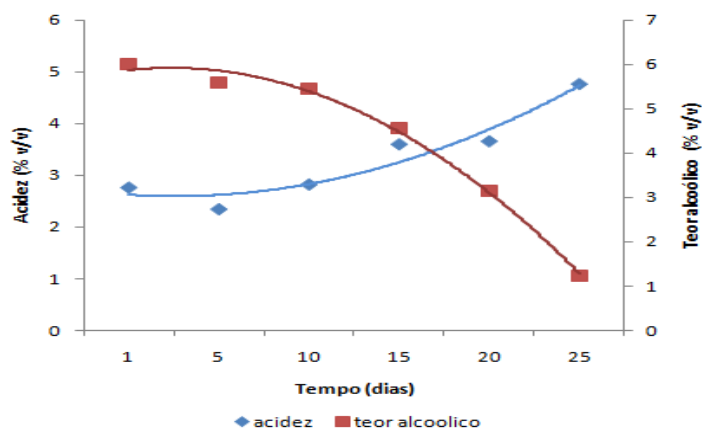
Este ensaio teve por objetivo comparar o processo lento de acetificação de duas caldas obtidas do processo de fermentação alcoólica do gengibre e mandioca.

Os resultados obtidos nas análises de acompanhamento do processo de fermentação acética estão apresentados nos gráficos da Figura 16. A análise dos dados de teor alcoólico e acidez nas caldas durante a fermentação acética mostrou que foi significativo o efeito do tempo de fermentação sobre estas variáveis, sendo que modelos polinomiais de segundo grau ajustaram-se bem aos dados das duas matérias-primas.

As análises do teor alcoólico e acidez titulável durante o processo de fermentação acética evidenciaram a evolução da acidificação dos vinagres de gengibre e fécula em relação ao tempo. As fermentações acéticas do gengibre e da fécula de mandioca tiveram valores de acidez iniciais próximos de 3,0% para evitar contaminações como recomenda a literatura.

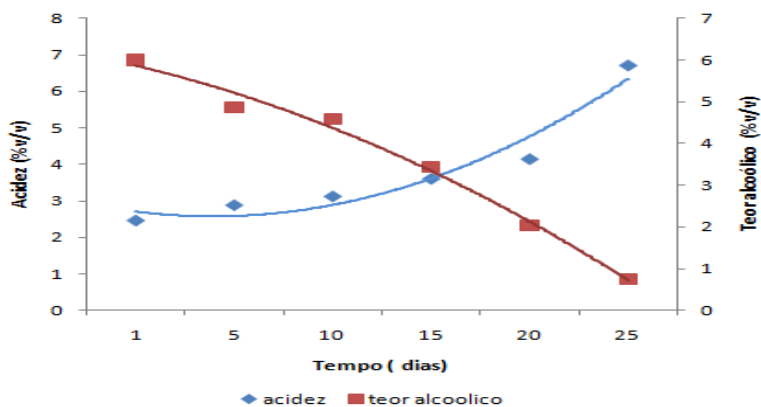
A acetificação da mandioca foi realizada com efeito comparativo dos processos e apresentou valores de acidez superiores ao do gengibre iniciando-se com 2,46% atingindo valores de 5,70% de acidez. Estudo conduzido por Furiatti (2009) produzindo vinagre de tomate pelo mesmo processo obteve valor final de acidez de 4,54% em um período de 25 dias.

Pode-se notar que vinagres com acidez de 4,77 (gengibre) e 5,70% (mandioca) foram produzidos em 25 dias, com um teor residual em torno de 1% (Figura 15a e 15b). De acordo com Hromatka e Ebner (1959), parte do álcool residual é transformado em vinagre e o restante convertido a ésteres durante o armazenamento, conferindo ao vinagre o aroma característico da matéria-prima que foi utilizada no processo de acetificação.



Acidez	$Y = -0,2262x^2 + 0,6663x + 5,431$	$R^2 = 0,9941$
Teor alcoólico	$Y = 0,1066x^2 - 0,03237x + 2,841$	$R^2 = 0,929$

(a)



Acidez	$Y = 0,2125x^2 - 0,7601x + 3,254$	$R^2 = 0,9381$
Teor alcoólico	$Y = -0,0936x^2 - 0,3727x + 6,332$	$R^2 = 0,9897$

(b)

Figura 15- Variação do teor alcoólico e acidez durante o processo de fermentação acética das caldas de gengibre (a) e fécula de mandioca (b).

O processo de fermentação acética do gengibre teve declínio do teor alcoólico e aumento da acidez mais lentamente do que o processo com fécula de mandioca, o que pode ser devido aos demais componentes do gengibre tais como o gingerol e o zingibereno.

4.4.1.1 Avaliação dos produtos finais

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos nas análises físico-químicas dos vinagres. Como podem ser observados nos produtos finais, somente o teor alcoólico do vinagre de gengibre se encontra acima do limite, sendo que os demais componentes se apresentam dentro dos valores mínimos e máximos estabelecidos pela legislação brasileira. A legislação seguida no trabalho foi baseada em limites utilizados para vinagres de vinho, pois não existe legislação vigente para vinagres de fontes amiláceas.

Tabela 11- Comparação das análises físico-químicas do fermentado acético de gengibre com o de fécula produzido pelo mesmo processo e limites exigidos pela legislação nacional (BRASIL, 1999).

Análises	Fermentado acético de gengibre	Fermentado acético de mandioca	Limites da legislação brasileira
Acidez total (g de ac. acético/100 mL)	4,77	5,70	4,0 (mínimo)
Teor alcoólico(°GL)	1,2	0,7	1,0 (máximo)
Cinzas (g/L ⁻¹)	2,1	1,2	1,0 (mínimo)
Extrato seco a 105°(g.L ⁻¹)	2,8	1,3	1,2 (mínimo)

4.4.2 Ensaio 2

Com base nos resultados obtidos no primeiro ensaio, realizou-se este ensaio o qual teve por objetivo avaliar o efeito de parâmetros variáveis do processo de fermentação acética na obtenção de fermentado acético de gengibre.

4.4.2.1 Rendimento do processo pelo G.K.

Alguns autores como ADAMS et al., (1978) utilizaram para o cálculo do rendimento da fermentação, o GK, ou concentração total que é a concentração de etanol (v/v) + a concentração de ácido acético (m/v).

Segundo a equação estequiométrica representativa da transformação de etanol em ácido acético, 1g de etanol pode fornecer 1,034g de ácido acético, dependendo das espécies de *Acetobacter* dominantes no meio em fermentação e tem relação com o valor do G.K. utilizado. O G.K. pode permanecer constante durante o período de acetificação na ausência de perdas por evaporação, e a relação constatada por esses autores pode ser aplicada para calcular a eficiência com a qual o etanol é convertido a ácido acético. Entretanto esse rendimento G.K. (Tabela 12) é sempre maior do que aquele calculado através da relação entre ácido acético produzido/ácido acético teórico.

Tabela 12- Período de acetificação, concentração final de etanol (%), produção de ácido acético (%) e rendimento GK nos diferentes tratamentos pelo processo lento.

Tratamentos (média)	Período de acetificação (dias)	Etanol (%)	Ácido acético(%)	Rendimento	
				GK	GK (%)
T1	0	4,36	2,95	7,31	
	27	0,33	4,19	4,52	61,83
T2	0	4,86	3,71	8,57	
	27	0,66	4,31	4,97	58,00
T3	0	4,44	2,96	7,40	
	27	0,60	4,29	4,89	66,08
T4	0	4,57	3,97	8,54	
	27	0,56	4,09	4,65	54,45
T5	0	4,33	2,94	7,27	
	27	0,31	3,98	4,29	59,00
T6	0	4,86	3,73	8,59	
	27	0,41	2,30	2,71	31,54
T7	0	4,41	2,96	7,37	
	27	0,55	3,24	3,79	51,42
T8	0	4,55	3,93	8,48	
	27	0,28	4,12	4,40	51,89

O melhor rendimento GK observado foi no tratamento 3, atingindo valores médios de 66,08%. Num processo de fermentação acética admite-se que rendimentos acima de 76% sejam considerados adequados e indicativos de um bom processo de fermentação.

Foram observados menores rendimentos nos tratamentos que tiveram maior temperatura (T6, T7, T8). Essas instabilidades no GK podem ser devido às perdas que ocorreram por evaporação de compostos voláteis.

Bortolini et al. (2001) utilizando kiwi na produção de vinagre pelos processos submersos e gerador obtiveram rendimentos de GK altos para todos os tratamentos (98,07% a 100,21%). Portanto, a eficiência com que o etanol foi convertido a ácido acético, para este cálculo de rendimento, é superior àquela calculada segundo Aquarone; Zancanaro (1983).

Na Tabela 13 são apresentados rendimentos calculados pelo GK para diferentes tipos de vinagre.

Tabela 13- Rendimentos obtidos pelo GK para vários tipos de vinagre.

Fonte	Período de acetificação	Rendimento GK(%)
Vinagre de banana	7	97,00
(ADAMS, 1978)	8	94,00
Vinagre de álcool	19	96,80
(ADAMS E TWIDDY, 1987)	24	99,40
Vinagre de mel	3	100,00
(ILHA, 1997)	3	98,73

4.4.2.2 Análises de cinzas e extrato seco

A análise dos dados evidenciou terem ocorrido efeitos significativos dos três parâmetros sobre o extrato seco e cinzas dos fermentados acéticos de gengibre, bem como, da interação destes, conforme mostra as Tabelas 14 e 15.

Os resultados obtidos para o efeito das condições de fermentação acética sobre o extrato seco e cinzas do fermentado acético de gengibre estão apresentados na Tabela 16.

A análise dos dados mostrou que a condição de 27°C de temperatura, com adição de nutrientes no mosto, e diluição de 1:1 da acidez inicial proporcionou os maiores teores de extrato seco e cinzas no vinagre de gengibre (T5). Mantendo-se a temperatura de 20°C, não se observou influência da adição de nutrientes e da acidez inicial sobre o extrato seco e teor de cinzas, o mesmo não ocorrendo com a temperatura de 27 °C.

Tabela14- Análise de variância para o teor de extrato seco no fermentado acético de gengibre.

	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Tratamentos	7	2,83	0,403	98,07	<0,0001
Erro	24	0,10	0,004		
Total	31	2,93			
Parâmetros	GL	QM	Pr>F		
Temperatura	1	0,702	<0,0001		
Nutriente	1	0,838	<0,0001		
Temperatura x nutriente	1	0,605	<0,0001		
Acidez	1	0,248	<0,0001		
Temperatura x Acidez	1	0,274	<0,0001		
Nutriente x Acidez	1	0,065	0,0006		
Temperatura x Nutriente x Acidez	1	0,095	<0,0001		
$R^2=0,9662$					
CV%=2,16					

Tabela 15- Análise de variância para o teor de cinzas no fermentado acético de gengibre.

	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
Tratamentos	7	1,43	0,20	59,07	<0,0001
Erro	24	0,08	0,003		
Total	31	1,52			
Parâmetros			GL	QM	Pr>F
Temperatura			1	0,572	<0,0001
Nutriente			1	0,281	<0,0001
Temperatura x nutriente			1	0,108	<0,0001
Acidez			1	0,101	<0,0001
Temperatura x Acidez			1	0,138	<0,0001
Nutriente x Acidez			1	0,095	<0,0001
Temperatura x Nutriente x Acidez			1	0,140	<0,0001
R ² =0,9451					
CV%=2,55					

Tabela 16- Médias de extrato seco e cinzas no vinagre de gengibre para cada tratamento.

Tratamentos	Variáveis independentes			Variáveis dependentes	
	T	N	A	Extrato seco %	Cinzas %
T1	20	Com	1:1	2,83±0,02cd	2,19±0,03cd
T2	20	Com	2:1	2,86±0,06cd	2,23±0,05bcd
T3	20	Sem	1:1	2,80±0,04cd	2,14±0,04d
T4	20	Sem	2:1	2,79±0,03cd	2,13±0,05d
T5	27	Com	1:1	3,70±0,06a	2,83±0,04a
T6	27	Com	2:1	3,14±0,09b	2,35±0,06b
T7	27	Sem	1:1	2,90±0,05c	2,29±0,11bc
T8	27	Sem	2:1	2,74±0,11d	2,29±0,05bc

T=temperatura (°C); N= nutrientes (com e sem adição); A=diluição da acidez total inicial.

Tratamentos com letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

O valor do extrato seco no vinagre de vinho não deve ser menor de 1,2 gL⁻¹ por grau acético e de cinzas não deve ser menor que 1,0 gL⁻¹. Os resultados apresentados para esses teores se encontram dentro dos parâmetros da legislação.

Os valores de extrato seco encontrados nos vinagres foram superiores ao relatados por Bortolini et al. (2001) em estudo com vinagres de kiwi estando os valores entre 1,15 e 1,29%.

4.4.2.2.1 Teor alcoólico

Os resultados médios obtidos nas análises do teor alcoólico e a comparação entre os tratamentos em cada tempo da fermentação acética estão apresentados na Tabela 17. Os resultados evidenciaram que não existiu diferença entre os tratamentos dentro do mesmo tempo de fermentação acética.

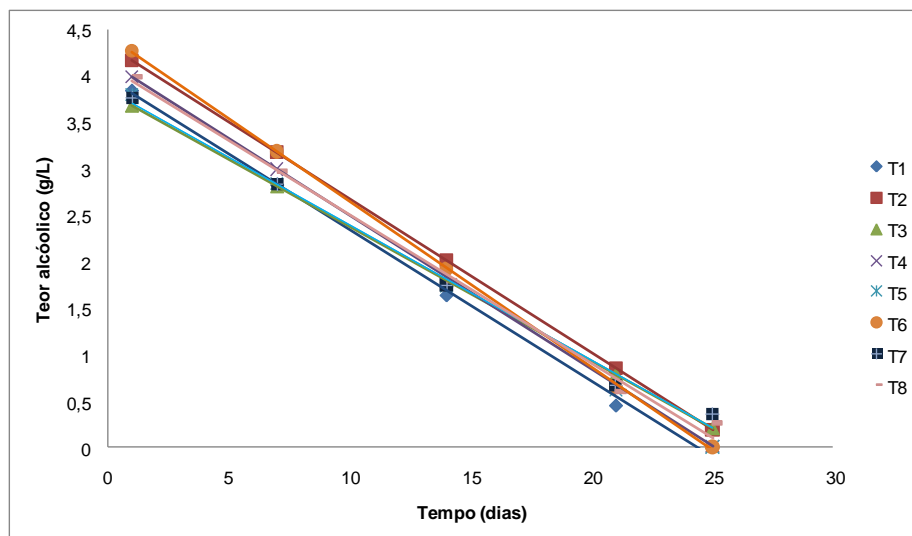
A análise de variância dos dados do teor alcoólico para os tratamentos nos tempos de fermentação mostrou efeito significativo do tempo em todos os tratamentos. A análise de regressão mostrou decréscimo linear do teor de etanol com o tempo de fermentação acética independente do tratamento (Figura 16).

Tabela 17- Comparação das médias dos tratamentos para teor alcoólico (gL^{-1}) no fermentado de gengibre conforme o tempo de fermentação.

Trat.	Tempo (dias)				
	01	07	14	21	25
T1	4,33 ^a	2,53a	1,26a	0,37a	0,33a
T2	4,83 ^a	2,57a	1,63a	0,74a	0,65a
T3	4,47 ^a	2,03a	1,52a	0,68a	0,63a
T4	4,57 ^a	2,72a	1,04a	0,62a	0,55a
T5	4,34 ^a	2,52a	1,06a	0,72a	0,34a
T6	4,85 ^a	2,93a	1,09a	0,67a	0,43a
T7	4,41 ^a	2,39a	1,11a	0,64a	0,53a
T8	4,56 ^a	2,24a	1,10a	0,32a	0,25a

Médias com letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

O álcool residual da fermentação que resta sem sofrer acetificação nos vinagres não deve ultrapassar 0,5%, ainda que para o vinagre de vinho se admita 1% (1°GL), estando o vinagre de gengibre dentro das condições estabelecidas.



$$T1: Y = 4,02 - 0,17 \cdot x$$

$$R^2 = 0,9327$$

$$T5: Y = 3,96 - 0,159 \cdot x$$

$$R^2 = 0,9082$$

$$T2: Y = 4,34 - 0,166 \cdot x$$

$$R^2 = 0,9005$$

$$T6: Y = 4,46 - 0,1815 \cdot x$$

$$R^2 = 0,9046$$

$$T3: Y = 3,86 - 0,145 \cdot x$$

$$R^2 = 0,8477$$

$$T7: Y = 3,92 - 0,155 \cdot x$$

$$R^2 = 0,8802$$

$$T4: Y = 4,161 - 0,166 \cdot x$$

$$R^2 = 0,8896$$

$$T8: Y = 4,17 - 0,17 \cdot x$$

$$R^2 = 0,94257$$

Figura 16- Regressões do teor de etanol para os tratamentos nos dias de fermentação acética.

4.4.2.2 Acidez total

A análise dos dados de acidez total durante o processo de fermentação acética (Tabela 18) mostrou terem ocorrido diferenças significativas entre os tratamentos em cada tempo de fermentação.

A análise de variância dos dados de acidez total para os tratamentos nos tempos de fermentação mostrou que foram significativos os efeitos de “tratamentos”, “tempos” e “tratamentos x tempos”. A variação da acidez total diferiu conforme os tratamentos, sendo que o modelo polinomial de segundo grau ajustou-se bem aos dados de T1, T2, T3 e T8, ou seja, aumento da acidez total com o tempo de fermentação e tendência a queda no final. Já para os tratamentos T4 a T7 o modelo polinomial de terceiro grau foi o que mais se ajustou, mostrando que no início da fermentação ocorreu uma queda da acidez total, com aumento após a segunda semana e tendência a queda no final (Figura 17).

Tabela 18-Comparação das médias dos tratamentos para acidez total em ácido acético (gL^{-1}) no fermentado de gengibre conforme o tempo de fermentação acética.

Trat	Tempo (dias)				
	01	13	19	22	25
T1	2,95a	4,48ab	4,78a	4,22a	4,21 ^a
T2	3,70a	4,15ab	4,42a	4,37a	4,36 ^a
T3	2,95a	4,00ab	4,71a	4,47a	4,33 ^a
T4	3,96a	3,13ab	4,19a	4,15a	4,06 ^a
T5	2,93a	3,15bc	4,27a	4,13a	4,06 ^a
T6	3,72a	2,28c	2,65b	2,53b	2,43b
T7	2,96a	2,29c	3,65ab	3,53ab	3,26ab
T8	3,90a	4,68a	4,82a	4,44a	4,40 ^a

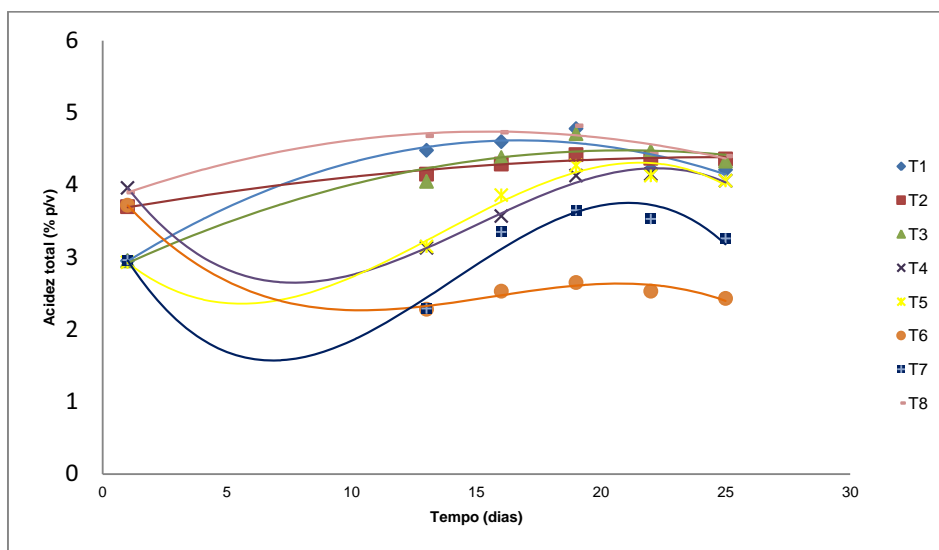
Médias com letras iguais minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Na temperatura de 20°C o T1 foi o que mostrou maior acidez ao longo do tempo.

Na temperatura de 27°C, os tratamentos T6 e T7 foram os que apresentaram menor acidez total durante todo o processo de fermentação, não evidenciando efeito da acidez inicial nesta temperatura. Contudo, observou-se que na condição de acidez inicial maior (2:1), a adição de nutrientes foi benéfica, o que é mostrado pelo comportamento do T8 em relação ao T6.

Os resultados obtidos para o teor de acidez nas amostras de vinagre se encontram dentro da legislação brasileira (4 g ácido acético/100mL), exceto os tratamentos 6 e 7 que se apresentam valores inferiores ao permitido.

Pedroso (2003) encontrou resultados semelhantes (4,5 g ácido acético/100mL) ao desenvolver vinagres de maçã produzidos por sistema de biorreator *airlift* e biorreator clássico.



T1: $Y = -0,0068x^2 + 0,2268x + 2,7258$	$R^2 = 0,9588$	T5: $Y = -0,001x^3 + 0,039x^2 - 0,344x + 3,2318$	$R^2 = 0,9623$
T2: $Y = -0,0012x^2 + 0,06x + 3,6315$	$R^2 = 0,9706$	T6: $Y = -0,0007x^3 + 0,031x^2 - 0,428x + 4,1155$	$R^2 = 0,9884$
T3: $Y = -0,0039x^2 + 0,1637x + 2,7602$	$R^2 = 0,9480$	T7: $Y = -0,0015x^3 + 0,0627x^2 - 0,6467x + 3,538$	$R^2 = 0,8983$
T4: $Y = -0,001x^3 + 0,0463x^2 - 0,528x + 4,4422$	$R^2 = 0,9779$	T8: $Y = -0,0041x^2 + 0,1253x + 3,7747$	$R^2 = 0,9370$

Figura 17- Regressões da acidez total para os tratamentos nos dias de fermentação acética.

4.4.2.2.3 Perfil de ácidos orgânicos

Os resultados obtidos para os ácidos orgânicos nos vinagres de gengibre, obtidos nas diferentes condições experimentais, evidenciaram a presença de ácido acético, ácido cítrico, ácido málico e ácido succínico em todos os tratamentos.

A análise dos dados mostrou que a condição de 20°C de temperatura de fermentação, com nutriente e acidez (1:1) proporcionou a obtenção de vinagre com maior teor de ácido acético, diferindo estatisticamente das outras condições testadas (Tabela 19). O aumento da temperatura de fermentação levou a produção dos outros ácidos (cítrico, málico e succínico) em maiores teores, o que pode ser observado no tratamento 5 (27°C, com nutriente, acidez 1:1). Os resultados mostraram também que uma maior acidez inicial leva a menores teores de ácido acético no vinagre.

Tabela 19- Médias dos ácidos orgânicos (gL^{-1}) no vinagre de gengibre para cada tratamento.

Tratamentos	Variáveis independentes			Variáveis Dependentes			
	T	N	A	Ac. acético	Ac. cítrico	Ac. málico	Ac. succínico
T1	20	Com	1:1	65,12a	0,21d	0,34b	0,41cd
T2	20	Com	2:1	50,19b	0,33c	0,37b	0,40cd
T3	20	Sem	1:1	47,78b	0,30cd	0,36b	0,40cd
T4	20	Sem	2:1	49,55b	0,27cd	0,45b	0,46bc
T5	27	Com	1:1	42,85c	0,65a	0,85a	0,57 ^a
T6	27	Com	2:1	32,85de	0,50b	0,90a	0,36d
T7	27	Sem	1:1	35,55d	0,39bc	0,37b	0,51ab
T8	27	Sem	2:1	30,58e	0,50b	0,51b	0,40cd

T=temperatura ($^{\circ}\text{C}$); N= nutrientes (com e sem adição); A=diluição da acidez total inicial.

Tratamentos com letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

O ácido acético apareceu em quantidade elevada em todas as amostras avaliadas, em comparação com os outros ácidos, confirmando ser ele o principal ácido orgânico do vinagre.

Em todos os tratamentos apesar das variações verificou-se a presença de ácido cítrico. De acordo com Morales et al. (1998) a ausência de ácido cítrico em algumas amostras de vinagre pode ser explicada pelo fato deste composto servir de substrato para alguns micro-organismos, produzindo ácido acético .

O ácido málico, presente originalmente na uva e na maçã, que apresenta uma concentração representativa deste composto, também foi encontrado nos vinagres. Esse ácido é convertido em ácido láctico durante a fermentação malolática, etapa facultativa na produção de vinhos destinados à fermentação acética. Natera et al. (2003) estudando a composição de vinagres de maçã justificou a baixa concentração de ácido málico e alta concentração de láctico nas amostras estudadas pela ocorrência de fermentação malolática.

Não foi detectada a presença de ácido láctico nas amostras de vinagre, que pode surgir também pela presença de bactérias lácticas contaminantes nas fermentações (AQUARONE; ZANCANARO, 1983; MORALES et al., 1998).

A Tabela 20 mostra os valores de análises realizados nos vinagres e os limites da legislação brasileira.

Tabela 20- Média das análises realizadas nos tratamentos do vinagre de gengibre e limites exigidos pela legislação nacional (BRASIL, 1999).

Trat.	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Limites exigidos pela legislação
Acidez	4,19	4,31	4,31	4,06	4,03	2,38	3,24	4,31	4,0 (mínimo)
Teor alcoólico (°GL)	0,32	0,66	0,62	0,54	0,33	0,43	0,54	0,27	1,0 (máximo)
Cinzas (g/L⁻¹)	2,19	2,21	2,16	2,15	2,84	2,37	2,34	2,29	1,0 (mínimo)
Extrato seco a 105°(g.L⁻¹)	2,84	2,88	2,80	2,80	3,70	3,10	2,92	2,73	1,2 (mínimo)

Através das análises realizadas foi possível constatar que todos os tratamentos realizados no vinagre de gengibre estão dentro da legislação, exceto os tratamentos T6 e T7 com acidez abaixo do limite permitido.

5 CONCLUSÕES

A partir dos estudos realizados foi possível concluir que:

As amiláceas estudadas podem ser consideradas bons substratos para o desenvolvimento de bactérias acéticas;

As condições de 20°C com adição de nutrientes e acidez de 1:1 (T1) leva a maior acidez ao longo do tempo;

Os valores de acidez encontrados nos tratamentos T6 e T7 não atingem o valor mínimo estabelecido pela legislação;

A presença de ácidos orgânicos nas amostras analisadas evidenciou a relação entre os tipos de ácidos orgânicos presentes com a matéria-prima fermentada. Enquanto os vinagres de álcool possuem apenas o ácido acético, o vinagre de gengibre além do ácido acético apresentou pequenas quantidades de ácido cítrico, málico e succínico.

6 REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA. O mercado de amido no mundo. 2004. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/artigos>>. Acesso em: 10 mar. 2011.

ABE, J. et al. Properties of the raw starch digesting amylase of *Aspergillus* SP K 27: a synergistic action of glucoamylase and alpha amylase. **Carbohydrate Research**, Kagoshima, v. 175, p. 85-92, 1988.

ADAMS, M. R. Small-scale vinegar production from bananas. **Tropical Science**, v. 20, n. 1, p. 11-19, 1978.

ADAMS, M. R.; TWIDDY, D. R. Performance parameters in the quick vinegar process. **Enzyme Microbiology and Technology**, v. 9, p. 369-373, 1987.

ADAMS, M. R. Vinegar. In: WOOD, B. J. B. **Microbiology of fermented foods**. London: Elsevier Applied Science, 1998. v. 1, p. 1-44.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10th ed. St Paul, 2000.

ALONSO, A. M. et al. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. **Food Research international**, Essex, v. 37, p. 715-721, 2004.

ANTONELLI, A. et al. Polyalcohols in vinegar as an origin discriminator. **Food Chemistry**, Barking, v. 60, n. 3, p. 403-407, 1997.

AQUARONE, E.; ZANCANARO JR. Vinagres. In: AQUARONE, E. et al. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. v. 5, p. 105-123.

- ASAI, T. **Acetic acid bacteria classification and biochemical activities**. Tokyo: University of Tokyo, 1968. 343 p.
- ASQUIERI, E. R. **Efeito da fermentação nas características da fécula de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) de três cultivares colhidas em diferentes épocas**. 1990. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.
- BAIK, B.; CZUCHAJOWSKA, Z.; POMERANZ, Y. Role and contribution of starch and protein content and quality to texture profile analysis of oriental noodles. **Cereal Chemistry**, Barking, v. 71, p. 315-320, 1994.
- BALLADIN, D. A.; HEADLEY, O. Liquid chromatographic analysis of the main pungent principles of solar dried West Indian ginger *Zingiber officinale Roscoe*. **Renewable Energy**, Oxford, v. 18, p. 257-261, Oct. 1999.
- BALLESTEROS, I. et al. Enzymic hydrolysis of steam exploded herbaceous agricultural waste (*Brassica carinata*) at different particule sizes. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 38, p. 187-192, 2002.
- BARUFFALDI, R. Biotecnologia-tecnologia das fermentações In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Produção de ácidos por microrganismos**. São Paulo: Edgard Blücher, 1975. v. 1, p. 70-87.
- BELLUCO, A. E. S. **Alterações fisiológicas e de composição em *Saccharomyces cerevisie* sob condições não proliferantes**. 2001. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- BELMONT. Indústria de vinagres Belmont. Disponível em: <<http://www.vinagrebmont.com.br>>. Acesso em: 6 mar. 2011.
- BEYNUM, G. M. A.; ROELS, J. A. Starch conversion technology. In: _____. **Food science and technology**. New York: Marcel Dekker, 1985. v. 14.
- BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, Ottawa, v. 49, p. 60-78, 1991.
- BORTOLINI F. et al. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de Kiwi (*Actinidia deliciosa*); Composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** Campinas, v. 21, n. 2, p. 236-243, maio/ago. 2001.
- BRASIL. Decreto n. 12.486 de 20 de outubro de 1978. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 21 out. 1978. p. 20.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 36, 14 de outubro de 1999. Estabelece o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 15 out. 1999. Seção 1, p. 76.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 6, 03 de abril de 2012. Padrões de identidade, qualidade e a classificação dos **fermentados acéticos (vinagres)**. 2012. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 abr. 2012. Seção 1.

BULÉON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 23, p. 85-112, 1998.

CANHOS, V. P. **Estudo das características de espécies de *Acetobacter***. 1975. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

CASTELO. Indústria de vinagres Castelo. Disponível em: <<http://www.vinagrecastelo.com.br>>. Acesso em: 6 mar. 2011.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. Fécula. Piracicaba: Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2011. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/pdf/Cepea-Fecula-2011>>. Acesso em: 27 set. 2011.

CEREDA, M. P. et al. A mandioca (*Manihot utilíssima*, Crantz) cultivar 'Pioneira'. 1- Características das raízes. **Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 33, n. 1, p. 105-126, 1990.

CEREDA, M. P. et al. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**: propriedades gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v. 1, 224 p.

CEREDA, M. P. Importância das tuberosas tropicais. In: CEREDA, M. P., et al. **Agricultura: tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 2, p. 13-25.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

EL-DASH, A. A.; CAMARGO, C. O.; DIAZ, N. M. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, 1982. 349 p.

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B. *Zingiber officinale Roscoe* : aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 27-32, 2004.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1989. 652 p.

FAO. **Produção mundial de gengibre**. Roma, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 25 jan. 2012.

FRANCO, C. M. L. et al. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v. 1, 224 p.

FRENCH, D. Chemical and biochemistry of starch. In: WHELAN, W. L. **Biochemistry: chemistry of carbohydrates**. London: Academic, 1975. v. 5, p. 269-326.

FRENCH, D. Organization of starch granules. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHAL, E. F. **Starch: chemistry and technology**. 2nd ed. London: Academic Press, 1984. chap. 7, p. 183-247.

FUJII, M.; HOMMA, T.; TANIGUCHI, M. Synergism of α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. **Biotechnology Bioengineering**, New York, v. 32, p. 910-915, 1988.

FURIATTI, S. et al. Utilização de tomate para elaboração de vinagre. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 14., 2009, Curitiba.

GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: GALLIARD, T. **Starch: properties and potencial**. Chichester: John Wiley, 1987. chap. 3, p. 55-78.

GARCIA-PARRILLA, M. C.; HEREDIA, F. J., TRONCOSO, A. M. Phenolic composition of wine vinegars produced by traditional static methods. **Nahrung**, Berlin, v. 41, n. 4, p. 232-235, 1997.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Development in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 7, p. 345-353, 1996.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starch: a review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 45, p. 253-267, 2001.

HROMATKA, O.; EBNER, H. Vinegar by submerged oxidative fermentation. **Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, DC, v. 51, n. 10, p. 1279-1280, 1959.

ILHA, E. C. **Utilização de mel de abelhas (*Apis mellifera*) para produção de vinagre**. 1997. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)-Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. 371 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Norme internationale: riz-détermination de la teneur en amylase**. Suisse, 1987. 5 p.

JUNQUEIRA, G. D. de A.; PIEDADE, R.; MALUF, W. R. Produção de gengibre. **Boletim Técnico de Hortaliças Universidade Federal de Lavras**, Lavras, n. 25, 1999.

KANEKO, T.; KUDO, T.; HORIKOSHI, K. Comparison of CD composition produced by chimeric Cgtases. **Agriculture Biology Chemistry**, Tokyo, v. 54, n. 1, p. 197-201, 1990.

KRIEGER, K. M. et al. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: micro blender and homogeneizer. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 74, n. 5, p. 553-555, 1997.

KRUGER, J. E.; LINEBACK, D.; STAUFFER, C. E. **Enzymes and their role in cereal technology**. Saint Paul: AACC, 1987. 403 p.

LAGES, A. C. A.; TANNENBAUM, S. R. Production of glucose from tapioca (cassava starch) and farinha de mandioca (cassava meal). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 3, p. 1012-1014, 1978.

LANKAPUTHRA, W. E. V.; SHAH, N. P. Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. **Mutation Research**, Amsterdam, v.397, p. 169-182, 1998.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Avaliação da celulase e pectinase como enzimas complementares no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para produção de etanol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, p. 113-117, 1999.

LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; CEREDA, M. P. Processamento da araruta (*Maranta arundinacea*) para extração e caracterização da fração amilácea. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 5, p. 151-155, 2002.

LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; FERRARI, T. B. Aproveitamento de gengibre (*Zingiber officinale*) de qualidade inferior como matéria-prima amilácea. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 1, p. 9-18, 2005.

LI, J. H. et al. Starch from hull-less barley: V. In-vitro susceptibility of waxy, normal, and high-amylose starches towards hidrolisis by alpha-amylases and amyloglucosidase. **Food Chemistry**, Barking, v. 84, n. 4, p. 621-632, mar. 2004.

LIM, S. T.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J. L. Characterization of phosphorus in starch by 31p nuclear magnetic spectroscopy. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 71, p. 468-472, 1994.

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

LIMBERGER, V. M.; et al. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.

- MARTINELLI, FILHO, A. **Tecnologia de vinhos e vinagres de frutas**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 1982. 130 p.
- MARTINS NETO, M. **Isolamento, caracterização e identificação de antioxidantes em rizomas de gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*)**. 1988. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)–Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.
- MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S.; SARMENTO, S. B. S. **Processamento de mandioca: iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial**. Brasília, DF: EMBRAPA; SEBRAE, 2003. parte 1. (Série agronegócios).
- MENDES, B. A. **Obtenção, caracterização e utilização de puba como matéria-prima na produção de etanol**. 1992. 176 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.
- MORALES, M. L.; GONZALEZ G. A.; TRONCOSO, A. M. Íon-exclusion chromatographic determination of organic acids in vinegars. **Journal of Chromatographic**, Amsterdam, v. 822, p. 45-51, 1998.
- MORETTO, E. et al. **Vinhos e vinagres (processamento e análises)**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1988. 167 p.
- MORRISON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionally. **Cereal Foods World**, Saint Paul, v. 40, p. 437-446, 1995.
- MOYLER, D. A. Extraction of essential oils with carbon dioxide. **Flavour and Fragrance Journal**, West Sussex, v. 8, p. 235-247, 1993.
- NATERA, R. et al. Chemometric studies of vinegar from different raw materials and processes of production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 51, p. 3345- 3351, 2003.
- NELSON, N. A photometric of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal Biology Chemistry**, Bethesda, n. 153, p. 375-380, 1944.
- NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON J. D. **Plantas medicinais: guia para profissionais de saúde**. São Paulo: Premier, 2002.
- NODA, T.; TAKAHATA, Y.; NAGATA, T. Properties of sweet potato starches from different tissue zones. **Starch/Starke**, Weinheim, v. 44, n. 10, p. 365-368, 1992.
- NOVOZYMES TERMAMYL®. Ficha técnica do produto. Disponível em: <<http://www.novozymes.com>>. Acesso em: 6 abr. 2011.

OBEL, L. B. Putting enzymes to work in bakery applications. **Cereal Foods World**, Saint Paul, v. 46, n. 9, p. 396-399, 2001.

OGAWA, N. et al. Acetic acid suppresses the increase in disaccharidase activity that occurs during culture of caco-2 cells. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.130, n. 3, p. 507-513, mar. 2000

ORY, I. D.; ROMERO, E. L.; CANTERO, D. Modeling the kinetics of growth of *Acetobacter aceti* in discontinuous culture: influence of the temperature of operation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 49, p. 189-193, 1998.

PALHARIN, L. H. D. C. et al.. Estudo sobre gengibre na medicina popular. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, n. 14, p. 1- 4, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.revistainf.com.br>>. Acesso em: 14 maio 2010.

PARANÁ (Estado). Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Departamento de Economia Rural. **Área, produção e valor bruto da produção de gengibre no Estado do Paraná, Safra 01/02**. Curitiba, 2012.

PARK, Y. K.; BAR, W. H.; PAPINI, R. S. Relação entre intumescimento, gelatinização e suscetibilidade dos amidos de mandioca e de milho a alfa amilase bacteriana. **Revista Brasileira de Tecnologia**, Brasília, DF, v. 2, n. 2, p. 95-99, 1971.

PARRONDO, J. et al. Production of vinegar from Whey. **Journal of the Institute of Brewing**, Brewing, v.109, p. 358, 2003.

PEDROSO, P. R. F. **Produção de vinagre de maçã em biorreator Airlift**. 2003. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

PIMENTEL, I. C. **Enzimas amilolíticas e proteolíticas**. Piracicaba: USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Genética, 1987. 52 p.

REYES, F. G. R. et al. Characterization of starch from ginger root (*Zingiber officinale*). **Starch/Starke**, Weinheim, v. 34, n. 2, p. 40-44, 1982.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physicochemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, London, v. 31, p. 189-207, 1991.

ROMERO, L. E. et al. A kinetic model for growth of *Acetobacter aceti* in submerged culture. **The Chemical Engineering Journal**, São Paulo, v. 54, p. B15- B24, 1994.

- RUTALA, W. A. et al. Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, Arlington, v. 21, n. 1, p. 33-38, Jan. 2000.
- SACHS, L. G. **Tecnologia dos produtos agropecuários: transformações de produtos vegetais**. Bandeirantes: FFALM, 1990.
- SAIDI, B. et al. Effect of seed treatments with organic acids on the control of common bunt (*Tilletia tritici* and *T. laevis*) in wheat. **Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkade Toegep Biol Wet**, Síria, v. 61, p. 213-221, 2001.
- SILVA, J. A.; SOARES, L. F.; COSTA, E. L. Sanitização de Carcaças de Frango com Soluções de Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão. **Revista Tecnologia de Carnes**, Campinas, v. 3 n. 1, p. 19-26. 2001.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches from Different Botanical Sources. **Food Chemistry**, Oxford, v. 81, p. 219-231, 2003.
- SOMOGY, M. Determination of blood sugar. **Journal Biology Chemistry**, Baltimore, n. 160, p. 69-73, 1945.
- SONI, S. K.; KAUR, A.; GUPTA, J. K. A solid state fermentation based bacterial α -amylase and fungal glucoamylase system and its suitability for the hydrolysis of wheat starch. **Process Biochemistry**, London, v. 39, n. 2, p. 185-192, 2003.
- SRIKANTA, S. et al. Novel technique for saccharification of cassava fibrous waste for alcohol production. **Starch Starke**, Weinheim, v. 39, n. 7, p. 234 - 37, 1987.
- SWINGS, J. The Genera *Acetobacter* and *Gluconobacter*. In: BALOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M; HARDER, W.; SCHLEIFER K.-H. **The prokaryotes**. New York: Springer Verlag, 1992. p. 2.268-2.286.
- SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch/Starke**, Weinheim, v. 37, n. 1, p. 1-5, 1985.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p.71-81, 2002.
- SPINOSA, W. **Utilização do amido da quirera de arroz na produção de vinagre**. 1996. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos)-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1996.
- SPINOSA, W. A. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre**. 2002. 215 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

STEVEN. Gengibre. Disponível em:

<<http://www.stevenfoster.com/education/monograph/ginger.html>>. Acesso em: 7 mar. 2011.

TAFFARELLO, L. A. B. **Produção, purificação parcial, caracterização e aplicações de alfa-amilase termoestável produzida por bactérias**. 2004. 183 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

TAKEMOTO, S.Y. **Avaliação do teor de acetoina em vinagres como forma de verificação de sua genuinidade**. 2000. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

TAVEIRA M. M. et al. Gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) Brasileiro: aspectos gerais, óleo essencial e oleoresina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, p. 64-69, 1997.

TESTER, R. F. Starch: the polysaccharide fraction. In: FRAZIER, P. J.; RICHMAND, P.; DONALD, A. M. **Starch: structure and functionality**. London: Royal Society of Chemistry, 1997. p. 163-171.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J. Annealing of starch: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 1-12, 2000

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. **Practical for guides the food industry-starch**. Saint Paul: Eagan, 1999. 94 p.

TORRES, L. M. **Caracterização dos parâmetros técnicos do processo de fabricação de aguardente a partir de gengibre**. 2009.105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. Comercialização de vinhos e derivados. Disponível em:<<http://www.uvibra.com.br>>. Acesso em: 8 abr. 2012.

WOOD, B. J. B. **Microbiology of fermented foods**. London: Blackie Academic and Professional, 1998. v. 2, p. 603-619.

ZANCANARO, JÚNIOR, O. **Otimização do processo lento de fermentação acética**. 1988. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1988.

ZANCANARO, JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E., et al. **Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 4, p. 183-208.