

**Gabriela Aguiar Campolina**

**ELABORAÇÃO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE JABUTICABA  
CONDUZIDOS COM LEVEDURAS LIVRES E IMOBILIZADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Lílian de Araújo Pantoja  
Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Soares dos Santos

**Diamantina - MG  
2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C198e

Campolina, Gabriela Aguiar

Elaboração de fermentados alcoólicos de jaboticaba conduzidos com leveduras livres e imobilizadas / Gabriela Aguiar Campolina . – Diamantina, 2018.

116 p. : il.

Orientadora: Lilian de Araújo Pantoja

Coorientadores: Alexandre Soares dos Santos

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. *Plinia jaboticaba*. 2. *Saccharomyces cerevisiae*. 3. Fermentação. 4. Imobilização celular. 5. Alginato de cálcio. I. Pantoja, Lilian de Araújo. III. Santos, Alexandre Soares dos. IV. Título. V. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 663**

GABRIELA AGUIAR CAMPOLINA

**ELABORAÇÃO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE JABUTICABA,  
CONDUZIDOS COM LEVEDURAS LIVRES E IMOBILIZADAS**

Dissertação apresentada ao  
MESTRADO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, nível  
de MESTRADO como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
MAGISTER SCIENTIAE EM CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

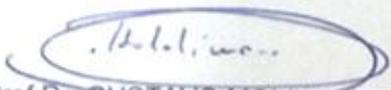
Orientador : Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lilian De Araujo  
Pantoja

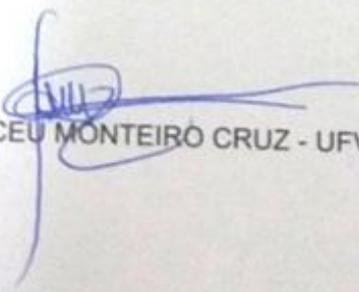
Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre  
Soares dos Santos

Data da aprovação : 08/06/2018

  
Prof. Dr.<sup>a</sup> LILIAN DE ARAUJO PANTOJA - UFVJM

  
Prof. Dr. ALEXANDRE SOARES DOS SANTOS - UFVJM

  
Prof. Dr. GUSTAVO MOLINA - UFVJM

  
Prof. Dr.<sup>a</sup> MARIA DO CEU MONTEIRO CRUZ - UFVJM

DIAMANTINA



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente DEUS por me iluminar, guiar meus passos durante esta caminhada e nunca me abandonar.

Aos meus pais Eugênio e Solange por todo apoio, amor e dedicação.

Às minhas irmãs Júlia e Camila pelo incentivo e carinho.

Aos meus orientadores Prof<sup>a</sup>. Lílian Pantoja e Prof. Alexandre Soares por todos os ensinamentos, paciência e apoio durante a realização do projeto.

Aos companheiros de laboratório em especial ao Philippe Brito por toda ajuda e ensinamentos desde o início do projeto, à Ana Cláudia e às minhas voluntárias Vitória e Michelle.

Aos meus amigos de Diamantina que fizeram esta caminhada ser mais leve, em especial à Lorena e Ana Cláudia pela amizade e por todos os momentos em “família”.

À Natália e Fernanda pela contribuição na realização deste estudo.

À professora Larissa por todo apoio e contribuição na realização do projeto.

A todos os professores e técnicos da UFVJM que contribuíram de alguma forma para realização do estudo, em especial à Ilva de Fátima, ao Prof. Paulo César e aos professores do PPGCTA.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) por fornecer a estrutura necessária para realização deste estudo.

A todos que de alguma forma colaboraram na realização deste trabalho, meu muito obrigada!



## RESUMO

A jabuticaba é um fruto de considerável valor nutricional e características organolépticas agradáveis que possuem sazonalidade e alta perecibilidade. Visando minimizar as perdas pós-colheita desse fruto, a busca por técnicas e tecnologias que visem atender esse gargalo se tornam valorosas e merecem destaque. Nesse sentido, a presente pesquisa teve por objetivo elaborar bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba com diferentes teores alcoólicos, utilizando leveduras livres e imobilizadas como agentes do bioprocessamento. Os frutos de jabuticaba foram caracterizados quanto aos aspectos físicos e a polpa, obtida por meio de despulpadeira, foi caracterizada físico-quimicamente. As fermentações foram conduzidas em batelada simples por até 18 dias a 22°C com células livres e imobilizadas em alginato de cálcio. Os processos foram monitorados quanto aos sólidos solúveis totais, pH, crescimento e desprendimento celular e ainda avaliados, no início e ao final da fermentação, quanto aos açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, etanol, glicerol, metanol, açúcares e ácidos orgânicos. Além destas foram avaliadas as seguintes variáveis de resposta: taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ ); rendimento em produto em relação ao substrato consumido ( $Y_{P/S}$ ); produtividade ( $Q_P$ ); rendimento de células em relação ao substrato consumido ( $Y_{X/S}$ ); velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ ); taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ); e eficiência fermentativa ( $E_f$ ). As bebidas obtidas foram maturadas a 5°C por 90 dias e ao final deste período foram caracterizadas quanto a cor, pH, açúcares redutores totais, compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, etanol, glicerol, metanol, açúcares, ácidos orgânicos e capacidade antioxidante e ainda, quanto às características sensoriais (teste descritivo e aceitabilidade). Todas as bebidas apresentaram  $E_f$  acima de 80% e  $Y_{P/S}$  de no mínimo 0,41 g g<sup>-1</sup>, além de características físico-químicas satisfatórias, principalmente em relação aos compostos antioxidantes. A imobilização celular apresentou bons resultados quanto à estabilidade mecânica das bioesferas durante o processo. Quanto às características sensoriais, quatro das doze bebidas obtidas se sobressaíram por serem bem aceitas, sendo estas, LIC1D, LIC2D, LLC1D e LLC2D com aceitação média de 72% e características sensoriais agradáveis. Foi observada uma maior aceitação dos julgadores por amostras adoçadas e de menor teor alcoólico. Em relação à forma de elaboração das bebidas, não houve diferença perceptível sensorialmente quanto ao uso de leveduras livres ou imobilizadas, porém o uso de leveduras imobilizadas mostrou-se mais eficiente quanto a variável  $Q_P$ .

**Palavras-chave:** *Plinia jaboticaba*. *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentação. Imobilização celular. Alginato de cálcio.



## ABSTRACT

The jaboticaba is a considerable nutrition value fruit that has a pleasant organoleptic characteristics, seasonality and high perishability. In order to minimize post-harvest losses of this fruit, the search for techniques and technologies that can solve this problem has become valuable and deserves attention. In this context, the aim of the present research is to develop fermented alcoholic beverages of jaboticaba in different alcoholic contents with free and immobilized yeasts as bioprocesses agents. This study characterized the jaboticaba fruit and its pulp in physical and physicochemical characteristics. The fermentations were produced in batchwise for up to 18 days at 22°C by free and immobilized cells in calcium alginate. During the processes, the total soluble solids, the pH and the cell's growth and detachment were determinate. The processes were evaluated at the beginning and in the end of fermentation by reducing sugars, phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins, ethanol, glycerol, methanol, sugars and organic acids. In addition, the following response variables were evaluated: specific growth rate of cell ( $\mu_x$ ); product yield in relation to the substrate consumed ( $Y_{p/s}$ ); productivity ( $Q_p$ ); yield of cells in relation to the substrate consumed ( $Y_{x/s}$ ); substrate consumption rate ( $r_s$ ); specific rate of substrate consumption ( $\mu_s$ ); and fermentative efficiency ( $E_f$ ). The beverages obtained were matured at 5°C for 90 days and in the end of this period were characterized as color, pH, total reducing sugars, phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins, ethanol, glycerol, methanol, sugars, organic acids and antioxidant capacity, as well as sensory characteristics (descriptive test and acceptability). All beverages had  $E_f$  above 80% and  $Y_{p/s}$  of at least 0.41 g g<sup>-1</sup> also presented satisfactory physico-chemical characteristics, mainly in relation to the antioxidant compounds. The cell immobilization showed good results on the mechanical stability according to the biospheres during the process. Regarding the sensorial characteristics, four of the twelve beverage obtained stand out for being well accepted, being these as LIC1D, LIC2D, LLC1D and LLC2D with average acceptance of 72% and pleasant sensorial characteristics. It was observed a greater acceptance of the consumer by sweetened samples and of lower alcohol content. Regarding the beverage preparation, there was no perceptible sensory difference regarding the use of free or immobilized yeasts, but the use of immobilized yeasts proved to be more efficient than the  $Q_p$  variable.

**Keywords:** *Plinia jaboticaba*. *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentation. Cell immobilization. Calcium alginate.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação da Via <i>Embden-Meyerhoff</i> esquematizada no interior de uma levedura e enzimas envolvidas.....	31
Figura 2 – Jaboticabeira e seus frutos.....	37
Figura 3 – Representação esquemática do processamento das bebidas alcoólicas fermentadas de jaboticaba utilizando leveduras livres e imobilizadas.....	38
Figura 4 – Aspecto da polpa de jaboticaba obtida em despoldadeira.....	38
Figura 5 – Bioesferas de levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> formadas em $\text{CaCl}_2$ (A e B).....	45
Figura 6 – Bioesferas da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> formadas em $\text{CaCl}_2$ após serem mantidas <i>over night</i> sob processo de refrigeração ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ).....	46
Figura 7 – Esquema do processo de formação de bioesferas.....	46
Figura 8 – Mosto de polpa de jaboticaba ( <i>Plinia jaboticaba</i> ) contidos em garrações de 8 L em processo de fermentação.....	47
Figura 9 – Esquema da contagem de células realizada na câmara de Neubauer.....	48
Figura 10 – Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos tempos de retenção utilizando o detector IR.....	50
Figura 11 – Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos compostos identificados utilizando o detector IR.....	50
Figura 12 – Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos tempos de retenção utilizando o detector UV-VIS com leitura a 210 nm.....	51
Figura 13 - Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos compostos identificados utilizando o detector UV-VIS com leitura a 210 nm.....	51
Figura 14 – Redução dos SST ( $^\circ\text{Brix}$ ) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC1 e LLC1.....	71
Figura 15 – Redução dos SST ( $^\circ\text{Brix}$ ) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC2 e LLC2.....	71
Figura 16 – Redução dos SST ( $^\circ\text{Brix}$ ) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC3 e LLC3.....	72
Figura 17 – Valores de ph obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC1 e LLC1.....	73
Figura 18 – Valores de ph obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC2 e LLC2.....	73

Figura 19 – Valores de ph obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC3 e LLC3.....	74
Figura 20 – Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC1 e desprendimento celular do sistema LIC1.....	75
Figura 21 – Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC2 e desprendimento celular do sistema LIC2.....	75
Figura 22 – Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC3 e desprendimento celular do sistema LIC3.....	76
Figura 23 – Aspecto das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba elaboradas utilizando leveduras imobilizadas. ....	85
Figura 24 – Aspecto das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba elaboradas utilizando leveduras livres.....	86
Figura 25 – Resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir dos resultados das análises físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.....	98
Figura 26 – Perfil sensorial das amostras de fermentado alcoólico de jabuticaba previamente selecionadas.....	103

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Bebidas elaboradas utilizando a levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como agente fermentativo.....	33
Tabela 2 – Bebidas alcoólicas fermentadas elaboradas utilizando leveduras imobilizadas em alginato. ....	34
Tabela 3 – Códigos utilizados na identificação dos seis diferentes sistemas de condução do processo fermentativo para obtenção das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.....	43
Tabela 4 – Condições empregadas no processo de preparo da bebida.....	44
Tabela 5 – Condições operacionais da cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.....	50
Tabela 6 – Códigos utilizados na identificação das 12 bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba. ....	55
Tabela 7 – Parâmetros utilizados na análise de colorimetria das bebidas.....	56
Tabela 8 – Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba.....	68
Tabela 9 – Duração dos processos fermentativos empregando <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na forma livre e imobilizada, com e sem chaptalização.....	68
Tabela 10 – Valores da taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) e a velocidade de consumo de substrato ( $r_s$ ) para os diferentes sistemas de elaboração de bebida alcoólica fermentada de jabuticaba.....	70
Tabela 11 – Caracterização físico-química do mosto fermentado de jabuticaba no início e final da fermentação empregando diferentes sistemas de fermentação.....	81
Tabela 12 – Resultados obtidos para as variáveis de resposta do processo fermentativo, produtividade volumétrica ( $Q_p$ ), rendimento da produção de etanol ( $Y_{p/s}$ ), eficiência fermentativa ( $E_f$ ), rendimento em células em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ) e taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ ).....	82
Tabela 13 – Resultados obtidos para o rendimento das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba estudadas (média±DP) e $p_{valor}$ .....	84
Tabela 14 – Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba em relação à cor.....	85
Tabela 15 – Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como secas.....	89
Tabela 16 – Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como doces.....	93

Tabela 17 – Concentração de açúcar presente nas bebidas e quantidades de xarope de sacarose adicionado às bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.....	95
Tabela 18 – Médias do teste de aceitação das bebidas alcoólicas de jabuticaba elaboradas a partir de leveduras imobilizadas.....	99
Tabela 19 – Médias do teste de aceitação das bebidas alcoólicas de jabuticaba elaboradas a partir de leveduras livres.....	99
Tabela 20 – Valores médios dos descritores avaliados e $p_{\text{valor}}$ .....	102

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ABRABE – Associação Brasileira de Bebidas

Acf – Acidez fixa

Act – Acidez total.

AcV – Acidez volátil

ANOVA – Análise de variância

AR – Açúcar redutor

ART – Açúcares redutores totais

ASL – Anidrido sulfuroso livre

AST – Anidrido sulfuroso total

CF – Compostos fenólicos

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

$E_f$  – Eficiência fermentativa

ESR – Extrato seco reduzido

EST – Extrato seco total

IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas

IN – Instrução Normativa

LabVin – Laboratório de Vinificação e Qualidade de Bebidas

LPAJEQUI – Laboratório de processamento de alimentos

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

pH – potencial hidrogeniônico

rpm – rotação por minuto

SST – Sólidos solúveis totais

TE – Equivalente trolox

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente trolox

UFLC – *Ultra Fast Liquid Chromatograf*

v/v – volume/volume



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	Objetivo Geral.....	23
2.2	Objetivos específicos.....	23
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	25
3.1	Bebidas alcoólicas fermentadas de frutas.....	25
3.2	Jaboticaba.....	26
3.3	Bebidas alcoólicas fermentadas de jaboticaba.....	27
3.4	Fermentação alcoólica.....	28
3.4.1	Etanol.....	29
3.4.2	Glicerol.....	30
3.4.3	Metanol.....	30
3.4.4	Ácidos orgânicos.....	32
3.5	Agente do processo fermentativo: leveduras.....	32
3.5.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	32
3.5.2	Imobilização de células.....	33
3.6	Perspectivas do uso da jaboticaba no contexto de bebidas alcoólicas fermentadas.....	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1	Obtenção, recepção e higienização da matéria-prima.....	37
4.2	Caracterização física dos frutos.....	38
4.3	Elaboração da polpa.....	38
4.4	Caracterização físico-química da polpa.....	39
4.4.1	Potencial hidrogeniônico (pH).....	39
4.4.2	Sólidos solúveis totais (SST).....	39
4.4.3	Acidez total (AcT).....	39
4.4.4	Açúcares redutores (AR).....	40
4.4.5	Compostos fenólicos (CF).....	40
4.4.6	Flavonoides.....	41
4.4.7	Antocianinas.....	41
4.4.8	Capacidade Antioxidante.....	42
4.5	Processo Fermentativo para elaboração da bebida alcoólica fermentada.....	43

4.5.1 Condições do processo fermentativo para obtenção das bebidas .....	43
4.5.2 Chaptalização do mosto.....	44
4.5.3 Preparo dos inóculos .....	44
4.5.4 Fermentação do mosto.....	47
4.6 Variáveis de resposta do processo fermentativo .....	52
4.6.1 Produtividade volumétrica ( $Q_p$ ) .....	52
4.6.2 Rendimento da produção de etanol ( $Y_{ps}$ ).....	52
4.6.3 Eficiência fermentativa ( $E_f$ ) .....	52
4.6.4 Fator de rendimento de célula em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ) .....	53
4.6.5 Taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ ) .....	53
4.6.6 Velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ ).....	53
4.6.7 Taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) .....	54
4.7 Obtenção das bebidas.....	54
4.7.1 Trásfegas e filtrações.....	54
4.7.2 Acondicionamento e armazenamento das bebidas alcoólicas fermentadas.....	55
4.8 Rendimento em bebidas .....	55
4.9 Análises físico-químicas das bebidas elaboradas .....	56
4.9.1 Colorimetria .....	56
4.9.2 Potencial hidrogeniônico (pH).....	56
4.9.3 Acidez total (AcT).....	56
4.9.4 Acidez volátil (AcV) .....	56
4.9.5 Acidez fixa (AcF).....	57
4.9.6 Açúcares redutores totais (ART).....	57
4.9.7 Extrato seco total (EST) .....	58
4.9.8 Extrato seco reduzido (ESR).....	58
4.9.9 Cinzas .....	58
4.9.10 Anidrido Sulfuroso (SO <sub>2</sub> ) total (AST).....	59
4.9.11 Anidrido Sulfuroso (SO <sub>2</sub> ) livre (ASL) .....	59
4.9.12 Cloretos totais .....	59
4.9.13 Compostos Fenólicos (CF) .....	60
4.9.14 Antocianinas .....	60
4.9.15 Flavonoides .....	60
4.9.16 Capacidade antioxidante.....	60

4.9.17 Ácidos orgânicos .....	60
4.9.18 Açúcares .....	61
4.9.19. Álcoois.....	61
4.9.20 Análise sensorial .....	61
4.9.20.1 Teste de aceitação.....	61
4.9.20.2 Teste descritivo .....	62
4.10 Análises estatísticas .....	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	65
5.1 Seleção e caracterização física dos frutos.....	65
5.2 Obtenção da polpa .....	65
5.3 Caracterização físico-química da polpa .....	66
5.4 Processo fermentativo para obtenção das bebidas fermentadas.....	68
5.4.1 Caracterização físico-química do mosto durante o processo fermentativo.....	68
5.4.2 Variáveis de resposta do processo fermentativo .....	82
5.5 Rendimento do processo em bebida .....	83
5.6 Bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba .....	84
5.6.1 Características de cor das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba .....	84
5.6.2 Caracterização físico-química das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba ..	86
5.6.3 Características sensoriais das bebidas fermentadas de jabuticaba .....	98
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	105
7 REFERÊNCIAS.....	107
APÊNDICE A – Ficha de avaliação sensorial utilizada para os dois primeiros testes de aceitação. ....	115
APÊNDICE B – Ficha de avaliação sensorial utilizada para o teste de aceitação final .....	116



## 1 INTRODUÇÃO

A produção de frutas no Brasil é uma atividade crescente e de importância econômica considerável para o país, devido à quantidade e diversidade de frutas produzidas. De acordo com o Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF) (2013), em um período de 14 anos, teve-se um aumento de 30% na produção de frutas frescas no Brasil, que se destaca por ser o terceiro maior produtor de frutas do mundo, atrás apenas da China e da Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2018). No ano de 2016, foram produzidas no Brasil 38,8 milhões de toneladas de frutas frescas e a estimativa é que em 2017 a produção tenha sido por volta de 44 milhões de toneladas, devido à interferência das condições climáticas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2018; CNA, 2016). Além da alta produção de frutas, no Brasil, as perdas e desperdícios também são elevados, chegando a 40%. Essas perdas na produção ocorrem do campo até a mesa do consumidor, principalmente durante o manuseio, transporte e nas centrais de abastecimento (UGALDE; NESPOLO, 2015).

Dentre as alternativas para a redução das perdas e desperdícios de frutas, o processamento surge como uma boa opção, principalmente quando se trata de frutas sazonais, que em seus picos de safra atingem baixos preços devido ao aumento de oferta no mercado. As frutas processadas possuem como vantagens maior valor agregado que as frescas, possibilidade de consumo durante todo o ano e ainda atingem um segmento diversificado, capaz de atender aos diferentes nichos de mercado. Estas estão presentes na rotina das pessoas em forma de sucos, polpas, conservas ou na forma desidratada, ainda são utilizadas como matéria-prima de alimentos como sorvetes, iogurtes, néctares, refrescos, barra de cereais, drinques, bebidas alcoólicas, confeitos, entre outros (PEREIRA, 2006).

Neste contexto, uma das frutas sazonais que apresenta potencial de comercialização, principalmente quando submetida à diferentes tipos de processamento é a jaboticaba. Este fruto de sabor agradável é nativo do Brasil e apresenta alta perecibilidade e considerável valor nutricional, principalmente pela presença de compostos antioxidantes (JUNIOR *et al.*, 2017; ZERBIELLI *et al.*, 2016; CITADIN; DANNER; SASSO, 2010). Além disso, o fruto apresenta ampla aceitação comercial, devido às suas características organolépticas apreciáveis por grande parte dos consumidores.

A jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) é fruto da jaboticabeira, árvore pertencente à família *Myrtaceae* de proliferação espontânea em grande parte do território brasileiro (LIMA *et al.*, 2008). Devido à sua sazonalidade e alta perecibilidade, esta fruta é consumida apenas em

seu período de safra, de agosto a novembro (CEAGESP, 2018). Portanto, devido às características apresentadas, inúmeros estudos sobre os produtos derivados de jabuticaba têm sido realizados. Acredita-se que o interesse nos estudos deste fruto tende a elevar a procura por novos métodos de processamento, permitindo sua maior valorização como matéria-prima. Segundo Alves (2011), tais estudos possibilitam melhorar o destino mercadológico destas frutas.

No Brasil, o mercado de bebidas alcoólicas é considerado como amplo e diversificado, sendo este um dos destinos mercadológicos existentes para as frutas. Neste sentido, de acordo com a Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE, 2016), o mercado de bebidas alcoólicas pode ser dividido em bebidas destiladas e bebidas fermentadas, sendo neste último, os vinhos classificados como a segunda bebida mais consumida no mercado, com consumo crescente devido à sua popularização, que se torna cada vez maior (ACSELRAD *et al.*, 2012; YAMAMOTO, 2011; IBGE, 2011). De acordo com o Instituto Brasileiro de Vinho – Ibravin (2017), os estudos mais recentes indicam o Brasil em 20º lugar quanto ao consumo de vinhos *per capita*, sendo este de dois litros. Deste modo, diante do exposto, estima-se que o mercado de fermentados alcoólicos de frutas, assim como o de vinhos, também tende a crescer com o aumento de sua popularização, visto que atualmente a produção e comercialização de fermentados alcoólicos de frutas, em especial de jabuticaba, ainda são incipientes. Neste sentido o presente estudo tem como meta elaborar bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba, utilizando leveduras livres e imobilizadas como descrito a seguir.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Elaborar bebidas alcoólicas de jabuticaba, utilizando leveduras livres e imobilizadas em processos fermentativos conduzidos em batelada simples.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar os frutos de jabuticaba quanto aos aspectos físicos;
- Caracterizar a polpa da jabuticaba em relação aos aspectos químicos e físico-químicos;
- Produzir bebidas alcoólicas de jabuticaba por processo fermentativo em batelada simples utilizando leveduras livres;
- Produzir bebidas alcoólicas de jabuticaba por processo fermentativo em batelada simples utilizando leveduras imobilizadas em alginato de cálcio;
- Determinar as características químicas e físico-químicas dos fermentados alcoólicos, no início, durante e ao final do processo;
- Avaliar a aceitação sensorial das bebidas alcoólicas fermentadas produzidas;
- Caracterizar as bebidas alcoólicas fermentadas produzidas quanto aos seus aspectos sensoriais por meio de teste descritivo.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Bebidas alcoólicas fermentadas de frutas

As bebidas alcoólicas fermentadas são produzidas há milhares de anos, acredita-se que as primeiras bebidas fermentadas foram vinho e cerveja, e que estas na antiguidade eram produzidas por processos espontâneos de fermentação e que só nas últimas décadas começaram a se utilizar métodos mais modernos da biotecnologia para a produção deste tipo de bebida (AQUARONE, 2011; DIAS; PANTOJA; SCHWAN, 2010).

Os fermentados alcoólicos de frutas são definidos como aqueles obtidos através da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie. A fermentação pode ser realizada utilizando suco integral, concentrado ou polpa, que neste caso poderá ser adicionado de água. Além de água, podem ser adicionados aos fermentados, açúcar, gás carbônico e outros aditivos específicos para cada tipo de fruta utilizada. Em relação ao teor alcoólico da bebida, este depende da fruta à qual será utilizada como matéria-prima, variando de 4 a 14% em volume, a 20°C (BRASIL, 2009; BRASIL, 2008).

Segundo o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, os fermentados de frutas podem ainda ser desalcooolizados, com teor alcoólico menor ou igual a 0,5% em volume, licorosos que possuem teor alcoólico de 14 a 18% em volume a 20°C e fermentados de frutas compostos, que possuem graduação alcoólica de 15 a 20% em volume, a 20°C. Esses dois últimos podem ser adicionados de álcool etílico potável de origem agrícola, caramelo e sacarose (BRASIL, 2009).

Dentre os fermentados alcoólicos elaborados a partir de frutas, o vinho (bebida obtida a partir da uva) é o mais conhecido e consumido em todo o mundo. Todavia, uma gama de frutos vêm ganhando popularidade na forma de fermentado alcoólico e despertando, ainda, o interesse técnico-científico, ao longo dos anos. Dentre estes, podem ser citados como exemplos os fermentados alcoólicos de laranja (OLIVEIRA *et al.*, 2015), de jabuticaba (BARBOSA *et al.*, 2017; NEVES, 2016; SÁ *et al.*, 2014; FORTES *et al.*, 2012), de açaí e cupuaçu (PEREIRA *et al.*, 2014), de banana (FILHO *et al.*, 2015), de mandacaru (ALMEIDA *et al.*, 2011), de morango (ANDRADE *et al.*, 2014), de acerola (SEGTOEWICK; BRUNELLI; VENTURINI FILHO, 2013), de abacaxi (CADENGUE *et al.*, 2017; PARENTE *et al.*, 2014), de umbu (DANTAS; SILVA, 2017), entre outros.

De acordo com Dias; Pantoja e Schwan (2010), os processos para obtenção das bebidas fermentadas de frutas variam de acordo com a matéria-prima e com a levedura utilizada, pois estes parâmetros interferem diretamente na qualidade das bebidas. Por esse motivo, é relevante a realização de mais estudos, mesmo para bebidas que já possuem suas

metodologias estabelecidas, visando não apenas o processamento, mas também o armazenamento e conservação destas.

Dentre os vários frutos utilizados para a produção de bebidas alcoólicas fermentadas daremos destaque a jabuticaba, por ser alvo deste estudo.

### 3.2 Jabuticaba

A Jabuticaba é uma fruta silvestre do tipo baga globosa que possui até 3 cm de diâmetro e apresenta como principais características a coloração roxa escura ou negra, polpa branca e mucilaginosa, alta suculência, sabor agridoce e geralmente uma única semente, apesar de poder apresentar até 4 sementes. Suas flores são emitidas sobre o caule e galhos da jabuticabeira (*Plinia sp.*, antes denominada *Myrciaria*). A jabuticabeira pertence à família *Myrtaceae*, tem porte de médio a grande, com 3,4 a 5,6 metros de altura e proliferação em grande parte do Brasil, desde o Pará até o Rio Grande do Sul, com maior produtividade na região sudeste e período de safra durante os meses de agosto a novembro (JESUS *et al.*, 2004; CEAGESP, 2018; ALVES, 2011; BRASIL, 2002; CITADIN; DANNER; SASSO, 2010; LIMA *et al.*, 2008).

A produção de jabuticabas no Brasil ainda é uma atividade extrativista, fato que dificulta a obtenção de dados sobre a produção e comercialização desta fruta. Só a CEAGESP (2018) registrou a comercialização de aproximadamente 2400 toneladas de jabuticaba no ano de 2016.

As espécies de jabuticaba relatadas na literatura são inúmeras, porém três se destacam por possuírem a capacidade de dispersão natural e serem amplamente cultivadas no Brasil. São estas *Plinia trunciflora* (Berg) Mattos, popularmente conhecida como jabuticaba-de-cabinho, *Plinia cauliflora* Berg, conhecida como jabuticaba-paulista, ponhema ou assu e *Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg popularmente conhecida como jabuticaba-sabará (BRASIL, 2002; CITADIN; DANNER; SASSO, 2010). A jabuticaba-sabará (*Plinia jaboticaba*) é espécie mais conhecida, principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo e se diferencia das demais por ser menor e possuir casca mais grossa. Em condições ideais para consumo esta fruta apresenta consistência firme e casca brilhante (BRASIL, 2002; CITADIN; DANNER; SASSO, 2010).

As jabuticabas são constituídas basicamente por carboidratos (15,3%), fibras (2,3%), proteínas (0,6%), lipídios (0,13%), minerais como cálcio, magnésio, manganês, fósforo, potássio e zinco, e vitamina C (TBCA, 2017; TACO, 2011). Além disso, nesses frutos, tanto a polpa quanto a casca, são ricas em compostos bioativos e com importante função antioxidante (ALVES *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2016; TEIXEIRA; STRINGHETA;

OLIVEIRA, 2008; ALVES, 2011; LIMA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010; EINBOND *et al.*, 2004).

Os compostos antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, em baixas concentrações, quando comparadas com a concentração de substrato oxidável, são capazes de retardar ou prevenir a oxidação de tal substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995). Os compostos antioxidantes estão presentes na jabuticaba na forma de antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos. Estes possibilitam a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e prevenção de vários tipos de neoplasias, agindo como agente protetor contra o estresse oxidativo e reduzindo os possíveis danos ao DNA e outras estruturas das células, que podem desencadear processos inflamatórios e doenças como o câncer e a aterosclerose (SANTOS *et al.*, 2014).

Estudos realizados utilizando a jabuticaba como matéria-prima para a elaboração de produtos fermentados, como licores, fermentados alcoólicos e aguardentes obtiveram resultados sensoriais e físico-químicos satisfatórios, o que comprova, de fato, que o processamento desta fruta é promissor para o aproveitamento das mesmas. Entre os estudos, podem ser destacados a produção de licores, fermentados alcoólicos (SÁ *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2008) e aguardentes (ASQUIERI; SILVA; CÂNDIDO *et al.* 2009) elaborados utilizando a polpa e/ou a casca das jabuticabas. Além desses, outros estudos envolvendo a jabuticaba como matéria-prima para produção de fermentados alcoólicos foram encontrados, conforme apresentado a seguir.

### **3.3 Bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba**

A busca por novos produtos e a inovação dos já existentes no mercado é constante e fundamental no setor alimentício (CARVALHO; ARAÚJO, 2017), visto que atrai consumidores, gerando renda e empregos (BORGES *et al.*, 2011). Neste contexto, a elaboração de fermentados alcoólicos de jabuticaba é um exemplo que merece destaque por proporcionar novas formas de aproveitamento para esse fruto, bem como por propiciar um melhor destino mercadológico.

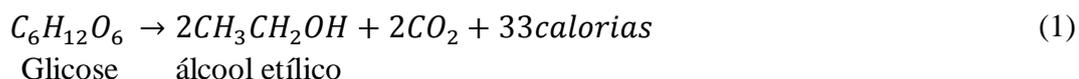
Os estudos de caracterização química de fermentados alcoólicos de jabuticaba mencionam que estes possuem um interessante potencial antioxidante. Relatam ainda que durante a fermentação alcoólica, são produzidos compostos que contribuem para as características organolépticas da bebida como, ácidos orgânicos (ácido acético e succínico), álcoois (etanol) e ainda, o glicerol em menor quantidade (SÁ *et al.*, 2014; FORTES *et al.*, 2012; BARROS; CAMPOS; MOREIRA, 2010; SILVA *et al.*, 2008).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) n° 34 de 29 de novembro de 2012 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os fermentados de jabuticaba devem possuir as seguintes características: acidez fixa de no mínimo 30 meq L<sup>-1</sup>, acidez total de 50 a 130 meq L<sup>-1</sup>, acidez volátil de no máximo 20 meq L<sup>-1</sup>, anidrido sulfuroso total de no máximo 0,35 g L<sup>-1</sup>, cloretos totais de no máximo 0,5 g L<sup>-1</sup>, extrato seco reduzido de no mínimo 7 g L<sup>-1</sup>, graduação alcoólica de 4 a 14% v/v a 20°C e teor de açúcar maior que 3 g L<sup>-1</sup> em caso de fermentado doce ou suave e menor ou igual a 3 g L<sup>-1</sup> no caso de fermentados secos (BRASIL, 2012). Alguns parâmetros ainda não são bem estabelecidos na legislação para fermentados alcoólicos de jabuticaba. Neste caso, pode-se utilizar como base a legislação dos vinhos devido às semelhanças entre as duas frutas, uvas e jabuticabas, bem como o processo de elaboração dos vinhos e fermentados alcoólicos de frutas.

### 3.4 Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é definida como um processo anaeróbio, catalisado por enzimas específicas, em que ocorre a transformação dos açúcares presentes no mosto em etanol e gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Esta transformação é realizada principalmente por leveduras, em seu citoplasma, como *Saccharomyces cerevisiae*, que é uma das mais utilizadas em processos alimentícios (CECCATO-ANTONINI, 2012; LIMA *et al.*, 2001).

Os produtos originados em maior quantidade pela fermentação alcoólica, como já mencionados, são o álcool etílico (etanol) e o gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Esses são formados em proporções equimolares, como pode ser visto na Equação de *Gay-Lussac* (Equação 1) (HASHIZUME, 2011). Entretanto, a molécula de glicose até ser transformada em etanol e gás carbônico passa, em processo anaeróbio, por várias etapas intermediárias, onde são formados outros produtos da fermentação, como: acetaldeído, glicerol, 2,3 butilenoglicol, ácido láctico, ácido succínico e ésteres como o acetato de etila e ácidos orgânicos fixos, formados pela esterificação dos ácidos málico e tartárico. Ainda são formados álcoois superiores e outros ácidos, pela ação das leveduras do processo sobre os aminoácidos presentes no mosto (HASHIZUME, 2011).



O processo de fermentação alcoólica (Figura 1) se inicia com a glicólise, conhecida também por Via *Embden-Meyerhoff*. Como mencionado, a fermentação alcoólica é catalisada por enzimas específicas, que inicialmente convertem a glicose (açúcar de seis carbonos) em dois açúcares menores (açúcares de 3 carbonos) exigindo duas moléculas de

ATP. Esta transformação ocorre em três etapas: uma fosforilação inicial da glicose em glicose-6-fosfato, uma isomerização da glicose-6-fosfato em frutose 6-fosfato e uma segunda fosforilação originando a frutose 1,6-bifosfato. Em seguida, é formado o gliceraldeído-3-fosfato e a di-hidroxicetona, esta última em menor quantidade. O gliceraldeído-3-fosfato formado é convertido a 1,3-bifosfoglicerato que em seguida será convertido a 3-fosfoglicerato. Por fim, na última fase da glicólise, o 3-fosfoglicerato é convertido a piruvato. A enzima fosfogliceromutase catalisa a conversão do 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato e a enzima enolase catalisa a desidratação destes últimos, formando fosfoenolpiruvato. A fosforilação de ADP é então realizada e são formados ácido pirúvico e ATP, as moléculas de ácido pirúvico são convertidas a duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de CO<sub>2</sub>. Os acetaldeídos formados são reduzidos, por ação de duas moléculas de NADH, originando duas moléculas de etanol. Portanto, o saldo de ATP ao final da glicólise é de duas moléculas de ATP por molécula de hexose metabolizada (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Durante a fermentação alcoólica, como mencionado, outros produtos são obtidos, além de etanol e CO<sub>2</sub>, responsáveis pelos diversos sabores e aromas característicos das bebidas fermentadas. Portanto, os compostos produzidos na fermentação estão ligados ao tipo matéria-prima utilizada, bem como ao microrganismo, uma vez que estes terão valorosa influência na obtenção de uma bebida com as características desejáveis (AQUARONE, 2011).

### 3.4.1 Etanol

O etanol, principal produto formado no processo de fermentação alcoólica, tem sua produção realizada através de enzimas que agem em monossacarídeos como glicose, frutose e manose, produzindo piruvato, o qual será convertido a acetaldeído pela ação da enzima piruvato descarboxilase, com liberação de CO<sub>2</sub>. Para a formação da molécula de etanol, o acetaldeído é reduzido, pela ação da enzima álcool desidrogenase, liberando NAD<sup>+</sup> a partir de NADH + H<sup>+</sup> (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

As principais leveduras utilizadas para biossíntese de etanol são as *Saccharomyces cerevisiae*, que possuem a capacidade de adaptação metabólica, sendo um anaeróbio facultativo (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001). Vários parâmetros devem ser considerados na escolha do agente fermentativo, como exemplos podem ser citados possuir crescimento considerável e alta tolerância ao etanol a fim de garantir um bom rendimento em produto, visto que em altas concentrações, o etanol torna-se um inibidor para a ação das leveduras (DIAS; PANTOJA; SCHWAN, 2010).

O etanol presente nas bebidas fermentadas age como um fixador de aroma e realça as características sensoriais dos outros componentes da bebida, além de determinar sua

viscosidade. Todavia, em altas concentrações, este pode mascarar o aroma e sabor real da bebida, devendo assim ser monitorada para manter a qualidade desejada da bebida (DIAS; PANTOJA; SCHWAN, 2010; MINGORANCE-CAZORLA *et al.*, 2003).

### 3.4.2 Glicerol

O glicerol é um poliálcool formado a partir de intermediários da via glicolítica (Figura 1). Sua produção ocorre através de uma pequena quantidade  $\text{NADH} + \text{H}^+$  que é desviada durante a produção de etanol, a qual é utilizada na redução da dihidroxicetona-fosfato a glicerol-3-fosfato, que passa pelo processo de desfosforilação gerando assim, o glicerol (BARNET; BARNET, 2011; ZOECKLEIN *et al.*, 2001).

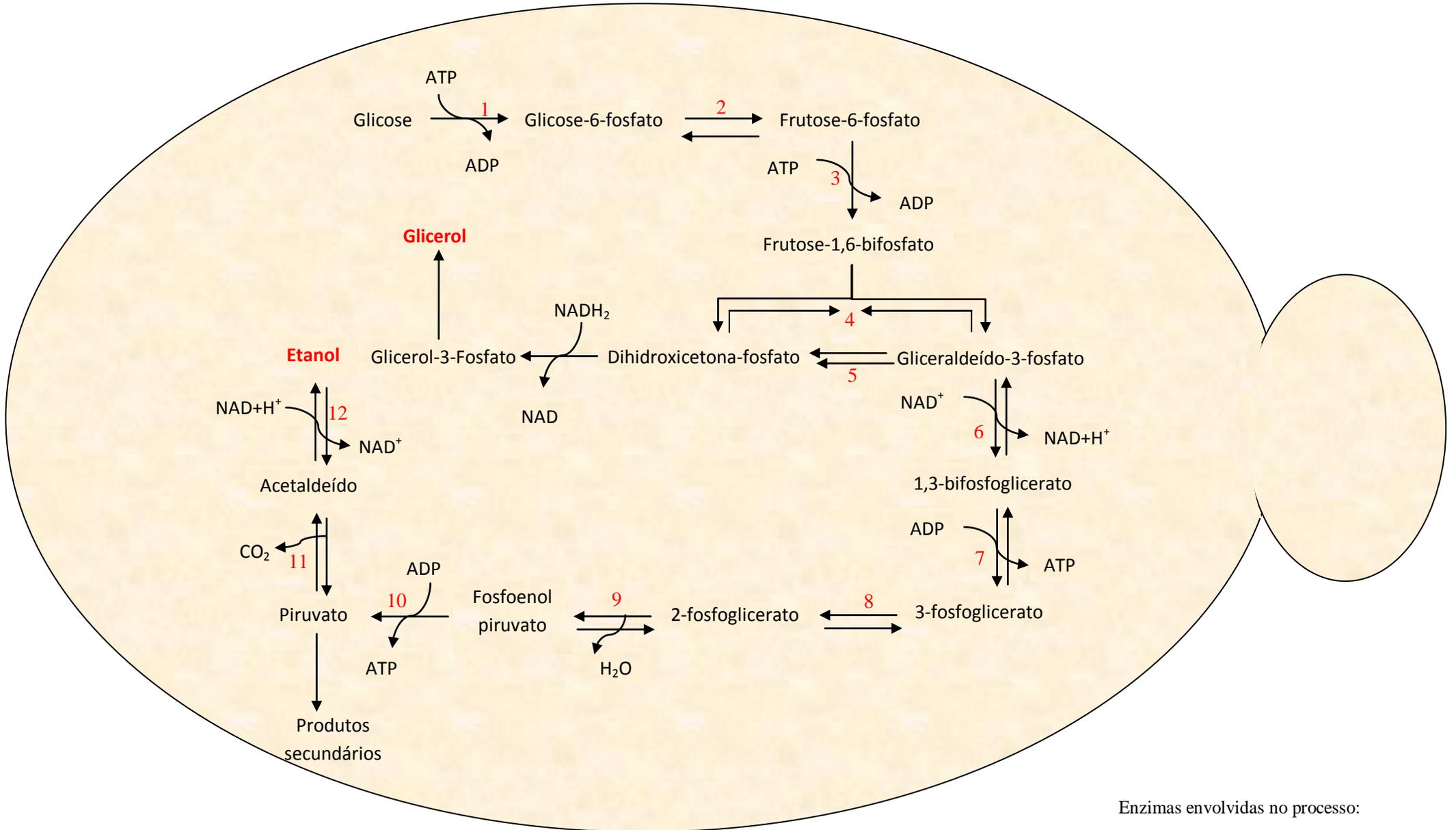
Durante o processo fermentativo para obtenção de bebidas, o glicerol possui a função osmoreguladora, em altas pressões osmóticas, e ainda, de equilibrar o potencial de oxidação e redução endocelular da levedura (BALLI, 2003). Nas bebidas alcoólicas fermentadas, este poliálcool atua melhorando a viscosidade, o sabor e, a textura, contribuindo para suavidade das bebidas (DIAS; PANTOJA; SCHWAN, 2010).

### 3.4.3 Metanol

O álcool metílico, conhecido como metanol, é produzido em pequenas quantidades durante a fermentação alcoólica, porém este é um composto importante e sua produção deve ser monitorada. De acordo com Uenojo e Pastore (2007), o metanol é produzido a partir da ação da enzima pectina esterase que atua catalisando a hidrólise dos grupos metil éster da pectina proveniente do próprio fruto.

O metanol, quando ingerido em altas concentrações pode causar doenças e até mesmo a morte de seres humanos. Ali *et al.* (2010) mencionam que a alta toxicidade do metanol, quando oxidado *in vivo* torna-se um composto tóxico para o sistema nervoso central e por isso sua produção durante o processo fermentativo merece uma atenção especial. Paine e Dayan (2001) reportam que a concentração máxima segura de metanol em bebidas alcoólicas não deve exceder 2% (v/v).

**Figura 1** – Representação da Via *Embden-Meyerhoff* esquematizada no interior de uma levedura e enzimas envolvidas.



Enzimas envolvidas no processo:

- |  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1- Hexoquinase                           | 7- Fosfoglicerato quinase   |
| 2- Fosfoglicose isomerase                | 8- Fosfoglicerato mutase    |
| 3- Fosofruutoquinase                     | 9- Enolase                  |
| 4- Aldolase                              | 10- Piruvato quinase        |
| 5- Triose fosfato isomerase              | 11- Piruvato descarboxilase |
| 6- Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase | 12- Álcool desidrogenase    |

### 3.4.4 Ácidos orgânicos

A presença dos ácidos orgânicos em bebidas fermentadas influenciam diretamente nas características sensoriais e na qualidade das mesmas, porém esta influência pode ser positiva ou negativa dependendo das concentrações presentes. Além disso, estão relacionados ao controle de estabilidade microbiológica e são responsáveis por evitar a degradação oxidativa de compostos presentes na bebida fermentada (DIAS; PANTOJA; SCHWAN, 2010; OLIVEIRA, 2006; GUERRA; BARNABÉ, 2005).

Fermentados alcoólicos de jabuticaba possuem como principais ácidos orgânicos os ácidos cítrico, málico e tartárico, em grande parte provenientes da própria fruta, e os ácidos acético, láctico e succínico, que são produzidos como produtos secundários durante a fermentação.

Os ácidos tartárico, málico, láctico succínico e cítrico são responsáveis por compor a acidez fixa de vinhos (GUERRA, 2010). Dentre esses ácidos, merecem destaque o ácido tartárico e o ácido succínico. O ácido tartárico, apesar de já estar presente na fruta tem sua concentração reduzida a partir da fermentação. Este quando presente em excesso atribui à bebida fermentada adstringência e aspereza, porém quando presente em concentrações adequadas é capaz de atribuir uma leve e agradável acidez (RIZZON; MIELE, 2001). O ácido succínico por sua vez, se destaca pela necessidade de ser monitorado, visto que em altas concentrações pode atribuir gosto amargo salgado (FORTES *et al.*, 2012).

O ácido acético, principal componente da acidez volátil dos fermentados alcoólicos (FORTES *et al.*, 2012; GUERRA, 2010), se apresenta como um indicador de qualidade destas bebidas, pois de acordo com a Instrução normativa (IN) n° 34 de 29 de novembro de 2012 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a acidez volátil de fermentados alcoólicos, especificamente de jabuticaba, não devem ultrapassar a concentração de 20 mEq L<sup>-1</sup>, visto que concentrações superiores a esta podem ser um indicativo de contaminação.

## 3.5 Agente do processo fermentativo: leveduras

### 3.5.1 *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras são microrganismos eucariotos, unicelulares de formato esférico, oval ou cilíndrico e tamanho entre 5 a 8 µm. Em sua maioria, as leveduras são anaeróbias facultativas e se desenvolvem bem em pH ácido, com pH ótimo entre 5 e 6, e temperaturas amenas, entre 20 e 30°C (MADIGAN *et al.*, 2016; TENREIRO; OUTEIRO, 2015).

A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura amplamente conhecida na indústria alimentícia por possuir a capacidade de fermentar açúcares produzindo etanol e CO<sub>2</sub>, ser resistente a temperaturas mais elevadas e não produzir compostos tóxicos. Devido a essas características, é largamente utilizada na produção de vinhos, cervejas e fermentados alcoólicos como apresentado na Tabela 1 (PERRICONE *et al.*, 2017). Os vinhos e bebidas alcoólicas fermentadas em geral, utilizam a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em seu processo fermentativo por esta apresentar bons resultados em relação ao teor alcoólico produzido, devido à capacidade de consumo de açúcar, bons rendimentos e alta eficiência fermentativa (ALCÂNTARA; MENEZES, 2017; MADIGAN *et al.*, 2016).

**Tabela 1** – Bebidas elaboradas utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* como agente fermentativo.

Alimento produzido	Referência
Cervejas	PINTO <i>et al.</i> , 2015; CARVALHO; ZAMBIASI, 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2009.
Vinhos	BENDER <i>et al.</i> , 2017; RIZZON; MIELE, 2002; VILLAPANDA <i>et al.</i> , 2013.
Fermentados alcoólicos	BRUNELLI; IAMIZUMI; VENTURINI-FILHO, 2017; OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2015; COSTA <i>et al.</i> , 2017.

**Fonte:** Autor.

Os processos fermentativos estão sendo modificados e aprimorados com o passar dos anos. A modificação na morfologia dos microrganismos inoculados em uma fermentação, pela técnica de imobilização, é uma importante modificação que tem se destacado pelas vantagens que proporcionam a um processo fermentativo (GEISE, 2015a).

### 3.5.2 Imobilização de células

A técnica imobilização celular tem sido aplicada na elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas. Dentre as várias técnicas existentes, a mais utilizada para este fim é a técnica de imobilização artificial, especificamente a por aprisionamento de células em matriz polimérica utilizando o gel de alginato. Na Tabela 2 alguns exemplos de bebidas elaboradas utilizando células imobilizadas em alginato. Esta técnica, além de ser eficiente, mantém a estabilidade dos microrganismos e possui baixo custo (GEISE, 2015a).

As vantagens obtidas ao se utilizar a técnica de imobilização celular são muitas, dentre essas a de maior destaque é a estabilidade dos microrganismos imobilizados que reflete diretamente na sua eficiência fermentativa e facilita a adaptação das células no meio. Além disso, a imobilização possibilita o uso de densidades celulares maiores, possível reutilização das células e não necessita de extrações, isolamentos e nem purificações, o que reduz

significativamente os custos do processo (GEISE, 2015a; GEISE, 2015b; COVIZZI *et al.*, 2007).

A técnica de imobilização de células pode ser realizada de diferentes formas, as quais são divididas em dois tipos de imobilização. São estes: a imobilização natural, que inclui formação de biofilmes, adsorção e adesão dos microrganismos em suportes naturais ou sintéticos; e a imobilização artificial, que inclui o aprisionamento em matriz polimérica ou o uso de agentes ligantes. Cada uma dessas técnicas é apropriada para um tipo de processo e sendo relevante saber escolher a forma mais adequada a se utilizar. Uma das características que deve ser observada para escolher a melhor forma de imobilização é a capacidade da matriz em aprisionar a maior quantidade de células viáveis, sem limitar a transferência de massa entre os microrganismos e o meio, pois a escolha incorreta da matriz pode ocasionar o rompimento da mesma pelo aprisionamento de gases e crescimento dos microrganismos (GEISE, 2015a; COVIZZI *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2005).

A imobilização natural, como o próprio nome sugere, ocorre espontaneamente por meio de interações eletrostáticas. Todavia na imobilização artificial são utilizados agentes ligantes que possuem a função de conectar as células, por meio de ligações covalentes, à matriz polimérica (COVIZZI *et al.*, 2007).

**Tabela 2** - Bebidas alcoólicas fermentadas elaboradas utilizando leveduras imobilizadas em alginato.

Produto elaborado	Microrganismo	Referência
Vinhos	<i>Saccharomyces cerevisiea</i>	LETRAS, 2017
Vinhos	<i>Starmerella bombicola</i> , <i>Metschnikowa pulcherrima</i> , <i>Hanseniaspora uvarum</i> , <i>Hanseniaspora uvarum</i>	CANONICO <i>et al.</i> , 2016
Bebida fermentada de framboesa	<i>Saccharomyces cerevisiea</i>	DJORDJEVIĆ <i>et al.</i> , 2015
Bebida fermentada à base de mel	<i>Saccharomyces cerevisiea</i>	PIMENTEL, 2016
Bebida fermentada de cagaita	<i>Saccharomyces cerevisiea</i>	OLIVEIRA, 2010

Fonte: Autor.

### 3.6 Perspectivas do uso da jabuticaba no contexto de bebidas alcoólicas fermentadas

Considerando o potencial nutricional, a quantidade produzida de frutos no país e suas características sensoriais, a jabuticaba tem sido pouco explorada para elaboração de bebidas. No Brasil, alguns produtores de fermentados alcoólicos de jabuticaba comercializam o produto, porém seu consumo e produção ainda são limitados, necessitando de maiores estudos que impulsionariam o mercado.

De acordo com o Instituto Estrada Real (2018), os fermentados alcoólicos de jabuticaba ainda são produzidos de forma artesanal e vendidos em feiras, comércios e pequenas adegas. Em escalas maiores, são produzidos por poucas empresas, e atualmente, são encontrados no mercado com preços entre R\$30,00 e R\$50, variando conforme o processamento e a marca. Dentre as empresas que comercializam os fermentados alcoólicos de jabuticaba, podem ser destacadas a Cantina Mattiello<sup>®</sup> e a Taberna Velho Oeste<sup>®</sup>. A Cantina Mattiello<sup>®</sup> produz de vinhos a bebidas fermentadas alcoólicas de jabuticaba, estas últimas podem ser adquiridas no mercado pelo valor de R\$45,99 e possuem como principais características o teor alcoólico de 10% v/v e o amadurecimento em cubas de aço inoxidável (CANTINA MATTIELLO, 2018). A Taberna Velho Oeste<sup>®</sup> além de produzir vinhos e fermentados alcoólicos de jabuticaba, produz fermentados alcoólicos de outras frutas, como pêssego, amora, cupuaçu, dentre outras. As bebidas fermentadas de jabuticaba produzidas por esta empresa são encontradas no mercado no valor de R\$39,00 e possuem como principais características o teor alcoólico de 10,5% v/v (TABERNA VELHO OESTE, 2018).

Pesquisas têm sido realizadas nas últimas décadas sobre bebidas alcoólicas produzidas a partir da jabuticaba, entre essas, podem ser destacados as realizadas por Barbosa *et al.* (2017) que analisaram fermentados de jabuticaba quanto ao seu teor alcoólico; Neves (2016), que analisou os compostos fitoquímicos e bioativos em licores e fermentados de jabuticaba; Sá *et al.* (2014), que estudaram o potencial antioxidante e a atividade vasodilatadora de bebidas fermentadas de jabuticaba; Gonçalves e Sousa (2014), que avaliaram sensorialmente bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba; e Fortes *et al.* (2012) que avaliaram a evolução das mudanças químicas durante a fermentação de jabuticabas. Contudo, o número de estudos sobre fermentados alcoólicos de jabuticaba ainda é considerado pequeno. Apesar disso, pode-se inferir que o crescimento desses estudos e publicações na área, aumente o interesse de produção desta bebida, valorize a fruta e o país, diminua o desperdício da jabuticaba em períodos de safra e ainda proporcione aos consumidores desfrutar de um produto nacional, de qualidade e baixo custo.

De acordo com Reis (2015), o setor de bebidas no Brasil ainda precisa ser organizado, este autor destaca que o reconhecimento de possíveis regiões geográficas produtoras de diferentes bebidas, como as bebidas fermentadas de jabuticaba, contribuiria para o desenvolvimento econômico destas regiões. Além disso, associações de *sommeliers* de outras bebidas que não seja o vinho e de institutos e escolas que representem diferentes bebidas, provavelmente, aumentariam sua disseminação e reconhecimento no mercado.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção, recepção e higienização da matéria-prima

As jabuticabas foram adquiridas de pequenos produtores da cidade de Diamantina-MG, nos meses de outubro e novembro de 2016 (Figuras 2A e B). Os frutos foram devidamente transportados em bandejas de polietileno para o Laboratório de Vinificação e Qualidade de Bebidas (LabVin), localizado no prédio de pesquisa LPPJEU-UFVJM, Diamantina/MG.

Os frutos foram selecionados quanto à sanidade e grau de maturação, excluindo aqueles que apresentavam injúrias ou alto grau de senescência. Após esta etapa, os frutos foram lavados em água corrente com sucessivas lavagens e em seguida secos à temperatura ambiente em local previamente higienizado (Figura 2).

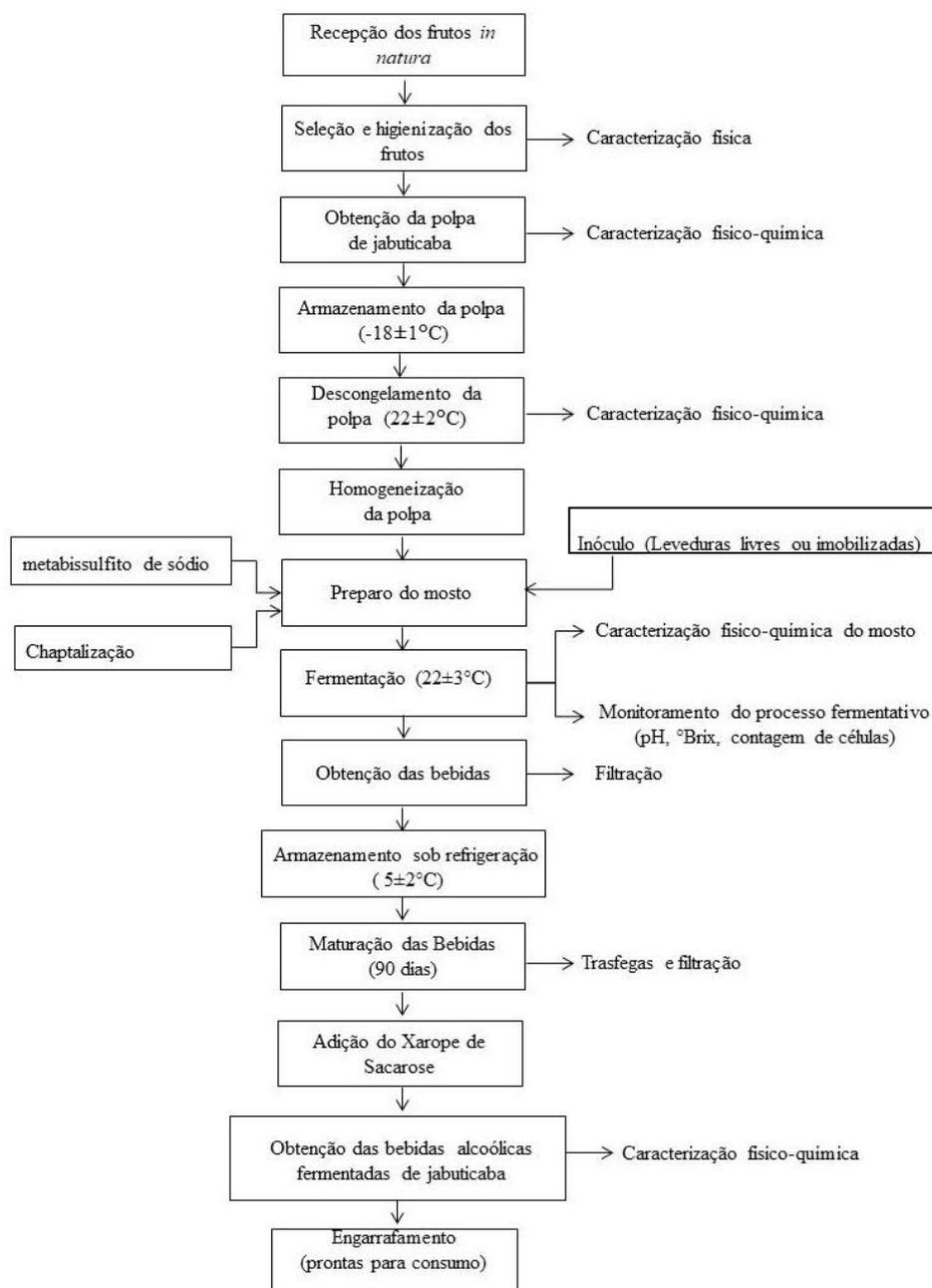
**Figura 2** - Jabuticabeira e seus frutos. A) Aspecto da fruteira cultivada no município de Diamantina, MG de onde os frutos utilizados para o estudo foram colhidos. B) Aspecto dos frutos de jabuticaba após higienização em água corrente.



Fonte: Autor.

Visando um melhor entendimento deste estudo, a seguir encontra-se uma representação esquemática (Figura 3) contendo todas as etapas do processo, considerando da recepção da matéria-prima à obtenção do fermentado alcoólico de jabuticaba.

**Figura 3** – Representação esquemática do processamento das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba utilizando leveduras livres e imobilizadas.



Fonte: Autor

## 4.2 Caracterização física dos frutos

As jabuticabas foram caracterizadas fisicamente por amostragem de 300 frutos, quanto a massa (g) e diâmetro (mm). Este procedimento foi realizado com auxílio de paquímetro e balança semi-analítica (marca Marte).

## 4.3 Elaboração da polpa

As jabuticabas, previamente lavadas, foram despulpadas com o auxílio de despulpadeira (marca Braesi) utilizando malha de 0,5 mm. A polpa obtida foi aferida quanto à sua massa em balança semi-analítica (marca Marte), bem como os resíduos obtidos (cascas e

sementes). Desta forma foi calculado o rendimento em polpa, seguindo a Equação 2 apresentada abaixo.

$$\text{Rend. polpa (\%)} = \frac{m_p}{m_f} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Rend. Polpa (%) = Rendimento da polpa em porcentagem;

$m_p$  = massa da polpa (g);

$m_f$  = massa do fruto (g).

Após a pesagem, a polpa obtida (Figura 4), foi acondicionada em sacos plásticos transparentes de baixa densidade, com capacidade para 500 mL, e armazenada em freezer a  $-18^\circ\text{C} \pm 1$  para uso posterior.

**Figura 4** – Aspecto da polpa de jabuticaba obtida em despoldadeira.



Fonte: Autor.

#### 4.4 Caracterização físico-química da polpa

##### 4.4.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado por leitura direta da polpa *in natura* em potenciômetro digital (marca Ms Tecnopon). A determinação foi feita segundo metodologia da AOAC (1998).

##### 4.4.2 Sólidos solúveis totais (SST)

A determinação do teor de sólidos solúveis foi realizada em refratômetro manual (marca Biobrix), com escala de 0 a 32% Brix e com precisão de  $\pm 0,2\%$ .

##### 4.4.3 Acidez total (AcT)

A acidez total (AcT) foi determinada segundo metodologia da AOAC (1998). A análise foi realizada a partir de  $2 \pm 0,5$  g de polpa contidos em frasco Erlenmeyer de 125 mL,

adicionados de 50 mL de água destilada e 3 gotas do indicador fenolftaleína na concentração de 1%. Após homogeneização, a solução foi titulada com solução padronizada de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  até atingir coloração rósea. Os resultados para a AcT foram expressos em  $\text{g}_{\text{ác.cítrico}} 100\text{g}^{-1}_{\text{polpa}}$ , utilizando o ácido cítrico como padrão, seguindo a Equação 3 descrita abaixo.

$$AcT = \left( \frac{M \times Vg \times Fc \times mEq}{p} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

AcT = acidez total ( $\text{g}_{\text{ác.cítrico}} 100 \text{ g}^{-1}$ );

M = concentração molar do NaOH ( $\text{mol L}^{-1}$ );

Vg = volume gasto (mL);

Fc = fator de correção do NaOH;

mEq = mili equivalente do ácido = 0,06404;

p = peso da amostra (g).

#### 4.4.4 Açúcares redutores (AR)

A determinação analítica dos açúcares redutores (AR) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Miller (1959). A amostra foi preparada a partir de 1,5 mL da polpa de jabuticaba, acondicionada em microtubos tipo Eppendorf<sup>®</sup> com capacidade para 2 mL, centrifugada a 10000 rpm durante 10 minutos.

A quantificação dos AR foi determinada pela adição de 100  $\mu\text{L}$  da amostra, centrifugada e diluída quando necessário, em microtubos tipo Eppendorf<sup>®</sup>. A esta foram acrescidos 100  $\mu\text{L}$  do reagente DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), seguidos de homogeneização, banho de água fervente ( $95 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por 5 minutos e resfriamento em banho de água com gelo ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por 3 minutos. Após resfriamento procedeu-se a adição de 1000  $\mu\text{L}$  de água destilada seguido de homogeneização e leitura em espectrofotômetro (marca Biospectro) a 540 nm.

O cálculo da concentração de AR foi realizado por meio da elaboração de uma curva de calibração de 0 a  $1 \text{ g L}^{-1}$ , utilizando glicose como padrão, na concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{g}_{\text{AR}} \text{ L}^{-1}_{\text{polpa}}$ .

#### 4.4.5 Compostos fenólicos (CF)

A concentração de compostos fenólicos (CF) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). As amostras foram extraídas e diluídas (50 vezes) em metanol 80% e destas, em balão volumétrico de 10 mL foram adicionados 400  $\mu\text{L}$

da referida amostra e 400  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu, seguido de homogeneização e repouso, no escuro, por 5 minutos. A seguir foram adicionados 4 mL de carbonato de sódio a 1M e água destilada até completar o volume para 10 mL. Após 90 minutos de repouso, no escuro, a absorbância foi determinada em espectrofotômetro (marca Biospectro) a 750 nm.

O cálculo da concentração de CF foi realizado utilizando uma curva de calibração de 0 a 100  $\text{mg L}^{-1}$ , utilizando ácido gálico como padrão, na concentração de 100  $\text{mg L}^{-1}$ . Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{mg}_{\text{ác. gálico}} \text{L}^{-1}$ .

#### 4.4.6 Flavonoides

A concentração de flavonoides foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Zhisten *et al.* (1999). As amostras foram extraídas e diluídas (50 vezes) em metanol 80% e em seguida, em um balão volumétrico de 10 mL, foram adicionados de uma alíquota de 1000  $\mu\text{L}$  da referida amostra e 300  $\mu\text{L}$  de nitrito de sódio  $\text{NaNO}_2$  (5%). A mistura foi submetida a repouso, no escuro, por 5 minutos e em seguida foram adicionados de 300  $\mu\text{L}$  de cloreto de alumínio  $\text{AlCl}_3$  (10%) e novamente, repouso por 6 min. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de hidróxido de sódio  $\text{NaOH}$  (1 M) e água destilada até completar o volume de 10 mL. Após esta etapa procedeu-se a leitura em espectrofotômetro (marca Biospectro) a 420 nm.

O cálculo da concentração de flavonoides presente nas amostras foi realizado utilizando uma curva de calibração utilizando a pirocatequina como padrão na concentração de 0 a 100  $\text{mg L}^{-1}$ . Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{mg}_{\text{pirocatequina}} \text{L}^{-1}$ .

#### 4.4.7 Antocianinas

Os teores de antocianinas foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Horowitz (2005). A quantificação foi determinada pela adição de duas alíquotas de 1 mL da amostra, adicionadas separadamente em balões volumétricos de 10 mL, sendo uma adicionada de acetato de sódio (pH 4,5) e a outra de cloreto de potássio (pH 1) até completar o volume. Posteriormente, as absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro (marca Biospectro) com leitura a 520 nm e 700 nm. A concentração de antocianinas foi obtida por meio da Equação 4:

$$CA = \frac{A \times 449,2 \times fd \times 10^3}{26900} \quad (4)$$

Onde:

CA = Concentração de antocianinas,  $\text{mg L}^{-1}$ ;

A =  $(\text{Abs}_{520\text{nm}} - \text{Abs}_{700\text{nm}})_{\text{KCl}} - (\text{Abs}_{520\text{nm}} - \text{Abs}_{700\text{nm}})_{\text{Na}(\text{CH}_3\text{OO})}$ ;

*fd* = Fator de diluição.

#### **4.4.8 Capacidade Antioxidante**

A capacidade antioxidante da polpa de jabuticaba utilizada para o preparo do mosto do fermentado alcoólico estudado foi determinada pelos métodos DPPH e ABTS conforme descrito a seguir.

##### **4.4.8.1 Método 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

A avaliação da atividade antioxidante pelo método 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi realizada conforme metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995).

A quantificação foi realizada a partir de uma alíquota de 100 µl da amostra previamente diluída em água destilada seguida da adição de 2,9 mL do radical DPPH  $6.10^{-5}$  M preparado em etanol 50%. Após esta etapa procedeu-se a leitura em espectrofotômetro (marca Femto, *Software* FemtoScan) a 515 nm em intervalos de um minuto até alcançar o estado estacionário dos valores obtidos, medida esta indicadora final da medida analítica.

O cálculo da concentração da atividade antioxidante (DPPH) foi realizado utilizando uma curva de calibração de 0,1 mM a 0,80 mM, utilizando Trolox na concentração de 0,02 mM. Os resultados da TEAC (capacidade antioxidante equivalente trolox) foram expressos em mM de equivalente Trolox (TE)  $L^{-1}$  de amostra.

##### **4.4.8.2 Método ABTS**

A avaliação da atividade antioxidante pelo método 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foi realizada conforme metodologia descrita por Re *et al.* (1999).

A quantificação foi realizada a partir de alíquotas de 10 µL das amostras acrescidas de 3 mL da solução de radical ABTS<sup>\*+</sup> preparada a partir de 5 mL de solução de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio na concentração de 140 mmol  $L^{-1}$ . A solução de radical ABTS<sup>\*</sup> foi deixada em repouso por 16 h ao abrigo da luz e diluída em solução de álcool etílico a 60%, seguida de leitura em espectrofotômetro (marca Femto) a 734 nm até obtenção de valores na faixa de  $0,7 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ . A mistura contendo amostra foi deixada em repouso ao abrigo da luz durante 6 minutos e então, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro (marca Femto, *Software* FemtoScan) a 734 nm.

O cálculo da concentração da atividade antioxidante (ABTS) foi realizado utilizando uma curva de calibração de 0,0 mM a 0,02 mM, utilizando Trolox na concentração de 0,02 mM. Os resultados da TEAC (capacidade antioxidante equivalente trolox) foram expressos em mM de equivalente Trolox (TE)  $L^{-1}$  de amostra.

#### 4.5 Processo Fermentativo para elaboração da bebida alcoólica fermentada

O processo fermentativo foi conduzido em batelada simples, em 6 (seis) formas diferentes de condução do processo e em duplicata. As diferenças entre as formas de condução (sistemas) referem-se ao inóculo, leveduras livres ou imobilizadas, e ao teor alcoólico, com ou sem chaptalização, ou seja, as fermentações foram convencionadas para obtenção de 4%, 8% e 12% (v/v) de etanol. Desta forma, o estudo fez doze sistemas os quais foram identificados por meio de códigos conforme Tabela 3 a seguir.

**Tabela 3** - Códigos utilizados na identificação dos seis diferentes sistemas de condução do processo fermentativo para obtenção das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.

Condição da Levedura	Teor Alcoólico (%)		
	4	8	12
Levedura Livre	LLC1	LLC2	LLC3
Levedura Imobilizada	LI C1	LI C2	LIC3

**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

##### 4.5.1 Condições do processo fermentativo para obtenção das bebidas

O mosto, constituído da polpa de jabuticaba, foi dividido em garrações de vidro com capacidade para 8 L, nestes foram adicionados 5 L de mosto para os sistemas elaborados utilizando leveduras imobilizadas e 4 L para os sistemas elaborados utilizando leveduras livres. Aos mostos, contidos nos garrações de vidro, foram adicionados metabissulfito de sódio na concentração de 30 ppm de SO<sub>2</sub> livre e, chaptalizados com sacarose conforme descrito na Tabela 4. Os garrações foram previamente sanitizados com metabissulfito de sódio 6 g L<sup>-1</sup>, seguido de abundante lavagem com água potável e no mínimo duas lavagens com água quente (80±2°C).

O mosto, antes da adição de metabissulfito e chaptalização, foi devidamente homogeneizado, e submetido às análises de pH, concentração de sólidos solúveis totais (SST), acidez total (AcT) e açúcares redutores (AR), conforme descrito nos itens 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3, e 4.4.4, respectivamente.

**Tabela 4** - Condições empregadas no processo de preparo da bebida.

Sistemas	Quantidade de mosto (L)	Chaptalização com sacarose (g L <sup>-1</sup> )	Forma e quantidade de leveduras
LIC1		0	500 bioesferas L <sup>-1</sup> por litro de mosto
LIC2	5	80	
LIC3		160	
LLC1		0	0,6 g L <sup>-1</sup> de levedura
LLC2	4	80	desidratada por litro de mosto
LLC3		160	

**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

#### 4.5.2 Chaptalização do mosto

A chaptalização, processo no qual se adiciona açúcar como ingrediente da fermentação alcoólica foi realizado de acordo com o disposto na legislação de fermentados alcoólicos de frutas (BRASIL, 2008).

O procedimento de chaptalização foi realizado a partir dos resultados da análise de açúcares redutores, realizada no mosto. Os cálculos para estimar a chaptalização levaram em consideração a densidade do etanol (Equação 5), a quantidade de açúcares redutores presentes no mosto (polpa) e a quantidade de etanol teórica produzida no processo fermentativo a partir do consumo de açúcares. A chaptalização foi realizada de modo a se obter, após o processo fermentativo, bebidas fermentadas com graduações alcoólicas de 4%, 8% e 12% de etanol v/v (Tabela 4).

$$d = \frac{m}{v} \quad (5)$$

Onde:

$d$  = densidade do etanol;

$m$  = massa de etanol;

$v$  = volume de etanol.

#### 4.5.3 Preparo dos inóculos

Os inóculos dos processos fermentativos foram realizados utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (ZYMAFLORE FX10–VINROUGE) na forma livre e imobilizada em alginato de cálcio.

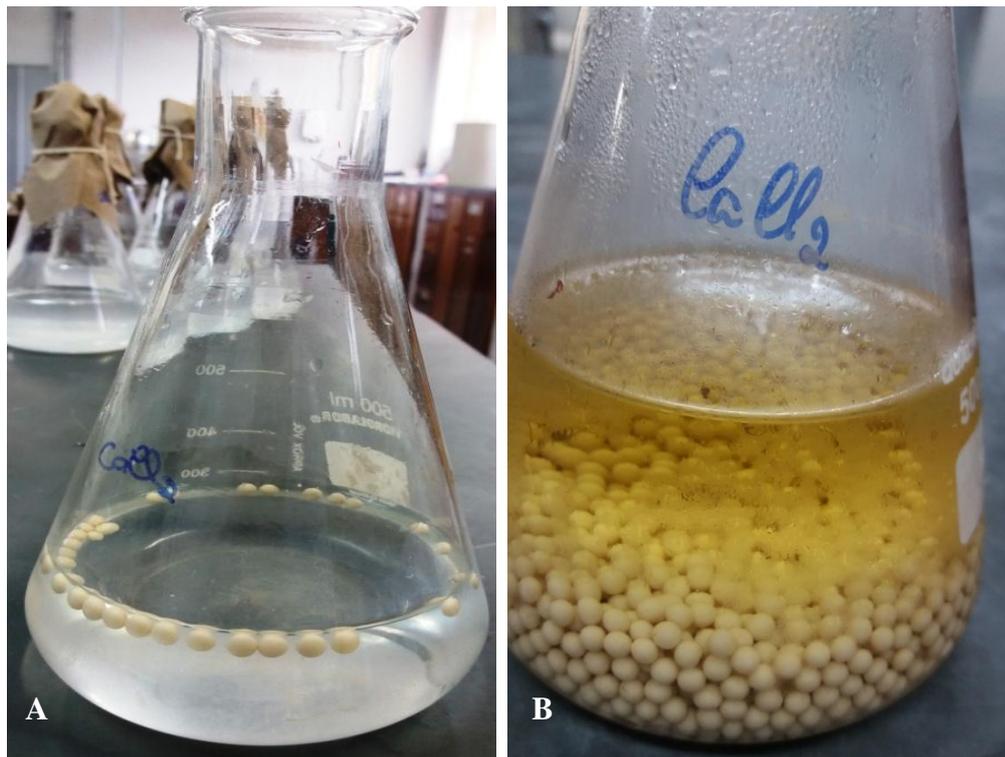
#### 4.5.3.1 Inóculos com células livres

No processo fermentativo conduzido a partir de leveduras livres, foram inoculados  $0,6 \text{ g L}^{-1}$  da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (ZYMAFLORE FX10–VINROUGE) diretamente no mosto (Tabela 4), seguido de leve agitação dos garrafões.

#### 4.5.3.2. Inóculos com células imobilizadas

O preparo das leveduras imobilizadas (bioesferas) foi realizado a partir de uma suspensão de células de *S. cerevisiae* (ZYMAFLORE FX10–VINROUGE) na concentração de 15% em alginato de sódio a 2% (p/v). A partir desta suspensão de células realizou-se o processo de imobilização seguindo a técnica descrita por Sanchez (1995) e Pereira Jr. (2002), conforme descrito a seguir: a suspensão de células contidas em frasco tipo Mariotte foi gotejada em solução de  $\text{CaCl}_2$  0,1 M, na qual, por gelificação, foram formadas bioesferas instantaneamente (Figuras 5A e B, e 6). Após esta etapa as bioesferas formadas foram mantidas em repouso por uma noite (*overnight*) sob refrigeração ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

**Figura 5** – Bioesferas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* formadas em  $\text{CaCl}_2$  ( A e B).



Fonte: Autor.

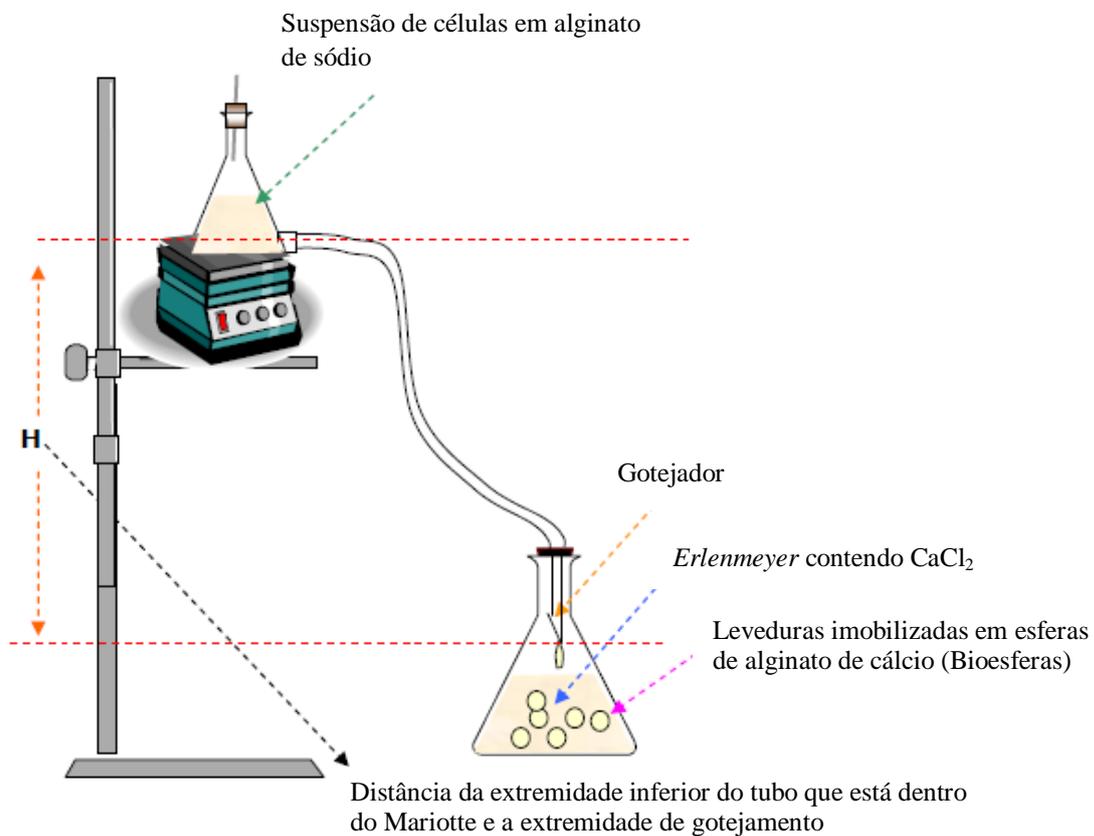
**Figura 6** – Bioesferas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* formadas em  $\text{CaCl}_2$  após serem mantidas *overnight* sob refrigeração ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ).



Fonte: Autor.

O diâmetro médio das bioesferas formadas foi de 5 mm e dependeu do diâmetro do gotejador, da viscosidade da suspensão de células, da velocidade de formação e da altura (H). O esquema do processo de formação das bioesferas pode ser visualizado na Figura 7.

**Figura 7** - Esquema do processo de formação de bioesferas.



Fonte: PANTOJA, 2006.

Ao final do processo de imobilização celular foram inoculadas 500 bioesferas L<sup>-1</sup> de mosto, conforme apresentado na Tabela 4.

#### 4.5.4 Fermentação do mosto

Os garrafões de fermentação, contendo o mosto e os inóculos, foram vedados em um sistema com saída para liberação do CO<sub>2</sub> produzido durante a fermentação e uma saída para retirada de amostras para a realização de análises (Figura 8).

Os garrafões de vidro foram mantidos em sala climatizada, com temperatura controlada de 22±3°C por um período de 12 a 21 dias.

**Figura 8** - Mosto de polpa de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) contidos em garrafões de 8 L em processo de fermentação.



Fonte: Autor.

#### 4.5.4.1 Análises físico-químicas realizadas durante o processo fermentativo

O processo fermentativo foi monitorado de seis em seis horas nas primeiras 24 h, e de 12 em 12 h, após este período. As amostras, devidamente homogeneizadas, foram coletadas em tubos tipo Falcon e analisadas quanto açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, etanol, glicerol, metanol, açúcares (glicose, frutose e sacarose) e ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido lático, ácido málico, ácido succínico, ácido tartárico e ácido acético), no início e no final da fermentação. Além destas, foram monitorados o pH, SST e células viáveis durante todo o processo fermentativo. As análises foram realizadas em triplicata e encontram-se descritas a seguir.

##### 4.5.4.1.1 Potencial hidrogeniônico (pH) e Sólidos solúveis totais (SST)

O pH e os sólidos solúveis totais foram avaliados conforme descrito nos itens 4.4.1 e 4.4.2.

##### 4.5.4.1.2 Contagem de células viáveis

A quantificação de células viáveis no mosto foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Alves e Moraes (1998). A técnica foi realizada por meio de contagem do número de células em câmara de Neubauer (Figura 9) utilizando o azul de metileno como corante. As células inviáveis absorveram o corante e apresentaram coloração azul e as viáveis mantiveram-se translúcidas. Os resultados das contagens de células viáveis foram expressos em  $\text{Log células mL}^{-1}$ , como apresentado na Equação 6.

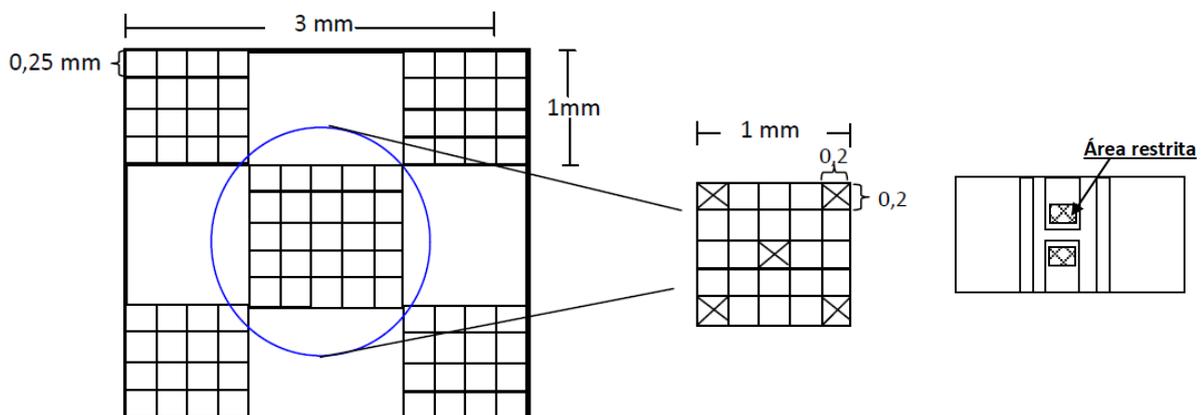
$$\text{Log células mL}^{-1} = \text{Log} \left( \frac{n \times 1000}{0,004} \times fd \right) \quad (6)$$

Onde:

$n$  = número médio de células

$fd$  = fator de diluição

**Figura 9** - Esquema da contagem de células realizada na câmara de Neubauer.



Fonte: Campebell; Campebell, (1986) modificado.

#### 4.5.4.1.3 Açúcares redutores (AR)

Os açúcares redutores foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Miller (1959), detalhada no item 4.4.4.

#### 4.5.4.1.4 Compostos fenólicos (CF)

Os compostos fenólicos foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). Os compostos fenólicos foram extraídos em metanol a 80% e o doseamento realizado por espectrofotometria a 750 nm. A curva de calibração foi feita com solução padrão de ácido gálico nas concentrações de 0 a 100 mg L<sup>-1</sup>, como descrito no item 4.4.5.

#### 4.5.4.1.5 Flavonoides

A concentração de flavonoides foi determinada seguindo a metodologia descrita por Zhisten *et al.* (1999). Os flavonoides foram extraídos em metanol 80% e o doseamento realizado por espectrofotometria a 420 nm. A curva de calibração foi feita com solução padrão de pirocatequina nas concentrações de 0 a 100 mg L<sup>-1</sup>, como descrito no item 4.4.6.

#### 4.5.4.1.6 Antocianinas

Os teores de antocianinas foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Horowitz (2005), detalhada no item 4.4.7.

#### 4.5.4.1.7 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos: ácido cítrico, ácido málico, ácido succínico, ácido láctico, ácido tartárico e ácido acético foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As amostras utilizadas para quantificação foram previamente centrifugadas, em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, utilizando microtubo tipo Eppendorf® a 10000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi recuperado e a partir deste uma alíquota de 300 µL foi utilizada para realização das análises.

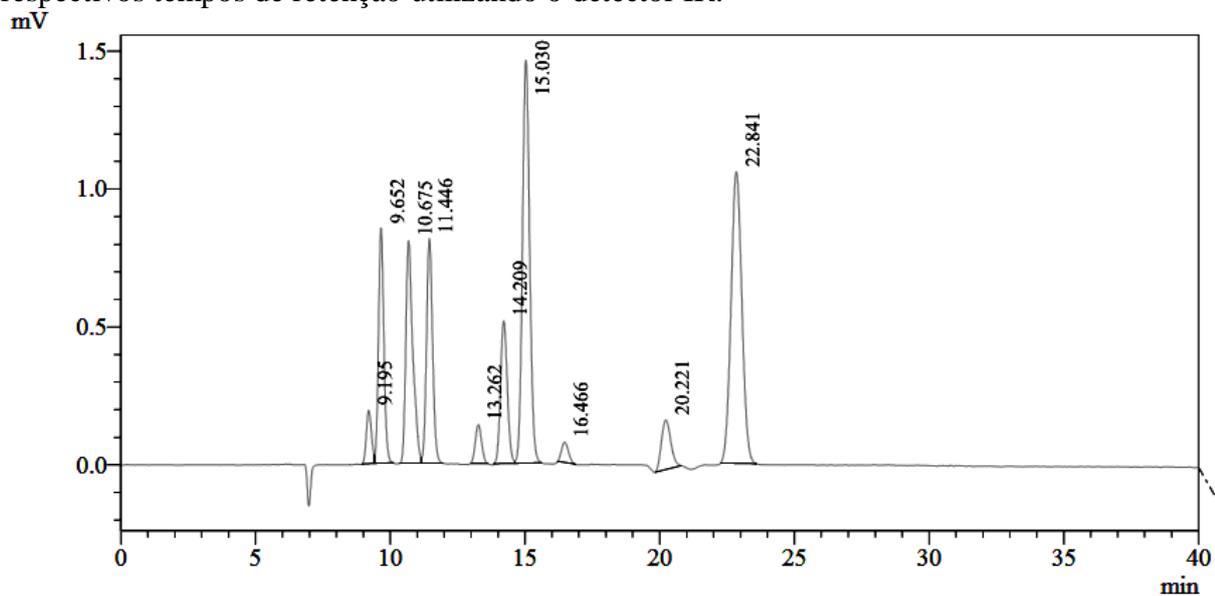
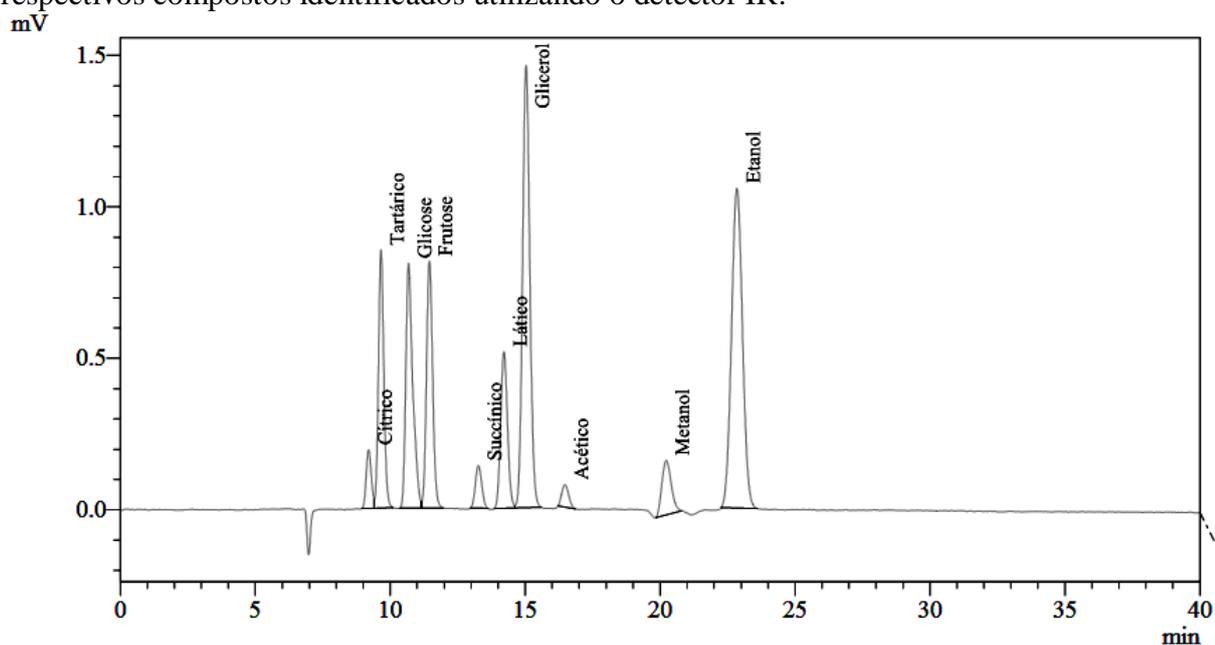
A análise foi realizada em cromatógrafo líquido ultra rápido (*ultra fast liquid chromatograph*) - UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A) equipado com injetor automático, forno de colunas, detector UV-VIS, com leitura em 210nm, detector de Índice de Refração (IR) e coluna de exclusão iônica Rezex ROA-Organic acid (300 mm x 7,5 mm) (Phenomenex) A quantificação foi realizada com o uso de padrões externos (Wine Analysis: Stock Solution I – Sigma-Aldrich). Cromatogramas dos padrões são mostrados nas Figuras 10, 11, 12 e 13. Os dados foram processados pelo o *software Shimadzu LCsolution Analysis Report* e os resultados expressos em g L<sup>-1</sup>.

As condições operacionais para realização das análises estão apresentadas na Tabela 5.

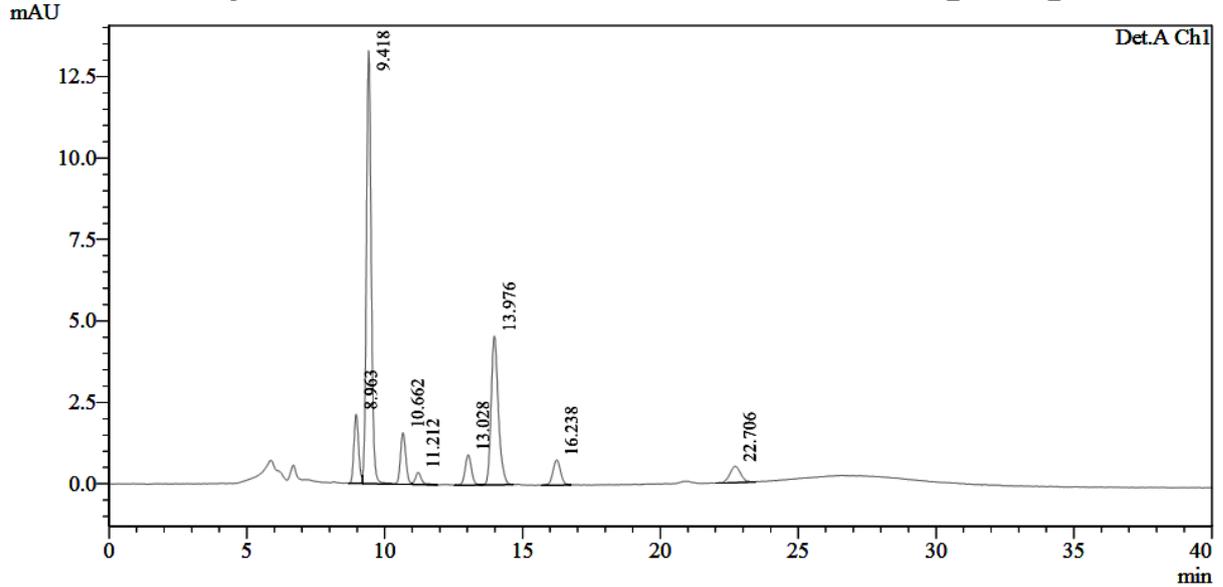
**Tabela 5** - Condições operacionais da cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.

Eluente:	Acido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) a 2,5 mM
Vazão da fase móvel:	0,6 mL min <sup>-1</sup>
Volume da amostra:	5 µL
T <sub>externa</sub> (coluna):	60°C,
T <sub>interna</sub> (detector)	40°C

**Fonte:** Autor. T: Temperatura.

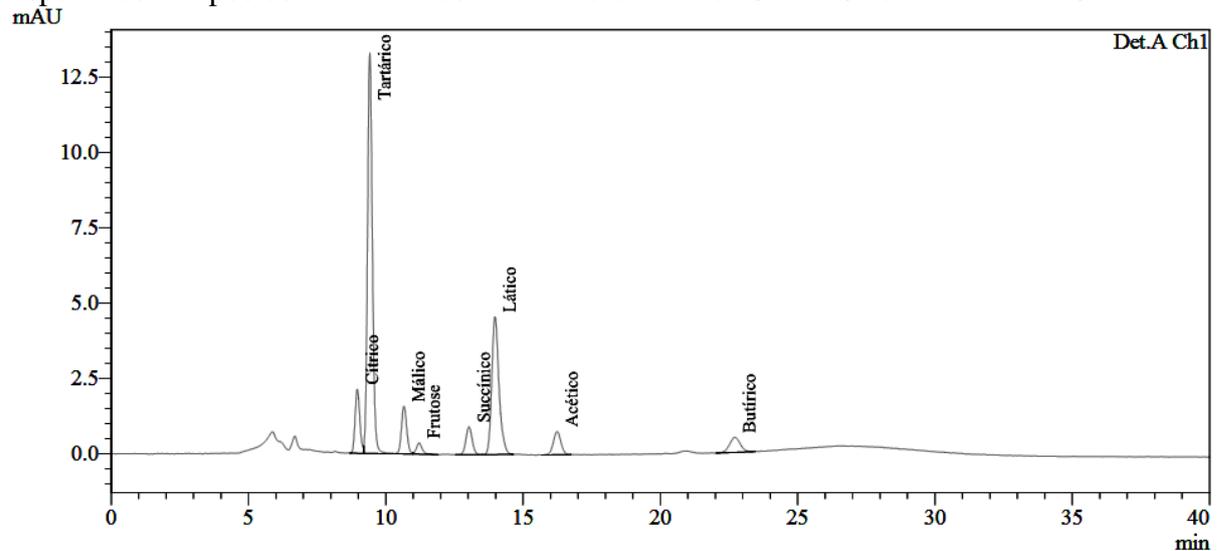
**Figura 10** - Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos tempos de retenção utilizando o detector IR.**Fonte:** Autor.**Figura 11** - Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos compostos identificados utilizando o detector IR.**Fonte:** Autor.

**Figura 12** - Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos tempos de retenção utilizando o detector UV-VIS com leitura a 210 nm.



Fonte: Autor.

**Figura 13** - Cromatograma mostrando a separação dos padrões utilizados com seus respectivos compostos identificados utilizando o detector UV-VIS com leitura a 210 nm.



Fonte: Autor.

#### 4.5.4.1.8 Açúcares: glicose, frutose e sacarose

Os açúcares, glicose, frutose e sacarose, foram quantificados a partir de 300 µL de amostra, previamente centrifugada em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, a 10000 rpm durante 10 minutos. A análise foi realizada por CLAE em cromatógrafo UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A), como detalhado no item acima (4.5.4.1.7). Glicose e frutose puras (>99%, sigma-aldrich) foram usados como padrões externos.

#### 4.5.4.1.9 Álcoois: etanol, glicerol e metanol

Etanol, glicerol e metanol foram quantificados a partir de 300  $\mu\text{L}$  de amostra, previamente centrifugada a 10000 rpm em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, utilizando microtubo tipo Eppendorf® durante 10 minutos. A análise foi realizada por CLAE em cromatógrafo UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A), como descrito no item 4.5.4.1.7 etanol, glicerol e metanol (>99%, sigma-aldrich) foram usados como padrões externos.

### 4.6 Variáveis de resposta do processo fermentativo

As variáveis de resposta do processo fermentativo, produtividade volumétrica, rendimento de produção de etanol e eficiência fermentativa foram avaliadas com base no consumo de substrato e na formação de produto, de acordo com Hiss (2013), como descrito a seguir.

#### 4.6.1 Produtividade volumétrica ( $Q_p$ )

A produtividade volumétrica foi quantificada em gramas de etanol produzida por litro de meio fermentado por hora ( $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). O cálculo foi realizado conforme a Equação 7.

$$Q_p = \frac{P}{t} \quad (7)$$

Onde:

$P$  = produto (etanol) ( $\text{g L}^{-1}$ )

$t$  = tempo (h)

#### 4.6.2 Rendimento da produção de etanol ( $Y_{p/s}$ )

O rendimento de produção em etanol foi determinado em gramas de etanol produzido por grama de açúcares totais consumidos ( $\text{g g}_s^{-1}$ ), como apresentado na Equação 8.

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{-\Delta S} = \frac{P - P_0}{-(S - S_0)} \quad (8)$$

Onde:

$P$  = Concentração de produto final ( $\text{g L}^{-1}$ )

$P_0$  = Concentração de produto inicial ( $\text{g L}^{-1}$ )

$S$  = concentração de substrato final ( $\text{g L}^{-1}$ )

$S_0$  = concentração de substrato inicial ( $\text{g L}^{-1}$ )

#### 4.6.3 Eficiência fermentativa ( $E_f$ )

A eficiência fermentativa foi determinada pela relação entre o rendimento em produto (etanol) do processo e rendimento teórico em etanol, como apresentado na Equação 9.

$$E_f = \frac{Y_{p/s}}{0,511} \times 100 \quad (9)$$

Onde:

$E_f$  = Eficiência fermentativa (%);

$Y_{p/s}$  = Rendimento da produção em etanol ( $\text{g}_p \text{g}_s^{-1}$ ).

#### 4.6.4 Fator de rendimento de célula em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ )

O fator de rendimento de célula foi calculado considerando a concentração de células no mosto por grama de açúcares totais consumidos ( $\text{células g}^{-1}$ ), conforme apresentado na Equação 10.

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} = \frac{X - X_0}{-(S - S_0)} \quad (10)$$

Onde:

$X$  = Concentração celular final ( $\text{células L}^{-1}$ );

$X_0$  = Concentração celular inicial ( $\text{células L}^{-1}$ );

$S$  = Concentração de substrato final ( $\text{g L}^{-1}$ );

$S_0$  = Concentração de substrato inicial ( $\text{g L}^{-1}$ ).

#### 4.6.5 Taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ )

A taxa específica de crescimento celular foi calculada com base na equação abaixo (Equação 11).

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu_x t \quad (11)$$

Onde:

$X$  = Concentração celular final ( $\text{células L}^{-1}$ );

$X_0$  = Concentração celular inicial ( $\text{células L}^{-1}$ );

$t$  = tempo.

#### 4.6.6 Velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ )

A velocidade de consumo do substrato foi calculada com base no consumo de sólidos solúveis totais (SST) pelo tempo, como apresentado na seguir (Equação 12).

$$r_s = \frac{\Delta S}{t} \quad (12)$$

Onde:

$\Delta S$  = Consumo de substrato;

$t$  = tempo (h).

#### 4.6.7 Taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ )

A taxa específica de consumo de substrato foi calculada com base na equação abaixo (Equação 13).

$$\mu_s = \frac{r_s}{X} \quad (13)$$

Onde:

$r_s$  = velocidade de consumo do substrato (°Brix h<sup>-1</sup>)

$X$  = unidade de células

### 4.7 Obtenção das bebidas

#### 4.7.1 Trásfegas e filtrações

Após finalizar o processo fermentativo, as bebidas foram filtradas em filtros de polipropileno e transferidas para garrafas plásticas tipo PET devidamente higienizadas. O resíduo obtido, composto por sólidos insolúveis e ainda, bioesferas, quando oriundas de processos com leveduras imobilizadas, foram submetidos a secagem em estufa com circulação de ar forçado (marca Edutec) a 50°C durante 48 h e armazenados para posteriores estudos.

As bebidas filtradas foram mantidas em repouso, sob refrigeração a 5±1°C, durante período de no mínimo 15 dias a fim de decantar os sólidos insolúveis. Depois desse período, as bebidas foram submetidas a primeira trásfega, processo no qual a bebida foi transferida para outra garrafa, por diferença de pressão através de mangueiras, descartando assim o material sólido decantado.

As bebidas foram mantidas em repouso sob refrigeração (5±1°C) até a realização da segunda trásfega, 90 dias após o fim da fermentação. Em seguida, com o intuito impedir a passagem de qualquer material sólido que ainda pudesse estar presente nas bebidas, foi realizada a segunda filtração em filtros de polipropileno. Sequencialmente, as bebidas foram divididas em volumes idênticos a fim de obter bebidas fermentadas com características de seca e doce.

De acordo com a IN n°34 de 29 de novembro de 2012, as bebidas fermentadas alcoólicas de jabuticaba caracterizadas como seca contém teor de açúcar menor ou igual a 3 g L<sup>-1</sup>, enquanto as caracterizadas como doce apresentam teor de açúcar maior que 3 g L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2012). Portanto, nas bebidas caracterizadas como secas não foi adicionado açúcar, mantendo assim as características naturais da bebida. Enquanto que, as bebidas caracterizadas

como doces foram adicionadas de xarope de sacarose. A quantidade de xarope adicionada foi previamente definida após pré-testes sensoriais realizados pela equipe do laboratório.

A fim de garantir a conservação da bebida adoçada e impedir a ocorrência de microrganismos contaminantes, bem como atividade das leveduras remanescentes, foi adicionado metabissulfito de sódio na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>.

Os fermentados alcoólicos obtidos classificados como secos e doces foram novamente codificados (Tabela 6), recebendo a letra S e D, sendo a primeira relacionada a bebida seca e a última para bebidas que foram adoçadas.

**Tabela 6** - Códigos utilizados na identificação das 12 bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.

Condição da Levedura	Classificação quanto ao teor de açúcar	Teor Alcoólico (%)		
		4	8	12
Levedura Livre	Doce	LLC1D	LLC2D	LLC3D
	Seca	LLC1S	LLC2S	LLC3S
Levedura Imobilizada	Doce	LIC1D	LIC2D	LIC3D
	Seca	LIC1S	LIC2S	LIC3S

**Fonte:** Autor. LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LIC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

#### 4.7.2 Acondicionamento e armazenamento das bebidas alcoólicas fermentadas

As bebidas foram acondicionadas em garrafas de vidro com capacidade para volumes de 1000 mL ou 750 mL, previamente higienizadas e sanitizadas com solução de metabissulfito de sódio na concentração de 3 g L<sup>-1</sup>. As garrafas foram vedadas com rolhas de cortiça e armazenadas sob refrigeração a 5±2°C.

#### 4.8 Rendimento em bebidas

O rendimento dos processos fermentativos em bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba foi calculado utilizando a Equação 14.

$$Rendimento (\%) = \frac{V_b}{V_m} \times 100 \quad (14)$$

Onde:

$V_b$  = Volume da bebida (L);

$V_m$  = Volume do mosto (L).

## 4.9 Análises físico-químicas das bebidas elaboradas

### 4.9.1 Colorimetria

As análises colorimétricas foram realizadas diretamente em colorímetro (Minolta-Chromameter CR-400) utilizando os parâmetros de CIELab  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  conforme apresentado na Tabela 7.

**Tabela 7** – Parâmetros utilizados na análise de colorimetria das bebidas

Sistema L, a, b	Parâmetros	
$L_{\text{CIELab}}$ (luminosidade)	L= 0 (cor preta)	L = 100 (cor branca)
$a_{\text{CIELab}}$	- a (cor verde)	+ a (cor vermelha)
$b_{\text{CIELab}}$	- b (cor azul)	+ b (cor amarela)

Fonte: CIELab.

### 4.9.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi avaliado por leitura direta, conforme descrito no item 4.4.1.

### 4.9.3 Acidez total (AcT)

A acidez total foi quantificada por titulometria de acordo com o item 4.4.3. Entretanto para a bebida, os resultados foram expressos em  $\text{mEq L}^{-1}$  (Equação 15).

$$AcT = \frac{M \times Vg \times Fc \times 1000}{p} \quad (15)$$

Onde:

AcT = acidez total ( $\text{mEq L}^{-1}$ )

M = concentração molar do NaOH ( $\text{mol L}^{-1}$ )

Vg = volume gasto (mL)

Fc = fator de correção do NaOH

p = peso da amostra (g)

### 4.9.4 Acidez volátil (AcV)

As análises de acidez volátil foram realizadas por titulometria segundo metodologia do IAL (2008). A quantificação foi realizada a partir de 5 mL do fermentado alcoólico, previamente destilado em microdestilador de acidez (marca Tecnal) até o recolhimento de 50 mL de amostra destilada. Os volumes recolhido após a destilação, 50 mL, foram acrescidas de 3 gotas de fenolftaleína 1% e tituladas com solução de hidróxido

de sódio padronizado a 0,01M. Os valores gastos para a titulação foram utilizados no cálculo da acidez volátil com base na Equação 16 e expressos em mEq L<sup>-1</sup>.

$$AcV = \frac{M \cdot V_g \cdot F_c}{P} \cdot 1000 \quad (16)$$

Onde:

$AcV$  = acidez Volátil;

$M$  = concentração molar do NaOH;

$V_g$  = volume de NaOH gasto em mL;

$F_c$  = fator de correção do NaOH;

$P$  = quantidade de amostra (mL).

#### 4.9.5 Acidez fixa (AcF)

A acidez fixa foi calculada pela diferença entre a concentração de acidez total e a concentração de acidez volátil, como apresentado na Equação 17.

$$AcF = AcT - AcV \quad (17)$$

#### 4.9.6 Açúcares redutores totais (ART)

A determinação analítica dos açúcares redutores totais (ART) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Miller (1959). A amostra foi preparada a partir de 1,5 mL de cada bebida alcoólica fermentada de jabuticaba obtida, a qual foi previamente submetida a centrifugação, a 10000 rpm durante 10 minutos, e acondicionada em microtubos tipo Eppendorf<sup>®</sup> com capacidade para 2 mL, seguida da adição de 0,75 mL de HCl concentrado. A solução, depois de homogeneizada, foi levada ao banho de água fervente (95±1°C) (marca Dellta) por 60 minutos, seguido de neutralização pela adição de solução de NaOH 40%. Após a neutralização as amostras foram diluídas de acordo com a necessidade, considerando a quantidade de açúcares presente nas mesmas.

A quantificação dos ART foi determinada pela adição de 100 µL da amostra em microtubos tipo Eppendorf<sup>®</sup> acrescidos de 100 µL do reagente DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), seguidos de homogeneização, banho de água fervente (95±1°C) por 5 minutos e resfriamento em banho de água com gelo (3±1) por 3 minutos. Após resfriamento procedeu-se a adição de 1000 µL de água destilada seguido de homogeneização e leitura em espectrofotômetro (marca Biospectro) a 540 nm.

O cálculo da concentração de açúcares redutores totais foi realizado por meio da elaboração de uma curva de calibração de 0 a 1 g L<sup>-1</sup>, utilizando glicose como padrão, na concentração de 1 g L<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos foram expressos em g<sub>ART</sub> L<sup>-1</sup><sub>bebida</sub>.

#### 4.9.7 Extrato seco total (EST)

A análise de extrato seco total foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Uma alíquota de 10 mL da bebida foi acondicionada a uma cápsula de porcelana, previamente seca em estufa (marca Nova Ética) a 100°C, resfriada em dessecador e pesada. A amostra da bebida foi evaporada empregando banho-maria até o desaparecimento de sua fase líquida, seguida de secagem em estufa 100±5°C por 30 minutos. Os resultados do extrato seco foram calculados de acordo com a Equação 18.

$$EST = \frac{N}{A} \times 1000 \quad (18)$$

Onde:

$EST$  = Extrato seco total ( $\text{g L}^{-1}$ );

$N$  = massa do resíduo seco (g);

$A$  = volume da amostra (mL).

#### 4.9.8 Extrato seco reduzido (ESR)

O extrato seco reduzido foi obtido pela diferença entre o extrato seco total e os açúcares redutores totais (ART). Este último será considerado quando excederem 1  $\text{g L}^{-1}$ , sendo diminuído de 1,0 (um), conforme descrito por Martins (2007). Na Equação 19 encontra-se o cálculo utilizado e os valores obtidos foram expressos em  $\text{g L}^{-1}$  de material integral.

$$ESR = EST - (A - 1) \quad (19)$$

Onde:

$ESR$  = Extrato seco reduzido ( $\text{g L}^{-1}$ );

$EST$  = Extrato seco total ( $\text{g L}^{-1}$ );

$A$  = ART ( $\text{g L}^{-1}$ ).

#### 4.9.9 Cinzas

As cinzas, resíduo obtido por incineração, foram determinadas com base na metodologia descrita por IAL (2008). Os resultados foram alcançados a partir do resíduo encontrado na análise de extrato seco total (EST) (Item 4.9.7). As cápsulas de porcelana contendo o EST foram levadas à mufla (marca Zezimaq) a 550°C para a incineração para obtenção das cinzas. Os resultados foram calculados de acordo com a Equação 20 e expressos em  $\text{g L}^{-1}$  de material integral.

$$\text{Cinzas } (\text{g L}^{-1}) = \frac{N}{V} \times 1000 \quad (20)$$

Onde:

$N$  = massa de cinzas (g);

$V$  = volume de amostra (mL).

#### 4.9.10 Anidrido Sulfuroso (SO<sub>2</sub>) total (AST)

A análise do teor de SO<sub>2</sub> total nas bebidas fermentadas foi realizada por aeração oxidativa, utilizando a metodologia descrita pela Enartis USA (2016). Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 20 mL da amostra e 10 mL de ácido fosfórico a 25%, e em seguida este foi acoplado a um condensador e mantido sob aquecimento com auxílio de uma manta de aquecimento por 15 minutos. Concomitantemente, foram adicionados 10 mL de solução de peróxido de hidrogênio 0,3% e 2 gotas de indicador (vermelho de metila + azul de metileno em álcool) a um frasco lavador de gases acoplado à saída do condensador (extremidade de saída do dispositivo) e ligado a uma bomba a vácuo. Em seguida o balão contendo a amostra foi acoplado a um condensador e mantido sob aquecimento com auxílio de uma manta aquecedora por 15 minutos. O aquecimento proporcionou o arraste do dióxido de enxofre e oxidação a ácido sulfúrico o qual foi titulado utilizando uma solução de hidróxido de sódio a 0,01N. Para a titulação o conteúdo extraído para o lavador de gases foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 125 mL. Os resultados foram calculados de acordo com a Equação 21 e expressos em mg L<sup>-1</sup> de SO<sub>2</sub> total.

$$SO_{2\ total} (ppm) = NNaOH \times V \times 1600 \quad (21)$$

Onde:

$NNaOH$  = normalidade do NaOH;

$V$  = Volume de NaOH gasto na titulação (mL).

#### 4.9.11 Anidrido Sulfuroso (SO<sub>2</sub>) livre (ASL)

O SO<sub>2</sub> livre foi quantificado da mesma forma que o SO<sub>2</sub> total (item 4.9.10), contudo sem submeter o processo à aquecimento.

#### 4.9.12 Cloretos totais

A determinação de cloretos foi fundamentada em mineralizar os fermentados por meio de uma oxidação nitropermangânica e, em seguida, realizar a determinação dos cloretos pela técnica de Charpentier-Vollard. Para isso, foram adicionados 50 mL da amostra em um Erlenmeyer com capacidade para 300 mL, o qual foi aquecido até a redução do volume da amostra a ¼ com a finalidade de evaporar o álcool presente na amostra. Em seguida, foram adicionados 20 mL de solução de nitrato de prata N/20, 15 mL de ácido nítrico concentrado, e 20 mL de solução saturada de permanganato de potássio (6,5%), seguida de homogeneização

Logo após, a mistura, homogeneizada, foi submetida ao aquecimento até a ebulição, seguida de resfriamento em temperatura ambiente. A seguir, procedeu-se a titulação com solução de tiocianato de potássio N/20 utilizando 5 mL da solução saturada de sulfato de ferro e amônio ( $\text{FeH}_{20}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}_2$ ) como indicador até o aparecimento da coloração rosa-alaranjado. O cálculo realizado para quantificar os cloretos totais em NaCl ( $\text{g L}^{-1}$ ) foi realizado utilizando a Equação 22. O resultado foi expresso em  $\text{g}_{\text{NaCl}} \text{L}_{\text{amostra}}^{-1}$ .

$$\text{Cloretos totais (g L}^{-1}\text{)} = (20 - V) \times 0,0585 \quad (22)$$

Onde:

$V$  = Volume gasto na titulação (mL).

#### 4.9.13 Compostos Fenólicos (CF)

Os compostos fenólicos foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965), conforme descrito no item 4.4.5.

#### 4.9.14 Antocianinas

Os teores de antocianinas foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Horowitz (2005), conforme detalhado no item 4.4.7.

#### 4.9.15 Flavonoides

A concentração de flavonoides foi quantificada de acordo com a metodologia descrita por Zhisten *et al.* (1999), conforme apresentado no item 4.4.6.

#### 4.9.16 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada pelos métodos de DPPH e ABTS, como descrito nos itens 4.4.8.1 e 4.4.8.2, respectivamente.

#### 4.9.17 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico, ácido succínico, ácido láctico, ácido tartárico e ácido acético) foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência-CLAE. As amostras utilizadas para quantificação foram previamente centrifugadas, em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, utilizando microtubo tipo Eppendorf<sup>®</sup> a 10000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi recuperado e a partir deste uma alíquota de 300  $\mu\text{L}$  foi diluída em solução de ácido sulfúrico (2,5 mM) na proporção de 1:3 e então submetidas às análises cromatográficas para determinação dos ácidos orgânicos previamente mencionados.

As análises foram realizadas por CLAE em cromatógrafo UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A), como descrito no item 4.5.4.1.7. Os dados obtidos foram analisados utilizando *software Shimadzu LCsolution Analysis Report* e os resultados expressos em  $\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.9.18 Açúcares

Os açúcares, glicose, frutose e sacarose (na forma de glicose e frutose), foram quantificados a partir de 300  $\mu\text{L}$  de amostra, previamente centrifugada em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, a 10000 rpm durante 10 minutos e diluída em solução de ácido sulfúrico (2,5 mM) na proporção de 1:3. A análise foi realizada por CLAE em cromatógrafo UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A), conforme detalhamento apresentado no item 4.5.4.1.7. Os dados obtidos foram analisados utilizando *software Shimadzu LCsolution Analysis Report* e os resultados expressos em  $\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.9.19. Álcoois

Os álcoois (etanol, glicerol e metanol) foram quantificados a partir de 300  $\mu\text{L}$  de amostra, previamente centrifugada a 10000 rpm em microcentrífuga marca MCR LTD – MCD-200, utilizando microtubo tipo Eppendorf® durante 10 minutos e diluída em solução de ácido sulfúrico (2,5 mM) na proporção de 1:3. A análise foi realizada por CLAE em cromatógrafo UFLC (marca Shimadzu – modelo 20A), como descrito no item 4.5.4.1.7. Os dados obtidos foram analisados utilizando *software Shimadzu LCsolution Analysis Report* e os resultados expressos em  $\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.9.20 Análise sensorial

A avaliação sensorial das bebidas elaboradas foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa foi realizado um teste de aceitação visando escolher a melhor forma de condução do processo fermentativo e a melhor formulação para elaboração das bebidas. Na segunda etapa foi utilizado um teste descritivo.

As avaliações sensoriais foram realizadas em cabines individuais no laboratório LPA – Laboratório de Processamento de Alimentos, localizado no prédio LPPJQUI da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM.

O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (Nº protocolo 114/11).

##### 4.9.20.1 Teste de aceitação

A análise de aceitação das bebidas foram realizadas com 80 julgadores, de ambos os sexos, com idade variando de 18 a 36 anos, sendo 46% dos julgadores consumidores de vinhos, mesmo que eventualmente.

As amostras de fermentado alcoólico de jabuticaba foram codificadas com algarismos aleatórios de três dígitos e servidas aos julgadores de forma monádica e sequencial em copos de plástico transparente com capacidade para 50 mL, contendo a quantidade de aproximadamente  $25 \pm 2$  mL de bebida. Um copo com água mineral e um biscoito tipo água e

sal, foram oferecidos para consumo, entre a avaliação de uma amostra e outra, para limpeza do palato. Devido ao grande número de bebidas obtidas (12 bebidas) e visando evitar a fadiga dos julgadores, a análise de aceitação foi dividida em duas sessões.

Na primeira sessão foram avaliadas as seis bebidas produzidas utilizando as leveduras em sua forma imobilizada e na segunda foram avaliadas as seis bebidas produzidas utilizando as leveduras em sua forma livre. Para tanto, os julgadores receberam fichas de avaliação (Apêndice A) e foram orientados a avaliar de maneira geral as características do produto, levando em consideração o quanto gostou ou desgostou de cada uma das amostras por meio da escala hedônica estruturada de 5 pontos, cujo os extremos corresponderam a (1) desgostei muito e (5) gostei muito (REIS e MINIM, 2013). Os avaliadores foram ainda, indagados se consumiam algum tipo de bebida alcoólica, mesmo que eventualmente, e em caso positivo, qual(is) o(s) tipo(s) de bebida alcoólica consumiam.

Após a realização dos testes de aceitação, foram identificadas as quatro amostras de bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba mais aceitas entre os julgadores. Estas foram submetidas ao teste descritivo (RATA - *Rate-all-that-apply*).

#### **4.9.20.2 Teste descritivo**

A caracterização sensorial das bebidas fermentadas selecionadas pelos testes de aceitação foi realizada por meio de uma análise descritiva rápida, conhecida como Rate All That Apply (RATA) segundo Minim e Silva (2016), na qual os consumidores são solicitados a indicar, além dos termos apropriados para descrever o produto, a intensidade dos termos selecionados.

Os 11 descritores (cor vermelha, turbidez, sedimentado (presença de sedimentos), aroma característico de jabuticaba, aroma alcoólico, sabor característico de jabuticaba, gosto doce, gosto ácido, sabor alcoólico, gosto amargo, sabor de velho ou oxidado) utilizados para descrever as amostras foram obtidos a partir de um painel descritivo em estudo anterior de Pantoja (2006). Para a realização do RATA, os consumidores foram solicitados a indicar a intensidade dos termos selecionados através de uma escala não estrutura de 5 cm ancorada nos extremos fraco e forte, nenhum e excessivo, claro e escuro (Apêndice B).

A avaliação das quatro amostras de bebida fermentada de jabuticaba foi realizada por 94 provadores não treinados (idade entre 18 e 41 anos, sendo 53% do sexo masculino e 47% do sexo feminino), consumidores de bebidas alcoólicas, mesmo que eventualmente. As amostras do fermentado alcoólico foram codificadas com algarismos de três dígitos e servidas aos consumidores de forma monádica e sequencial em copos de plástico, contendo quantidade

padronizada (25 mL). Além disso, foram oferecidos um copo com água e um biscoito tipo água e sal, para limpeza do palato entre a avaliação de uma amostra e outra.

#### **4.10 Análises estatísticas**

Os resultados obtidos por meio das análises físico-químicas realizadas no mosto, durante o processo fermentativo e na bebida foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC). A transformação matemática dos dados foi realizada por boxcox, quando necessário. Todas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando o *software* R Studio<sup>®</sup>. Os resultados das análises químicas das bebidas foram ainda, submetidos à análise dos componentes principais (ACP) utilizando o *software* Statistical Package for the Social Sciences -SPSS<sup>®</sup>.

Os resultados obtidos referentes aos testes sensoriais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Scott-Knott a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os *softwares* R Studio<sup>®</sup> e Statistica<sup>®</sup> 5.0 (StatSoft, Poland).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Seleção e caracterização física dos frutos

O total de frutos obtidos foi de 87,594 Kg e destes 6,089 Kg foram descartados após a seleção, totalizando uma perda de 6,95%. A perda foi atrelada ao descarte dos frutos com injúrias (amassados, rachados e brocados), alto grau de senescência e frutos imaturos - verdes.

Os frutos apresentaram em média massa de  $3,490 \pm 0,823$  g com diâmetro médio de  $13,547 \pm 1,581$  mm. A caracterização física dos frutos selecionados para obtenção da polpa de jaboticaba foi importante para avaliar o quão homogêneo esses frutos eram, em relação ao seu tamanho e massa. Esses fatores estão diretamente relacionados com a espécie da fruta e principalmente com seu estágio de maturação, visto que todos os frutos adquiridos foram colhidos na mesma época e são provenientes de uma mesma região. Portanto, os resultados obtidos indicaram que, em geral, os frutos selecionados estavam em um mesmo estágio de maturação. As dimensões dos frutos também importam para a escolha de equipamentos e performance da despolpa mecânica.

Os valores obtidos para a massa e diâmetro dos frutos foram inferiores aos encontrados por Dessimoni-Pinto *et al.* (2011) estudando frutos da mesma espécie *Myrciaria jaboticaba*, atualmente denominado *Plinia jaboticaba*, e região de procedência, com 6,59 g de massa e 22,73 mm de diâmetro.

Guedes (2009), ao realizar a caracterização física de jaboticabas *Plinia jaboticaba* (jaboticaba 'sabará') colhidas de 25 jaboticabeiras diferentes, porém da mesma espécie, na cidade de Diamantina-MG, obteve valores entre 2,11 g e 6,51 g para massa do fruto e 14,22 mm e 22,07 mm para o diâmetro. Comparando os frutos estudados com frutos provenientes de outra região, foi possível observar que os resultados obtidos são condizentes com os de Jesus *et al.* (2004) que encontraram valores médios de 15,7 mm de diâmetro e 3,5 g de massa para jaboticabas colhidas em Jaboticabal-SP.

Os resultados apresentados mostram que há uma variedade dos frutos de jaboticaba, mesmo quando pertencem a uma mesma espécie e região. Tal fato deve-se às condições climáticas, índice pluviométrico, tipo e condições do solo de cultivo e ainda, a uma possível variabilidade genética do fruto.

### 5.2 Obtenção da polpa

A partir dos 81,505 Kg de frutos selecionados e higienizados, utilizando despulpadeira, foram obtidos 61,047 Kg de polpa de jaboticaba, originando um rendimento em polpa de 74,90%. Esse valor corrobora com os obtidos por Dessimoni-Pinto *et al.* (2011),

que encontraram valores médios de 75,87% de polpa em frutos da mesma espécie, todavia com despolpa manual. Deste modo, pode-se inferir que a obtenção da polpa de jabuticaba através da despoldadeira é uma opção prática, rápida e eficiente para se obter a polpa de frutos de jabuticaba.

### 5.3 Caracterização físico-química da polpa

Os resultados obtidos na caracterização físico-química da polpa de jabuticaba, realizada com o intuito de garantir a qualidade da polpa, bem como da bebida fermentada produzida, estão apresentados na Tabela 8.

O valor médio de pH obtido para a polpa de jabuticaba, 3,34, foi próximo ao encontrado por Henrique *et al.* (2015) e por Becker *et al.* (2015), com valores de 3,19 e 3,0, respectivamente. De acordo com Nunes *et al.* (2014), baixos valores de pH em polpas de fruta são resultados positivos para fins industriais por minimizarem possíveis deteriorações microbianas e consequentemente aumentar a vida útil de seus produtos obtidos.

A acidez total (AcT) encontrada na polpa,  $1,22 \pm 0,09 \text{ g}_{\text{ác.cítrico}} 100\text{g}^{-1}$  foi superior ao valor encontrado por Henrique *et al.* (2015), analisando polpa de frutos da mesma espécie estudada (*Plinia jaboticaba*),  $0,7 \text{ g}_{\text{ác.cítrico}} 100 \text{ g}^{-1}$  e ao obtido por Nunes *et al.* (2014),  $1,09 \text{ g}_{\text{ác.cítrico}} 100\text{g}^{-1}$ , em polpa de *Plinia cauliflora*.

Quanto aos resultados obtidos para sólidos solúveis totais (SST) foi observado o valor médio de  $13,4 \pm 0,1^{\circ}\text{Brix}$ , sendo este superior ao encontrado por Henrique *et al.* (2015) que obteve  $12,63^{\circ}\text{Brix}$ , como já citado anteriormente.

O alto teor de SST, apesar de aumentar a perecibilidade desta fruta (OLIVEIRA *et al.*, 2003), se constitui em um fator positivo quando se trata de fermentação alcoólica, pois quanto maior a concentração desse substrato presente no mosto, maior a concentração de etanol, principal produto sintetizado durante a fermentação alcoólica.

A relação entre os SST e a AcT (SST/AcT), que indica o equilíbrio entre os açúcares e os ácidos, foi de  $11,00 \pm 0,08$ , valor próximo ao encontrado por Nunes *et al.* (2014) de 13,03. Estes autores reportam que, quanto maior o valor desta relação, mais agradável é o sabor do fruto.

Os valores obtidos para a concentração de açúcares redutores (AR) foram de  $38,69 \text{ g } 100^{-1} \text{ g}_{\text{matéria seca}}$ , valor este inferior ao encontrado por Lima *et al.* (2010) e Becker *et al.* (2015), que encontraram valores de  $64,76 \text{ g } 100^{-1} \text{ g}_{\text{matéria seca}}$  e de  $81,6 \text{ g L}^{-1}$  para polpa de jabuticaba (*Plinia jaboticaba*), respectivamente.

Os resultados das análises de compostos fenólicos,  $4065,14 \pm 246,62 \text{ mg}_{\text{ác. gálico}} \text{ L}^{-1}$ , mostraram-se superiores aos valores obtidos por Calloni *et al.* (2015) e Almeida *et al.* (2018),

que encontraram os respectivos valores de 1622 mg<sub>ác.gálico</sub> L<sup>-1</sup> para polpa de jabuticaba *Plinia trunciflora* e, 1480,57 mg<sub>ác.gálico</sub> L<sup>-1</sup> para polpa de jabuticaba *Plinia jaboticaba*.

Os teores de flavonoides obtidos neste estudo foram aproximadamente 10 vezes superiores (Tabela 8) aos obtidos por Júnior *et al.* (2017), que encontraram valor máximo de 54,2 mg L<sup>-1</sup> estudando a espécie *Plinia cauliflora*.

A concentração de antocianinas determinada na polpa de jabuticaba foi de 24,75±0,331, valor próximo ao encontrado por Júnior *et al.* (2017), de 20,2 mg L<sup>-1</sup> e superior ao resultado encontrado por Lima *et al.* (2011), de 15,05 mg L<sup>-1</sup>.

Danner *et al.* (2011) estudaram os compostos antioxidantes presentes na casca da jabuticaba e encontraram 308 mg 100<sup>-1</sup>g de flavonoides e 657 mg 100<sup>-1</sup>g de antocianinas. Almeida *et al.* (2018) analisaram compostos fenólicos na casca da jabuticaba e encontraram valores de 6700 mg<sub>ác.gálico</sub> L<sup>-1</sup>. Nesse sentido, o alto teor de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides encontrados na polpa estudada podem ter sido decorrentes do uso da despulpadeira, que provavelmente extraiu da casca tais compostos de forma mais eficiente que a despulpa manual, transferindo-os para a polpa.

Os resultados encontrados para a determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS (Tabela 8) foram inferiores aos relatados por Rufino *et al.* (2010), que encontraram 37,5 µmol de TE g<sup>-1</sup><sub>polpa</sub>, ou seja, aproximadamente 37,5 mmol TE L<sup>-1</sup><sub>polpa</sub>, estudando polpa de jabuticaba *Plinia cauliflora*. Todavia, a atividade antioxidante obtida neste estudo pelo método DPPH (Tabela 8) foi superior à descrita por Vieites *et al.* (2011), para polpas de jabuticaba *Plinia jaboticaba*, que encontraram 391 µmol TE 100 g<sup>-1</sup><sub>polpa</sub>, ou seja, aproximadamente 3,91 mmols de TE L<sup>-1</sup><sub>polpa</sub>. Vale lembrar que a capacidade antioxidante de frutos é influenciada não apenas por sua espécie, mas também pelo grau de maturação do mesmo (ALEZANDRO *et al.*, 2013).

**Tabela 8** – Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba

Análise	Média±DP
Umidade (%)	80,093±0,23
pH	3,34±0,07
SST (°Brix)	13,4±0,1
AcT (g <sub>ác. cítrico</sub> 100g <sup>-1</sup> )	1,22±0,09
SST/AcT	11,0±0,08
AR (g L <sup>-1</sup> )	61,92±2,46
Compostos Fenólicos totais (mg <sub>ác. gálico</sub> L <sup>-1</sup> )	4065,14±246,62
Flavonoides (mg <sub>pirocatequina</sub> L <sup>-1</sup> )	530,07±237,69
Antocianinas (mg L <sup>-1</sup> )	24,75±0,331
Capacidade antioxidante DPPH (mmol TE L <sup>-1</sup> )	19,52±0,04
Capacidade antioxidante ABTS (mmol TE L <sup>-1</sup> )	21,840±0,21

**Fonte:** Autor. DP: Desvio Padrão. SST: sólidos solúveis totais. Act: acidez total. AR: açúcares redutores.

## 5.4 Processo fermentativo para obtenção das bebidas fermentadas

### 5.4.1 Caracterização físico-química do mosto durante o processo fermentativo

O processo fermentativo, dependendo do sistema empregado, forma de inóculo (leveduras livres ou imobilizadas) e chaptalização, apresentou duração de 168 a 420 h, ou seja, de 07 a 18 dias (Tabela 9), tempos variáveis em resposta das condições fisiológicas da levedura ao perfil do mosto. O processo fermentativo foi considerado finalizado quando observado que o teor de SST se tornou constante em cada sistema (Figuras 14, 15 e 16), sugerindo assim, o final da fermentação.

**Tabela 9** – Duração dos processos fermentativos empregando *Saccharomyces cerevisiae* na forma livre e imobilizada, com e sem chaptalização

Sistemas Fermentativos (códigos)	Tempo (horas)
LIC1	168
LIC2	192
LIC3	324
LLC1	240
LLC2	264
LLC3	420

**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

A concentração de SST nos mostos de mesma chaptalização, apesar da adição da mesma quantidade de sacarose, apresentou variações (Figuras 15 e 16). A maior variação foi

observada principalmente nos sistemas LIC3 e LLC3 conforme apresentado na Figura 16, pois, estes sistemas foram chaptalizados com a maior concentração de sacarose. Tal fato sugere que a quantidade de sacarose adicionada pode ter dificultado a solubilização e homogeneização imediata da mesma levando a um erro técnico na leitura dos pontos iniciais. Tal fato pode ser confirmado pelo perfil de consumo dos SST, pois os pontos finais dos processos se equivalem.

Nas Figuras 14, 15 e 16, foi possível observar que dependendo do tipo de inóculo, se leveduras livres ou leveduras imobilizadas, ocorreram comportamentos diferentes em relação ao consumo de açúcares, mesmo em mostos com a mesma chaptalização. Durante os primeiros dias de fermentação foram observadas, em todos os sistemas, pequenas oscilações no consumo de açúcares, quantificados pelo teor de SST. Após os primeiros dias foi observado o decaimento com posterior estabilização destes, caracterizando assim o fim da fermentação. Na Figura 14, que representa o consumo de açúcares dos sistemas LIC1 e LLC1 (mostos não chaptalizados), foi possível observar a variação dos SST em até 120 h de fermentação. Depois deste tempo o consumo dos açúcares intensificou, estabilizando a partir de 168 h de fermentação para o sistema conduzido com leveduras imobilizadas (LIC1) e 240h para o sistema com leveduras livres (LLC1), ou seja, 72 h a mais que o sistema inoculado com bioesferas. As fermentações foram finalizadas com 5,4°Brix.

Nos sistemas LIC2 e LLC2 (Figura 15) a oscilação do teor de SST ocorreu em até 132 h de fermentação com estabilização a partir de 192 h para o sistema conduzido com leveduras imobilizadas (LIC2) e oscilação do teor de SST em até 96 h de fermentação com estabilização do consumo a partir de 264 h para o sistema com leveduras livres (LLC2), ou seja, igualmente ao sistema anterior (LLC1) com 72 h a mais que o sistema inoculado com bioesferas. Para esses sistemas os processos fermentativos foram finalizados com 7,0°Brix. Nos sistemas LIC3 e LLC3 foi observada uma variação do teor de SST em até 216 h de fermentação, com estabilização a partir das 324 h para o sistema conduzido com leveduras imobilizadas (LIC3) e variação do teor de SST em até 158 h com estabilização a partir de 420 h para o sistema com leveduras livres (LLC3), ou seja, 96 h a mais que o sistema inoculado com bioesferas. Os processos fermentativos para os processos LIC3 e LLC3 foram finalizados com 8,63°Brix e 9,10°Brix, respectivamente. Cabe mencionar que esses sistemas foram elaborados com maior concentração de substrato.

As variações ocorridas no tempo de fermentação (Tabela 9) podem ser consequentes tanto do processo de chaptalização quanto do tipo e concentração de inóculo. Este fato pode ser confirmado pelos valores da taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) e

a velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ ), conforme apresentado na Tabela 10. Os sistemas conduzidos com células imobilizadas e com a mesma concentração de chaptalização apresentaram maior velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ ) e menor taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) quando comparada ao sistema com células livres.

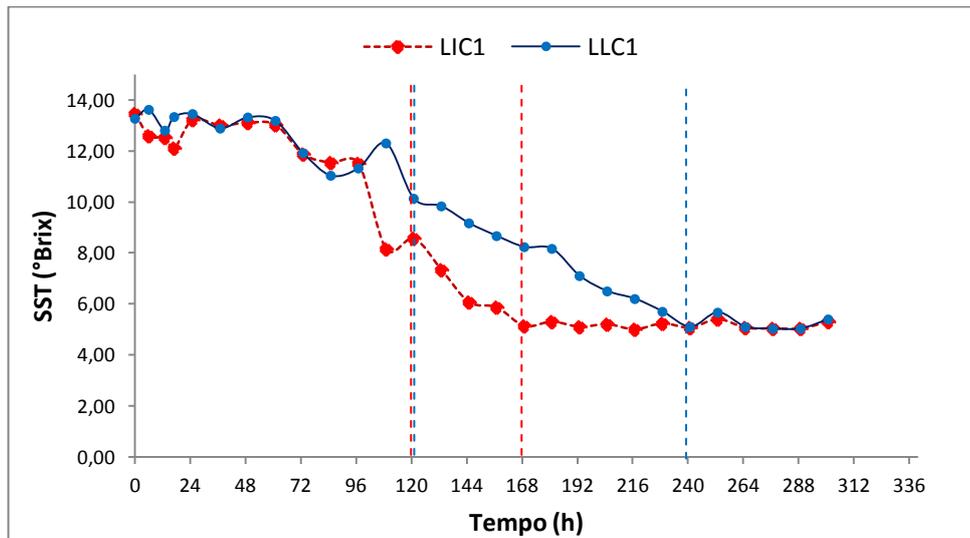
Ao comparar as diferentes condições de chaptalização foi observado que quanto maior a concentração do substrato (açúcar), maior o  $r_s$  e  $\mu_s$ . Em se tratando da forma de emprego das células, livres ou imobilizadas, foi observado ainda, que estas influenciaram na variação de  $r_s$  e  $\mu_s$  pois os sistemas inoculados com bioesferas continham aproximadamente 10000 vezes mais células que nos sistemas elaborados utilizando leveduras livres, o que conseqüentemente aumentou a velocidade do processo fermentativo.

**Tabela 10** - Valores da taxa específica de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) e a velocidade de consumo do substrato ( $r_s$ ) para os diferentes sistemas de elaboração de bebida alcoólica fermentada de jabuticaba.

<b>Sistemas fermentativos (Códigos)</b>	<b><math>r_s</math> (°Brix h<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\mu_s</math> (°Brix h<sup>-1</sup>. unidade de célula)</b>
LIC1	0,071±0,009	7,146 x 10 <sup>-13</sup> ±8,84 x 10 <sup>-14</sup>
LIC2	0,166±0,13	1,66 x 10 <sup>-12</sup> ±1,35 x 10 <sup>-12</sup>
LIC3	0,119±0,11	1,190 x 10 <sup>-12</sup> ±1,14 x 10 <sup>-12</sup>
LLC1	0,042±0,004	4,196 x 10 <sup>-9</sup> ±4,30 x 10 <sup>-10</sup>
LLC2	0,049±0,02	4,949 x 10 <sup>-9</sup> ±1,88 x 10 <sup>-9</sup>
LLC3	0,052±0,006	5,216 x 10 <sup>-9</sup> ±5,75 x 10 <sup>-10</sup>

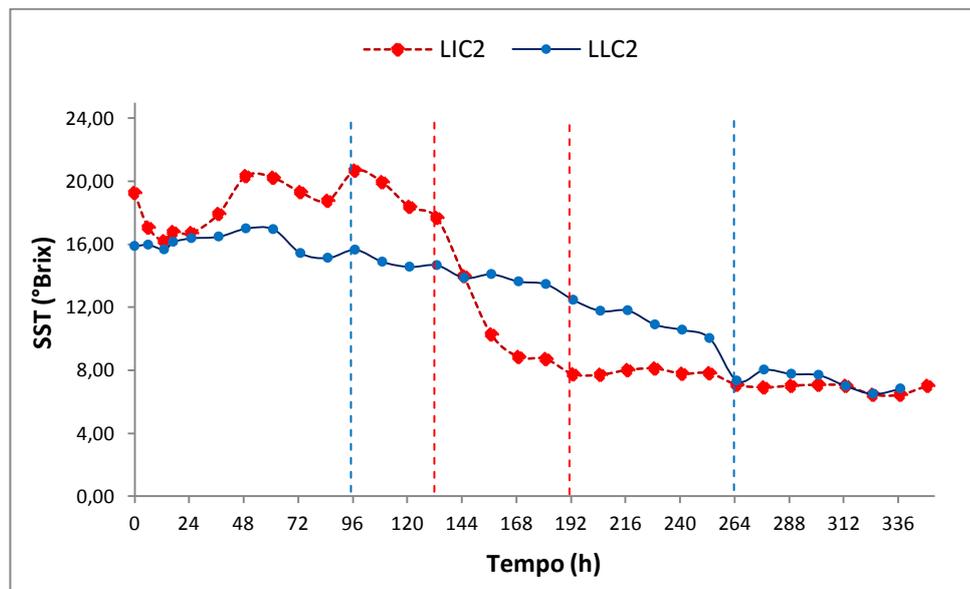
**Fonte:** Autor.  $r_s$ : velocidade de consumo do substrato.  $\mu_s$ : taxa específica de consumo de substrato. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

**Figura 14** – Redução dos SST (°Brix) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC1 e LLC1.



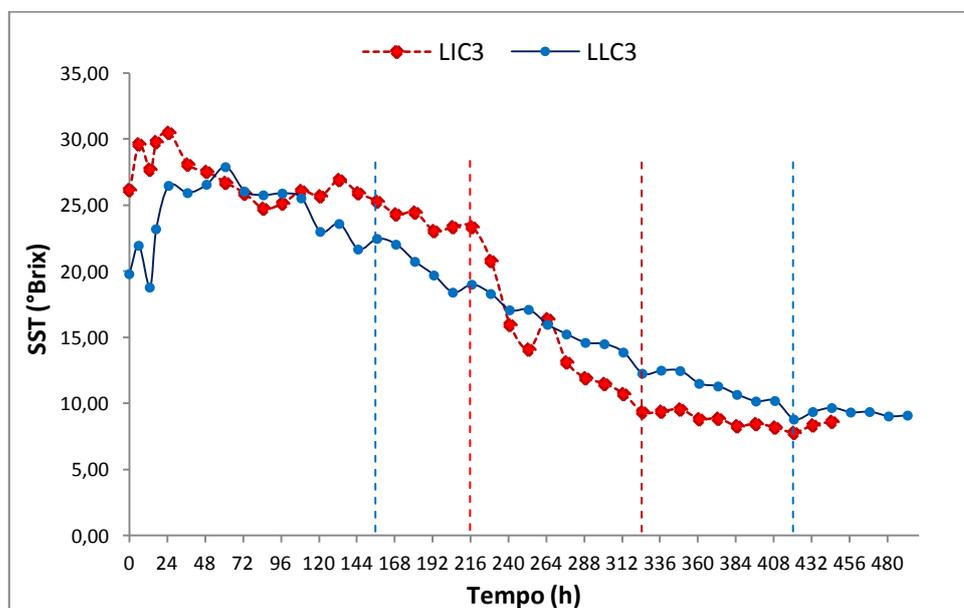
**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização.

**Figura 15** - Redução dos SST (°Brix) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC2 e LLC2.



**Fonte:** Autor. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol.

**Figura 16** - Redução dos SST ( $^{\circ}$ Brix) durante o processo fermentativo dos sistemas LIC3 e LLC3.



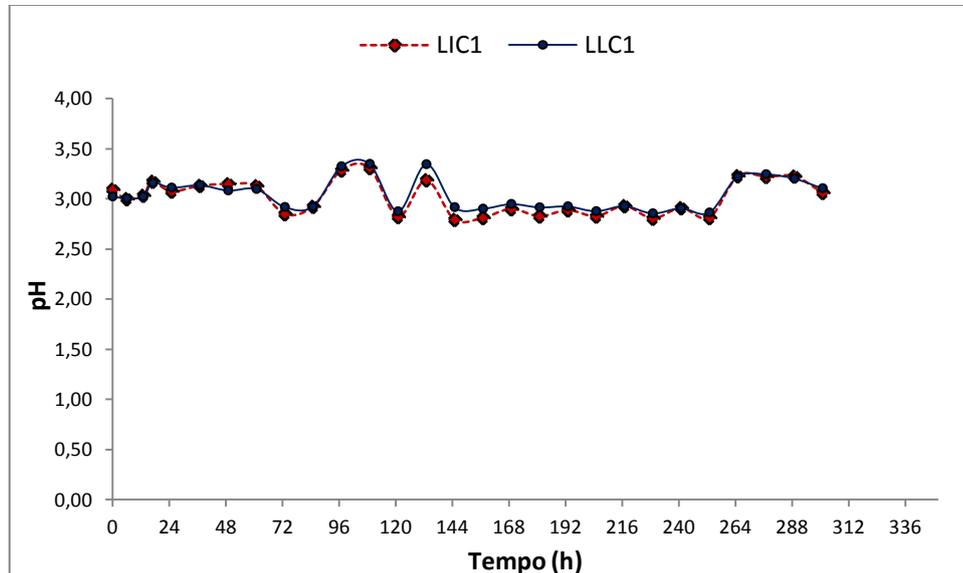
**Fonte:** Autor. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

Durante o processo fermentativo foi observado que o pH, conforme apresentado nas Figuras 17, 18 e 19, nos sistemas com a mesma chaptalização e inóculos realizados com leveduras imobilizadas, tiveram comportamento semelhante aos realizados com leveduras livres. Ressalta-se que tal fato não ocorreu em sistemas com concentrações de chaptalizações diferentes, isto sugere que houve influência desse processo no comportamento do pH do mosto durante a fermentação. Os valores de pH observados apresentaram pequenas oscilações, provavelmente, devido à produção e/ou consumo de ácidos orgânicos e açúcares, o qual é utilizado como substrato pelas leveduras.

O valor mínimo de pH atingido durante o processo fermentativo foi de  $2,8 \pm 0,04$  e o máximo de  $3,35 \pm 0,04$ . Ao final da fermentação foram encontrados os valores de 3,06 para o sistema LIC1 (301 h) e 3,11 para LLC1 (301 h); 3,24 para LIC2 e LLC2 (349 h); e 3,40 para LIC3 (445 h) e 2,96 para LLC3 (493 h). Assim, considerando todos os valores de pH encontrados para os sistemas estudados, foi possível observar que os valores se situaram na faixa de 2,96 a 3,4. Tais resultados estão dentro do esperado devido à acidez da polpa de jabuticaba e à produção de ácidos orgânicos durante o processo fermentativo. Dias *et al.* (2016) constataram valores de pH de 3,02 em mostos fermentados de jabuticaba, valores próximos aos obtidos no presente estudo. De acordo com Araújo *et al.* (2009), baixos valores de pH (entre 2 e 4) em bebidas alcoólicas fermentadas constituem uma característica

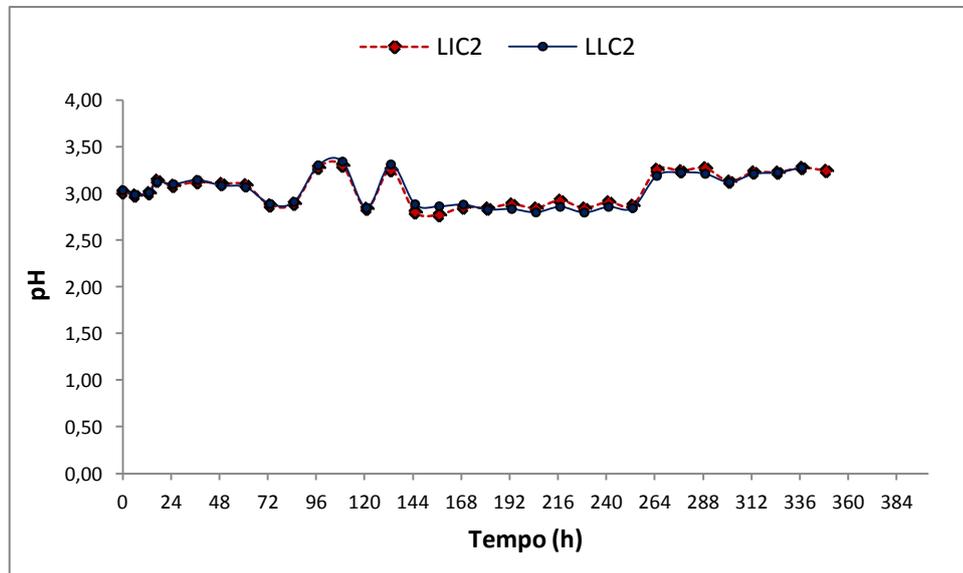
importante para este produto, como prevenir alterações microbiológicas e de coloração que podem ocorrer quando o pH é superior a 4.

**Figura 17** - Valores de pH obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC1 e LLC1.



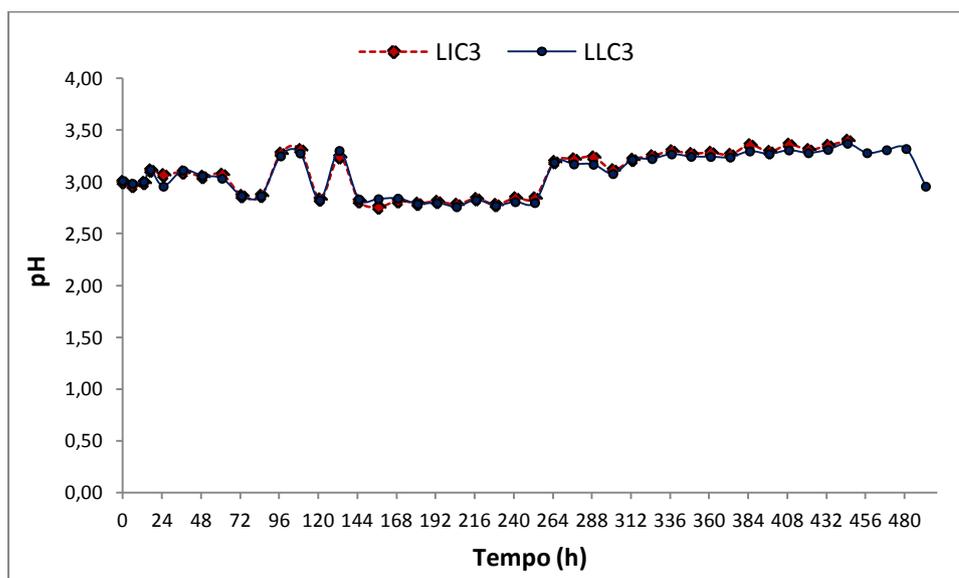
**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização.

**Figura 18** - Valores de pH obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC2 e LLC2.



**Fonte:** Autor. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol.

**Figura 19** - Valores de pH obtidos durante o processo de fermentação dos sistemas LIC3 e LLC3.

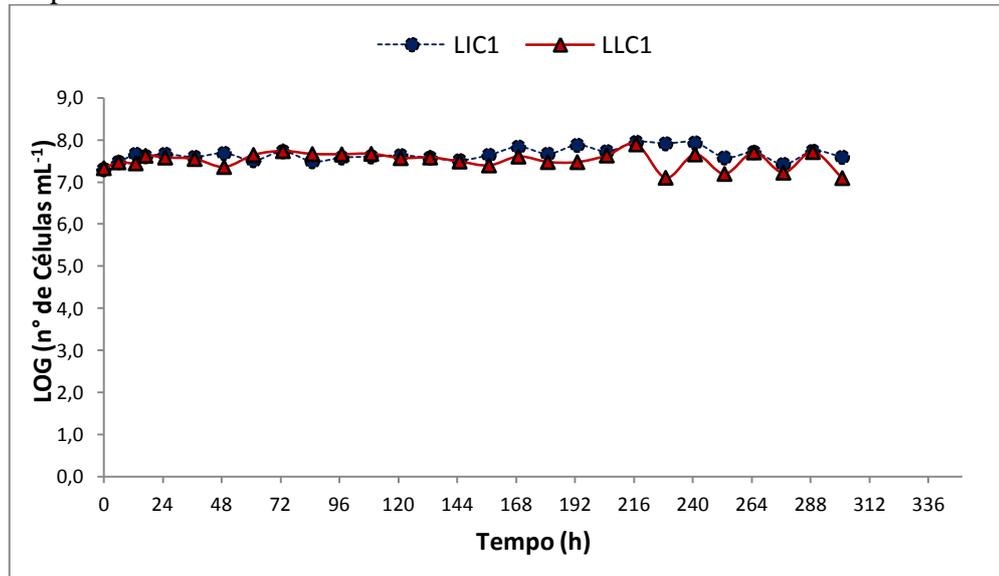


**Fonte:** Autor. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

A quantificação celular por meio das contagens de células em câmara de Neubauer (Figuras 20, 21 e 22) demonstrou que os processos fermentativos conduzidos com células livres iniciaram com inóculo de  $10^7$  cel mL<sup>-1</sup>. De acordo com Dias; Schwan e Lima (2003), inóculos com concentrações próximas a  $10^7$  células mL<sup>-1</sup> são considerados eficientes para fermentação alcoólica de frutas.

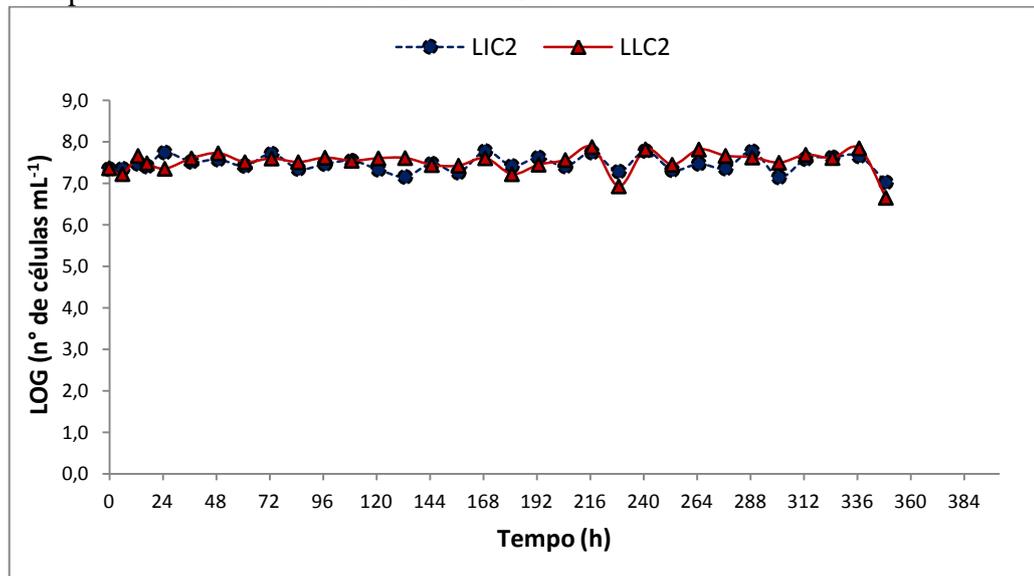
O sistema com células imobilizadas consistiu de  $2,07 \times 10^8$  células mL<sup>-1</sup> por bioesfera, perfazendo um inóculo de  $1,035 \times 10^{11}$  células mL<sup>-1</sup>. Apesar do considerável desprendimento celular (Figuras 20, 21 e 22), as bioesferas mostraram estabilidade durante todo o processo fermentativo, pois estas não foram rescindidas durante a fermentação. O desprendimento celular ocorrido pode ter sido agravado pela aplicação de força mecânica durante a homogeneização do mosto na retirada da amostra para análises.

**Figura 20** – Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC1 e desprendimento celular do sistema LIC1.



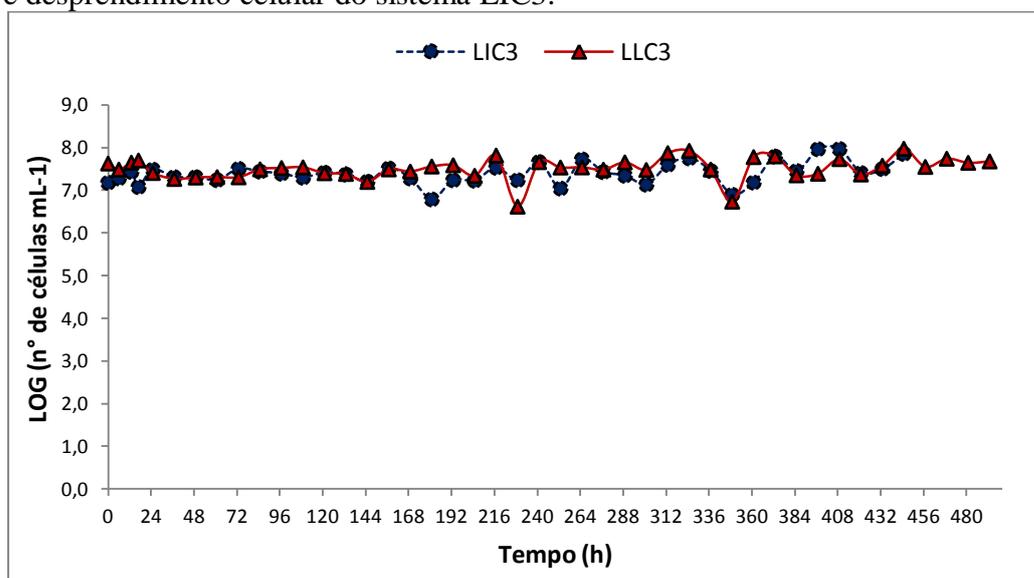
**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização.

**Figura 21** - Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC2 e desprendimento celular do sistema LIC2.



**Fonte:** Autor. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol.

**Figura 22** - Concentração de células viáveis durante o processo de fermentação do sistema LLC3 e despreendimento celular do sistema LIC3.



**Fonte:** Autor. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

Os resultados obtidos para caracterização físico-química dos mostos de jabuticaba no início e ao final do processo fermentativo estão apresentados na Tabela 11. A partir dos resultados obtidos foi possível observar que os sistemas LIC2, LIC3, LLC2 e LLC3 apresentaram os maiores valores médios de açúcares redutores (AR), ( $164,806 \pm 3,25 \text{ g L}^{-1}$ ,  $140,278 \pm 7,01 \text{ g L}^{-1}$ ,  $153,462 \pm 3,75 \text{ g L}^{-1}$  e  $138,892 \pm 8,63 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente); de glicose ( $82,348 \pm 23,64 \text{ g L}^{-1}$ ,  $138,888 \pm 10,68 \text{ g L}^{-1}$ ,  $64,250 \pm 4,12 \text{ g L}^{-1}$ ,  $94,234 \pm 9,94 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente) e de frutose, ( $92,087 \pm 17,89 \text{ g L}^{-1}$ ,  $132,507 \pm 7,95 \text{ g L}^{-1}$ ,  $76,897 \pm 3,13 \text{ g L}^{-1}$ ,  $98,761 \pm 8,57 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente) devido ao processo de chaptalização. Consequentemente, o processo de chaptalização fez com que os sistemas de fermentação LLC1 e LIC1 (sistemas não chaptalizados) se diferenciassem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais em relação aos açúcares redutores no início do processo, pelos respectivos valores médios de  $61,925 \pm 2,46 \text{ g L}^{-1}$  e  $61,925 \pm 2,46 \text{ g L}^{-1}$ .

A concentração de glicose e frutose no início da fermentação foi estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) dos sistemas (LIC2 e LIC3, LLC2 e LLC3) com diferentes chaptalizações quando usado o mesmo tipo de inóculo, seja livre ou imobilizada. Porém, quando todos os sistemas foram comparados em relação à concentração de glicose, foi observado que não há diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os processos LIC1 e LLC1 (sistemas não chaptalizados) apresentando valores médios de  $44,817 \pm 1,54 \text{ g L}^{-1}$  e  $45,904 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. O mesmo foi observado para os sistemas LIC2 e LLC3. Quanto à concentração de frutose, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os valores obtidos para os sistemas

LIC1 ( $64,068 \pm 2,25 \text{ g L}^{-1}$ ), LLC1 ( $65,145 \pm 0,21 \text{ g L}^{-1}$ ) e ( $76,897 \pm 3,13 \text{ g L}^{-1}$ ). O mesmo foi observado para os sistemas LIC2 ( $92,087 \pm 17,89 \text{ g L}^{-1}$ ), LLC2 ( $76,897 \pm 3,13 \text{ g L}^{-1}$ ) e LLC3 ( $98,761 \pm 8,57 \text{ g L}^{-1}$ ), mesmo os dois primeiros sistemas tendo processos de chaptalização ( $80 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose) diferentes desse último ( $160 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose).

O consumo dos açúcares, utilizado como substrato pelas leveduras, foi evidenciado ao se comparar os pontos iniciais e finais de cada processo em relação à concentração de AR, glicose e frutose. Todos os resultados obtidos para os sistemas foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) quanto a concentração inicial e final de açúcares, fato já esperado uma vez que ocorreu o consumo destes durante a fermentação alcoólica.

Ao comparar os resultados do processo fermentativo foi observado que:

1. Os AR ( $5,061 \pm 2,47$ ) e frutose ( $3,990 \pm 3,45 \text{ g L}^{-1}$ ) do sistema LLC3 se diferenciaram dos demais ( $p < 0,05$ ), apresentando maior concentração final de açúcares. Os demais sistemas não diferiram entre si.
2. Quanto a glicose os sistemas LLC3 e LIC1 apresentaram valores que se diferenciaram estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ) e dos demais sistemas, sendo o LIC1 o que apresentou a menor concentração de glicose e o LLC3 o que apresentou a maior concentração de glicose no ponto final.
3. Em se tratando do consumo da glicose e frutose, foi observado que a glicose foi consumida preferencialmente, pois em todos os processos estudados a concentração de frutose foi maior no final do processo fermentativo. Particularmente foi observado que no sistema LLC3 incidiu a maior concentração residual de frutose e glicose. Tal fato pode estar relacionado com a maior concentração de produto formado durante o processo fermentativo, o qual pode interferir no metabolismo das células livres por estarem mais predisporíveis a ação do produto que as células imobilizadas. Segundo Kourkoutas *et al.* (2004) a imobilização celular aumenta a tolerância a altas concentrações de substrato, bem como reduz a possibilidade de inibição pelo produto.

A concentração de etanol nos mostos fermentados foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre os sistemas que foram conduzidos com o mesmo inóculo. Mostos chaptalizados com a mesma concentração de sacarose não diferiram entre si, bem como nos mostos não chaptalizados. A concentração final de etanol obtida nos mostos (Tabela 11) foi satisfatória, apresentando valores na faixa de 5,8 a 14,18 % (v/v), próximos ao teor desejado para cada processo, 4, 8 e 12% (v/v).

O glicerol, responsável por melhorar a viscosidade e sabor das bebidas fermentadas, apresentou baixas concentrações no mosto inicial, com valores de no máximo

0,18 g L<sup>-1</sup>. Os valores obtidos no início do processo fermentativo de todos os sistemas estudados não apresentaram diferença significativa. Ao final da fermentação, o glicerol, segundo produto sintetizado em maior quantidade durante a fermentação alcoólica, atrás apenas do etanol, apresentou os maiores valores nos processos fermentativos elaborados com mostos chaptalizados e conduzido com leveduras livres. Foi observado que, quanto maior a chaptalização, maior a concentração de glicerol. Sendo assim, foi possível afirmar que a concentração final de glicerol foi influenciada tanto pela concentração de açúcar quanto pelo tipo de inóculo, uma vez que sistemas com células livres apresentaram maior concentração deste composto (Tabela 11). O maior valor de glicerol encontrado foi de 9,57±0,21 g L<sup>-1</sup> para LLC3 (sistema com maior concentração de chaptalização e inoculado com leveduras livres). De acordo com Ribéreau-Gayon *et al.* (2006), as leveduras produzem glicerol e ácido acético, como uma forma de adaptação ao meio com altas concentrações de açúcar, isto explica o fato das concentrações de glicerol serem maiores em mostos chaptalizados. Outro fato, diz respeito que às condições ambientais, pois as células em resposta à essas condições, tendem a buscar uma melhor estabilidade produzindo substâncias como o glicerol (INAYATHULLAH *et al.*, 2003).

O metanol, composto produzido a partir da pectina, se constitui em um fator negativo na elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas, visto que, quando consumido em quantidades elevadas torna-se um produto tóxico ao corpo humano. Segundo Paine; Dayan, (2001) valor abaixo de 2% (v/v) é considerado seguro para bebidas fermentadas. O sistema LLC3 foi o sistema que obteve maior concentração de metanol após fermentação (Tabela 11), alcançando a concentração de 1,137 g L<sup>-1</sup> ou 0,011% (v/v). Prasniewski *et al.* (2017), estudando obtenção de geleia de jabuticaba destaca que este fruto é pobre em pectina, fato que a torna matéria-prima interessante para produção de fermentados alcoólicos (Tabela 11).

Os ácidos orgânicos, produtos secundários da fermentação alcoólica, possuem diferentes funções na composição do sabor da fruta. O ácido cítrico, principal responsável pela acidez total da fruta, foi o ácido presente em maior quantidade tanto no início quanto no final da fermentação. Os valores obtidos durante os processos estudados foram na faixa de 12,959±0,22 g L<sup>-1</sup> a 14,29±0,13 g L<sup>-1</sup> (Tabela 11). Fortes *et al.* (2012) ao avaliarem o processo fermentativo para elaboração de bebida alcoólica de jabuticabas (*Plinia cauliflora*) obtiveram o ácido cítrico como ácido orgânico majoritário, com uma concentração inicial de 18,05 g Kg<sup>-1</sup> nos primeiros cinco dias de fermentação para 15,96 g Kg<sup>-1</sup> nos últimos dias do processo. Considerando que o ácido cítrico não é sintetizado durante a fermentação alcoólica, a redução observada na concentração deste ácido (Tabela 11), possivelmente, está relacionada

à metabolização do mesmo pelas leveduras *S. cerevisiae*. Pois, como relatado por Dias *et al.* (2016), estas leveduras podem utilizá-lo como fonte de energia durante o processo fermentativo.

Os ácidos tartárico, succínico e lático foram produzidos em baixas concentrações durante os processos fermentativos (Tabela 11) em todos os sistemas estudados. Nos sistemas LIC3 e LLC3 o ácido tartárico foi encontrado nas concentrações  $0,304 \pm 0,07 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,318 \pm 0,07 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. Para os demais sistemas não foi detectada a presença deste ácido.

A concentração de ácido succínico, no final do processo, variou de  $1,156 \pm 0,05 \text{ g L}^{-1}$  a  $1,806 \pm 0,25 \text{ g L}^{-1}$ . Considerando o ponto inicial e final do processo fermentativo sua produção foi crescente. Foi observado que, em sistemas de fermentação com maior concentração de substrato, houve uma maior produção deste ácido. Sistemas chaptalizados com  $160 \text{ g L}^{-1}$  de açúcar apresentaram os maiores valores de ácido succínico. Fortes *et al.* (2012) encontraram o valor de  $1,17 \text{ g Kg}^{-1}$ , ou seja, aproximadamente  $1,17 \text{ g L}^{-1}$  de ácido succínico em mostos fermentados de jabuticaba *Plinia cauliflora* valor que corrobora com os obtidos neste estudo, apresentados na Tabela 11. Foi observado que não houve diferença significativa entre o uso de leveduras livres e imobilizadas, todavia, apesar da maioria dos sistemas terem apresentado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o uso ou não de chaptalização, bem como para sua concentração, os sistemas LIC1 e LIC2 não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

A concentração de ácido lático foi negligenciável em todos os sistemas estudados. Contudo, houve exceção apenas do sistema LLC1, que apresentou concentração de  $0,649 \pm 0,71 \text{ g L}^{-1}$  no final do processo fermentativo.

Os resultados obtidos para a concentração de ácido málico no início e ao final do processo fermentativo mostram um aumento significativo deste ácido em todos os sistemas, exceto nos chaptalizados com a maior concentração de sacarose, concentração para obtenção de 12% de etanol (v/v), LIC3 e LLC3. Dias *et al.* (2016) em seus estudos para produção de vinagre de jabuticaba, obteve no mosto fermentado de jabuticaba, corrigido para 16°Brix, concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$  de ácido málico, sendo esta próxima à encontrada no presente estudo (Tabela 11).

O ácido acético, como esperado, foi produzido durante o processo fermentativo de todos os sistemas. A concentração final deste ácido variou de  $0,231 \text{ g L}^{-1}$  no sistema LIC1 a  $0,602 \text{ g L}^{-1}$  no sistema LLC3. Tais valores foram inferiores aos obtidos por Fortes *et al.* (2012), que acharam valores próximos a  $1 \text{ g L}^{-1}$  e por Dias *et al.* (2016) que ao analisarem o

mosto fermentado de jabuticaba, corrigido para 16°Brix, encontraram 0,92 g L<sup>-1</sup>. O ácido acético é produzido por bactérias acéticas aeróbias, sendo assim, a baixa concentração deste ácido no mosto fermentado era esperada e desejada visto que o processo foi conduzido anaerobicamente. Ao comparar os sistemas fermentativos foi detectada a presença de maiores concentrações de ácido acético nos sistemas inoculados com leveduras livres, do que naqueles inoculados com leveduras imobilizadas.

Ao analisar as concentrações de compostos fenólicos no início e final das fermentações, foi possível observar que houve um aumento estatisticamente significativo no final do processo fermentativo nos sistemas LLC1, LLC2 e que os sistemas LLC3 e LIC1 não apresentaram diferença significativa entre seus pontos iniciais e finais, pois apresentaram valores inalterados neste processo. Nos sistemas LIC2 e LIC3 foi observada uma redução significativa comparando os valores iniciais e finais dos processos (Tabela 11). Todavia, todos os processos, independentes, se chaptalizado ou não, ou ainda, se inoculados com células livres ou imobilizadas, não apresentaram diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) ao final do processo, apresentando valores aproximados na faixa de  $2151,97 \pm 177,94$  mg<sub>ac.gálico</sub> g L<sup>-1</sup> a  $2450,50 \pm 164,14$  mg<sub>ac.gálico</sub> g L<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos se aproximam dos observados por Fortes *et al.* (2012), que encontraram 2640 mg L<sup>-1</sup> de compostos fenólicos para mostos fermentados de jabuticaba, e foram superiores aos obtidos por Sá *et al.* (2014), que encontraram 1105 mg L<sup>-1</sup>.

As concentrações de antocianinas para todos os sistemas estudados não diferiram estatisticamente no início do processo, entretanto reduziram estatisticamente de forma significativa ao final da fermentação, exceto no sistema LLC2 (Tabela 11). As antocianinas são pigmentos naturais muito sensíveis e a redução da sua concentração durante o processo fermentativo pode ser explicada pelo processo de polimerização das mesmas (FORTES *et al.*, 2012). Tal fato reflete nos valores detectados pelo método utilizado para sua quantificação, pois este não é capaz de detectar as antocianinas na forma polimerizada.

Quanto aos flavonoides, comparando os valores iniciais e finais obtidos para os sistemas durante a fermentação, não houve diferença significativa (Tabela 11). De acordo com Guerra (2003), os flavonoides se apresentam como compostos estáveis durante a fermentação e por terem maior solubilidade em álcool tendem a apresentarem concentrações maiores em bebidas alcoólicas.

**Tabela 11** - Caracterização físico-química do mosto fermentado de jabuticaba no início e final da fermentação empregando diferentes sistemas de fermentação.

Amostra	Pontos	LIC1	LIC2	LIC3	LLC1	LLC2	LLC3
AR (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	61,925±2,46 <sup>dA</sup>	164,806±3,25 <sup>aA</sup>	140,278±7,01 <sup>bcA</sup>	61,925±2,46 <sup>dA</sup>	153,462±3,75 <sup>abA</sup>	138,892±8,63 <sup>cA</sup>
	Final	1,250±0,04 <sup>bB</sup>	1,354±0,17 <sup>bB</sup>	1,348±0,28 <sup>bB</sup>	0,842±0,47 <sup>bB</sup>	1,510±0,13 <sup>bB</sup>	5,061±2,47 <sup>aB</sup>
Glicose (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	44,817±1,54 <sup>dA</sup>	82,348±23,64 <sup>bA</sup>	138,888±10,68 <sup>aA</sup>	45,904±0,42 <sup>dA</sup>	64,250±4,12 <sup>cA</sup>	94,234±9,94 <sup>bA</sup>
	Final	0,163±0,003 <sup>dB</sup>	0,196±0,03 <sup>bcB</sup>	0,263±0,08 <sup>bB</sup>	0,214±0,01 <sup>bcB</sup>	0,20±0,01 <sup>bcB</sup>	0,465±0,16 <sup>aB</sup>
Frutose (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	64,068±2,25 <sup>dA</sup>	92,087±17,89 <sup>bcA</sup>	132,507±7,95 <sup>aA</sup>	65,145±0,21 <sup>dA</sup>	76,897±3,13 <sup>cdA</sup>	98,761±8,57 <sup>bA</sup>
	Final	0,422±0,01 <sup>bB</sup>	0,302±0,17 <sup>bB</sup>	0,785±0,20 <sup>bB</sup>	0,290±0,22 <sup>bB</sup>	0,45±0,01 <sup>bB</sup>	3,990±3,45 <sup>aB</sup>
Etanol (% v/v)	Inicial	0,130±0,008 <sup>aB</sup>	0,134±0,01 <sup>aB</sup>	0,121±0,003 <sup>abB</sup>	0,132±0,001 <sup>aB</sup>	0,073±0,08 <sup>bB</sup>	0,127±0,002 <sup>aB</sup>
	Final	5,799±0,20 <sup>cA</sup>	9,707±0,000 <sup>bA</sup>	14,121±0,01 <sup>aA</sup>	5,889±0,15 <sup>cA</sup>	9,89±0,15 <sup>bA</sup>	14,184±0,33 <sup>aA</sup>
Glicerol (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,173±0,001 <sup>aB</sup>	0,183±0,03 <sup>aB</sup>	0,080±0,11 <sup>aB</sup>	0,169±0,01 <sup>aB</sup>	0,162±0,001 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>
	Final	5,507±0,05 <sup>eA</sup>	6,607±0,11 <sup>dA</sup>	8,964±0,65 <sup>bA</sup>	6,744±0,08 <sup>dA</sup>	7,59±0,05 <sup>cA</sup>	9,571±0,21 <sup>aA</sup>
Metanol (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,00±0,00 <sup>gB</sup>	0,00±0,00 <sup>gB</sup>	0,00±0,00 <sup>gB</sup>	0,00±0,00 <sup>gB</sup>	0,00±0,00 <sup>gB</sup>	0,00±0,00 <sup>gB</sup>
	Final	0,490±0,02 <sup>fA</sup>	0,702±0,003 <sup>dA</sup>	1,078±0,05 <sup>bA</sup>	0,665±0,01 <sup>eA</sup>	0,80±0,01 <sup>cA</sup>	1,137±0,02 <sup>aA</sup>
Ácido Cítrico (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	14,452±0,49 <sup>aA</sup>	14,205±0,26 <sup>abA</sup>	13,586±0,25 <sup>cA</sup>	14,628±0,05 <sup>aA</sup>	13,816±0,14 <sup>bcA</sup>	14,286±0,36 <sup>abA</sup>
	Final	13,864±0,49 <sup>bcB</sup>	13,607±0,94 <sup>cB</sup>	12,798±0,04 <sup>dB</sup>	14,220±0,16 <sup>abA</sup>	14,29±0,13 <sup>abA</sup>	12,959±0,22 <sup>dB</sup>
Ácido Tartárico (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>
	Final	0,000±0,00 <sup>bA</sup>	0,038±0,05 <sup>bA</sup>	0,304±0,07 <sup>aA</sup>	0,041±0,06 <sup>bA</sup>	0,00±0,00 <sup>bA</sup>	0,318±0,07 <sup>aA</sup>
Ácido Málico (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,323±0,004 <sup>cB</sup>	0,317±0,12 <sup>cB</sup>	1,015±0,01 <sup>abA</sup>	0,328±0,000 <sup>cB</sup>	0,360±0,02 <sup>cB</sup>	0,968±0,02 <sup>abA</sup>
	Final	0,915±0,25 <sup>dA</sup>	1,198±0,01 <sup>aA</sup>	1,109±0,03 <sup>abcA</sup>	1,023±0,08 <sup>bcdA</sup>	1,16±0,02 <sup>abA</sup>	1,062±0,05 <sup>abcA</sup>
Ácido Succínico (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,176±0,005 <sup>aB</sup>	0,164±0,01 <sup>bB</sup>	0,140±0,01 <sup>cB</sup>	0,178±0,001 <sup>aB</sup>	0,163±0,003 <sup>bB</sup>	0,159±0,002 <sup>bB</sup>
	Final	1,170±0,02 <sup>cA</sup>	1,289±0,06 <sup>bcA</sup>	1,711±0,24 <sup>aA</sup>	1,156±0,05 <sup>cA</sup>	1,42±0,01 <sup>bA</sup>	1,806±0,25 <sup>aA</sup>
Ácido Láctico (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,047±0,07 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,050±0,07 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>
	Final	0,142±0,01 <sup>bA</sup>	0,150±0,002 <sup>bA</sup>	0,207±0,04 <sup>bA</sup>	0,649±0,71 <sup>aA</sup>	0,16±0,001 <sup>bA</sup>	0,222±0,04 <sup>bA</sup>
Ácido Acético (g L <sup>-1</sup> )	Inicial	0,152±0,002 <sup>abB</sup>	0,147±0,01 <sup>bcB</sup>	0,132±0,005 <sup>dB</sup>	0,156±0,001 <sup>aB</sup>	0,143±0,003 <sup>cB</sup>	0,143±0,003 <sup>cB</sup>
	Final	0,231±0,03 <sup>dA</sup>	0,264±0,01 <sup>cA</sup>	0,512±0,10 <sup>aA</sup>	0,521±0,04 <sup>aA</sup>	0,36±0,02 <sup>bA</sup>	0,602±0,02 <sup>aA</sup>
Compostos Fenólicos (mg <sub>ac.gálico</sub> L <sup>-1</sup> )	Inicial	1690,12±585,14 <sup>cdA</sup>	2898,50±307,22 <sup>aA</sup>	2884,11±307,12 <sup>aA</sup>	1341,62±206,68 <sup>dB</sup>	2171,63±204,07 <sup>bcA</sup>	2394,73±113,72 <sup>abA</sup>
	Final	2257,99±378,20 <sup>bcA</sup>	2216,20±239,23 <sup>bcB</sup>	2271,99±137,43 <sup>bB</sup>	2450,50±164,14 <sup>abA</sup>	2419,06±83,33 <sup>abA</sup>	2151,97±177,94 <sup>bcA</sup>
Antocianinas (mg L <sup>-1</sup> )	Inicial	11,472±1,54 <sup>aA</sup>	8,884±1,09 <sup>aA</sup>	12,892±2,97 <sup>aA</sup>	12,249±2,58 <sup>aA</sup>	10,003±2,10 <sup>aA</sup>	11,347±0,88 <sup>aA</sup>
	Final	1,191±0,56 <sup>cB</sup>	1,152±0,18 <sup>cB</sup>	4,459±0,58 <sup>bcB</sup>	0,601±0,07 <sup>cB</sup>	6,183±0,44 <sup>abA</sup>	3,396±2,458 <sup>bcB</sup>
Flavonoides (mg <sub>pirocatequina</sub> L <sup>-1</sup> )	Inicial	718,829±409,82 <sup>dA</sup>	1862,914±307,15 <sup>abA</sup>	1903,970±630,57 <sup>abA</sup>	754,167±457,14 <sup>dA</sup>	1452,355±607,60 <sup>abcA</sup>	1329,187±182,08 <sup>bcdA</sup>
	Final	1173,516±291,37 <sup>cdA</sup>	1819,775±279,01 <sup>abA</sup>	1988,177±81,81 <sup>aA</sup>	1195,755±59,76 <sup>cdA</sup>	1830,086±158,22 <sup>abA</sup>	1835,241±200,14 <sup>abA</sup>

**Fonte:** Autor. Letras maiúsculas diferentes, entre os pontos inicial e final para determinada análise, evidenciam diferença em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey; letras minúsculas diferentes entre as amostras, na mesma linha para determinada análise, evidenciam diferença em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (p<0,05). LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

### 5.4.2 Variáveis de resposta do processo fermentativo

Os resultados obtidos para as variáveis de resposta do processo fermentativo, produtividade volumétrica ( $Q_p$ ), rendimento da produção de etanol ( $Y_{p/s}$ ), rendimento em células em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ), taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ ) e eficiência fermentativa ( $E_f$ ), estão apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** – Resultados obtidos para as variáveis de resposta do processo fermentativo, produtividade volumétrica ( $Q_p$ ), rendimento da produção de etanol ( $Y_{p/s}$ ), eficiência fermentativa ( $E_f$ ), rendimento em células em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ) e taxa específica de crescimento celular ( $\mu_x$ ).

Amostra	$Q_p$ ( $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	$Y_{p/s}$ ( $\text{g g}^{-1}$ )	$E_f$ (%)	$Y_{x/s}$ (células $\text{g}^{-1}$ )	$\mu_x$
LIC1	0,272±0,01	0,41±0,03	80,92±5,88	-	-
LIC2	0,399±0,00	0,45±0,11	87,48±20,87	-	-
LIC3	0,344±0,00	0,41±0,03	80,15±5,53	-	-
LLC1	0,194±0,005	0,41±0,01	80,42±2,73	$2,2 \times 10^8 \pm 3,53 \times 10^7$	0,025±0,002
LLC2	0,296±0,004	0,55±0,03	108,07±6,38	$3,018 \times 10^8 \pm 9,62 \times 10^7$	0,048±0,01
LLC3	0,266±0,006	0,59±0,06	115,59±11,83	$1,063 \times 10^8 \pm 9,92 \times 10^7$	0,048±0,009

**Fonte:** Autor. LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

A produtividade volumétrica ( $Q_p$ ), medida diretamente proporcional à quantidade de etanol produzida durante a fermentação, apresentou valores maiores para mostos chaptalizados, quando comparadas às bebidas elaboradas com o mesmo tipo de inóculo, seja com leveduras livres ou imobilizadas. Este fato está relacionado com a concentração inicial de substrato presente no mosto, a qual teoricamente é diretamente proporcional à concentração de produto (etanol) sintetizado durante o processo fermentativo. Foi observado ainda que, a produtividade volumétrica foi influenciada pelo tipo de inóculo utilizado na elaboração das bebidas, apresentando valores consideravelmente maiores para bebidas elaboradas utilizando leveduras imobilizadas, visto que o tempo de fermentação destas bebidas foi menor.

Observando os valores encontrados para o rendimento da produção de etanol ( $Y_{p/s}$ ) e eficiência fermentativa ( $E_f$ ), apresentados na Tabela 12, foi notado que há uma maior produção de etanol e eficiência fermentativa em mostos chaptalizados e com inóculos de leveduras na forma livre, que em mostos com inóculos com leveduras na forma imobilizada. O  $Y_{p/s}$  e a  $E_f$  foram maiores no mosto chaptalizado para 8% (v/v) de etanol com leveduras imobilizadas (LIC2), com valores de  $0,45 \pm 0,11 \text{ g g}^{-1}$  para  $Y_{p/s}$  e  $87,48 \pm 20,87\%$  para  $E_f$ . No

entanto, apesar disso, a  $E_f$  de todas as bebidas foram acima de 80% e o  $Y_{p/s}$  próximo do rendimento teórico ( $0,511 \text{ g g}^{-1}$ ) mostrando a alta eficiência do processo.

Os sistemas LLC2 e LLC3 apresentaram rendimentos acima do teórico e  $E_f$  acima de 100%, fato explicado por possíveis variações do processo, ou ainda, alíquotas analisadas sem perfeita homogeneização do mosto devido à alta concentração de sacarose adicionada no ponto inicial.

Os resultados obtidos para o rendimento em célula em relação ao substrato ( $Y_{x/s}$ ) demonstraram que a melhor atuação das células de leveduras ocorreu no sistema LLC2, pois as células necessitaram de um menor consumo de substrato para o seu desenvolvimento quando comparado aos demais sistemas, com  $Y_{x/s}$  de  $3,018 \times 10^8 \pm 9,62 \times 10^7$  células  $\text{g}^{-1}$ . Quanto à variável  $\mu_x$  foi observado que no sistema não chaptalizado (LLC1) esta taxa foi de  $0,025 \pm 0,002$ , valor menor que o observado nos demais sistemas analisados,  $0,048 \pm 0,01$ . Tal fato, possivelmente, está atrelado à quantidade de substrato disponível no mosto, pois em sistemas com maiores concentrações de substrato foram obtidos taxas superiores de  $\mu_x$ .

### **5.5 Rendimento do processo em bebida**

Os rendimentos das bebidas obtidas após o processo fermentativo encontram-se listado na Tabela 13. Foi possível observar que, de forma geral, os sistemas conduzidos com leveduras livres e imobilizadas não influenciaram no rendimento em bebida, pois os valores obtidos não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Os valores obtidos se situaram em aproximadamente 68%, sugerindo a necessidade de maiores estudos para alcançar melhores resultados. Apesar de relatos na literatura mencionarem benefícios ao rendimento para bebidas em processos conduzidos com leveduras imobilizadas, tal fato não foi observado neste estudo. Os baixos rendimentos obtidos, aproximadamente 68%, provavelmente são reflexos dos processos de trasfega e filtração do mosto fermentado para obtenção das bebidas. Nestes foram observadas perdas apreciáveis de volume, pois o mosto de jabuticaba apresentava uma polpa densa com alta concentração de resíduos da própria polpa, o que certamente dificultou a separação da massa celular, seja livre ou imobilizada.

**Tabela 13** – Resultados obtidos para o rendimento das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba estudadas (média±DP) e  $p_{\text{valor}}$ .

Rendimento (%)	Amostras						$P_{\text{valor}}$
	LIC1	LIC2	LIC3	LLC1	LLC2	LLC3	$P_{r>F_c}$
	66,8±0,58	63,1±8,63	68,4±10,75	65,3±0,35	70±0,1	72,4±3,36	0,6705

**Fonte:** Autor. DP: desvio padrão LIC1: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1: sistema com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3: sistema com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

## 5.6 Bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba

### 5.6.1 Características de cor das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba

Os resultados obtidos após a realização das análises colorimétricas estão apresentados na Tabela 14 e a cor de cada um dos fermentados alcoólicos de jabuticaba elaborados neste estudo pode ser visualizada nas Figuras 23 e 24.

O parâmetro luminosidade (parâmetro  $L^*$ ) apresentou valores médios variando de 62,98±0,00 a 72,43±0,00. Desta forma, todas as bebidas podem ser descritas como claras e luminosas. Todas as bebidas analisadas diferiram estatisticamente ( $p<0,05$ ) quanto a este parâmetro ( $L^*$ ) e não apresentaram influência do tipo de inóculo utilizado e nem do emprego da chaptalização realizado no processo fermentativo. Porém, todas as bebidas adoçadas se apresentaram mais claras e luminosas que as bebidas secas provenientes de mesmo processo de elaboração, ou seja, de mesma concentração inicial de substrato e tipo de inóculo, leveduras livres ou imobilizadas.

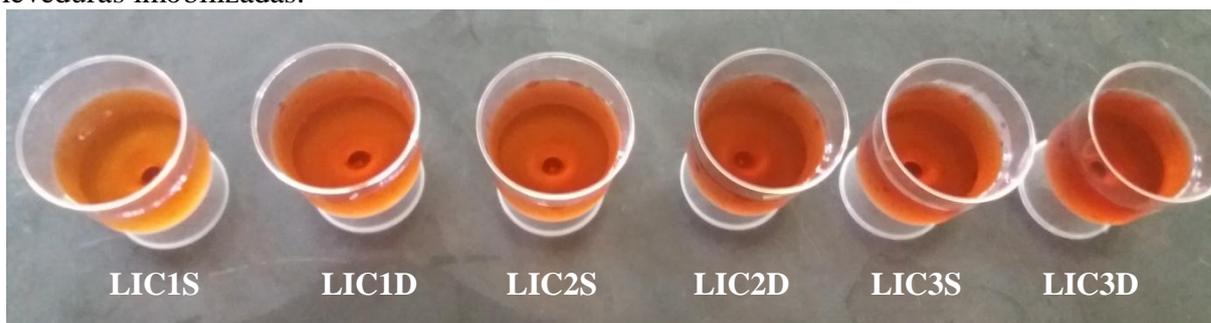
Os valores obtidos para os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  foram positivos para todas as bebidas, o que significa no caso do parâmetro  $a^*$ , que a componente vermelha é superior à verde e no caso do parâmetro  $b^*$ , que a componente amarela é superior à azul. Portanto, há uma maior proporção da cor amarela que da cor vermelha em todas as bebidas. Em relação ao parâmetro  $a^*$  todas as bebidas foram estatisticamente diferentes ( $p<0,05$ ) e em relação ao parâmetro  $b^*$  apenas as bebidas LLC3D e LLC3S foram semelhantes estatisticamente ( $p>0,05$ ). Os resultados obtidos para os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  e  $L^*$  nas bebidas elaboradas foram esperados e satisfatórios uma vez que se almejou produzir uma bebida clara. O fato deve-se, principalmente, por não ter sido utilizada a casca da jabuticaba no processo de elaboração da bebida, visto que esta é a principal origem dos pigmentos deste fruto. Aguirre (2006), ao analisar a cor de fermentados alcoólicos rosados de jabuticaba também encontrou maiores proporções da cor amarela que da cor vermelha.

**Tabela 14** – Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba em relação à cor.

Amostra	L*	a*	b*
LIC1D	72,43±0,00 <sup>a</sup>	15,815±0,01 <sup>k</sup>	58,035±0,01 <sup>d</sup>
LIC1S	70,305±0,01 <sup>e</sup>	18,36±0,01 <sup>g</sup>	59,615±0,01 <sup>b</sup>
LIC2D	71,865±0,01 <sup>c</sup>	16,74±0,00 <sup>i</sup>	54,185±0,02 <sup>f</sup>
LIC2S	68,07±0,00 <sup>g</sup>	21,48±0,00 <sup>e</sup>	55,72±0,00 <sup>e</sup>
LIC3D	71,545±0,01 <sup>d</sup>	16,525±0,01 <sup>j</sup>	52,405±0,01 <sup>h</sup>
LIC3S	67,51±0,01 <sup>h</sup>	21,73±0,01 <sup>d</sup>	53,395±0,02 <sup>g</sup>
LLC1D	64,675±0,01 <sup>k</sup>	21,515±0,01 <sup>e</sup>	59,31±0,00 <sup>c</sup>
LLC1S	62,98±0,00 <sup>l</sup>	23,165±0,01 <sup>c</sup>	60,215±0,02 <sup>a</sup>
LLC2D	71,985±0,01 <sup>b</sup>	17,33±0,01 <sup>h</sup>	45,29±0,00 <sup>j</sup>
LLC2S	66,375±0,01 <sup>i</sup>	25,51±0,01 <sup>b</sup>	46,11±0,01 <sup>i</sup>
LLC3D	69,87±0,01 <sup>f</sup>	19,365±0,02 <sup>f</sup>	45,005±0,01 <sup>k</sup>
LLC3S	64,845±0,01 <sup>j</sup>	26,635±0,01 <sup>a</sup>	44,985±0,01 <sup>k</sup>

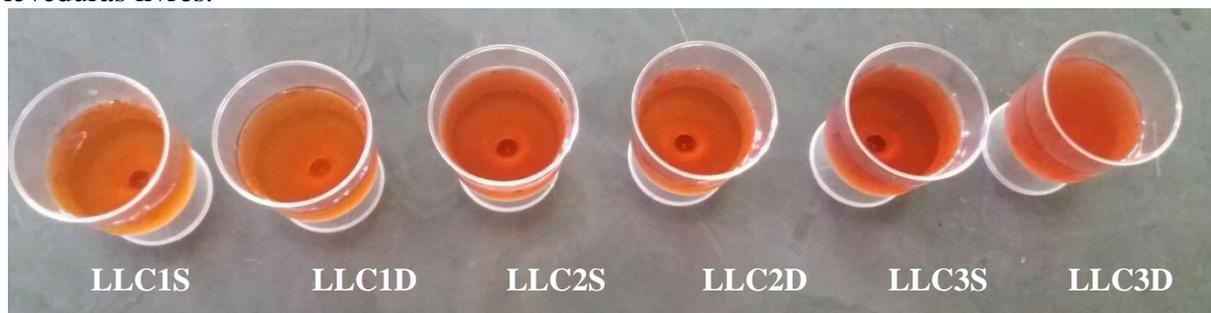
**Fonte:** Autor. L\*: luminosidade, a\*: parâmetro do sistema CIELab (-a cor verde a +a cor vermelha), b\*: parâmetro do sistema CIELab (-b cor azul a +b cor amarela). LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LIC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

**Figura 23** – Aspecto das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba elaboradas utilizando leveduras imobilizadas.



**Fonte:** Autor. LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LIC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

**Figura 24** - Aspecto das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba elaboradas utilizando leveduras livres.



**Fonte:** Autor. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

### 5.6.2 Caracterização físico-química das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba

Os resultados obtidos para as análises físico-químicas realizadas nas bebidas fermentadas, secas e doces, estão apresentados respectivamente nas Tabelas 16 e 17.

As bebidas obtidas, secas (Tabela 16) e doces (Tabela 17), se apresentaram dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira de fermentados alcoólicos, especificamente de fermentados alcoólicos de jabuticaba (IN n° 34 de 29 de novembro de 2012 do MAPA), exceto para o parâmetro acidez total. Visto que, a legislação brasileira estabelece para acidez total valores entre 50 a 130 meq L<sup>-1</sup>, para acidez fixa mínimo de 30 meq L<sup>-1</sup> e para acidez volátil máximo 20 meq L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2012).

Os resultados obtidos para as bebidas secas apresentaram valores médios na ordem de 191,54±2,68 meq L<sup>-1</sup> a 205,44±5,35 meq L<sup>-1</sup> para acidez total, 181,438±3,21 meq L<sup>-1</sup> a 196,07±5,46 meq L<sup>-1</sup> para acidez fixa e 6,815±0,56 meq L<sup>-1</sup> a 10,223±0,63 meq L<sup>-1</sup> para acidez volátil. Em se tratando das bebidas doces, foram observados valores na faixa de 189,99±0,00 meq L<sup>-1</sup> a 203,9±0,00 meq L<sup>-1</sup> para acidez total, 178,311±1,93 meq L<sup>-1</sup> a 191,361±1,87 meq L<sup>-1</sup> para acidez fixa e 7,424±0,42 meq L<sup>-1</sup> a 12,535±1,87 meq L<sup>-1</sup> para acidez volátil. Em relação a esses padrões, as bebidas se mostraram adequadas, exceto, como já mencionado, para acidez total, que os valores obtidos ultrapassaram o limite estabelecido, bem como ocorreu nos estudos realizados por Silva *et al.* (2008), que se refere ao fermentado alcoólico de jabuticaba como fermentados de alta acidez. Os altos valores obtidos para acidez total das bebidas são provenientes da acidez da polpa de jabuticaba, na qual se encontra uma expressiva concentração de ácidos, principalmente ácido cítrico. Outro

ponto a considerar, deve-se ao fato de optar por não corrigir a acidez da polpa antes do processo fermentativo visando a produção de fermentados alcoólicos sem o acréscimo de aditivos.

Quanto à graduação alcoólica, os valores obtidos foram próximos dos desejados, de 4, 8 e 12% v/v (Tabelas 16 e 17). Todas as bebidas se mostraram dentro dos padrões de bebidas alcoólicas fermentadas (4 a 14% v/v), exceto as bebidas codificadas como LIC3S e LLC3S que excederam o teor alcoólico permitido pela legislação. Nessas bebidas não foram adicionados metabissulfito de sódio ao final do processo fermentativo e por esse motivo, o processo fermentativo pode ter continuado durante o período de maturação das bebidas. A bebida LIC3D, apesar de ter sido adicionada de metabissulfito de sódio também excedeu a graduação alcoólica permitida pela legislação, porém em apenas 0,56 % v/v de etanol. Estas bebidas, LIC3S, LLC3S e LIC3D, apesar de não se adequarem aos padrões exigidos para receberem a nomenclatura de fermentados alcoólicos de fruta apresentam todas as características do mesmo, excedendo apenas o teor alcoólico.

A concentração de cloretos totais para bebidas alcoólicas fermentadas é estabelecida na legislação vigente com valor máximo de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  (BRASIL, 2012), sendo assim, todas as bebidas se enquadraram nas exigências da legislação uma vez que os valores obtidos se situaram na faixa de  $0,105 \pm 0,03$  a  $0,216 \pm 0,03$  para bebidas secas e  $0,062 \pm 0,01$  a  $0,273 \pm 0,00$  para as bebidas doces. Os dados obtidos foram satisfatórios e dentro do esperado uma vez que não foram adicionados aditivos.

Os padrões de Extrato seco reduzido (ESR) e de Anidrido sulfuroso total (AST), preconizados pela legislação de no mínimo  $7 \text{ g L}^{-1}$  para ESR e de no máximo  $0,35 \text{ g L}^{-1}$  para AST, foram atendidos para todas as bebidas. Quanto ao Extrato seco total (EST), de acordo com Castilhos e Bianchi (2011), este está relacionado com o corpo da bebida alcoólica. Portanto analisando os resultados apresentados nas Tabelas 16 e 17 pôde-se perceber que as bebidas adoçadas são mais encorpadas que as secas e quanto maior o teor de açúcar presente na amostra mais encorpada esta se apresentou. Em relação ao Anidrido sulfuroso livre (ASL), todas as bebidas apresentaram valores abaixo de  $2,726 \text{ mg L}^{-1}$ , resultado esperado e satisfatório, visto que foi adicionado no mosto e nas bebidas adoçadas metabissulfito de sódio em baixas concentrações.

O teor de cinzas não é padronizado pela legislação de fermentados alcoólicos de frutas. Porém, ao se comparar os resultados obtidos, apresentados nas Tabelas 16 e 17, com o padronizado pela legislação brasileira de vinhos rosados (IN nº14 de 08 de fevereiro de 2018), de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , todas as amostras se apresentaram dentro do padrão.

O pH das bebidas variou entre 3,15 a 3,26 para as bebidas secas e de 3,13 a 3,26 para as bebidas doces. Foram observados valores de pH maiores para bebidas provenientes de mostos chaptalizados, provavelmente devido à concentração de ácido cítrico, que se apresenta menor nestas bebidas. O ácido cítrico é o ácido orgânico majoritário na polpa, em mostos e conseqüentemente em bebidas alcoólicas de jabuticaba, estes são os principais responsáveis pela acidez destas bebidas, interferindo diretamente em seu pH. O fato das concentrações deste ácido ser maior em mostos não chaptalizados, como já mencionado, é explicada pelo possível consumo do mesmo pelas leveduras, que o utilizam como forma de energia em casos de adaptação em meios onde há alta concentração de açúcares, como ocorre nos mostos chaptalizados (DIAS *et al.*, 2016)

Os resultados obtidos para os açúcares redutores totais (ART) se apresentaram na faixa de  $0,958 \pm 0,09 \text{ g L}^{-1}$  a  $2,338 \pm 0,26 \text{ g L}^{-1}$  para as bebidas secas e  $3,363 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$  a  $12,027 \pm 0,16 \text{ g L}^{-1}$  para as bebidas doces. Os resultados para os açúcares foram obtidos por dois métodos analíticos, permitindo assim observar que apesar dos métodos tradicionais apresentarem algumas variações nas leituras dos resultados, estes se situaram, na maioria, próximos e condizentes com os obtidos a partir de leituras em UFLC, equipamento que proporciona resultados de maior precisão.

As concentrações de glicose e frutose nas bebidas secas tiveram pequenas variações, provenientes do próprio processo fermentativo, apresentando resultados na ordem de  $0,258 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  a  $0,297 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  para glicose e  $0,78 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  a  $0,99 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  para frutose. A bebida codificada como LLC3S que se destacou das demais por apresentar as maiores médias de glicose ( $0,39 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$ ) e frutose ( $3,18 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$ ), diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das demais. Nas bebidas doces, as concentrações de ART, glicose e frutose aumentaram em relação aos dados obtidos a partir do ponto final do mosto, fato relacionado à adição de xarope de sacarose utilizado para adoçar as bebidas, conforme apresentado na Tabela 17. Os dados de açúcares obtidos para as bebidas fermentadas foram satisfatórios por ter sido condizente com as características de doçura desejada para cada bebida. Todas as bebidas adoçadas se mostraram coerentes quanto à concentração de açúcares, exceto as bebidas LIC2D e LLC3D, nas quais as concentrações obtidas foram menores que as esperadas (Tabela 15).

A concentração de ácido málico não foi reduzida durante o período de maturação das bebidas, indicando que não houve a ocorrência da fermentação malolática. Todas as bebidas secas diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ), apresentando valores médios entre  $1,32 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,89 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$ , o mesmo foi observado para as bebidas doces que

apresentaram valores médios entre  $1,29 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,28 \pm 0,00 \text{ g L}^{-1}$ . Para ambos os tipos de bebidas, secas e doces, foram obtidas concentrações maiores de ácido málico naquelas provenientes de mostos chaptalizados. O fato da fermentação malolática não ter ocorrido, provavelmente está atrelado ao armazenamento das bebidas, este foi realizado sob refrigeração ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ), temperatura na qual impede ou retarda a ocorrência da fermentação malolática (RIZZON; MENEGUZZO; MANFROI, 2003).

O ácido tartárico não foi encontrado em quantidades suficientes para ser quantificado. A concentração de ácido láctico manteve-se baixa durante o período de maturação, apresentando valores de  $0,27 \text{ g L}^{-1}$  para todas as bebidas secas e valores entre  $0,24$  a  $0,27 \text{ g L}^{-1}$  para as bebidas doces. Quanto ao ácido succínico foram obtidas concentrações entre  $1,35 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,86 \text{ g L}^{-1}$  para as bebidas secas e  $1,08 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,68 \text{ g L}^{-1}$  para as bebidas doces. Ambos os tipos de bebidas tiveram concentrações próximas às encontradas por Fortes *et al.* (2012), que encontraram o valor de, aproximadamente  $1,17 \text{ g L}^{-1}$  de ácido succínico, como já mencionado.

**Tabela 15** - Concentração de açúcar presente nas bebidas e quantidades de xarope de sacarose adicionado às bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba.

Códigos das bebidas	Concentração de açúcares		Quantidade de Xarope adicionado $\text{g L}^{-1}$	Concentração de açúcares final $\text{g L}^{-1}$
	inicial $\text{g L}^{-1}$			
LIC1D	0,58		29,4	20
LIC2D	0,5		29,5	20
LIC3D	1,047		15,08	11
LLC1D	0,504		29,54	20
LLC2D	0,650		29,31	20
LLC3D	4,45		9,92	11

**Fonte:** Autor. LIC1D: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas, sem chaptalização e adoçado. LIC2D: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas, chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol e adoçado. LIC3D: sistema com inóculo de leveduras imobilizadas, chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol e adoçado. LLC1D: sistema com inóculo de leveduras livres, sem chaptalização e adoçado. LLC2D: sistema com inóculo de leveduras livres, chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol e adoçado. LLC3D: sistema com inóculo de leveduras livres, chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol e adoçado.

O ácido acético é o principal ácido responsável pela acidez volátil da bebida e por isso, é um parâmetro que deve ser controlado durante o processo fermentativo (FORTES *et al.* 2012). A concentração deste ácido variou de  $0,33 \text{ g L}^{-1}$  a  $0,69 \text{ g L}^{-1}$  em bebidas caracterizadas como secas e de  $0,29 \text{ g L}^{-1}$  a  $0,54 \text{ g L}^{-1}$  em bebidas caracterizadas como doces, sendo as maiores concentrações de ácido acético encontradas naquelas oriundas de processos conduzidos com leveduras livres. Apesar da concentração do ácido acético ser

maior nas bebidas após o período de maturação, essas concentrações ainda se mostraram inferiores aos valores obtidos por Fortes *et al.* (2012), que encontraram valores próximos a  $1 \text{ g L}^{-1}$  e por Dias *et al.* (2016) que ao analisarem o mosto fermentado de jabuticaba encontraram ácido acético na concentração de  $0,92 \text{ g L}^{-1}$ .

A concentração de compostos fenólicos e flavonoides apresentou um leve aumento após o período de maturação, conforme apresentados nas Tabelas 11, 16 e 17. Os valores obtidos no final da fermentação do mosto (Tabela 11) variaram de  $2151,97 \pm 177,94 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$  a  $2450,50 \pm 164,14 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$ , enquanto que nas bebidas fermentadas caracterizadas como secas (Tabela 16) apresentaram uma variação de  $2837,212 \pm 64,20 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$  a  $4153,869 \pm 407,91 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$  e nas bebidas caracterizadas como doces (Tabela 17) variaram de  $2930,484 \pm 154,18 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$  a  $4008,538 \pm 169,19 \text{ mg}_{\text{ac.gálico}} \text{ L}^{-1}$ . Para as concentrações de flavonoides os resultados obtidos no final da fermentação do mosto (Tabela 11) variaram de  $1173,516 \pm 291,37 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$  a  $1988,177 \pm 81,81 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$ , enquanto que nas bebidas fermentadas caracterizadas como secas (Tabela 16) apresentaram uma variação de  $1626,653 \pm 54,41 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$  a  $2184,702 \pm 336,67 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$  e nas bebidas caracterizadas como doces (Tabela 17) variaram de  $1484,173 \pm 74,15 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$  a  $2065,969 \pm 198,32 \text{ mg}_{\text{pirocatequina}} \text{ L}^{-1}$ . Este aumento positivo para as bebidas, possivelmente, está relacionado com a estabilidade química das bebidas, que ocorreu após o período de maturação. Além disso, como já mencionado, estes compostos possuem maior solubilidade em álcool e por este motivo tendem a apresentarem concentrações maiores em bebidas alcoólicas (GUERRA, 2003).

As concentrações de compostos fenólicos nas bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba mostraram-se semelhantes às encontradas por Costa (2017) para vinho branco ( $4190 \text{ mg L}^{-1}$ ) e inferiores às obtidas por este mesmo autor para vinho tinto ( $5139 \text{ mg L}^{-1}$ ). Considerando os resultados mencionados para as concentrações de compostos fenólicos, nos vinhos e nos fermentados de jabuticaba, em conjunto com os relatos da literatura sobre os benefícios à saúde de quem consome vinhos, pode-se inferir que as bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba causariam, à saúde de seus consumidores, benefícios semelhantes aos dos vinhos.

A concentração de antocianinas aumentou após o período de maturação, variando de  $4,119$  a  $9,774 \text{ mg L}^{-1}$  para as bebidas caracterizadas como secas e de  $4,274$  a  $12,190 \text{ mg L}^{-1}$  para as bebidas caracterizadas como doces. Dentre todas as bebidas a concentração de antocianinas foi maior para as bebidas provenientes de mostos chaptalizados e com inóculos de leveduras livres. Aguirre (2006) encontrou  $7,30 \text{ mg L}^{-1}$  de

antocianinas para fermentados rosados de jabuticaba *Plinia cauliflora* com 12% (v/v) de etanol, valor condizente com os resultados obtidos no presente trabalho .

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante das bebidas caracterizadas como secas pelo método DPPH e ABTS se apresentaram próximos. Para os dois métodos estudados foram encontrados os maiores valores médios para as bebidas com maior teor alcoólico (Tabela 16), fato que condiz com a concentração de compostos fenólicos e flavonoides. Além da influência do teor alcoólico da bebida na capacidade antioxidante, também foi observado que o inóculo utilizado desempenhou o mesmo papel, ou seja, influenciou positivamente na capacidade antioxidante quando utilizado leveduras imobilizadas. Para as bebidas doces, o mesmo foi observado.

As bebidas secas elaboradas a partir de inóculos com leveduras imobilizadas não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ), tanto na determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH quanto pelo método ABTS. Em relação às bebidas secas elaboradas a partir de inóculos com leveduras livres foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as bebidas LLC3S e as demais (LLC2S e LLC1S) pelo método DPPH, todavia pelo método ABTS foi observado que apenas a bebida LLC1S se diferenciou ( $p < 0,05$ ) das demais (LLC2S e LLC3S).

As bebidas doces codificadas como LIC2D e LIC3D se diferenciaram significativamente das demais ( $p < 0,05$ ) em virtude de apresentarem as maiores médias de capacidade antioxidante pelo método DPPH. Quanto ao método ABTS houve maior proximidade entre as médias obtidas para todas as bebidas. Porém houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a bebida LIC3D, que apresentou a maior média de capacidade antioxidante, e as bebidas LIC1D e LLC1D que apresentaram as menores médias, e que por sua vez não diferenciaram entre si ( $p > 0,05$ ).

Sá *et al.* (2014), encontraram para a capacidade antioxidante pelo método ABTS valores inferiores aos apresentados nas Tabelas 16 e 17. Estes autores encontraram o valor de 6,9 mM ET L<sup>-1</sup> para fermentado de jabuticaba vermelho e 3,8 mM ET L<sup>-1</sup> para fermentado de jabuticaba rose. Na capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH, Neves (2016) encontrou valores médios de 9,32 mM ET L<sup>-1</sup> para fermentados de jabuticaba com 72 h de maceração, valores inferiores aos do presente estudo (Tabelas 16 e 17). Apesar dos resultados obtidos para a capacidade antioxidante das bebidas se apresentarem superiores aos dos estudos mencionados, estes são condizentes com resultados encontrados inicialmente para polpa de jabuticaba, 19,52±0,04mM ET L<sup>-1</sup> pelo método DPPH e 21,840±0,21mM ET L<sup>-1</sup> pelo método ABTS (Tabela 8), tal fato foi satisfatório visto que a

forma de condução do processo fermentativo teve interferência mínima na capacidade antioxidante da polpa de jabuticaba.

Na fermentação alcoólica para produção de vinhos, o glicerol é produzido na proporção de 8 g para cada 100 g de etanol produzido, indicando que 8% das moléculas de açúcares presentes em um mosto são utilizadas para produção de glicerol e 92% para produção de etanol (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006). A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 16 e 17 foi observada uma proporção de 8,2 g a 14,9 g de glicerol produzido por cada 100 g de etanol. Nas bebidas secas, a concentração de glicerol foi estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) para todas as bebidas estudadas, apresentando valores entre  $6,78 \text{ g L}^{-1}$  e  $10,86 \text{ g L}^{-1}$ . Os resultados de glicerol em todas as bebidas se mostraram influenciados pela chaptalização e tipo de inóculo utilizado no processo fermentativo. As maiores concentrações de glicerol foram obtidas para as bebidas provenientes de mostos chaptalizados e elaboradas a partir de inóculos com leveduras livres. Para as bebidas doces, o mesmo foi observado quanto à influência da chaptalização e do tipo de inóculo utilizado na fermentação. Estas bebidas apresentaram concentrações de glicerol na ordem de  $5,91 \text{ g L}^{-1}$  a  $9,78 \text{ g L}^{-1}$ . As bebidas LIC1D e LIC2D não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

A maior concentração de glicerol em bebidas provenientes de mostos chaptalizados deve-se à proporção existente entre a produção de glicerol e etanol. Portanto, mostos chaptalizados originaram bebidas com maiores teores alcoólicos e conseqüentemente maiores concentrações de glicerol, como já mencionado. Quanto aos valores obtidos (Tabela 16 e 17), as bebidas secas e doces, apresentaram concentrações de glicerol acima de  $5,5 \text{ g L}^{-1}$  e abaixo de  $10 \text{ g L}^{-1}$ . Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois de acordo com Ribéreau-Gayon *et al.*, (2006) concentrações de glicerol nesta faixa ( $5,5\text{-}10 \text{ g L}^{-1}$ ) são ideais para contribuir para uma melhor viscosidade e sabor das bebidas alcoólicas fermentadas.

**Tabela 16** – Características físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como secas.

Amostra	LIC1S	LIC2S	LIC3S	LLC1S	LLC2S	LLC3S
pH	3,15±0,026 <sup>d</sup>	3,20±0,006 <sup>b</sup>	3,26±0,010 <sup>a</sup>	3,16±0,006 <sup>cd</sup>	3,19±0,000 <sup>bc</sup>	3,26±0,006 <sup>a</sup>
Acidez total (meq L <sup>-1</sup> )	202,35±2,68 <sup>a</sup>	197,72±2,68 <sup>ab</sup>	191,54±2,68 <sup>b</sup>	205,44±2,68 <sup>a</sup>	200,81±2,68 <sup>a</sup>	205,44±5,35 <sup>a</sup>
Acidez volátil (meq L <sup>-1</sup> )	7,302±0,73 <sup>c</sup>	6,815±0,56 <sup>c</sup>	10,101±0,56 <sup>a</sup>	10,223±0,63 <sup>a</sup>	8,154±0,56 <sup>bc</sup>	9,371±0,21 <sup>ab</sup>
Acidez fixa (meq L <sup>-1</sup> )	195,049±2,77 <sup>a</sup>	190,902±3,12 <sup>a</sup>	181,438±3,21 <sup>b</sup>	195,218±2,04 <sup>a</sup>	192,653±2,83 <sup>a</sup>	196,070±5,46 <sup>a</sup>
ART (g L <sup>-1</sup> )	0,958±0,09 <sup>c</sup>	1,236±0,34 <sup>bc</sup>	2,169±0,04 <sup>a</sup>	1,595±0,10 <sup>b</sup>	1,112±0,07 <sup>bc</sup>	2,338±0,26 <sup>a</sup>
Glicose (g L <sup>-1</sup> )	0,258±0,00 <sup>d</sup>	0,27±0,00 <sup>c</sup>	0,297±0,00 <sup>b</sup>	0,27±0,00 <sup>c</sup>	0,27±0,00 <sup>c</sup>	0,39±0,00 <sup>a</sup>
Frutose (g L <sup>-1</sup> )	0,78±0,00 <sup>d</sup>	0,87±0,00 <sup>c</sup>	0,99±0,00 <sup>b</sup>	0,78±0,00 <sup>d</sup>	0,87±0,00 <sup>c</sup>	3,18±0,00 <sup>a</sup>
Glicerol (g L <sup>-1</sup> )	6,78±0,00 <sup>f</sup>	8,07±0,00 <sup>d</sup>	9,9±0,00 <sup>b</sup>	7,98±0,00 <sup>e</sup>	8,97±0,00 <sup>c</sup>	10,86±0,00 <sup>a</sup>
Etanol (% v/v)	6,50±0,00 <sup>f</sup>	11,24±0,00 <sup>d</sup>	15,21±0,00 <sup>b</sup>	6,82±0,00 <sup>e</sup>	11,33±0,00 <sup>c</sup>	15,74±0,00 <sup>a</sup>
Flavonoides (mg <sub>pirocatequina</sub> L <sup>-1</sup> )	2125,335±267,35 <sup>a</sup>	1852,248±94,24 <sup>a</sup>	2184,702±336,67 <sup>a</sup>	1626,653±54,41 <sup>a</sup>	1697,894±179,28 <sup>a</sup>	2089,715±143,96 <sup>a</sup>
Antocianinas (g L <sup>-1</sup> )	4,119±0,36 <sup>c</sup>	5,477±0,18 <sup>cd</sup>	6,346±0,30 <sup>c</sup>	4,742±0,35 <sup>dc</sup>	9,774±0,32 <sup>a</sup>	8,739±0,42 <sup>b</sup>
Compostos Fenólicos (mg <sub>ac.gálico</sub> L <sup>-1</sup> )	2837,212±64,20 <sup>b</sup>	3136,551±148,01 <sup>b</sup>	3383,830±209,18 <sup>b</sup>	2850,226±227,79 <sup>b</sup>	3422,875±111,20 <sup>b</sup>	4153,869±407,91 <sup>a</sup>
DPPH (mmol TE L <sup>-1</sup> )	21,954±2,622 <sup>ab</sup>	23,933±0,412 <sup>a</sup>	23,663±0,312 <sup>a</sup>	17,815±1,503 <sup>b</sup>	18,355±0,540 <sup>b</sup>	26,587±4,008 <sup>a</sup>
ABTS (mmol TE L <sup>-1</sup> )	19,493±0,97 <sup>cd</sup>	20,137±0,09 <sup>bcd</sup>	21,674±0,03 <sup>abc</sup>	19,036±0,00 <sup>d</sup>	22,276±0,82 <sup>ab</sup>	23,086±0,26 <sup>a</sup>
Cinzas (% m/m)	0,379±0,01 <sup>a</sup>	0,352±0,02 <sup>a</sup>	0,331±0,02 <sup>a</sup>	0,427±0,06 <sup>a</sup>	0,397±0,03 <sup>a</sup>	0,330±0,05 <sup>a</sup>
EST (g L <sup>-1</sup> )	30,500±0,55 <sup>b</sup>	31,050±2,31 <sup>b</sup>	32,413±1,41 <sup>ab</sup>	31,190±2,00 <sup>b</sup>	33,357±0,05 <sup>ab</sup>	36,467±2,19 <sup>a</sup>
ESR (g L <sup>-1</sup> )	30,828±0,830 <sup>a</sup>	31,142±2,599 <sup>a</sup>	31,244±1,438 <sup>a</sup>	30,595±1,909 <sup>a</sup>	33,245±0,037 <sup>a</sup>	35,129±2,072 <sup>a</sup>

Continuação **Tabela 16** - Características físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como secas.

Amostra	LIC1S	LIC2S	LIC3S	LLC1S	LLC2S	LLC3S
SO <sub>2</sub> total (AST) (mg L <sup>-1</sup> )	5,063±1,35 <sup>ab</sup>	4,089±1,17 <sup>b</sup>	5,452±0,67 <sup>ab</sup>	5,063±0,67 <sup>ab</sup>	5,842±1,17 <sup>ab</sup>	7,789±1,35 <sup>a</sup>
SO <sub>2</sub> livre (ASL) (mg L <sup>-1</sup> )	1,168±0,00 <sup>b</sup>	2,337±0,67 <sup>ab</sup>	2,337±0,00 <sup>a</sup>	2,726±0,67 <sup>a</sup>	2,726±0,67 <sup>a</sup>	2,337±0,00 <sup>a</sup>
Cloretos totais (g <sub>NaCl</sub> L <sup>-1</sup> )	0,216±0,03 <sup>a</sup>	0,203±0,03 <sup>a</sup>	0,205±0,01 <sup>a</sup>	0,123±0,01 <sup>b</sup>	0,138±0,02 <sup>b</sup>	0,105±0,03 <sup>b</sup>
Ácido cítrico (g L <sup>-1</sup> )	15,9±0,00 <sup>b</sup>	14,97±0,00 <sup>c</sup>	13,92±0,00 <sup>c</sup>	16,74±0,00 <sup>a</sup>	14,85±0,00 <sup>d</sup>	13,83±0,00 <sup>f</sup>
Ácido málico (g L <sup>-1</sup> )	1,32±0,00 <sup>f</sup>	1,59±0,00 <sup>d</sup>	1,65±0,00 <sup>c</sup>	1,41±0,00 <sup>c</sup>	1,89±0,00 <sup>a</sup>	1,74±0,00 <sup>b</sup>
Ácido succínico (g.L <sup>-1</sup> )	1,44±0,00 <sup>e</sup>	1,53±0,00 <sup>d</sup>	1,74±0,00 <sup>b</sup>	1,35±0,00 <sup>f</sup>	1,59±0,00 <sup>c</sup>	1,86±0,00 <sup>a</sup>
Ácido láctico (g L <sup>-1</sup> )	0,27±0,00 <sup>a</sup>	0,27±0,00 <sup>a</sup>				
Ácido acético (g L <sup>-1</sup> )	0,33±0,00 <sup>f</sup>	0,36±0,00 <sup>e</sup>	0,54±0,00 <sup>c</sup>	0,69±0,00 <sup>a</sup>	0,45±0,00 <sup>d</sup>	0,63±0,00 <sup>b</sup>

**Fonte:** Autor. LIC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

**Tabela 17** - Características físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como doces.

Amostra	LIC1D	LIC2D	LIC3D	LLC1D	LLC2D	LLC3D
pH	3,13±0,000 <sup>d</sup>	3,18±0,006 <sup>b</sup>	3,25±0,006 <sup>a</sup>	3,15±0,006 <sup>c</sup>	3,19±0,010 <sup>b</sup>	3,26±0,006 <sup>a</sup>
Acidez total (meq L <sup>-1</sup> )	196,17±2,68 <sup>c</sup>	189,99±0,00 <sup>d</sup>	189,99±0,00 <sup>d</sup>	203,90±0,00 <sup>a</sup>	199,26±0,00 <sup>bc</sup>	200,81±2,68 <sup>ab</sup>
Acidez volátil (meq L <sup>-1</sup> )	7,424±0,42 <sup>c</sup>	6,815±0,76 <sup>c</sup>	11,683±1,93 <sup>a</sup>	12,535±1,87 <sup>a</sup>	8,276±0,42 <sup>bc</sup>	10,953±0,37 <sup>ab</sup>
Acidez fixa (meq L <sup>-1</sup> )	188,749±2,49 <sup>a</sup>	183,179±0,76 <sup>b</sup>	178,311±1,93 <sup>b</sup>	191,361±1,87 <sup>a</sup>	190,986±0,42 <sup>a</sup>	189,854±3,00 <sup>a</sup>
ART (g L <sup>-1</sup> )	12,027±0,16 <sup>ab</sup>	10,439±1,05 <sup>b</sup>	3,363±0,15 <sup>d</sup>	13,323±0,42 <sup>a</sup>	10,867±1,12 <sup>b</sup>	5,465±0,37 <sup>c</sup>
Glicose (g L <sup>-1</sup> )	9,84±0,00 <sup>b</sup>	7,95±0,00 <sup>d</sup>	5,88±0,00 <sup>c</sup>	9,54±0,00 <sup>c</sup>	9,99±0,00 <sup>a</sup>	3,33±0,00 <sup>f</sup>
Frutose (g L <sup>-1</sup> )	9,18±0,00 <sup>b</sup>	7,5±0,00 <sup>d</sup>	6,39±0,00 <sup>c</sup>	8,55±0,00 <sup>c</sup>	9,39±0,00 <sup>a</sup>	5,01±0,00 <sup>f</sup>
Glicerol (g L <sup>-1</sup> )	5,91±0,00 <sup>e</sup>	5,91±0,00 <sup>e</sup>	9,72±0,00 <sup>b</sup>	6,75±0,00 <sup>d</sup>	8,31±0,00 <sup>c</sup>	9,78±0,00 <sup>a</sup>
Etanol (% v/v)	5,83±0,00 <sup>e</sup>	10,19±0,00 <sup>d</sup>	14,56±0,00 <sup>a</sup>	5,75±0,00 <sup>f</sup>	10,32±0,00 <sup>c</sup>	12,95±0,00 <sup>b</sup>
Flavonoides (mg <sub>pirocatequina</sub> L <sup>-1</sup> )	2054,095±417,43 <sup>a</sup>	2042,222±208,72 <sup>a</sup>	1840,374±89,64 <sup>a</sup>	1484,173±74,15 <sup>a</sup>	1828,501±108,82 <sup>a</sup>	2065,969±198,32 <sup>a</sup>
Antocianinas (g L <sup>-1</sup> )	4,275±0,09 <sup>d</sup>	6,579±0,37 <sup>c</sup>	7,403±0,12 <sup>c</sup>	4,642±0,72 <sup>d</sup>	9,897±0,13 <sup>b</sup>	12,190±0,51 <sup>a</sup>
Compostos Fenólicos (mg <sub>ac.gálico</sub> L <sup>-1</sup> )	2930,484±154,18 <sup>cd</sup>	3245,007±199,23 <sup>bc</sup>	3266,698±79,52 <sup>b</sup>	3010,741±163,77 <sup>d</sup>	3861,037±222,40 <sup>b</sup>	4008,538±169,19 <sup>a</sup>
DPPH (mmol TE L <sup>-1</sup> )	18,265±0,562 <sup>cd</sup>	26,182±0,468 <sup>b</sup>	30,636±1,718 <sup>a</sup>	15,655±2,672 <sup>d</sup>	18,894±0,382 <sup>cd</sup>	21,954±2,327 <sup>c</sup>
ABTS (mmol TE L <sup>-1</sup> )	19,098±0,38 <sup>b</sup>	20,074±1,47 <sup>ab</sup>	22,110±0,76 <sup>a</sup>	19,202±0,12 <sup>b</sup>	21,445±0,47 <sup>ab</sup>	20,615±0,00 <sup>ab</sup>
Cinzas (% m/m)	0,382±0,01 <sup>bc</sup>	0,367±0,01 <sup>c</sup>	0,405±0,00 <sup>ab</sup>	0,417±0,01 <sup>a</sup>	0,389±0,01 <sup>abc</sup>	0,366±0,01 <sup>c</sup>
EST (g L <sup>-1</sup> )	50,803±1,10 <sup>b</sup>	53,170±0,25 <sup>a</sup>	45,323±1,14 <sup>c</sup>	51,907±0,40 <sup>ab</sup>	52,700±0,60 <sup>ab</sup>	43,203±0,44 <sup>d</sup>
ESR (g L <sup>-1</sup> )	39,776±0,955 <sup>b</sup>	43,731±0,976 <sup>a</sup>	42,960±1,288 <sup>a</sup>	39,584±0,144 <sup>b</sup>	42,833±0,550 <sup>a</sup>	38,738±0,770 <sup>b</sup>

Continuação **Tabela 17** - Características físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como doces.

Amostra	LIC1D	LIC2D	LIC3D	LLC1D	LLC2D	LLC3D
SO <sub>2</sub> total (AST) (mg L <sup>-1</sup> )	19,861±0,00 <sup>ab</sup>	15,967±1,78 <sup>ab</sup>	15,188±1,17 <sup>b</sup>	20,446±0,83 <sup>a</sup>	19,861±2,34 <sup>ab</sup>	16,356±1,17 <sup>ab</sup>
SO <sub>2</sub> livre (ASL) (mg L <sup>-1</sup> )	2,337±0,00 <sup>ab</sup>	1,947±0,67 <sup>b</sup>	2,337±0,00 <sup>ab</sup>	2,337±0,00 <sup>ab</sup>	3,116±0,67 <sup>a</sup>	2,337±0,00 <sup>ab</sup>
Cloretos totais (g <sub>NaCl</sub> L <sup>-1</sup> )	0,273±0,00 <sup>a</sup>	0,226±0,03 <sup>b</sup>	0,189±0,01 <sup>bc</sup>	0,103±0,00 <sup>d</sup>	0,166±0,01 <sup>c</sup>	0,062±0,01 <sup>e</sup>
Ácido cítrico (g L <sup>-1</sup> )	13,74±0,00 <sup>c</sup>	10,8±0,00 <sup>e</sup>	14,25±0,00 <sup>a</sup>	13,8±0,00 <sup>b</sup>	13,74±0,00 <sup>c</sup>	12,93±0,00 <sup>d</sup>
Ácido málico (g L <sup>-1</sup> )	1,32±0,00 <sup>c</sup>	1,56±0,00 <sup>d</sup>	1,65±0,00 <sup>b</sup>	1,29±0,00 <sup>f</sup>	2,28±0,00 <sup>a</sup>	1,59±0,00 <sup>c</sup>
Ácido succínico (g L <sup>-1</sup> )	1,2±0,00 <sup>c</sup>	1,08±0,00 <sup>e</sup>	1,68±0,00 <sup>a</sup>	1,11±0,00 <sup>d</sup>	1,47±0,00 <sup>b</sup>	1,68±0,00 <sup>a</sup>
Ácido láctico (g L <sup>-1</sup> )	0,24±0,00 <sup>b</sup>	0,24±0,00 <sup>b</sup>	0,27±0,00 <sup>a</sup>	0,24±0,00 <sup>b</sup>	0,27±0,00 <sup>a</sup>	0,27±0,00 <sup>a</sup>
Ácido acético (g L <sup>-1</sup> )	0,3±0,00 <sup>c</sup>	0,297±0,00 <sup>d</sup>	0,54±0,00 <sup>a</sup>	0,54±0,00 <sup>a</sup>	0,42±0,00 <sup>b</sup>	0,54±0,00 <sup>a</sup>

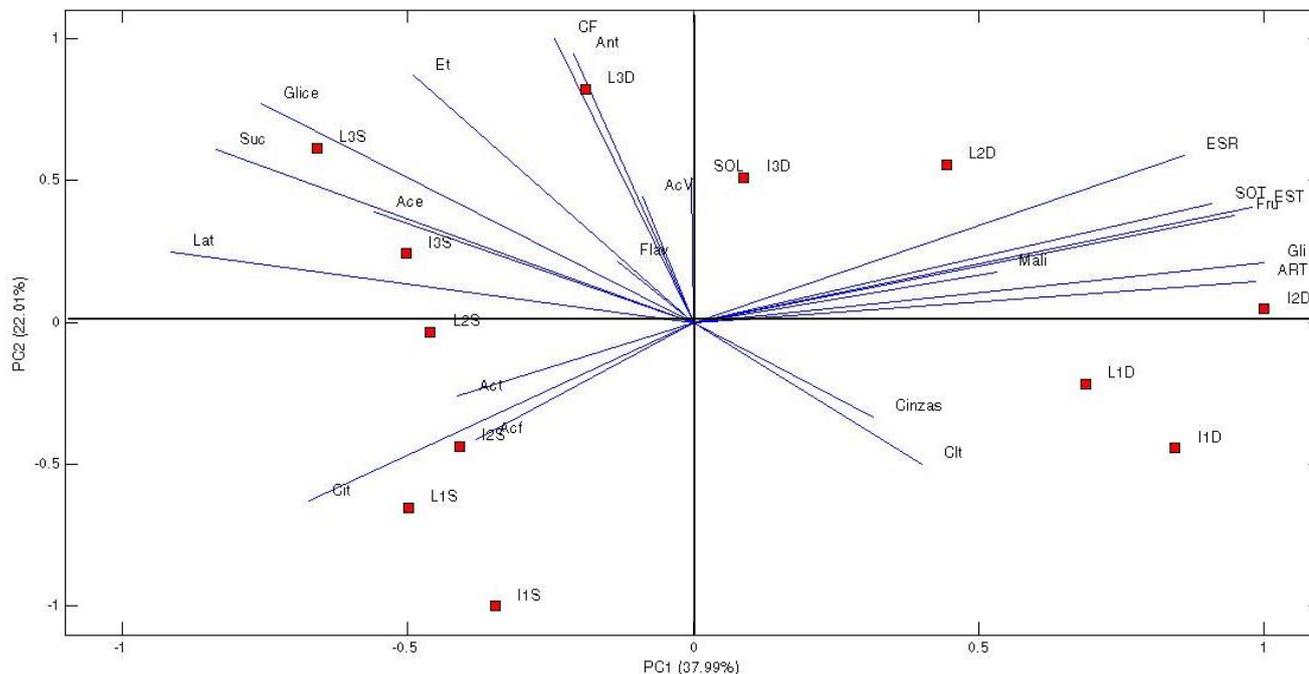
**Fonte:** Autor. LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

A Análise das Componentes Principais (ACP) dos resultados das características físico-químicas das bebidas foi realizada a fim de facilitar a interpretação dos dados obtidos (Figura 25). A partir da ACP foi possível verificar que a soma das duas componentes principais são responsáveis por descreverem 60% da variação da distribuição dos dados, sendo a componente 1 (PC1) responsável por 37,99% da carga de variação e a componente 2 (PC2) responsável por 22,01% da carga de variação. Analisando a Figura 25, foi observado que os resultados apresentados mostram-se coerentes com os resultados expostos nas Tabelas 15 e 16.

O componente principal 1 (PC1) apresentou a distinção de dois grupos de amostras, sendo o primeiro grupo composto pelas bebidas doces, exceto a bebida LLC3D (codificada no gráfico como L3D) e o segundo grupo composto pelas bebidas secas e a bebida LLC3D. O primeiro grupo foi influenciado pelos parâmetros de ART, glicose, frutose, EST, ESR, SOL, ácido málico, cinzas e cloretos totais, sendo estes os que apresentaram as maiores concentrações. Este fato está relacionado à característica doce destas bebidas. Neste grupo foi observado uma correlação positiva entre os parâmetros ART, glicose, frutose, EST, ESR, SOL e ácido málico e entre os parâmetros cinzas e cloretos totais. Este fato é observado devido à proximidade dos vetores referentes a cada parâmetro. O segundo grupo foi influenciado pelas concentrações de ácido cítrico e conseqüentemente de acidez total e fixa, ácidos láctico, acético e succínico, glicerol, compostos antioxidantes (flavonoides, compostos fenólicos e antocianinas) e etanol. Neste grupo foi observada a correlação positiva principalmente entre os compostos antioxidantes (flavonoides, compostos fenólicos e antocianinas); entre a acidez fixa, total e o ácido cítrico e os ácidos acético e succínico.

O componente principal 2 (CP2) evidenciou a amostra LLC3D (codificada no gráfico como L3D) como a mais rica em compostos antioxidantes, visto que apresentou maior presença destes compostos.

**Figura 25** - Resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir dos resultados das análises físico-químicas das bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba



**Fonte:** Autor. L1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. L1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. L2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. L2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. L3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. L3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. IID: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. IIS: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. I2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. I2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. I3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. I3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. SOL: SO<sub>2</sub> livre. SOT: SO<sub>2</sub> total. ESR: extrato seco reduzido. EST: extrato seco total. Fru: frutose. Gli: glicose. Mali: ácido málico. ART: açúcares redutores totais. Clt: cloretos totais. Cit: ácido cítrico. Acf: acidez fixa. Act: acidez total. AcV: acidez volátil. Flav: flavonoides. Ant: antocianinas. CF: compostos fenólicos. Et: etanol. Glice: glicerol. Suc: ácido succínico. Ace: ácido acético. Lat: ácido láctico.

### 5.6.3 Características sensoriais das bebidas fermentadas de jabuticaba

#### 5.6.3.4 Teste de aceitação

Os resultados das duas sessões realizadas para avaliar a aceitação das 12 bebidas alcoólicas fermentadas, sendo seis elaboradas com leveduras na sua forma imobilizada e seis elaboradas com leveduras na sua forma livre, estão apresentados nas Tabelas 18 e 19, respectivamente.

**Tabela 18** - Médias do teste de aceitação das bebidas alcoólicas de jabuticaba elaboradas a partir de leveduras imobilizadas.

Amostras	LIC1S	LIC1D	LIC2S	LIC2D	LIC3S	LIC3D
Médias	2,897 <sup>b</sup>	3,705 <sup>a</sup>	3,00 <sup>b</sup>	3,615 <sup>a</sup>	2,756 <sup>b</sup>	3,064 <sup>b</sup>

**Fonte:** Autor. Médias com a mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ( $p > 0,05$ ). LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LIC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LIC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

**Tabela 19** - Médias do teste de aceitação das bebidas alcoólicas de jabuticaba elaboradas a partir de leveduras livres.

Amostras	LLC1S	LLC1D	LLC2S	LLC2D	LLC3S	LLC3D
Médias	2,94 <sup>b</sup>	3,69 <sup>a</sup>	2,68 <sup>c</sup>	3,38 <sup>a</sup>	2,80 <sup>b</sup>	2,89 <sup>b</sup>

**Fonte:** Autor. Médias com a mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ( $p > 0,05$ ). LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC1S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC2S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC3D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol. LLC3S: bebida seca, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 12% (v/v) de etanol.

Analisando as Tabelas 18 e 19, foi observado que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação às médias de aceitação das amostras nas duas sessões de análise sensorial realizadas. Dentre as formulações analisadas foi observada maior aceitação pelas amostras adoçadas e de menores teores alcoólicos (LIC1D, LIC2D, LLC1D e LLC2D), pois estas obtiveram as maiores médias na aceitação dos julgadores e diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das demais, apresentando valores entre 3,38 e 3,7, que correspondem aos termos hedônicos “não gostei/nem desgostei” e “gostei”. Portanto, os resultados obtidos para o teste de aceitação sensorial se apresentaram satisfatórios e as bebidas codificadas como LIC1D, LIC2D, LLC1D e LLC2D foram as mais aceitas pelos julgadores, com aceitação média de 72%.

Gonçalves e Souza (2014), ao avaliarem sensorialmente bebidas alcoólicas fermentadas de jabuticaba classificadas como fermentado branco e fermentados tintos suave e doce adquiridos em mercados, obtiveram resultados melhores para os fermentados tintos doces em relação à impressão global, bem como no presente estudo. O mesmo foi constatado por Segtowick e Brunelli (2013) ao avaliarem sensorialmente fermentados de acerola. Neste sentido, os resultados obtidos evidenciaram a preferência dos consumidores pelas bebidas adoçadas.

As quatro bebidas mais aceitas, submetidas ao teste RATA, estão caracterizadas a seguir.

#### **5.6.3.5 Teste descritivo aplicado às bebidas pré-selecionadas no teste de aceitação**

Os resultados obtidos no teste descritivo RATA para a intensidade dos descritores sensoriais avaliados estão apresentados na Tabela 20. Observando os resultados provenientes do teste descritivo (Tabela 20) foi possível perceber que os descritores turbidez, sedimentado e sabor de velho ou oxidado não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras, indicando que a forma de condução do processo fermentativo utilizada na elaboração das bebidas não influenciou nestes resultados. Porém, é válido destacar que, considerando a escala de 5 cm, as médias obtidas para os descritores em cada amostra foram baixas, variando de 1,14 a 1,22 para turbidez, 0,65 a 0,77 para sedimentado e 1,36 a 1,55 para o atributo sabor de velho ou oxidado. Estes resultados mostram-se positivos, visto que os estes descritores não são desejáveis em bebidas alcoólicas fermentadas.

Os resultados obtidos para os descritores aroma característico e sabor característico de jabuticaba foram estatisticamente semelhantes ( $p > 0,05$ ) entre as amostras. As médias obtidas situaram-se entre 2,42-2,56 e 2,67-2,81 para o aroma e sabor característico, respectivamente. Esses valores demonstram que a utilização de inóculos com leveduras livres ou imobilizadas não influenciou para a diferenciação das amostras, bem como o teor alcoólico das mesmas. Os resultados foram satisfatórios pelo fato dos descritores aroma e sabor característico serem desejáveis nas bebidas fermentadas de jabuticaba.

Os descritores gosto doce e gosto ácido não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras, fato esperado devido a todas estas bebidas serem adoçadas com a mesma quantidade de xarope de sacarose, conforme apresentado na Tabela 17. Quanto à acidez das bebidas, apesar das concentrações de ácidos orgânicos, acidez e pH serem diferentes em cada amostra (Tabela 16), esta diferença não foi perceptível ao paladar dos consumidores devido à proximidade dos valores obtidos para a concentração destes parâmetros.

Os resultados obtidos para o descritor cor vermelha foi influenciado pelo teor alcoólico das bebidas e não foi observada influência quanto tipo de inóculo utilizado na elaboração das mesmas. As amostras LIC1D e LLC1D diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das amostras LIC2D e LLC2D, sendo estas duas últimas as que apresentaram as maiores médias.

Os descritores aroma alcoólico e sabor alcoólico, como esperado, diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras de diferentes teores alcoólicos (LIC1D, LLC1D e LIC2D e LLC2D), sendo as maiores médias obtidas para as amostras LIC2D e LLC2D.

Quanto ao gosto amargo, descritor considerado negativo, este se mostrou estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras LIC1D, LLC1D e LIC2D, LLC2D, sendo estas duas últimas as amostras que apresentaram as maiores médias, ou seja, os julgadores consideraram mais amargas as bebidas de maiores teores alcoólicos. Apesar das bebidas LIC2D e LLC2D serem consideradas as mais amargas, as médias obtidas para este descritor ainda mostrou-se baixa (2,06 a 2,21), constituindo-se em um resultado favorável.

De acordo com Amarante (2015), os atributos de um bom vinho devem ser equilibrados e harmônicos. Este autor cita que os descritores doçura e teor alcoólico, considerados agradáveis, devem ser equilibrados com os descritores acidez e amargor, considerados individualmente, descritores negativos. Analisando todos os descritores avaliados e considerando os principais descritores positivos, como o gosto doce, o aroma e o sabor característico de jabuticaba, bem como os descritores negativos, tais como, a turbidez, sedimentado, o gosto amargo, o gosto ácido e o sabor de velho ou oxidado, foi possível inferir que as amostras LIC1D e LLC1D apresentaram as melhores características de acordo com a avaliação dos julgadores. Apesar das bebidas LIC1D e LLC1D apresentarem as maiores médias para as características positivas, as quatro bebidas selecionadas para a caracterização através do método RATA também tiveram resultados satisfatórios.

**Tabela 20** - Valores médios dos descritores avaliados e p valor.

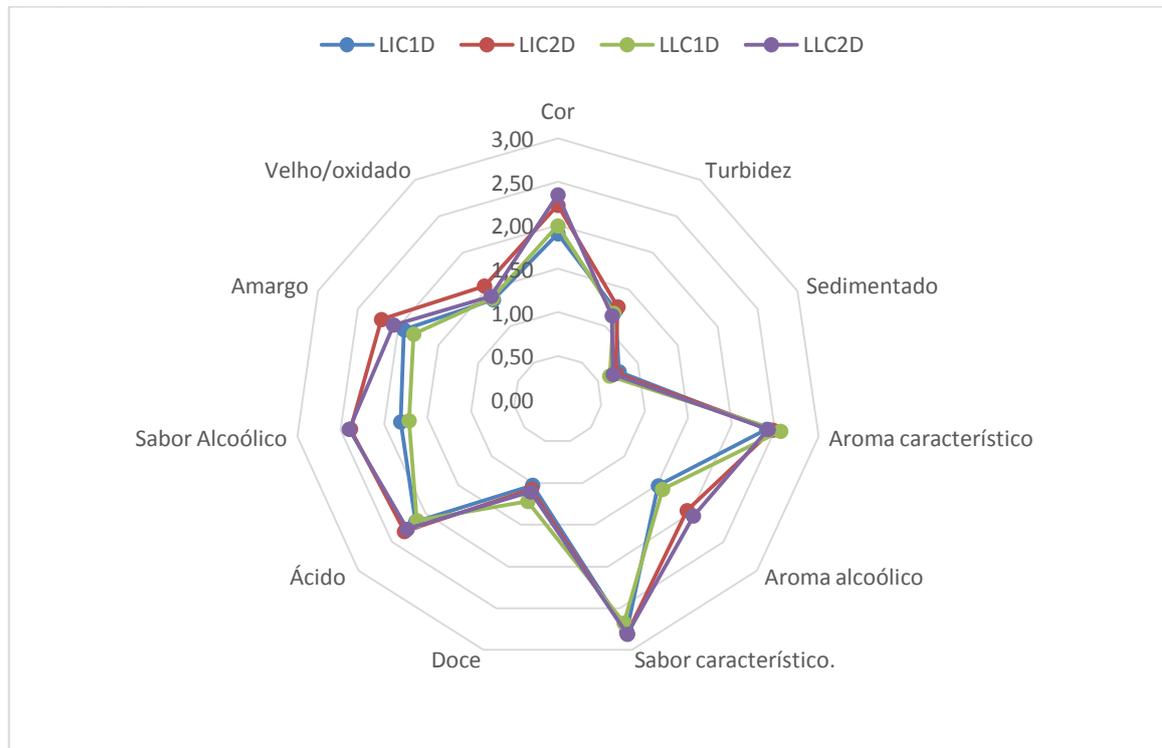
Atributos	Amostras				P <sub>valor</sub>
	LIC1D	LIC2D	LLC1D	LLC2D	Pr>Fc
Cor vermelha	1,90 <sup>b</sup>	2,23 <sup>a</sup>	1,99 <sup>b</sup>	2,35 <sup>a</sup>	0,0008
Turbidez	1,22 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	1,14 <sup>a</sup>	0,5521
Sedimentado	0,77 <sup>a</sup>	0,72 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,5118
Aroma Característico	2,40 <sup>a</sup>	2,47 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>	0,6422
Aroma alcoólico	1,51 <sup>b</sup>	1,95 <sup>a</sup>	1,58 <sup>b</sup>	2,04 <sup>a</sup>	0,0000
Sabor característico	2,78 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>	2,67 <sup>a</sup>	2,81 <sup>a</sup>	0,7841
Gosto doce	1,02 <sup>a</sup>	1,07 <sup>a</sup>	1,22 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>	0,2830
Gosto ácido	2,14 <sup>a</sup>	2,31 <sup>a</sup>	2,12 <sup>a</sup>	2,27 <sup>a</sup>	0,2487
Sabor alcoólico	1,81 <sup>b</sup>	2,39 <sup>a</sup>	1,71 <sup>b</sup>	2,40 <sup>a</sup>	0,0000
Gosto amargo	1,92 <sup>b</sup>	2,21 <sup>a</sup>	1,81 <sup>b</sup>	2,06 <sup>a</sup>	0,0135
Sabor de velho ou oxidado	1,36 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	1,41 <sup>a</sup>	0,2456

**Fonte:** Autor. Médias com a mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ( $p > 0,05$ ). LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol.

Na Figura 26 encontra-se o perfil sensorial das amostras estudadas. Os resultados indicaram que as características consideradas negativas para o fermentado alcoólico (turbidez, sedimentado e velho ou oxidado) não foram significativos apresentando notas próximo à 1, valor que na escala utilizada situa-se próximo ao nenhum. Foi observado que não houve diferença entre as amostras para os descritores gosto ácido, gosto doce, sabor característico e aroma característico, contudo as características amargo, sabor alcoólico, aroma alcoólico e cor vermelha foram encontradas nas amostras LIC2D e LLC2D, como pode ser visualizado na Figura 26. Estes resultados demonstram que o inóculo utilizado, seja livre ou imobilizado, não tiveram influência nas características do fermentado alcoólico, porém, foram influenciadas pelo teor alcoólico das bebidas.

Danner *et al.* (2017) comparou a análise descritiva clássica com o método RATA (Rate all that apply) para avaliar o perfil sensorial de vinhos comerciais e obteve como resultado semelhança na capacidade de discriminação das amostras. Sugerindo que o método RATA, que utiliza provadores não treinados, pode ser um método válido e rápido para aplicações em pesquisa que visam descrever as características sensoriais de vinhos. Nestes termos o teste sensorial RATA foi positivo na obtenção dos dados sensoriais estudados.

**Figura 26** – Perfil sensorial das amostras de fermentado alcoólico de jabuticaba previamente selecionadas.



**Fonte:** Autor. LIC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e sem chaptalização. LIC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras imobilizadas e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol. LLC1D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e sem chaptalização. LLC2D: bebida doce, elaborada com inóculo de leveduras livres e chaptalização para obtenção de 8% (v/v) de etanol.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos permitiram concluir que:

1. O uso de despulpadeira permitiu a obtenção de uma polpa de qualidade, de forma mais prática e rápida e com coloração ligeiramente avermelhada.
2. A caracterização físico-química foi essencial para o processo por fornecer dados para elaboração das bebidas, bem como mostrar a qualidade da polpa.
3. As bioesferas produzidas pela técnica de imobilização em alginato de cálcio tiveram boa resistência mecânica durante todo o processo fermentativo.
4. O monitoramento do mosto contribuiu de forma positiva para avaliação do processo fermentativo por fornecer parâmetros necessários para entendimento do processo.
5. A linhagem *Saccharomyces cerevisiae*, na forma de fermento desidratado ativo, foi apropriada para o processo por se mostrar tolerante ao etanol produzido, bem como pelas respostas as taxas de conversão de substrato em produto.
6. O uso de células imobilizadas se mostrou positiva no processo, pois não interferiu nas características organolépticas das bebidas e ainda, apresentaram melhores respostas para a variável produtividade volumétrica em bebida (Qp).
7. As bebidas obtidas apresentaram características físico-químicas interessantes, atendendo aos padrões da legislação para fermentados alcoólicos de frutas vigentes. A exceção foi para a acidez total, fato atrelado a acidez característica da matéria-prima.
8. Os rendimentos em bebida obtidos foram na ordem de 68%, sendo assim, sugere-se aprimoramento da técnica de filtração para obtenção da bebida final.
9. O tempo de fermentação foi de 07 a 18 dias, variando de acordo com as condições fisiológicas da levedura em resposta ao perfil do mosto a ser fermentado. Todavia, apesar de parecer longo, não influenciaram de forma negativa no processo. Os processos conduzidos com leveduras imobilizadas apresentaram os menores tempos de condução do processo fermentativo.
10. Todas as bebidas alcoólicas produzidas, independente da forma de condução do processo fermentativo, tiveram resultados satisfatórios quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados. Estas bebidas apresentaram baixa acidez volátil, bem como baixas concentrações de SO<sub>2</sub>, ácido acético e cloretos totais.
11. A avaliação sensorial foi satisfatória para quatro fermentados alcoólicos de jabuticaba, LIC1D, LIC2D, LLC1D e LLC2D, sendo estes aqueles adoçados e com menores teores alcoólicos, próximos a 5 e 10% (v/v).

12. Independente do processo fermentativo utilizado, as quatro bebidas selecionadas apresentaram boa qualidade com aceitabilidade média de 72%.
13. A caracterização sensorial pelo teste descritivo (RATA) foi satisfatória, com destaque para as bebidas LIC1D e LLC1D, que se diferenciaram das demais principalmente pela ínfima intensidade do gosto amargo. Os itens descritivos, cor vermelha, turbidez, sedimentado, gosto doce, gosto ácido, aroma e sabor característicos, aroma e sabor alcoólico e sabor de velho ou oxidado foram satisfatórios para todas as bebidas estudadas.
14. O presente estudo contribui de forma positiva para minimizar o cenário de perdas pós-colheita de frutos de jabuticaba, bem como para agregar maior valor a estes frutos.

## 7 REFERÊNCIAS

- ACSELRAD, G. *et al.* Consumo de bebidas alcoólicas no Brasil – Estudo com base em fontes secundárias, 2012.
- AGUIRRE, L. H. L. Desarrollo de um vino de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) em la Escuela Agrícola Panamericana. 2006. 41 f. Projeto especial (Título de Engenheiro em agroindústria) - Zamorano Carrera de Agroindustria, Honduras, 2006.
- ALCÂNTARA, V. C.; MENEZES, E. G. T. Vinho de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. The Journal of Engineering and exact Sciences - JCEC, v.3, n.3, p.780-785, 2017.
- ALEZANDRO, M. R., *et al.* Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. Food Research international, v.54, p.468-477, 2013.
- ALI, K., *et al.* Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. Phytochem Reviews, v.9, n.3, p.357-378, 2010.
- ALMEIDA, E. S., *et al.* Compostos fenólicos totais e características físico-químicas de frutos de jaboticaba. Gaia Scientia, v.12, n.1, p.81-89, 2018.
- ALMEIDA, M. M., *et al.* Estudo cinético e caracterização da bebida fermentada do *Cereus jamacaru* P. DC. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, Mossoró, v. 6, n. 2002, p. 176–183, 2011.
- ALVES, A. P. C. Casca de jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg): Processo de secagem e uso como aditivo em iogurte. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- ALVES, A. P. C., *et al.* Elaboration ad acceptability of restructured hams added with jaboticaba skin. Food Science and Technology, Campinas, v.37, n.2, p.232-238, 2017.
- ALVES, S. B.; MORAES, S. A. Quantificação do inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, B. S. Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba. Ed. FEALQ, 2 ed., p. 765-777, 1998.
- AMARANTE, J. O. A. Os segredos do vinho para iniciantes e iniciados. 4 ed. São Paulo: Mescla, 2015.
- ANDRADE, M. B., *et al.* Fermentação alcoólica e Caracterização de fermentado de morango. Biochemistry and Biotechnonology reports, v.2, n.3, p.265-268, 2014.
- AQUARONE, E., *et al.* Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos, v. 4. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2011. Cap. 1, p. 1-19.
- ARAÚJO, K. G. L., *et al.* Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos - estudo da composição química e aceitabilidade. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.29, n.1, 2009.
- ASQUIERI, E. R.; SILVA, A. G. M.; CÂNDIDO, M. A. Aguardente de jaboticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jaboticaba. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.29, n.4, p.896-904, 2009.
- Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE), 2016. Disponível em:<<http://www.abrabe.org.br/categorias/>>. Acesso em: 11 de agosto de 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS-A.O.A.C. Official methods of analysis. Washington, 16 ed., v.2, 1998.
- BALLI, D., *et al.* Effect of yeast cell immobilization and temperature on glycerol content in alcoholic fermentation with respect to wine making. Elsevier Science Ltd. Process Biochemistry. v. 39, p. 499-506, 2003.
- BARBOSA, P. S., *et al.* Análise e quantificação do teor alcoólico do fermentado artesanal da jaboticaba. Revista Científica da faculdade de Educação e Meio Ambiente, v.8, n.1, p.16-32, 2017.

- BARNET, J. A.; BARNET, L. Yeast Research, a historical overview, v. 1. Washington: Ed. Copiright. American Society of Microbiology, 2011.
- BARROS, J. Â. C.; CAMPOS, R. M. M.; MOREIRA, A. V. B. Atividade antioxidante em vinhos de jaboticaba e de uva. *Alimentos e Nutrição*, v. 35, n. 1, p. 73-83, 2010.
- BECKER, F. S. *et al.* Characterization of 'sabará' jaboticabas at different maturation stages. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v.37, n.4, p.457-462, 2015.
- BENDER, A. *et al.* Avaliação físico-química e compostos bioativos de vinho tinto colonial produzido em Dão Lourenço do sul (RS). *Revista Elet. Cient.*, v.3, n.2, p.249-265, 2017.
- BORGES, E., *et al.*. Vinho de Jaboticaba. *Revista Científica do Unisalesiano*, n. 5 p. 682–685, 2011.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity *Revista Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, n. 28.p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Decreto nº 6.871 de 04 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, 2009. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm)>. Acesso em: 12 de agosto de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº34, de 29 de novembro de 2012. Complementação dos padrões de identidade e qualidade para as seguintes bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto, sidra, hidromel, fermentado de cana e saquê ou sake. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 de novembro de 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº14, de 08 de fevereiro de 2018. Complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e derivados da Uva e do Vinho. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 18 de fevereiro de 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº64, de 23 de abril de 2008. Aprovam os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 24 de abril de 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. *Alimentos regionais brasileiros*. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- BRUNELLI, L. T.; IAMIZUMI, V. M.; VENTURINI-FILHO, W. G. Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel produzido a partir de cinco tipos de leveduras alcoólica. *Revista Energia na agricultura*, v. 32, n.2, p.200-208, 2017.
- CADENGUE, T. P. N., *et al.* Avaliação sensorial do vinho de abacaxi e gengibre obtido a partir do suco clarificado. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, v.7, n.2, p.420-426, 2017.
- CALLONI, C., *et al.* Jaboticaba (*Plinia trunciflora*(O. Berg) Kausel) fruit reduces oxidative stress in human fibroblasts cells (MRS-5). *Food Research International*, v.70, p.15-22, 2015.
- CANONICO, L. *et al.* Sequential Fermentation with select immobilized Non-*Saccharomyces* Yeast for reduction of ethanol content in wine. *Frontiers in Microbiology*, v.7, p.1-11, 2016.
- CANTINA MATTIELLO. Disponível em: <<http://www.cantinamattiello.com.br/produtos/>>. Acesso em: 20 de junho de 2018.
- CARVALHO, D. S.; ZAMBIAZI, R. C. Avaliação do processo fermentativo de cerveja pilsen pelo uso de diferentes concentrações de *Saccaromyces cerevisiae*. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v.22, n.3, p.351-357, 2011.
- CARVALHO, J. M.; ARAÚJO, L. O. Inovação na Indústria de Alimentos e sua interface com o setor regulador no Brasil. *Caderno de Prospecção*, Salvador, v.10, n.3, p.405-415, 2017.

- CASTILHOS, M. B. M.; BIANCHI, V. L. D. Caracterização físico-química e sensorial de vinhos brancos da região noroeste de São Paulo. *HOLOS*, v.4, ano27, 2011.
- CEAGESP. Sazonalidade da Jaboticaba, 2018. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/entrepostos/servicos/produtos/frutas/jaboticaba/>>. Acesso em: 02 de janeiro de 2018.
- CECCATO-ANTONINI, S. R. Microbiologia da fermentação alcoólica. São Carlos: Ed. UFSCar, 2010.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2, p. 343–656, 2010.
- Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). Balanço 2016 e perspectivas 2017. *Fruticultura*, p.95-97, 2016.
- COSTA, E. K. Avaliação físico-química de vinhos artesanais produzidos na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul 2017 21 f. Trabalho (Bacharelado em Farmácia)- Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2017.
- COSTA, R. T. R., *et al.* Cinética de produção de bebida mista de mel de abelha e morango. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Pombal, v.12, n.1, p.90-94, 2017.
- COVIZZI, L. G., *et al.* Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. *Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v.28, n.2, p.143-160, 2007.
- DANNER, L. *et al.* Comparision of Rate-All-That-Apply (RATA) and Descriptive Analysis (DA) for the Sensory Profiling of Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.07, 2017.
- DANNER, M. A., *et al.* Germplasm characterization of three jaboticaba tree species. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.33, n.3, p.839-847, 2011.
- DESSIMONI-PINTO, N. V. A., *et al.* Jaboticaba peel for jelly preparation: an alternative technology. *Ciência e Tecnologia De Alimentos*, Campinas, v. 31, n. 4, p. 864–869, 2011.
- DIAS, D. R., *et al.* Vinegar production from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) frit using immobilized acetic acid bacteria. *Food Technol. Biotechnol.*, v.54, n.3, p.351-359, 2016.
- DIAS, D. R.; PANTOJA, L.; SCHWAN, R. F. Fermentados de Frutas. In: VENTURINI-FILHO, W. G. *Bebidas alcoólicas*, v. 1. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2010. Cap. 5, p. 85-233.
- DJORDJEVIC, R. *et al.* Raspberry wine fermentation with suspended and immobilized yeast cells of two strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, v.32, p.271-279, 2015.
- EINBOND, L. S., *et al.* Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, v. 84, n. 1, p. 23–28, 2004.
- ENARTIS USA. Total SO<sub>2</sub> by Aeration-oxidation. *Vinquiry Laboratories*, 2016.
- FARIA, G. S., *et al.* Caracterização química da casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) liofilizada e sua aplicação em leite fermentado potencialmente simbiótico. *JCBS*, v.2, n.1, p.02-09, 2016.
- FILHO, M. T. L., *et al.* Comportamento cinético do fermentado alcoólico de banana prata (*musa ssp*) frente a diferentes parâmetros. *Revista Verde*, Pombal, v.10, n.4, p.26-29, 2015.
- FLORA AVPH. Jaboticabeira. Disponível em: <<http://www.flora.avph.com.br/jaboticabeira.php>>. Acesso em: 10 de jan de 2018.
- FORTES, G. A. C., *et al.* Evaluation of Chemical Changes during *Myrciaria cauliflora* (Jaboticaba Fruit) Fermentation by HNMR Spectroscopy and Chemometric Analyses. *journal of Brazilian Chemical Society*, v.23, n.10, p.1815-1822, 2012.
- GEISE, E. C. Biocatalizadores imobilizados: prospecção de inovações tecnológicas na última década. *Revista Geintec*, São Cristóvão, v.5, n.3, p.2296-2307, 2015b.
- GEISE, E. C. Potencial biotecnológico do uso de micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio. Rio de Janeiro, CETEM/MCTI, 2015a.

- GONÇALVES, L. T.; SOUZA, V. R. S. Avaliação sensorial de fermentados alcoólicos de jaboticaba produzidos na cidade de Varre-Sai, RJ. *Vértices, Campos dos Goitacazes*, v.16, n.1, p.101-115, 2014.
- GUEDES, M. N. S. Diversidade de acessos de jaboticabeiras sabará em Diamantina/MG por meio da caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiologia das sementes. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2009.
- GUERRA, C. C. Fermentados de Frutas. In: VENTURINI-FILHO, W. G. *Bebidas alcoólicas*, v. 1. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2010.
- GUERRA, C. C. Influência de parâmetros enológicos da maceração na vinificação em tinto sobre a evolução da cor e a qualidade do vinho. X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia - Embrapa uva e vinho, Bento Gonçalves, 2003.
- GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Fadiga. In: *Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. Vinho*. 1 ed. Ed. Edgard blücher, São Paulo, 2005. p. 423-452.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 18, n. I, p. 125–126, 1995.
- HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. ; BORZANI, W. ; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A. *Biotechnology Industrial: Biotechnology na produção de alimentos*, v. 4. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2011. Cap. 2, p. 21-67.
- HENRIQUE, C. M., *et al.* Determination of shelf-life of jaboticabas fruits cv 'sabará'. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering* v.9, n.4, p.320-327, 2015.
- HISS, H. *Cinética de Fermentações: Uma análise matemática da atividade antimicrobiana*. São Paulo, ed. 1, 2013.
- HOROWITZ, H. (Org) Association of Official Analytical Chemists - AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18 ed. Washington D.C., 2005.
- INAYATHULLAN, N. M.; JASMINE, G. J.; JAYAKUMAR, R. Effect of osmolyte on the micellization of SDS at different temperaturas. *Langmuir*. v. 19, p. 9545-9547, 2003.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). *Métodos Físico-químicos para análise de alimentos*. 4 ed. 1ª Edição Digital. São Paulo. 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS (IBRAF). *O sistema agroalimentar de frutas e derivados*, 2013. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/detalhe.aspx?id=1>>. Acesso em: 03 de agosto de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009, Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil*. Coordenação de Trabalho e Rendimento, Rio de Janeiro, IBGE, 2011.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE VINHOS (Ibravin). *Abastecimento do mercado de vinhos no Brasil*. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br/Noticia/abastecimento-do-mercado-de-vinhos-no-brasil-apresenta-crescimento-de-3-no-primeiro-semester/305>>. Acesso em: 22 de junho de 2018.
- INSTITUTO ESTRADA REAL. *Vinhos de jaboticaba*, 2018. Disponível em: <<http://www.instituto-estrada-real.com.br/servico/detalhe/atrativo/Vinho-de-Jaboticaba---Catas-Altas/1122data=%221122%22>>. Acesso em 02 de maio de 2018.
- JESUS, N., *et al.* Caracterização de quatro grupos de jaboticabeira nas condições de Jaboticabal-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v.26, n.3, p.482-485, 2004.
- JUNIOR, A. W., *et al.* Aspects of the sensorial quality and nutraceuticals of *Plinia cauliflora* fruits. *Acta Scientiarum Agronomy, Maringá*, v.39, n.4, p.475-485, 2017.

- KIST, B. B., *et al.* Anuário Brasileiro de Fruticultura, Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018.
- KOURKOUTAS, Y., *et al.* A. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*. v. 21, p.377-397, 2004.
- LAMOUNIER, M. L., *et al.* Desenvolvimento e caracterização de diferentes formulações de sorvetes enriquecidos com farinha da casca da jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v.70, n.2, p.93-104, 2015.
- LETRAS, J. P. R. Imobilização de microrganismos com potencialidades enológicas. 2017. 124 f. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia) - Escola de Ciência e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, 2017.
- LIMA, A. J. B. L., *et al.* Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. *Revista Brasileira de fruticultura, Jaboticabal*, v.33, n.2, 2010.
- LIMA, A. J. B., *et al.* Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v.33, n.3, p.877-887, 2011.
- LIMA, A. J. B., *et al.* Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. *Archivos Latino Americanos de Nutricion*, v. 58, n. 2, p. 2008, 2008.
- LIMA, U. A.; BASSO, L. C. e AMORIM, H. V. Fadiga. In: *Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos. Produção de etanol*. São Paulo-SP, 2001. v. 3, p. 1-43.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. 12.ed. São Paulo: Prentice Hall, 2016.
- MARTINS, P. A. Análises físico-químicas utilizadas nas empresas de vinificação necessárias ao acompanhamento do processo de elaboração de vinhos brancos. 2007. 55 f. Trabalho (Curso de Tecnólogo em Viticultura e Enologia) - Centro Federal e Educação Tecnológica, Bento Gonçalves, 2007.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. , *Analytical Chemistry* Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MINGORANCE-CAZORLA, L.; *et al.* Contribution of different natural yeasts to the aroma of two alcoholic beverages. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 19, n. 3, p. 297-304, 2003.
- MINIM, V. P. R.; SILVA, R. C. S. N. *Análise descritiva sensorial*. Viçosa:Editora UFV, 2016.
- NEVES, N. A. Compostos fitoquímicos e bioativos em diferentes espécies, em licor e fermentado de jaboticaba (*Plinia Jaboticaba* (DC) Berg). 2016. 92 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
- NUNES, J. S., *et al.* Obtenção e caracterização físico-química de polpa de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* berg) congelada. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, Mossoró*, v.9, n.1, p.234-237, 2014.
- OLIVEIRA, A. L., *et al.* Caracterização tecnológica de jaboticabas "sabará" provenientes de diferentes regiões de cultivo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.25, n.3, p. 397-400, 2003.
- OLIVEIRA, J. P. M., *et al.* Produção de fermentado alcoólico de laranja. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento sustentável, Pombal*, v.10, n.3, p.35-41, 2015.
- OLIVEIRA, L. P. Seleção e aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando leveduras imobilizada. 2006. 177 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.
- OLIVEIRA, M. E. S. Elaboração de bebida alcoólica fermentada de cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC) empregando leveduras livres e imobilizadas. 2010. 75 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, lavras, 2010.

- PÁDUA, H. C. *et al.* Iogurte sabor banana (*Musa AAB, subgrupo prata*) enriquecido com farinha da casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* (Vell.) Berg.). *Global Science Technology*, Rio Verde, v.10, n.1, p.89-104, 2017.
- PAINE, A. J.; DAYAN, A. D. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Human e Experimental Toxicology*, v.20, p.563-568, 2001.
- PANTOJA, L. A. Seleção e Aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada. 2006. 196 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.
- PARENTE, G. D. L., *et al.* Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi “pérola” e caracterização da bebida Kinetic production of alcoholic unfermented pineapple ‘ pearl ’ drink and characterization. *Revista Verde de agoecologia e desenvolvimento sustentável*, v. 9, p. 230–247, 2014.
- PEREIRA JR, N. Apostila do Curso de doutorado multidisciplinar em biotecnologia: tecnologia de processos. Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, novembro, 2002, p.147.
- PEREIRA, A. S., *et al.* Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v.8, n.1, p.1216-1226, 2014.
- PEREIRA, B. Frutas e derivados: processados, tendências para agregar valor às frutas. IBRAF Instituto Brasileiro de Frutas, v. ed.3, p. 19–26, 2006.
- PERRICONE, M. *et al.* *The Microbiological Quality of Food*, Cap. 5 Yeasts, p.121-131, 2017.
- PIMENTEL, G. M. F. S. Desenvolvimento de uma bebida fermentada à base de mel. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.
- PINTO, L. I. F. *et al.* Desenvolvimento de Cerveja Artesanal com Acerola (*Malpighia emarginata* DC) e Abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill). *Revista Verde*, Pombal, v.10, n.4, p.67-71, 2015.
- PRASNIEWSKI, A. C., *et al.* Aproveitamento tecnológico da casa de jabuticaba na elaboração de geleia. *Synergismus scyentifica*, Pato Branco, v. 12, n. 1, p. 74–80, 2017.
- RE R, PELLEGRINI N., *et al.* ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL. *Free Radic Biol Med* v.26, p.1231–1237, 1999.
- REIS, J. T. Setor de bebidas no Brasil: abrangência e configuração preliminar. *Revista Rosa dos Ventos*, v.7, n.2, p.205-222, 2015.
- REIS, R.C.; MINIM, V.P.R. Testes de Aceitação. In: MINIM, V.P.R. (Ed.). *Análise sensorial: estudos com consumidores*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. Cap. 3, p. 65–81.
- RIBEREAU-GAYON, P., *et al.* *The microbiology of wine and vinifications: handbook of enology*. v. 1, Ed. 2, New York: Wiley, 2006, 797 p.
- RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.; MANFROI, L. Planejamento e Instalação de uma cantina para elaboração de vinho tinto. *Embrapa uva e vinho*, Bento Gonçalves, documento 38, ed. 1, 2003.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. cabernet sauvignon para elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.22, n.2, p.192-198, 2002.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A. Concentração de ácido tartárico dos vinhos da serra gaúcha. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.5, p.893-895, 2001.
- RUFINO, M. S., *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, p.996-1002, 2010.
- SÁ, L. A. C. M., *et al.* Antioxidant potential ad vasodilatory activity of fermented beverages of jabuticaba berry (*Myrciaria jabuticaba*). *Journal of Functional foods*, v.8, p.169-179, 2014.

- SANCHEZ, E. N. Desempenho de um biorreator com levedura imobilizada na fermentação alcoólica contínua de meio melaço-vinhoto. 1995. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.
- SANTOS, A., *et al.* Potencial antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática. *Revista Interdisciplinar*, v. 7, n. 3, p. 149–156, 2014.
- SEGTOWICK, E. C. DOS S.; BRUNELLI, L. T. Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v.16, n.2, p.147-154, 2013.
- SEGTOWICK, E. C. DOS S.; BRUNELLI, L. T.; VENTURINI FILHO, W. G. Physicochemical and sensorial evaluation of a fermented West Indian cherry beverage. *Brazilian Journal of Food Technology*, p. 147–154, 2013.
- SILVA, A. E., *et al.* Elaboração de cerveja com diferentes teores alcoólicos através de processo artesanal. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v.20, n.3, p.369-374, 2009.
- SILVA, C. E. A.; SILVA, J. L. A. Fermentado alcoólico de umbu: produção, cinética de fermentação e caracterização físico-química. *HOLOS*, ano 32, v.2, 2017.
- SILVA, G. J. F. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria* sp). *Alimentos e nutrição*, Araraquara, v.21, n.3, p.429-436, 2010.
- SILVA, P. H. A., *et al.* Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). *Química Nova*, v.31, n.3, p.595-600, 2008.
- SINGLETON, V.L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* v.16, p.144–147, 1965.
- SOUSA, J. R. P., *et al.* Elaboração de massa de pizza com teor de sódio reduzido e enriquecida com farinha de aveia. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Pombal, v.12, n.2, p.09-13, 2016.
- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4ª edição revisada e ampliada. Universidade Estadual de Campinas-SP, 2011.
- Tabela Brasileira de composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo - USP, 2017.
- TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. *Revista Ceres*, v.55, n.4, p.297-304, 2008.
- TENREIRO, S.; OUTEIRO, T. F. A levedura como modelo para estudar as bases moleculares da doença de Parkinson. *RBCEH*, Passo Fundo, v.12, n.3, p.288-298, 2015.
- UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. *Química Nova*, v.30, n.2, p.388-394, 2007.
- UGALDE, F. Z.; NESPOLO, C. R. Desperdício de alimentos no Brasil. *Sb rural*, ed. 57, ano 7, 2015.
- VIEIRA, A. F., *et al.* Avaliação físico-química e de textura instrumental de geleia mista de jaboticaba e pitanga. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.7, n.2, p.407-410, 2017.
- VIEITES, R. L., *et al.* Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jaboticaba armazenada sob diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de fruticultura*, Jaboticabal, v.33, n.2, p.362-375, 2011.
- VILLAPANDA, M. A., *et al.* Comparación de la cinética fermentativa em um vino base com levedura de panificación y levedura vinatera. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, v.23, n.2, p.7-11, 2013.
- WANG, L., *et al.* Bioprocessing strategies to improve heterologous protein production in filamentous fungal fermentations. *Biotechnology Advances*, v.23, p.115-129, 2005.
- YAMAMOTO, C. H. A demanda por bebidas alcoólicas no Brasil 2008-2009. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Economia) - Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2011.

ZERBIELLI, L., *et al.* Diversidade físico-química dos frutos de jaboticabeiras em um sítio de ocorrência natural. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v.38, n.1, p.107-116, 2016.

ZHISTEN J., MENGCHENG T., JIAMMING W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effect on superoxide radicals. *Food Chemistry*, v.64, p.555–559, 1999.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H. NURY, F. S. *Análisis e producción de vino*. Ed. Acribia S.A., 2001, 613 p.

**APÊNDICE A – Ficha de avaliação sensorial utilizada para os dois primeiros testes de aceitação.**

**Nome:** \_\_\_\_\_ **Idade:** \_\_\_\_\_ **Telefone:** ( ) \_\_\_\_\_ **Data:** \_\_/\_\_/\_\_

**Teste de aceitação**

**Que tipo de bebida alcoólica você consome, mesmo que eventualmente?**

( ) Destilados (cachaça, vodka, whisky, outros); ( ) Vinho branco ( ) Vinho tinto ( ) Cerveja ( ) Mista (batidas, outros)

**Por favor, avalie a amostra servida e indique o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a resposta que melhor reflita seu julgamento.**

Código da amostra: _____					
( ) Gostei muito					
( ) Gostei					
( ) Não gostei/ nem desgostei					
( ) Desgostei					
( ) Desgostei muito					

**Comentários:** \_\_\_\_\_

**APÊNDICE B – Ficha de avaliação sensorial utilizada para o teste de aceitação final.**

**Nome:** \_\_\_\_\_ **Idade:** \_\_\_\_\_ **Profissão:** ( ) \_\_\_\_\_

**Teste de aceitação**

**Que tipo de bebida alcoólica você consome, mesmo que eventualmente?**

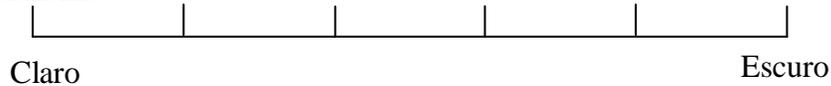
- ( ) Destilados (cachaça, vodka, whisky, outros);      ( ) Vinho branco      ( ) Cerveja  
 ( ) Vinho tinto      ( ) Mista (batidas, outros)

**Por favor, prove as amostras servidas e avalie cada atributo em sua respectiva escala. Marque a resposta que melhor reflita o seu julgamento.**

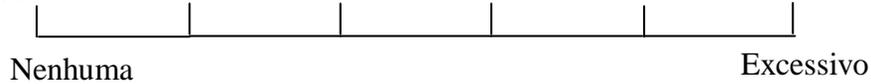
**NÚMERO DA AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

**APARÊNCIA**

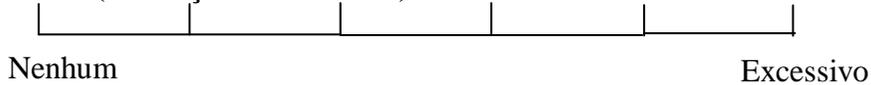
**Cor vermelha:**



**Turbidez:**

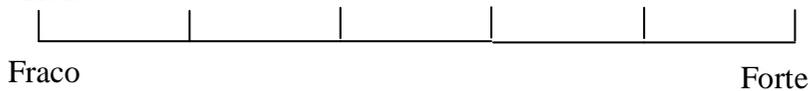


**Sedimentado (Presença de sedimentos):**

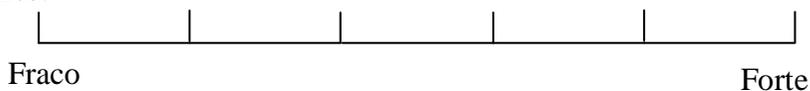


**AROMA**

**Característico:**



**Alcoólico:**



**SABOR**

**Característico:**



**Gosto Doce:**



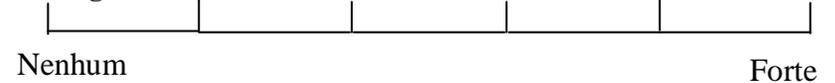
**Gosto Ácido:**



**Alcoólico:**



**Gosto Amargo:**



**Velho ou oxidado:**

