

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE - UFS PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

# COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO-COPGD PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

# DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE BEBIDAS FERMENTADAS DE JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp)

VIVIANE APARECIDA FIGUEREDO OLIVEIRA SANTOS

São Cristóvão - SE

Fevereiro/2015



### UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE - UFS

### PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO-COPGD PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

# DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE BEBIDAS FERMENTADAS DE JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp)

### VIVIANE APARECIDA FIGUEREDO OLIVEIRA SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

Orientador: Prof. Dr. Narendra Narain

Agência Financiadora: INCT/CAPES

São Cristóvão - SE

Fevereiro/2015

# FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Santos, Viviane Aparecida Figueredo Oliveira

S237d Desenvolvimento, caracterização físico-química, antioxidante e perfil de compostos voláteis de bebidas fermentadas de jabuticaba (Myrciaria cauliflora SSP) / Viviane Aparecida Figueredo Oliveira Santos ; orientador Narendra, Narain. – São Cristóvão, 2015. 140 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciência e Técnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, 2015.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Bebidas fermentadas. 3. Jabuticaba. 4. Compostos bioativos. I. Narain, Narendra, orient. II. Título.

CDU 664:582.776.2

### UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

### PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

### PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DO MESTRADO

# DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE BEBIDAS FERMENTADAS DE JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp)

Autor: Viviane Aparecida Figueredo Oliveira Santos

Orientador: Prof. Dr. Narendra Narain

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Narendra Narain

Orientador / PROCTA - UFS

Prof. Dr. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva (Membro interno) Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFS.

Dr.ª Mércia de Sousa Galvão (Membro externo)

São Cristóvão - SE

Fevereiro/2015

### **DEDICATÓRIA**

A meu esposo Sidney, pelo apoio incondicional, pelo incentivo a percorrer este caminho, por compartilhar angústias e dúvidas estendendo sempre sua mão amiga em momentos difíceis; pela atenção e paciência que sempre teve comigo.

Aos meus filhos, Renan e Carlos Eduardo, pela compreensão da minha ausência para viabilizar este trabalho, abdicando de momentos preciosos de convivência familiar.

À minha família que sempre se fez presente, mesmo a distância vocês se fizeram necessários para que eu realizasse essa conquista.

#### VITAE DO CANDIDATO

Viviane Aparecida Figueredo Oliveira Santos, nascida em 20 de março de mil novecentos e setenta oito, em Pato Branco/PR, filha de José Costa de Figueredo e Adelaide Maria Mucelini, casada com Sidney Oliveira Santos.

Formou-se em Tecnologia Agroindustrial pelo Instituto Federal Farroupilha Campus Alegrete/RS, em dezembro de 2012. Possui Especialização em Didática e Metodologia do Ensino Superior pela instituição Faculdade São Luís de França, Aracaju/SE.Concluindo em 2015 outra Especialização *Latu Sensu* em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel em Pelotas/RS. Em 2013, iniciou a Especialização *Stricto Sensu*, concluindo em 2015 obtendo o título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Sergipe – UFS, em São Cristóvão/SE.

Profissionalmente foi Tutora do Curso Técnico em Agroindústria no Instituto Federal Farroupilha Campus Alegrete/RS Farroupilha Núcleo de Ensino a no período de março de 2011 a dezembro de 2012. Era responsável pelas disciplinas Princípios de Conservação dos Alimentos, Microbiologia de alimentos, Tecnologia de Leite e Derivados, Tecnologia de Carne e Derivados, Tecnologia de Frutas e Hortaliças, e Princípios de Administração, onde auxiliava alunos nas disciplinas, e realizava a postagem do material na plataforma mooldle.

Foi Auxiliar da Garantia da Qualidade no período de maio de 2012 a julho de 2012 no MFB Marfrig Frigoríficos Brasil S.A – Estrada Alegrete/ s/n°, Bairro Capivari. Alegrete/RS.

Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito".

Chico Xavier

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, por tudo que conquistei, e por me mostrar que é nas dificuldades que sempre se faz presente.

Agradeço a minha família, em especial meu esposo e filhos, pelo ESTÍMULO INCANSÁVEL e AJUDA INCONDICIONAL, e pelo dia-a-dia.

A minha querida Mãe Adelaide, pelo exemplo de mulher guerreira e batalhadora, pelos conselhos e ensinamentos valorosos, por ser a nossa estrutura familiar.

A minha irmã Tati, mesmo distante se fez presentes em momentos de angustias e alegrias, pelas orações, conselhos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Narendra Narain, pela oportunidade, incentivo e estímulo à pesquisa, pelas orientações.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva, pelo incentivo e estímulo à pesquisa, pelos ensinamentos, paciência e conselhos valiosos, pela confiança e credibilidade à minha pessoa.

À Mércia, pelo incentivo e orientações, obrigada pelos ensinamentos, conselhos, pela convivência prazerosa e divertida,.

Às minhas amigas que permaneceram ao meu lado, Juli, Katy, Taís, Gabi e Yara, muito obrigada pela paciência e dedicação, pelas valiosas dicas, e interesse ímpares em todas as etapas do trabalho; pelo incentivo e estímulo, pelas palavras amigas, sábias e acima de tudo, sinceras.

Aos professores e funcionário do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos conhecimentos adquiridos e pela amizade.

A todos os colegas do LAF que me ajudaram, me orientaram direta ou indiretamente ao longo desta caminhada do mestrado, Mônica, Hannah, Terezinha,

Anderson, Júnior, D. Creuza, D. Sônia. E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

# DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE BEBIDAS FERMENTADAS DE JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp)

#### **RESUMO**

Devido à crescente preocupação com a saúde humana, a cada dia, são descobertos novos alimentos ou produtos, nos quais apresentam capacidade de combater os radicais livres, ou seja, inibir e/ou diminuir os processos oxidativos no organismo. A transformação do fruto em bebida fermentada, além de garantir benefícios econômicos, também promove um aproveitamento efetivo dos compostos bioativos presentes. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tipo de despolpamento e cepas de Saccharomyces cerevisiae sobre a qualidade de bebida fermentada de jabuticaba, caracterizar físico-quimicamente, como também os compostos bioativos e voláteis nas bebidas fermentadas de jabuticaba. Foram elaboradas cinco bebidas fermentadas de jabuticaba, inoculadas com três cepas distintas (codificadas TAQ, CAT e PMS), variando o método de despolpamento (manual e mecânico). Na análise sensorial utilizando o teste de ordenação-preferência, o resultado demonstrou que não houve diferença significativa entres as bebidas fermentadas de jabuticaba quanto ao método de despolpamento. Durante o acompanhamento fermentativo, os mostos apresentaram um comportamento bastante similar no consumo do açúcar durante a fermentação. As análises físico-químicas das bebidas fermentadas de jabuticaba evidenciaram que todas as bebidas elaboradas estão de acordo com o Decreto n. 2.314/1997, com graduação alcoólica de 12 a 14 °GL/20 °C. Observa-se que a acidez total verificada nas bebidas encontram-se com valores entre 175,33 a 200,67 meg/L, acima do limite estabelecido pela legislação brasileira para vinho de mesa. Quanto ao teor de açúcares totais encontrados nas bebidas fermentadas de jabuticaba, este variou entre 5,12 g/L e 5,88 g/L, a qual caracteriza as bebidas como "Meio seco", conforme legislação brasileira para vinho de mesa (BRASIL, 1988). O pH encontrado nas bebidas foi no intervalo de 3,5 a 3,6. Foram realizadas determinações de compostos bioativos (polifenóis, taninos totais e antocianinas), e compostos fenólicos totais e flavonoides por espectrofotometria, quantificação da catequina e ácido gálico, e ácidos orgânicos por HPLC-DAD nas bebidas fermentadas de jabuticaba; sendo que os maiores teores de compostos bioativos e fenólicos totais foram encontrados na bebida fermentada de jabuticaba elaborada com a cepa PMS, sendo o maior teor de fenólicos totais (431,7 mg de ácido gálico/L), polifenóis (10,18 gL<sup>-1</sup>) e taninos totais e (3,38 gL<sup>-1</sup>); e as concentrações de flavonoides nas bebidas fermentadas de jabuticaba variaram de 93,1 mg de quercetina/L e 140,0 mg de quercetina/L. As bebidas fermentadas de jabuticaba elaboradas com método de despolpamento mecânico e inoculadas com as cepas TAQ, CAT, e PMS, obtiveram os maiores teores de ácido gálico (91,8 mg/L; 70,3 mg/L e 58,8 mg/L, respectivamente). Nas amostras de bebida fermentada de jabuticaba não foi identificada a catequina. Os principais ácidos orgânicos identificados e quantificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba foram ácido málico que obteve uma variação de 0,07667 mg/mL e 0,6871 mg/mL, para maior e menor concentração respectivamente; e ácido tartárico que variou de 0,0590 mg/mL e 0,1549 mg/mL. Completando a caracterização das bebidas fermentadas de jabuticaba o perfil de compostos voláteis, extraído por SPME foi analisado em GC/MS. Dentre os compostos identificados destacou-se 2-fenil-etanol, 2-etil-hexanol, acetato de etila, 10-epi-γ-Eudesmol, α-eudesmol, γ-Eudesmol, ácido octanóico. A fração volátil de terpenos foi composta por quarenta e oito compostos dessa classe, alguns compostos foram encontrados na fruta da jabuticaba como α-Eudesmol, 10-epi-γ-Eudesmol e γ-Eudesmol. Estes compostos podem ser utilizados como marcadores da bebida fermentada de jabuticaba, pois são compostos característicos da fruta. Diante do exposto, a bebida fermentada de jabuticaba inoculada com a cepa PMS apresentou o melhor perfil de voláteis, e assim como as demais bebidas elaboradas utilizando a despolpa mecânica, apresentaram as maiores concentrações de compostos bioativos.

# DEVELOPMENT, PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION, ANTIOXIDANT AND PROFILE OF VOLATILE COMPOUNDS JABUTICABA FERMENTED BEVERAGES (Myrciaria cauliflora spp)

#### **ABSTRACT**

Due to the growing human health concern, every day, we discover new foods or products which have ability to fight free radicals, ie, inhibit and/or decrease the oxidative processes in the body. The transformation of the fruit and alcoholic beverage, ensure economic benefits, and also promotes an effective use of bioactive compounds. In this context, the aim of this study was to evaluate the effect of the type of pulping and strains of Saccharomyces cerevisiae on the quality of fermented jabuticaba drink, characterize chemically-physical, as well as bioactive and volatile compounds in fermented jabuticaba drinks. We prepared five fermented beverages jabuticaba inoculated with three different strains (coded TAQ, CAT and PMS), varying the pulping method (manual and mechanical). Panel test using the sort-preference test. The results showed no significant difference on fermented beverages jabuticaba as the pulping method. During the fermentation monitoring, we observed a very similar behavior in sugar consumption during fermentation. The physico-chemical analysis of fermented beverages jabuticaba showed that all drinks are prepared in accordance with Decree. 2314/1997, with an alcohol content 12-14 °GL / 20 ° C. It is observed that the total acidity found in beverages are values between 175.33 to 200.67 meq / L, above the limit established by Brazilian legislation for table wine. As for the total sugar content found in fermented beverages jabuticaba, this ranged from 5.12 g / L and 5.88 g / L, which characterizes the drinks as "Medium dry," as Brazilian legislation for table wine (BRAZIL, 1988). The pH of the liquor was found in the range 3.5 to 3,6. Determinations of bioactive compounds were performed (polyphenols, tannins and anthocyanins), and phenolic compounds and flavonoids by spectrophotometry quantification of catechins and gallic acid, and organic acids by HPLC-DAD in fermented jabuticaba beverages; The highest levels of bioactive compounds and phenolic were found in the brew jabuticaba developed with PMS strain, with the highest content of total phenolics (431.7 mg gallic acid / L), polyphenols (10.18 GL 1) and total tannins and (3.38 g L-1); and the concentrations of flavonoids in fermented beverages jabuticaba ranged from 93.1 mg of quercetin / L and 140.0 mg of quercetin / L. Jabuticaba fermented beverages prepared with mechanical pulping method and inoculated with the strains TAQ, CAT, and SMP, had the highest levels of gallic acid (91.8 mg / L, 70.3 mg / L and 58.8 mg / L, respectively). In brew samples of jabuticaba catechin was not identified. The main organic acids in fermented beverages identified and quantified jabuticaba were malic acid obtained a variation of 0.07667 mg / ml and 0.6871 mg / ml to respectively higher and lower concentrations; and tartaric acid varied from 0.0590 mg/ml and 0.1549 mg/ml. Completing the characterization of fermented beverages jabuticaba the profile of volatile compounds extracted by SPME was analyzed in GC / MS. Among the compounds identified highlighted 2-phenylethanol, 2-ethylhexanol, ethyl acetate, 10-epi-γ-eudesmol,  $\alpha$ -eudesmol,  $\gamma$ -eudesmol, octanoic acid. The volatile fraction of terpenes was composed of forty-eight compounds in this class, some compounds found in fruit blemish as αeudesmol, 10-epi-γ-γ-eudesmol and eudesmol. These compounds may be used as fermented beverage jabuticaba markers, as are typical compounds of the fruit. Above given, the brew jabuticaba inoculated with PMS strain presented the best of volatile profile, and like other beverages prepared using mechanical pulping, had the highest concentrations of bioactive compounds.

# INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema das reações de fermentação e respiração	25
Figura 2 Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b)	39
Figura 3 Estrutura química genérica dos flavonoides	40
Figura 4 cátion 2- fenilbenzopilium	41
Figura 5 Antocianinas encontradas em alimentos	42
Figura 6 Formas estruturais do ácido gálico e do ácido elágico	43
Figura 7 Sequência tecnológica da produção de vinho e sua relação com os diferentes	tipos
de aroma	49
Figura 8 Etapas da microextração em fase sólida. (a) extração no modo headspace	e (b)
extração no modo direto (c) dessorção dos analitos no cromatógrafo	52
Figura 9 Seleção e sanitização da jabuticaba	54
Figura 10 Concentração inicial de leveduras 1x107 células/mL	61
Figura 11 Fluxograma de elaboração das bebidas fermentadas de jabuticaba	62
Figura 12 Mostos de jabuticaba esterilizados	64
Figura 13 Trasfega da bebida fermentada de jabuticaba	64
Figura 14 Elaboração dos mostos de jabuticaba	65
Figura 15 Fase tumultuosa da fermentação	65
Figura 16 Ficha de análise sensorial ordenação e preferência	67
Figura 17 Extração de voláteis por <i>SPME</i>	72
Figura 18 Teor médio de fenólicos e flavonoides totais das jabuticabas analisadas	por
espectrometria	77
Figura 19 Teor médio da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH e do ra	dical
ABTS dos frutos de jabuticaba analisadas por espectrometria	77
Figura 20 Teor médio da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FF	RAP)
dos frutos de jabuticaba analisadas	77
Figura 21 Variação do °Brix durante a fermentação dos mostos dos fermentado	s de
jabuticaba	79
Figura 22 Valores do pH durante a fermentação do mosto de jabuticaba	80
Figura 23 Teores de Polifenóis totais e taninos nas bebidas fermentadas de jabuticaba	88
Figura 24 Teores de antocianinas nos fermentados de jabuticaba	88

Figura	25	Teor	de	compostos	fenólicos	e	flavonoides	das	bebidas	fermentadas	de
jabutica	aba.	•••••				••••					. 89
Figura	26 C	Concen	ıtraç	ões de ácido	o gálico nas	di	iversas bebida	as fer	mentadas	de jabuticaba	ı 93
Figura	27 (	Conce	ntra	ção de ácid	o málico e	ta	rtárico nas di	versa	s bebidas	s fermentadas	de
jabutica	aba.										.96

### INDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição físico-química de polpa de jabuticaba crua por 100 g de parte
comestível: centesimal, minerais, vitaminas e colesterol
Tabela 2 Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba Sabará in natura e após
autoclavagem (121 °C/15min.).
Tabela 3 Principais países de origem das importações com seus respectivos volume de
milhões de litro.
Tabela 4 Análise físico-química de bebida fermentada de jabuticaba Sabará obtida com S.
cerevisiae selecionada
Tabela 5 Classes de compostos de aromas e seus limiares de percepção de odor48
Tabela 6 Composição química e físico-química da polpa e casca de jabuticaba74
Tabela 7 Atividade Antioxidante da polpa de jabuticaba obtida em diferentes épocas 76
Tabela 8 Soma das notas atribuídas pelos julgadores aos diferentes tratamentos
Tabela 9 Características físico-químicas das diversas bebidas fermentadas de jabuticaba. 83
Tabela 10 Teores de compostos bioativos e em bebidas fermentadas de jabuticaba 90
Tabela 11 Teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e DPPH encontrados nas
bebidas fermentadas de jabuticaba
Tabela 12 Teor (média ± desvio padrão) de ácido gálico nas bebidas fermentadas de
jabuticaba95
Tabela 13 Teor (média ± desvio padrão) de ácido málico e tartárico nas diversas bebidas
fermentadas de jabuticaba
Tabela 14 Total de compostos voláteis identificados, e classes dos compostos nas diversas
bebidas fermentadas de jabuticaba
Tabela 15 Perfil de compostos voláteis identificados nas diversas bebidas fermentadas de
jabuticaba100

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	. 19
2.	OBJETIVOS	. 21
	2.1 Objetivo Geral	21
	2.2 Objetivos específicos	. 21
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	. 22
	3.1 JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp.)	. 22
	3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	. 24
	3.3 PROCESSO FERMENTATIVO DE VINHOS	. 27
	3.3.1 Microrganismos	28
	3.3.2 Leveduras	. 29
	3.4 Dados de comercialização de vinhos	. 31
	3.5 Bebidas Alcóolicas	. 33
	3.6 Bebida Fermentada de Jabuticaba	36
	3.7 Compostos Fenólicos	. 38
	3.7.1 Capacidade Antioxidante	. 43
	3.8 Compostos Voláteis	. 46
	3.8.1 Microextração em Fase Sólida – SPME	. 50
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	. 54
	4.1 Matéria-Prima	. 54
	4.1.2 Microrganismo	. 55
	4.2 Preparo da Polpa de Jabuticaba	. 55
	4.2.1 Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba	56
	4.3 Padronização do inóculo	. 61
	4 4 Flaboração das Behidas Fermentadas de Jabuticaba	61

4	4.4 Produção das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba	64
	4.5 Caracterização Físico-Química da Bebida Fermentada de Jabuticaba	65
	4.5.1 Análise sensorial	66
	4.6 Determinação dos Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba	67
4	4.7 Identificação e Quantificação de Compostos Fenólicos das Bebidas Fermentadas	de
•	Jabuticaba por HPLC- DAD	69
	4.7.1 Extração e quantificação de ácidos orgânicos das bebidas fermentadas de jabuticaba por HPLC- DAD	70
4	4.8 Extração, Separação e Identificação de Compostos Voláteis	71
	4.8.1 Extração de compostos voláteis	71
	4.8.2 Separação e identificação de compostos voláteis	72
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
	5. 1 Caracterização Química e Físico-Química da Polpa e Casca de Jabuticaba	73
	5.1.1 Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da jabuticaba ( <i>Myrciar</i>	ia
	cauliflora spp)	75
	5.2 Padronização do Inóculo	78
	5.2.1 Acompanhamento fermentativo	79
	5.2.2 Análise sensorial das bebidas fermentadas de jabuticaba	81
	5.2.3 Caracterização físico-química das bebidas fermentadas de jabuticaba	82
	5.3 Determinação dos compostos bioativos e atividade antioxidante das bebidas	
	fermentadas de jabuticaba	87
	5.4 Quantificação de Compostos Fenólicos nas Bebidas Fermentadas de Jabuticaba p	or
	HPLC	92
	5.4.1 Quantificação de ácidos orgânicos nas bebidas fermentadas de jabuticaba por	•
	HPLC	95
•	5.5 Identificação dos Compostos Voláteis nas Bebidas Fermentadas de Jabuticaba	98
6.	CONCLUSÃO	109

REFERÊNCIAS	112
ANEXO 1	126
APÊNDICE 1	127
APÊNDICE 2	128
APÊNDICE 3	129
APÊNDICE 4	130
APÊNDICE 5	131
APÊNDICE 6	132
APÊNDICE 7	133
APÊNDICE 8	134
APÊNDICE 9	135

### 1. INTRODUÇÃO

A elaboração de bebidas alcóolicas é um dos mais antigos processos que acompanham a civilização, tendo, ao que tudo indica, sido iniciada com a produção de vinho e cerveja há milhares de anos. Essas bebidas, bem como outras surgiram com a própria evolução da sociedade, tiveram a sua tecnologia de produção melhorada à medida que se tornaram uma fonte extensiva de geração de capital e trabalho. Há uma necessidade de se buscar, a cada dia, novas tecnologias que tragam além de maior produtividade, melhoria na qualidade do produto final (VENTURINI FILHO, 2010).

A jabuticaba tem sido utilizada para produção de compotas, licores, destilados e bebidas fermentadas, como uma alternativa para evitar perdas pós-colheita (NAVES *et al.*, 2011). Seu potencial aproveitamento industrial se reflete por apresentar alto teor de carboidratos na polpa, principalmente na forma de açúcares solúveis, além de ser uma cultura que desperta grande interesse entre os produtores rurais devido a sua alta produtividade e rusticidade.

No ano 2008, foram comercializadas aproximadamente 2.000 toneladas de jabuticabas nos entrepostos da CEAGESP (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo) e CEASAS (Curitiba e Belo Horizonte). Em algumas regiões do País, a comercialização é efetuada principalmente na forma *in natura* às margens de rodovias (sistema extrativista). Dessa forma, essa atividade informal reveste-se de importância econômico-social, pois proporciona renda adicional às famílias carentes durante o período de colheita (CITADIN *et al.*, 2010).

Na última década, a produção de fermentado de jabuticaba tem crescido e o sucesso entre os consumidores aumentou. Desde o ano 2000, a Vinícola Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia/GO, investe nesta produção. Atualmente a vinícola produz por ano 60 mil litros de fermentado de jabuticaba (tinto, branco e rosado) (Vinícola Jabuticabal, 2013).

As bebidas fermentadas apresentam-se como alternativas no desenvolvimento de tecnologias para a obtenção de produtos derivados com maior período de vida útil e maior valor agregado (Muniz *et al.*, 2002). A transformação do fruto em bebida

fermentada, além de garantir benefícios econômicos, também promove um aproveitamento efetivo dos compostos com atividade antioxidante, pois o fruto inteiro é utilizado. Estudos mostram que o consumo de vinho traz muitos benefícios para a saúde humana devido à presença de determinados compostos com propriedades reconhecidamente benéficas (POEJO, 2009). Devido à crescente preocupação com a saúde humana, a cada dia, são descobertos novos alimentos ou produtos, nos quais apresentam capacidade de combater os radicais livres, ou seja, inibir e/ou diminuir os processos oxidativos no organismo, principalmente pela presença e atividade dos compostos presentes. O vinho tinto pode ser mais eficaz no combate à essas doenças, provavelmente devido ao maior número de compostos fenólicos como o ácido gálico (MAMEDE & PASTORE, 2004).

Em algumas regiões tipicamente produtoras de fermentados alcoólicos de jabuticaba, como as cidades de Varre-sai/RJ e Hidrolândia/GO é a falta de conhecimento tecnológico e a precariedade nas condições de produção, podendo prejudicar a qualidade do produto final. Bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores devido à tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (MUNIZ, *et al.*; 2002).

A fermentação alcoólica leva a formação de uma série de subprodutos. Além de etanol, estão os compostos carbonílicos, ésteres álcoois, ácidos e acetais; todos eles influenciam a qualidade do produto acabado. Os níveis da composição e concentração dos subprodutos podem variar amplamente (ng L<sup>-1</sup> até centenas de mg L<sup>-1</sup>). Os principais fatores que afetam estes produtos são a espécie da levedura, o tipo de mosto e as condições de fermentação. Estes produtos são liberados durante a fermentação e contribuem para o sabor do vinho, de maneira que a qualidade do vinho depende do tipo destes compostos e suas concentrações (DUARTE, et al., 2010b). Ainda que seja evidente que a qualidade do vinho esteja associada à variedade e qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que proporcionem um toque de distinção ao produto final obtido (GUIMARÃES, 2005). Embora o número de publicações sobre fermentados de frutas tem aumentado nos últimos anos, há apenas um estudo de compostos voláteis de bebidas fermentadas de jabuticaba (DUARTE, et al., 2010b). Dessa forma justifica-se a padronização da elaboração de bebida fermentada a partir da utilização da polpa de jabuticaba, bem como analisar a qualidade nutricional e de compostos voláteis do produto elaborado.

### 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do tipo de despolpamento e cepas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a qualidade de bebida fermentada de jabuticaba, como também caracterizar constituintes físico-químicas, compostos bioativos e voláteis nas bebidas fermentadas de jabuticaba.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar as características físico-químicas (extrato seco, cinzas, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis, açúcares redutores, não redutores e totais, lipídios e proteínas, compostos fenólicos totais) da polpa de jabuticaba;
- ✓ Elaborar bebidas fermentadas a partir do uso da polpa de jabuticaba, utilizando a levedura *S. cerevisiae*:
- ✓ Avaliar a eficiência fermentativa de três cepas de *S. cerevisiae*, PMS, TAQ E CAT.
- ✓ Realizar a análise sensorial das bebidas fermentadas de jabuticaba, através da análise de preferência;
- ✓ Determinar as características físico-químicas (extrato seco, cinzas, acidez total, acidez fixa, pH, sólidos solúveis, açúcares redutores, não redutores e totais, densidade e grau alcoólico); e o teor de compostos bioativos e atividade antioxidante das bebidas fermentadas de jabuticaba;
- ✓ Identificar e quantificar os compostos fenólicos e ácidos orgânico presentes nas bebidas fermentadas de jabuticaba, por sistema de HPLC DAD;
- ✓ Extrair os compostos voláteis através da técnica de *SPME* (Microextração em fase sólida) e identificar os compostos voláteis nas bebidas fermentadas e analisá-los pela cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa (GC/MS);
- ✓ Verificar as condições ótimas na elaboração da bebida fermentada a partir da polpa de jabuticaba.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 JABUTICABA (Myrciaria cauliflora spp.)

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* spp.) é uma árvore frutífera pertencente à família Myrtaceae, de ocorrência espontânea em grande parte do Brasil (SATO e CUNHA, 2007). Seus frutos são tipo baga globosa de até 3 cm de diâmetro, com casca avermelhada quase preta, polpa esbranquiçada mucilaginosa, agridoce, muito saborosa; apresenta comumente uma única semente, mas podendo apresentar até 4 sementes. A espécie mais difundida no Brasil é a *M. cauliflora*, sendo a variedade jabuticaba Sabará, a mais apreciada e doce das jabuticabas e intensamente cultivada. A jabuticaba Sabará ocupa a maior área cultivada no Brasil e apresenta frutos classificados como bacilo globoso, com 20 a 30 mm de diâmetro e polpa macia, esbranquiçada, suculenta e de sabor sub-ácido. Apresenta em sua composição vitamina C com valores médios de 23 mg por 100 g de polpa e minerais, em que se destacam o ferro, cálcio, fósforo e potássio (LIMA *et al.*; 2008). Na tabela 1 apresenta a composição centesimal desta fruta.

Tabela 1. Composição físico-química de polpa de jabuticaba crua por 100 g de parte comestível: centesimal, minerais, vitaminas e colesterol

Característica	Conteúdo
Umidade (%)	83,6
Energia (Kcal)	58
(KJ)	243
Proteína (g)	0,6
Lipídeos (g)	0,1
Colesterol (mg)	ND
Carboidrato (g)	15,3
Fibra Alimentar (g)	2,3
Cinzas (g)	0,4
Cálcio (mg)	8

\*ND: Não detectado

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2011).

No fruto completamente desenvolvido, os carboidratos mais abundantes na polpa são os açúcares solúveis, o que mostra a potencialidade de seu aproveitamento industrial. O potencial econômico de comercialização desse fruto é grande em função de suas características organolépticas para consumo *in natura* e a jabuticabeira é uma das frutíferas que tem despertado grande interesse entre os produtores rurais devido a sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento de seus frutos nas mais diversas formas, como na fabricação de licores, geleias e fermentados. Entretanto, o que se observa em algumas regiões tipicamente produtoras de fermentados alcoólicos de jabuticaba é a falta de conhecimento tecnológico e a precariedade nas condições de produção, podendo prejudicar a qualidade do produto final (SILVA, *et al.*; 2008).

A jabuticaba tem origem subtropical (Mata Atlântica) e vegeta em diversos tipos de solos. Porém, prefere os solos profundos, bem drenados e ricos em matéria orgânica. A jabuticabeira também tem extraordinária capacidade de adaptação a diversos climas. O crescimento é lento e o plantio deve ser feito na época das chuvas, por sementes e enxertia (CHIARELLI, 2005). A tabela 2 apresenta a composição da polpa de *Myrcyaria jaboticaba*, conhecidas popularmente como jabuticaba Sabará.

Apesar da qualidade de suas bagas, do sabor tão apreciado e da abundância de frutos, a jabuticabeira não tem despertado a atenção dos fruticultores. Os dois principais obstáculos à inclusão da cultura como atividade econômica são, em primeiro lugar, os custos e as dificuldades de colheita em pomar comercial; e, segundo, falta de melhor desenvolvimento das técnicas de conservação pós-colheita, uma vez que o fruto deve ser colhido pronto para o consumo e que sua deterioração inicia-se praticamente no mesmo dia da colheita (CHIARELLI, 2005).

Os frutos são altamente perecíveis, e assim o período de comercialização após a colheita é curto devido à rápida alteração da aparência, decorrente da intensa perda de umidade, deterioração e fermentação da polpa, observadas em apenas dois a três dias após a colheita. O uso de tecnologias em pós-colheita que visem à diminuição do metabolismo dos frutos, objetivando a redução da aceleração do amadurecimento e, consequentemente, o prolongamento da conservação, é fundamental para o sucesso comercial das jabuticabas (VIEITES *et al.*; 2011).

Tabela 2 Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba Sabará *in natura* e após autoclavagem (121 °C/15min.).

Características	Polpa in natura	Polpa autoclavada
Proteínas (%)	0,49	0,45
Sólidos solúveis totais (° Brix)	15,90	15,9
рН	3,75	3,78
Acidez titulável (%)	0,73	0,78
Açúcares redutores (%)	12,52	13,85
Açúcares não redutores (%)	3,08	3,75
Açúcares totais (%)	17,09	16,47
Pectina solúvel (mg/100g)	303,86	294,89
Pectina total (mg/100g)	611,09	564,30
Solubilização (%)	49,00	52,26
Tanino (mg/100g)	259,58	240,37
Vitamina C total (mg/100g)	47,22	44,77
Amido (%)	0,255	0,179
Fibra bruta (%)	0,095	0,09
Fibras detergente neutro (%)	0,45	0,29
Fibras detergente ácido (%)	0,27	0,16
Lignina (%)	0,10	0,07
Hemicelulose (%)	0,180	0,135
Celulose (%)	0,18	0,09
Peroxidase (mmol/g.mim)	40,02	36,09
Poligalaturonase (mmol/g.mim)	36,77	33,33
Polifenoloxidase (mmol/g.mim)	0	0

Fonte: Venturini Filho (2010)

### 3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Há mais de 4000 anos os egípcios fabricavam pães e bebidas alcoólicas a partir de cereais e frutas. Porém, há pouco tempo que se pôde relacionar a fermentação com a levedura, que possui a capacidade de sobreviver tanto em condições aeróbias como anaeróbias (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001). Com os avanços da tecnologia da

fermentação alcoólica e da taxonomia de leveduras, verifica-se que a linhagem que predomina é a que possui características mais propícias de adaptação às diversas condições de processamento, assim como o teor de açúcar no mosto/ teor de etanol no vinho, acidez do vinho, temperatura do mosto, modo de condução da fermentação, etc. (OLIVEIRA, 2001).

Bioquimicamente, a fermentação é a oxidação incompleta do açúcar, com a formação de um subproduto que é um composto orgânico oxidável. Considerando-se o processamento da cana pela levedura, inicialmente a sacarose, que é o seu açúcar de reserva, sofre hidrólise pela enzima invertase convertendo em dois monossacarídeos (glicose e frutose), os quais entram na via glicolítica e, por meio de uma sequência de reações, são convertidas a piruvato. Este primeiramente é descarboxilado pela enzima piruvato descarboxilase formando acetaldeído e liberando CO<sub>2</sub>. Posteriormente o acetaldeído é reduzido a etanol, sendo essa reação catalisada pelo álcool desidrogenase 1. O esgotamento da glicose ativa, nas leveduras, a transcrição do gene da enzima álcool desidrogenase 2. Esta enzima oxida o etanol a acetaldeído, o qual posteriormente é convertido a acetato, passando assim para as etapas posteriores do ciclo de Krebs (DERLIN apud MISSAWA, 2009) (Figura 1).

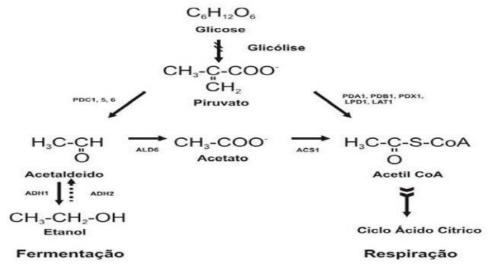


Figura 1: Esquema das reações de fermentação e respiração.

As setas pontilhadas indicam a via que é ativada quando a glicose é totalmente consumida (oxidação etanol).

Fonte: Missawa (2009)

A fermentação alcoólica fornece energia na forma de ATP (adenosina trifosfato) ou outros compostos de transferência de energia para a biossíntese do material celular e produção do etanol. Estas reações catabólicas acontecem com uma acentuada redução na energia livre, a qual junto com a subsequente hidrólise do ATP durante as reações de biossíntese, transporte e manutenção, resulta na produção de calor. Os dados da literatura têm mostrado que a velocidade de produção de calor em fermentações pode ser útil de muitas maneiras tanto na pesquisa acadêmica como em aplicações industriais. As correlações gerais entre produção de calor e vários outros parâmetros sugerem que a velocidade de produção de calor pode ser usada como uma medida para monitorar em tempo real fermentações, consumo de oxigênio ou a velocidade de produção de CO<sub>2</sub> (VOLPE, 1997). A fermentação de 1 mol de glicose dá origem a 1,6 moles de etanol, 1,8 moles de CO<sub>2</sub> e pequena quantidade de diversos compostos com ácido succínico, álcoois superiores, lactato, acetaldeído, ácido acético, glicerol, acetoína, dihidroxicetona, sorbitol, manitol, levana e ácido glicônico. A presença de álcoois superiores no meio fermentativo é indesejável nas destilarias porque dificulta a obtenção do etanol puro. A equação da fermentação alcoólica apresenta-se da seguinte maneira (ERNANDES & GARCIA-CRUZ, 2009; GUTIERREZ, 1993):

$$C_6H_{12}O_6 + 2 Pi + 2ADP \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 2ATP + 2H_2O$$

O principal parâmetro para avaliar o desempenho de matérias-primas em fermentações e o cálculo do rendimento, e este, pode ser obtido por meio da determinação da massa de etanol produzida e da determinação da massa residual de açúcares e alguns metabolitos. Estes dados são tão importantes que eles devem ser obtidos de forma cuidadosa e criteriosa para garantir um processo produtivo satisfatório. Frequentemente, na pratica observam-se valores de rendimento maiores a 100%, evidenciando a existência de erros, já que inevitavelmente outros produtos são sintetizados a partir do açúcar. Pode acontecer também o inverso, valores muito baixos de rendimento que pode ser devido à inexatidão das técnicas analíticas ou utilização de matéria-prima esgotada (ROGRIGUES, 1998).

#### 3.3 PROCESSO FERMENTATIVO DE VINHOS

Se o objetivo de uma fermentação alcoólica é a obtenção de etanol, pode-se considerar como secundário qualquer outro produto que se origine durante o processo fermentativo. Admitem-se, como sendo produtos secundários, o dióxido de carbono, a glicerina, o ácido succínico, os álcoois superiores e o aldeído acético. Nos substratos, encontram-se também outras substâncias como: ácido acético, ácido láctico, ácido butírico, cetonas, bases nitrogenadas, ácidos graxos, furfurol, aldeídos, ésteres, etc.

Após a fermentação alcoólica, os substratos açucarados denominam-se vinhos. Eles possuem uma constituição variável, composta de substâncias gasosas, sólidas e líquidas. As substâncias gasosas são representadas principalmente pelo dióxido de carbono; já as sólidas pelas células de levedura, bactérias, sais, açúcares que não foram fermentados e impurezas; e as líquidas principalmente pela água e álcool, em percentagens que variam de 88-93% a 12-7%, respectivamente nos vinhos comuns (LIMA, 1975). A fermentação alcoólica, a etapa de maior importância no preparo do vinho, abrange toda a etapa desde o preparo do inoculo até a etapa de trasfega.

No processo de fermentação podem-se distinguir três fases: uma preliminar que é de adaptação da cultura ao meio e inicia-se quando o mosto é inoculado, com duração de 4 a 6 horas, outra tumultuosa onde a agitação do substrato é tão grande que parece estar em ebulição e tem duração de 12 a 16 horas e, a fase complementar que é o fim da fermentação e dura cerca de 4 a 6 horas (CORAZZA *et al.*, 2001 ; LIMA, 1975). O processo fermentativo alcoólico é uma fase decisiva na elaboração do vinho. Todas as qualidades potenciais da bebida já existem na uva e podem exteriorar-se durante a vinificação ou, então, desaparecer.

A fermentação a partir da polpa ou sucos de frutas pode ser conduzida de duas maneiras: natural (espontânea) ou por meio de culturas selecionadas (ALVES, 2009). Deve-se ter um rígido controle de contaminantes durante o processo fermentativo, através do uso de antibióticos e desinfetantes específicos para bactérias, com o objetivo de evitar a perda de açúcares, do próprio etanol e a formação de produtos secundários. Dentre os contaminantes mais comuns da fermentação alcoólica incluem-se bactérias dos seguintes

gêneros: Acetobacter, denunciadas pelo odor acético; Lactobacillus e Streptococcus, que provocam o aumento da acidez do mosto por formação de ácido lático; Clostridium, levando à formação de ácido butírico que eleva a acidez e provoca um odor de rançoso; Leuconostoc, espécie L. mesenteroides, que forma o polissacarídeo dextrana (canjiquinha) e eleva a viscosidade do mosto; além de Bacillus, Aerobacter e de Streptococcus responsáveis pela formação de um outro polissacarídeo, levana, que também provoca o aumento da viscosidade (SILVEIRA & MOLINA, 2002). Os processos fermentativos podem se iniciar de diferentes formas: com uma determinada levedura, com culturas puras fornecidas ou pelo uso de leveduras de panificação prensadas ou granuladas. As culturas puras são apenas isoladas ou obtidas através de melhoramento genético. Com o decorrer do tempo, as linhagens que dão início ao processo têm duração efêmera, são substituídas por leveduras selvagens (LIMA et al., 2001).

Uma alternativa para garantir a qualidade e a reprodutibilidade das características do vinho, bem como assegurar o processo fermentativo alcoólico, muitos produtores têm utilizado culturas puras de leveduras isoladas de seu próprio vinho como cultivos iniciadores. Estas culturas, na forma de leveduras secas ativas, são fornecidas aos produtores e usadas na inoculação dos mostos, permitindo as bebidas produzidas, em sucessivas vindimas, as características sensoriais próprias daquela determinada região (GONZÁLEZ-PEREZ et al., 1993).

### 3.3.1 Microrganismos

Devido à importância econômica dos processos biotecnológicos envolvendo a levedura *Saccharomyces*, seja na panificação, na produção de cerveja, vinho e outras bebidas alcoólicas, tal organismo pode ser considerado o mais estudado e cujo metabolismo é o mais conhecido. Ainda assim, o homem ainda se surpreende com as recentes descobertas sobre os mecanismos de regulação metabólica, em leveduras (LIMA *et al.*, 2001). Em nível industrial, os microrganismos consagrados para fermentação alcoólica são as leveduras. Porém, nos últimos 16 anos, um novo microrganismo vem chamando atenção dos pesquisadores: a bactéria *Zymomonas mobilis*. Esse interesse é

devido seu potencial na produção de etanol, produzindo cerca de 1,9 mol de etanol por mol de glicose, com velocidade três a quatro vezes maior que *Saccharomyces cerevisiae*. Nem sempre têm sido consideradas as condições de cultivo e os processos fermentativos para determinar os parâmetros que um determinado microrganismo necessita para uma ótima síntese dos produtos de fermentação (ERNANDES & GARCIA-CRUZ, 2009). No Brasil, o processo fermentativo de produção de etanol é realizado em dois regimes: descontínuo alimentado ou contínuo. Eles são utilizados a fim de manter baixos teores de substrato no meio, evitando, assim, a inibição do cultivo pelo substrato e, em decorrência, aumentando a produtividade em virtude da redução do tempo de processo. Em sistema contínuo, diferentes arranjos, envolvendo várias dornas de fermentação com reciclo de células, são empregados (SILVEIRA & MOLINA, 2002).

Ao final da fermentação, em regime descontínuo alimentado, as células de levedura são separadas do mosto por centrifugação e submetidas a baixos valores de pH, a fim de eliminar bactérias contaminantes. Esse procedimento, baseado no tradicional processo em batelada *Melle-Boinot*, permite a reciclagem de cerca de 80% da massa celular para uma nova fermentação. O mosto fermentado e isento de leveduras, referido como vinho, contendo teores de etanol da ordem de 10% (p/v), é encaminhado para seção de tratamento final onde a separação do álcool etílico e de subprodutos é feita por destilação, processo térmico baseado nos diferentes pontos de ebulição e pressões de vapor de uma mistura de componentes voláteis (SILVEIRA & MOLINA, 2002).

### 3.3.2 Leveduras

As leveduras são agentes da fermentação alcoólica. Existe um numero elevado de espécies desses microrganismos que se diferenciam de diversas maneiras: aspecto, propriedades, reprodução e pela maneira de transformar o açúcar (HASHIZUME, 1983).

As leveduras são fungos geralmente unicelulares. Seu tamanho varia bastante, de 1-5µm de diâmetro a 5-30µm de comprimento. Sua forma também é muito variável, desde elementos esféricos até células elípticas bastante alongadas, quase filamentosas. Suas células apresentam as características dos seres eucarióticos. Tem membrana

citoplásmica lipoproteica, cuja principal função é regular as trocas com o meio ambiente. Possuem, também, uma parede celular rígida, constituída principalmente de dois polissacarídeos: manana e glucana; além disso, contem proteínas e lipídeos. No citoplasma, encontram-se, além dos componentes usuais em solução, um ou mais vacúolos, delimitados por uma membrana; *mitocôndrias* – estruturas membranosas relacionadas com o processo respiratório; reticulo citoplasmático; ribossomos e, frequentemente [SIC], grânulos de material de reserva – hidratos de carbono, gorduras ou proteínas. O núcleo, tipicamente eucariótico, e envolvido por uma membrana nuclear (LIMA, 1975).

As leveduras contribuíram para o processo científico, constituindo modelo celular de escolha na elucidação dos processos bioquímicos e metabólicos fundamentais das células vivas eucarióticas. Esta escolha não foi surpreendente, pois as leveduras podem ser produzidas em muita quantidade pelo uso da biotecnologia nas indústrias de pão e cervejeiras (CARVALHO *et al.*, 2006).

Muitos estudos foram realizados sobre as leveduras vínicas desde que Pasteur, em 1866, demonstrou que elas eram responsáveis pela transformação dos açúcares do mosto em etanol. A partir de então, ficou claro que as fermentações alcoólicas realizadas espontaneamente não são devidas à ação de uma única levedura e sim que se trata do resultado da ação combinada de diversas espécies de leveduras que crescem em diferentes proporções ao longo de uma fermentação. De qualquer maneira, dentro das espécies de leveduras que podem ser encontradas em uma fermentação alcoólica, percebeu-se que a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é a mais apta a consumir todos os açúcares fermentáveis e, portanto, assegurar o processo (GUIMARÃES, 2005).

As leveduras selecionadas têm sido utilizadas com excelentes resultados em muitos países, onde os produtos finais obtidos são de qualidade mais uniforme que os produzidos por fermentações espontâneas. Portanto, a seleção da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma fermentação completa, assim como para melhorar as características finais do vinho. Ainda que seja evidente que a qualidade do vinho esteja associada à variedade e qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que proporcionem um toque de distinção ao produto final obtido (GUIMARÃES, 2005). Assim, com a finalidade de melhorar os parâmetros de qualidade e garantir uma melhor padronização de suas características, sugere-se utilizar

leveduras selecionadas que otimizarão o processo fermentativo o que tornará o vinho obtido mais competitivo no mercado. À medida que esses procedimentos são aplicados, deixa-se de lado o empirismo e permite-se obter um vinho de melhor qualidade a cada safra (Embrapa Uva e Vinho, 1987; AQUARONE, 2001).

Casimiro *et al.* (2000) avaliaram 24 linhagens industriais de *Saccharomyces cerevisiae* na produção de fermentado de caju, sendo oito utilizadas em vinificação e 16 em panificação. As linhagens foram avaliadas quanto à produção de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) e indol, e quanto à tolerância ao dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e ao etanol. O suco de caju foi clarificado com gelatina comestível na concentração de 1,5 g/L, com o objetivo de reduzir o teor de polpa e a concentração de taninos no mosto. O teor de açúcar do suco foi corrigido para 16 °Brix pela adição de sacarose. A fermentação foi conduzida a 18 °C por 15 dias e os fermentados obtidos apresentaram grau alcoólico entre 11,19 e 11,68 °GL. Todas as linhagens utilizadas em panificação são produtoras de H<sub>2</sub>S. Das oito linhagens utilizadas em vinificação apenas duas foram consideradas promissoras para produção do fermentado de caju.

Mélo et al. (2007) identificaram 17 espécies de leveduras presentes na polpa dos frutos do umbuzeiro, de um total de 54 isoladas. Das leveduras identificadas nove foram utilizadas na elaboração do "vinho" de umbu, sendo que as espécies Candida spadovensis, Candida valida, Candida tenuis-like e Candida florica-like foram as que geraram a bebida com maior teor alcoólico (10 °GL) e destas a Candida florica-like teve as melhores notas na análise sensorial. Em outro trabalho Mélo et al. (2005) utilizaram duas espécies de leveduras isoladas da polpa do umbu, Kluyveroyces marxianus e Kloeckera japonica e uma Saccharomyces cerevisiae comercial e observaram que esta última produziu o fermentado em menor tempo e com menor concentração de açúcar residual.

### 3.4 Dados de comercialização de vinhos

A vitivinicultura tem sido difundida no Brasil visando um crescimento de produção e valorização do vinho nacional. Uma grande variedade de frutas pode ser usada para a elaboração de mostos que podem, posteriormente, ser submetidos à fermentação

alcoólica pela ação das leveduras. No Brasil, ainda são raros os estudos que fazem associação entre parâmetros de qualidade físicos e químicos de vinhos com respostas obtidas junto a consumidores nacionais, de modo a gerar parâmetros de qualidade que reflitam as expectativas dos consumidores brasileiros de vinho (BIASOTO, 2008).

Segundo Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN, 2014) foi comercializado 15,3 milhões de litros de vinhos finos ao longo do ano 2013, um crescimento de 6,5% sobre os 14,2 milhões de litros comercializados no ano de 2012. Enquanto que para vinhos de mesa a comercialização foi de 181,0 milhões de litros no ano de 2013, um crescimento de 4,1% sobre os 173,6 milhões de litros comercializados no ano de 2012. O balanço considera apenas os volumes comercializados pelas empresas localizadas no Rio Grande do Sul, estado que responde por 90% da produção brasileira.

A importação de vinhos pelo Brasil diminuiu cerca de 9,20% em 2013 (Tabela 3). De janeiro a dezembro do ano 2013, entraram no país 72,2 milhões de litros de vinho estrangeiro, vindos de 30 países, ante 79,5 milhões de litros que ingressaram no Brasil nos 12 meses de 2012, originados de 32 nações. Sendo o ano de 2012 o maior volume de vinho já importado pelo Brasil, superando o antigo recorde de 77,6 milhões de litros verificado em 2011. Desde 2004, quando 39 milhões de litros de vinho estrangeiro entraram no Brasil, o crescimento nas importações quase dobrou, somando 93%. Com qualidade cada vez mais reconhecida, os vinhos e sucos brasileiros estão ganhando espaço nas taças dos consumidores. Acredita-se que o decréscimo de importação de vinhos pelo Brasil se dá pelo incremento da qualidade dos vinhos brasileiros. (IBRAVIN, 2013).

O ano também foi positivo para as exportações. Completando uma década em 2014, o projeto *Wines of* Brasil, desenvolvido em parceria com a Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos (Apex-Brasil), alcançou recorde de comercialização em julho, atingindo crescimento de 257% em relação ao mesmo período do ano passado (IBRAVIN, 2014).

Tabela 3 Principais países de origem das importações com seus respectivos volume de milhões de litro.

	Chile	Argentina	Itália	França	Portugal	Outros	Total
2004	11,2	11,2	7,2	2,8	4,2	2,5	39,2
2005	11,7	12	7,1	2,6	5,2	2,4	40,9
2006	15,2	13,7	9,4	3,7	6	3	50,9
2007	18,9	16,2	10,4	3,8	6,8	4,7	60,9
2008	18,7	15,4	10,8	3,5	6,3	3,2	57,9
2009	22,5	14,8	9,1	3,5	5,9	3,3	59,1
2010	26,5	18,1	13	4,3	8,1	5,4	75,3
2011	26,7	17,7	13,2	5,1	8,6	6,3	77,6
2012	30,3	15,6	11,6	5	9,8	7,2	79,5
2013	28,4	13,4	9,2	4,7	9,3	7,2	72,2

Fonte: Ibravin (2014)

O controle de qualidade para elaboração de vinho deve ser muito rígido desde a escolha dos frutos até o tempo de envelhecimento. Os vinhos podem ser classificados com relação ao °Brix final (licoroso, macio, doce, suave e seco); a coloração (branco, rose e tinto); ao tempo de maturação (verde e envelhecido); e outras classificações (EVANGELISTA *et al.*, 2005). De um modo generalizado, as operações envolvidas no processo de fabricação de vinhos são: extração e preparo do mosto; fermentação alcoólica; trasfega; clarificação e conservação. Em nível industrial, estas operações são aplicadas na produção do vinho de uva (CORAZZA *et al.*, 2001).

#### 3.5 Bebidas Alcóolicas

A elaboração de bebidas alcóolicas é um dos mais antigos processos que acompanham a civilização, tendo, ao que tudo indica, sido iniciada com a produção de vinho e cerveja há milhares de anos. Essas bebidas, bem como outras surgiram com a própria evolução da sociedade, tiveram a sua tecnologia de produção melhorada à medida que se tornaram uma fonte extensiva de geração de capital e trabalho (VENTURINI FILHO, 2010).

Além do aspecto financeiro, há toda uma cultura e tradição por trás da produção de bebidas, sendo algumas caracterizadoras de suas regiões produtoras; como por exemplo, as cervejas holandesas, belgas e alemãs; os vinhos europeus provenientes da França, Itália, Portugal, Alemanha e Espanha; os maltes escoceses, que geram excelentes uísques; da bebida destilada mais produzida no mundo, a cachaça ou aguardente brasileira. Há uma tendência de se buscar, a cada dia, novas tecnologias que tragam além de maior produtividade, melhoria na qualidade do produto final (VENTURINI FILHO, 2010).

A produção de vinhos tem uma dimensão global, não se limitando às fronteiras europeias. Hoje em dia é possível apreciar bons vinhos oriundos de países como o Chile, o Brasil, os EUA (Califórnia) ou o Canadá (Colômbia Britânica), por exemplo. Com a diversificação dos pontos de produção, cresce também a oferta, ou seja, aumenta a concorrência entre produtores (POEJO, 2009).

A Food and Agriculture Organization (FAO) tem mostrado que a comercialização mundial de produtos derivados de frutas quintuplicou nos últimos quinze anos. Entre os países em desenvolvimento, o Brasil destaca-se por ter a maior produção, apesar de a mesma está concentrada em poucas espécies frutíferas, as quais são cultivadas e processadas em larga escala (BRUNINI, et al. 2002). Na Europa, frutas ou produtos derivados com aroma e sabor exóticos estão ganhando mercado, assim, as frutas tropicais brasileiras se destacam pela sua importância (ARAÚJO, et al.; 2011).

Teoricamente, qualquer fruto ou vegetal comestível, que contenha umidade suficiente, açúcar e outros nutrientes para as leveduras, pode servir como matéria-prima para a produção de vinhos (VOGT & JAKOB, 1986). O vinho é uma bebida alcoólica fermentada por difusão, que é obtido genericamente pela fermentação alcoólica do suco de fruta natural madura, sendo a fruta principal a uva (*Vitis vinífera*). Segundo a Lei n. 7.678, decretada pelo Congresso Nacional em 8 de novembro de 1988:

Art. 3º Vinho é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura.

Parágrafo único. A denominação vinho é privativa do produto a que se refere este artigo, sendo vedada sua utilização para produtos obtidos de quaisquer outras matérias-primas (BRASIL, 1988).

Bebidas com graduação alcoólica produzidas a partir de outras frutas recebem, a denominação de fermentado de frutas, segundo o Decreto n. 2.314, de 04 de setembro de 1997, do Congresso Nacional (BRASIL, 1997). Assim sendo, denomina-se fermentado de frutas "a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% em volume, a 20°C, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura" (BRASIL, 1997).

Ainda de acordo com o Decreto n. 2.314/1997, o "fermentado de fruta pode ser adicionado de açúcares, água e outras substâncias previstas em ato administrativo complementar, para cada tipo de fruta" (BRASIL, 1997). O fermentado de fruta pode ser adicionado de dióxido de carbono, e neste caso em particular, ele será denominado fermentado de fruta gaseificado (BRASIL, 1997). Outras denominações previstas no Decreto n. 2.314/1997, são o fermentado de fruta licoroso e o fermentado de fruta composto. De acordo com o referido decreto, essas bebidas são definidas como:

Fermentado de fruta licoroso é o fermentado de fruta, doce ou seco, com graduação alcoólica de 14 a 18% em volume, a 20°C, adicionado ou não e álcool etílico potável de origem agrícola, caramelo e sacarose.

Fermentado de fruta composto é a bebida com graduação alcoólica de 15a 20% em volume, a 20 °C, obtido pela adição ao fermentado de fruta, de macerados ou extratos de plantas amargas ou aromáticas, adicionado ou não de álcool etílico potável de origem agrícola, caramelo e sacarose (BRASIL, 1997).

Diversas frutas têm boas características sensoriais para produtos fermentados e, aliada à necessidade de se ampliar as suas produções e consumo em diversos países, a produção destes fermentados, tem sido bastante pesquisada e incentivada. Muitos autores publicaram estudos sobre bebidas fermentadas de frutas tropicais e subtropicais como, por exemplo, fermentado de caju (CORAZZA *et al.*, 2001, TORRES NETO *et al.*, 2006 e ARAÚJO, *et al.*; 2011); fermentado de laranja (CORAZZA *et al.*, 2001); fermentado de banana (ARRUDA *et al.*, 2007); fermentado de ata ou pinha (MUNIZ *et al.*, 2002); fermentado de ciriguela (MUNIZ *et al.*, 2002); fermentado de mangaba (MUNIZ *et al.*, 2002); fermentado de camu-camu (MAEDA e ANDRADE, 2003); fermentado de acerola (SANTOS *et al.*, 2005); dentre outros.

#### 3.6 Bebida Fermentada de Jabuticaba

As bebidas fermentadas apresentam-se como alternativas no desenvolvimento de tecnologias para a obtenção de produtos derivados com maior período de vida útil e maior valor agregado (Muniz *et al.*, 2002). A transformação do fruto em bebida fermentada, além de garantir benefícios econômicos, também promove um aproveitamento efetivo dos compostos com atividade antioxidante, pois o fruto inteiro é utilizado.

Segundo Silva *et al.* (2008), as espécies *Myrciaria cauliflora e M. jaboticaba* produzem frutos apropriados tanto para a indústria como para consumo *in natura* devido às suas características. Entretanto, em algumas regiões tipicamente produtoras de fermentados alcoólicos de jabuticaba, como as cidades de Varre-sai/RJ e Hidrolândia/GO é a falta de conhecimento tecnológico e a precariedade nas condições de produção, que podem prejudicar a qualidade do produto final. Bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores devido à tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (MUNIZ, *et al.*; 2002).

A jabuticaba tem sido utilizada para produção de compotas, licores, destilados e bebidas fermentadas, como uma alternativa para evitar perdas pós-colheita (NAVES *et al.*, 2011). Seu potencial aproveitamento industrial se reflete por apresentar alto teor de carboidratos na polpa, principalmente na forma de açúcares solúveis, além de ser uma cultura que desperta grande interesse entre os produtores rurais devido a sua alta produtividade e rusticidade.

Na última década, a produção de vinho de jabuticaba tem crescido e o sucesso entre os consumidores aumentou. Desde o ano 2000, a Vinícola Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia/GO, investe nesta produção, atualmente a vinícola produz por ano 60 mil litros de fermentado de jabuticaba (tinto, branco e rosado). (Vinícola Jabuticabal, 2013). A Fazenda e Vinícola Jabuticabal é considerada uma das maiores produtoras de jabuticaba do Brasil e do mundo, com mais de 38 mil pés, sendo a única a aproveitar o fruto, transformando-o em diversos produtos industrializados, sendo destinado apenas 5% da produção para elaboração de fermentado de Jabuticaba. A fazenda produz

cerca de 40 toneladas de fruta por safra, produzindo uma média de 20 a 25 mil garrafas de fermentado de jabuticaba por safra, dependendo da produção dos pomares. A Fazenda e Vinícola Jabuticabal gera cerca de 40 a 60 empregos diretos e indiretos, tanto na produção de fermentados como turismo na fazenda, e durante o período de entressafra são 10 empregos mensais gerados. Toda a produção de fermentados foi comercializada no último ano (Vinícola Jabuticabal, 2013).

Silva *et al.* (2008) avaliaram a composição química de fermentados de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) branco e tinto, ambos nas versões seco e suave, de 29 produtores artesanais produzidos nas safras de 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006. Os resultados mostraram que a maior parte das amostras das safras de 2002 a 2005 não se enquadraram nos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para vinhos de mesa segundo a Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1998. Após o início da implantação de sistemas da qualidade e de algumas técnicas enológicas, a safra de 2006 apresentou, teor alcoólico dentro dos limites estabelecidos pelo Decreto nº 2.314, de 04 de setembro de 1997. A caracterização da bebida fermentada de jabuticaba, utilizando leveduras selecionadas, encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4 Análise físico-química de bebida fermentada de jabuticaba Sabará obtida com *S. cerevisiae* selecionada

Características	Concentração
Álcool etílico (°GL)	11
Acidez volátil (meq.L <sup>-1</sup> )	4,0
Acidez total (meq.L <sup>-1</sup> )	97,75
рН	3,63
Acidez titulável (% de ácido cítrico)	0,64
Sólidos Solúveis (%)	3,63
Açúcares redutores (glicose) (%)	1,17
Açúcares não redutores (sacarose) (%)	1,31
Açúcares totais (%)	2,56
Pectina total (mg/100g)	263,95
Pectina solúvel (mg/100g)	141,78
Tanino (%)	1,25
Proteína (%)	0,095

Fonte: Venturini Filho (2010)

Os principais atributos sensoriais dos vinhos, tais como a cor, o sabor e o aroma, resultam da presença de inúmeros compostos orgânicos provenientes da fruta utilizada em sua fabricação, tais como compostos fenólicos e ácidos orgânicos. Também resultam de transformações químicas que ocorrem durante a sua elaboração e envelhecimento (FORTES, 2010).

A fermentação alcoólica leva a uma série de subprodutos. Além de etanol, estão os compostos carbonílicos, ésteres álcoois, ácidos e acetais, todos eles influenciam a qualidade do produto acabado. Os níveis da composição e concentração dos subprodutos pode variar amplamente (ng L<sup>-1</sup> até centenas de mg L<sup>-1</sup>) (DUARTE, *et al.*, 2010b). As leveduras durante a fermentação do mosto produzem, como resultado do seu metabolismo, uma grande variedade de compostos ao lado do etanol, o principal produto. Os principais fatores que afetam estes produtos são a espécie da levedura, o tipo de mosto e as condições de fermentação. Estes produtos são liberados durante a fermentação e contribuem para o sabor do vinho, de maneira que a qualidade do vinho depende do tipo destes compostos e suas concentrações.

#### 3.7 Compostos Fenólicos

Os polifenóis ou compostos fenólicos são agentes redutores e juntamente com outros, tais como a vitamina E, vitamina C e carotenoides, protegem os tecidos do corpo contra o estresse oxidativo. Comumente referido como antioxidantes podem prevenir várias doenças associadas a esse estresse, como câncer, doenças cardiovasculares, inflamação e outros. Os polifenóis são os mais abundantes antioxidantes na nossa dieta. Para entender o seu impacto sobre saúde humana, é essencial conhecer a natureza dos principais polifenóis ingeridos, a sua origem na dieta, as quantidades em diferentes dietas e os fatores que fazem o controle de sua biodisponibilidade (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais, sendo os flavonoides e derivados e os ácidos fenólicos (ácidos

benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas. Os flavonoides são os polifenóis mais abundantes na nossa dieta. Eles podem ser divididos em várias classes de acordo com o grau de oxidação do oxigênio: flavonas, flavonóis, isoflavonas, antocianinas, proantocianidinas e flavanonas (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000).

Os flavonoides são os que apresentam a estrutura química descrita como  $C_6$ - $C_3$ - $C_6$ . Os não flavonoides consistem em dois grupos, os derivados do ácido hidroxibenzóico e os derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 2) (ANGELO *et al.*, 2007). Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico, os quais apresentam a estrutura comum  $C_6$ - $C_1$ ; enquanto os ácidos hidroxicinâmicos apresentam uma cadeia lateral com três carbonos ( $C_6$ - $C_3$ ), como os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sinápico (MELO; GUERRA, 2002; BURNS, 2001; BRAVO, 1998; BALASUNDRAM, 2006).

Figura 2 Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).

**Fonte:** (Ângelo *et al.*, 2007)

A distribuição dos flavonoides nos vegetais depende de diversos fatores, de acordo com a ordem e família do vegetal, bem como da variação das espécies. Os

flavonoides são formados da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico) e do ácido acético. O grupo dos flavonoides é também conhecido como polifenólicos e geralmente ocorrem em plantas na forma de glucosídeos, sendo uma das classes de substâncias responsáveis pela atribuição do perfil sensorial de frutas, pela atribuição do "corpo" característico. (AHERNE; O'BRIEN, 2002; BOBBIO; BOBBIO, 1989; CORDENUNSI, et al. 2002; FENNEMA, 2010; SLUIS et al., 2001).

As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha a azul, são as fontes mais importantes de compostos fenólicos em dietas alimentares, dos quais se conhecem mais de 4000 estruturas com atividades biológicas (AHERNE; O'BRIEN, 2002; MIRANDA, 2000). A estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos (anel A e B) unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (anel C) (Figura 3) Variações na substituição do anel C resultam em importantes classes de flavonoides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas. Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonoides (ANGELO; JORGE, 2007; HERTOG *et al.*, 1993; PETERSON; DWYER, 1998).

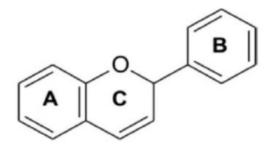


Figura 3 Estrutura química genérica dos flavonoides.

Fonte: (Ângelo et al., 2007)

Entre os compostos fenólicos encontrados nos vegetais estão as antocianinas, que são pigmentos solúveis na água, que dão cores as flores, frutos e folhas, variando entre laranja, vermelho e azul. Sendo a casca da jabuticaba altamente pigmentada, encontram-se altos teores desses compostos. Para as antocianinas, são atribuídos apenas efeitos benéficos como atividade antioxidante, por exemplo. As antocianinas são encontradas na forma de

glicosídeos, facilmente hidrolisados por aquecimento com ácido clorídrico a 2 M, em açúcares e agliconas, denominadas antocianidinas. As antocianidinas têm como estrutura básica o cátion 2- fenilbenzopirilium (Figura 4), também denominado flavilium (BOBBIO & BOBBIO, 2003).

Cátion 2- fenilbenzopirilium (flavilium)

Figura 4 cátion 2- fenilbenzopilium

Fonte: BOBBIO & BOBBIO, (2003)

Na estrutura das antocianinas existe sempre uma molécula de açúcar ligado ao carbono da posição 3 da antocianidina, exceto no caso das desoxiantocianinas, quando o açúcar geralmente está ligado na posição 5. Poucas são as antocianinas conhecidas, glicosadas, na posição 7; os açúcares nas posições 5 e 7 são na maioria glucose. Os monosídeos encontrados na natureza são: 3-galactosídeos, 3-xilosídeos, 3-arabinosídeos e 3- ramnosídeos (BOBBIO & BOBBIO, 2003). Dentre as estruturas de antocianinas conhecidas, seis são encontradas com maior frequência em vegetais e seus nomes derivam das espécies das quais foram isoladas pela primeira vez, pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonididina, petunidina e malvidina (Figura 5). As três primeiras diferem entre si no grau de hidroxilação no anel B e as três seguintes são derivados metilados encontrados em maior proporção nas flores do que em frutos, sendo que a hidroxila na posição 4,, geralmente, não é metilada (GROSS, 1987).

Figura 5 Antocianinas encontradas em alimentos

Fonte: BOBIO & BOBBIO, (2003)

Quanto aos taninos sabe-se que podem interagir com proteínas alimentares e formar complexos insolúveis, podendo provocar danos à saúde, como baixa digestibilidade proteica, inibição de enzimas, comprometimento do crescimento e outros, apesar de também ser conferidos a eles, vários efeitos benéficos. Quimicamente, os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham molécula polihidroxifenóis ou seus derivados. Os pertencentes ao primeiro grupo são denominados taninos hidrolisáveis que incluem os galitaninos e os elagitaninos (Figura 6), polímeros dos ácidos gálico e elágico. Outros tipos de taninos encontrados em maior quantidade e com maior importância em alimentos, são denominados taninos condensados. Têm estrutura semelhante à dos flavonoides. A presença de pequenas quantidades desses taninos em frutos confere a esses produtos uma qualidade desejável que é dar 'corpo'. Por isto é de extrema importância à caracterização desse constituinte a fim de dar segurança ao uso tanto do fruto inteiro como de suas frações na indústria alimentícia. O conhecimento destes constituintes químicos do fruto jabuticaba e de suas frações poderá contribuir para um melhor aproveitamento do fruto, seja na indústria alimentícia e/ou cosmética, promovendo a sua valorização econômica (LIMA, et al.; 2008).

Figura 6 Formas estruturais do ácido gálico e do ácido elágico.

Fonte: BOBIO & BOBBIO, (2003)

Para que as propriedades desses compostos sejam asseguradas, as frutas devem ser protegidas, mantendo seu tecido livre de lesão e os produtos manufaturados serem armazenados ao abrigo da luz. Os antioxidantes são sensíveis à luz em razão das suas duplas ligações alternadas (ARAÚJO, et al.; 2011). Alguns compostos fenólicos não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais e sim sob a forma de polímeros, na qual estão os taninos e as ligninas. Os taninos são compostos de alto peso molecular, que conferem ao alimento a sensação de adstringência, e classificam-se em dois grupos baseados em seu tipo estrutural: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. A catequina e a epigalocatequina são os compostos fenólicos majoritários do vinho branco, pois estão presentes em maior quantidade no extrato da casca da uva branca. No vinho tinto, a catequina e o ácido gálico são os compostos fenólicos em maior abundância. Independentemente do vinho, a predominância desses compostos pode sofrer alterações de acordo com a procedência e o tipo da uva (ARAÚJO, et al., 2011).

#### 3.7.1 Capacidade Antioxidante

Segundo Mamede & Pastore (2004), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está diretamente ligada à sua estrutura química, a qual pode estabilizar radicais livres. Esses participam de processos degenerativos celulares que provocam a

aterosclerose, câncer e outras doenças. O vinho tinto pode ser mais eficaz no combate à essas doenças, provavelmente devido ao maior número de compostos fenólicos como a catequina e o ácido gálico. A catequina constitui o polifenol mais abundante do vinho tinto, mas sua atividade antioxidante é menor que a da quercetina e do ácido gálico (não-flavonoide).

Kelebek *et al.* (2009) estudaram os compostos fenólicos do suco e do vinho de laranja. Um total de 13 compostos fenólicos foram identificados e quantificados no suco e vinho de laranja, incluindo os ácidos hidroxibenzóico (2), ácidos hidroxicinâmicos (5) e flavononas (6). A quantidade total de compostos fenólicos foi de 317,36 mg/L no suco de laranja e 162,68 mg/L no vinho elaborado. Os resultados indicaram que a atividade antioxidante total e compostos fenólicos do suco foram maiores que do vinho de laranja. Para todos os compostos fenólicos identificados nos produtos analisados, hesperidina, naruritina e ácido ferúlico foram os compostos fenólicos mais abundantes. Quantitativamente, os principais ácido orgânico e açúcar encontrados foram ácido cítrico e sacarose nas amostras, respectivamente.

Rupasinghe & Clegg (2007) reportaram a capacidade antioxidante total (TAC) e o conteúdo fenólicos totais (TPC) dos vinhos de frutas não tradicionais. Dez tipos de vinhos de fruta (maçã, groselha preta, mirtilo, cereja, amora, sabugueiro, pêssego, pera, ameixa e framboesa) e quatro tipos de uva de vinho (tinto, *Chardonnay*, *Riesling* e *icewine*) foram examinadas neste estudo. Os vinhos elaborados a partir de bagas, tais como sabugueiro, o mirtilo, framboesa e amora tinha uma TAC maior do que os vinhos elaborados a partir de frutas como maçã e pera. Com base nos TPC, os vinhos podem ser classificados em três grandes grupos: (i) elevada em fenólicos totais: vinho tinto (Cabernet), vinho de sabugueiro, vinho de mirtilo e vinho de groselha preta, (ii) moderadamente elevados de fenólicos totais: vinho de framboesa, de cereja, de amora, de ameixa e vinho *icewine* (uva), e (iii) baixa em compostos fenólicos totais: vinho de maçã, de pera, de pêssego, vinho branco (*Chardonnay*) e vinho *Riesling*.

Na elaboração de bebidas feitas a partir de fermentação alcoólica, outro fato a se considerar é a condensação de alguns compostos fenólicos com o acetaldeído produzido pela *Saccharomyces cerevisiae*, alterando cor, adstringência e atividade antioxidante do produto (LOPEZ-TOLEDANO *et al.*, 2004).

Segundo Zardo *et al.* (2009), os compostos fenólicos apresentam considerável interesse tecnológico no processamento de sucos, fermentados e sidra, graças à sua influência nas características sensoriais do produto final (cor, estrutura, sabores amargos e adstringentes, aromas e limpidez). Paz *et al.* (2007) relataram que os compostos fenólicos proporcionam cor, têm sabor adstringente, possivelmente são a causa dos odores picantes e têm correlação positiva com o colesterol HDL presente no plasma sanguíneo inibindo a oxidação do colesterol LDL, pela sua ação antioxidante.

Estudos mostram que o consumo de vinho traz muitos benefícios para a saúde humana devido à presença de determinados compostos com propriedades reconhecidamente benéficas. Dessa forma, devido à crescente preocupação com a saúde humana, novas pesquisas sobre compostos com atividade antioxidante têm aumentado de forma que, a cada dia, são descobertos novos alimentos ou produtos, nos quais apresentam capacidade de combater os radicais livres, ou seja, inibir e/ou diminuir os processos oxidativos no organismo, principalmente pela presença e atividade dos compostos presentes.

Barros *et al.* (2010), analisaram amostras de fermentados tintos e brancos secos de jabuticaba e uva para verificar a atividade antioxidante dos compostos presentes, e constataram que o fermentado tinto de jabuticaba apresentou boa atividade antioxidante em todos os volumes utilizados, sendo o seu valor máximo de inibição oxidativa 65,99% a 200 μL. O fermentado branco de jabuticaba apresentou a percentagem de inibição da oxidação semelhante a do vinho tinto de jabuticaba, atingindo até 57,7% a 200 μL, o que indica que este tipo de vinho também apresenta boa capacidade de impedir o dano oxidativo celular e minimizar a toxicidade causada pelos radicais livres. O BHT (hidroxitolueno butilado) obteve valores superiores, no entanto sem diferença estatisticamente significativa quando comparado aos vinhos de jabuticaba. Entretanto este estudo não identificou e/ou quantificou os compostos responsáveis pela atividade antioxidante, como também os compostos voláteis presente nos vinhos de jabuticaba.

Os principais atributos sensoriais dos vinhos, tais como a cor, o sabor e o aroma, resultam da presença de inúmeros compostos orgânicos provenientes da fruta utilizada em sua fabricação, tais como compostos fenólicos e ácidos orgânicos. Também

resultam de transformações químicas que ocorrem durante a sua elaboração e envelhecimento (FORTES, 2010).

#### 3.8 Compostos Voláteis

Os compostos voláteis são os responsáveis pelo sabor característico dos alimentos e estão presentes em quantidades extremamente diminutas, além de diferirem na estrutura química e serem termolábeis (JANZANTTI, 2004). No aroma existem compostos de impacto e compostos contribuintes, porém os de impacto que irão predominar no aroma característico do alimento (ARAÚJO, *et al.* 2011). Pode-se definir aroma como a sensação percebida por 2 sentidos: gosto e olfato. É produzida quando se ingere o alimento e considerada um dos atributos mais importantes dos alimentos e bebidas (SIMÕES, 2008).

A pesquisa dos constituintes voláteis do sabor é de grande complexidade, pois uma leve elevação da temperatura pode acarretar reações químicas, tais como rearranjos, hidrólise, ciclizações, entre outras, modificando assim a composição original da amostra (ARAÚJO, *et al.* 2011).

Diferentes bebidas podem ser diferenciadas sensorialmente, porém estudos comparativos qualitativos e quantitativos de substâncias em diferentes bebidas alcoólicas mostram que, embora alguns compostos sejam peculiares de uma bebida particular ou tipo de bebida, em geral, os compostos responsáveis pelos sabores característicos, são bastante similares, não importando a natureza da bebida. A maior diferença parece ser devido à concentração dos compostos voláteis nas diferentes bebidas, à contribuição de cada composto ao aroma total, as interações de odor e à alteração do *threshold* dos compostos quando o etanol está presente (JANZANTTI, 2004).

Nem sempre os compostos voláteis produzidos na fermentação têm qualidades sensoriais positivas. As sensações olfativas desagradáveis podem ter origem na matéria-prima de má qualidade, no processo fermentativo ou durante o envelhecimento. Estes defeitos também podem ser oriundos de coadjuvantes enológicos como taninos, gelatinas e

materiais filtrantes. Os defeitos olfativos relacionados à fermentação são normalmente atribuídos à formação de compostos com enxofre (PAULA, 2011).

A detecção de culturas capazes de formar compostos sulfídricos pode ser feita em meios de cultura sólidos impregnados com sulfito de bismuto, utilizado com indicador, onde as cepas de *Saccharomyces*, produtoras destes compostos, promovem a descoloração do meio. Outros fatores que afetam a formação de metabólitos sulfídricos são a presença de moléculas precursoras, composição do mosto quanto à acidez, níveis de nitrogênio amínico, ácido pantotênico, piridoxina, presença de metais e temperatura de fermentação (PAULA, 2011).

Duarte *et al.* (2010b) realizaram um estudo comparativo de compostos voláteis de bebidas fermentadas a partir de cacau, cupuaçu, gabiroba, jabuticaba e umbu e a utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) para determinação dos compostos. A análise de GC-MS permitiu a identificação e quantificação de oitenta e três compostos voláteis, sendo os compostos 1- hexanol e (Z)-3-hexen-1-butanol os mais frequentemente detectados nas bebidas fermentadas. Foram ainda quantificados nove compostos: acetaldeído, 1,1 dietoxietano, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol e 2-feniletanol. Dentre todos as bebidas fermentadas elaboradas, cacau e jabuticaba tiveram os maiores teores de metanol (195 mg/L e 181 mg/L, respectivamente), sendo que a aceitabilidade sensorial apresentou os maiores valores para as bebidas de cacau (70%) e umbu (68%). A Tabela 5 apresenta algumas classes de compostos voláteis e seus respectivos aromas, bem como seus limiares de percepção.

Tabela 5 Classes de compostos de aromas e seus limiares de percepção de odor

Classe	Composto	Aroma	Limiar de percepção (ppb)
Álcoóis	(R) 2-metil-butanol	fermentado, gorduroso	ND
	(R) 2-metil-butanol	fresco, éter	ND
	Trans-2-hexeno-1-ol	fruta, mais doce que o cis	400
Aldeídos	Acetaldeído	pungente, nota de noz, alcoólico quando diluído	15-120
	(S) 2-metil-butanal	pungente, fruta, fresco	ND
	Hexanal	fruta não amadurecida	4,5-5,0
	n-octanal	amargo, fruta cítrica	0,7
Ácidos carboxílicos	(S) ácido-2- metil- butanoico	fruta, doce	ND
	(R) ácido-2-metil- butanoico	queijo, adocicado	ND
Ésteres	Butanoato de etila	fruta remanescente de abacaxi	1
	Acetato de etila	éter, conhaque	5000
	Propionato de etila	fruta lembrando rum, doce	10
	Valerato de etila	forte, fruta, maçã	1,5-5,0
	Octanoato de etila	fruta, doce	15
	Dodecanoato de etila	gorduroso, oleoso, floral	2000

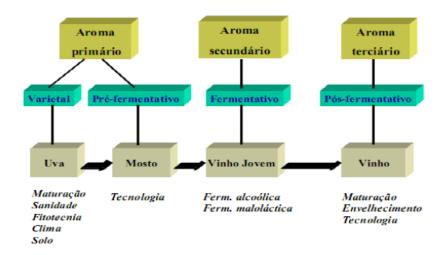
Fonte: adaptado de Pinheiro & Pastore (2003)

ND: não detectado

O aroma de um vinho é muito complexo devido ao elevado número de compostos intervenientes como resultado terminal de uma longa sequência biotecnológica, por um lado, e da grande variabilidade de concentrações, por outro, podendo estas variar desde poucos nanogramas por litro até muitos miligramas por litro. Acresce ainda o fato de cada composto apresentar o seu próprio limiar de percepção olfativo que é muitas vezes condicionado pelo conjunto dos outros compostos presentes na solução hidroalcoólica que é o vinho (OLIVEIRA, 2000).

Diversas mudanças aromáticas ocorrem no mosto durante a fermentação. O processo de fermentação vai transformando de forma gradativa a uva em elementos do vinho, que são substâncias de natureza aromática variada que compõem os aromas secundários, dos quais três se destacam: de fermento; láctico e amílico (ARAÚJO, *et al.*; 2011). Durante a fermentação alcoólica, o principal produto é o etanol. Os demais compostos voláteis são os ésteres, os álcoois, os ácidos graxos, os aldeídos e outros, geralmente encontrados em pequenas quantidades e muitas vezes difíceis de serem determinados e quantificados, apesar de serem extremamente potentes quanto a sua contribuição ao aroma e sabor. Álcoois superiores (óleo fusel), ácidos graxos e ésteres

formam quantitativamente os maiores grupos presentes nas bebidas alcoólicas, sendo que os compostos mais abundantes são os álcoois superiores (JANZANTTI, 2004).



**Figura 7** Sequência tecnológica da produção de vinho e sua relação com os diferentes tipos de aroma.

Fonte: Oliveira (2000)

Devido à composição dos constituintes do aroma de um alimento ser bastante complexa, a pesquisa do sabor torna-se também difícil, exigindo instrumentação moderna e sofisticada. As principais etapas de pesquisa do sabor são: isolamento e concentração dos compostos voláteis, separação e identificação de cada composto por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, determinação da contribuição de cada componente para a formação do aroma característico por técnicas de olfatometria, e correlação entre a análise sensorial e a composição química dos compostos voláteis (GARRUTI, 2001).

Existem diferentes métodos que têm sido utilizados no isolamento de componentes voláteis de bebidas alcoólicas, tais como extração (ou microextração) em fase sólida, *headspace* dinâmico e extração com solvente, sendo sempre necessária a padronização da técnica de modo a se obter um extrato representativo da amostra (JANZANTTI, 2004), porém existe apenas um estudo de compostos voláteis de bebidas fermentadas de DUARTE, *et al.* (2010b), onde principal objetivo do trabalho foi produzir vinhos de frutas de polpa de gabiroba, cacau, umbu, cupuaçu e jabuticaba e caracterizá-los utilizando a cromatografia a gás acoplado à espectrometria para determinação de

compostos menores, e cromatografia a gás com detector de ionização de chama para compostos principais. Noventa e nove compostos (álcoois, terpenos, óxidos, ésteres etílicos, acetatos, fenóis voláteis, ácidos, compostos de enxofre e açúcares) foram identificados em vinhos de frutas.

#### 3.8.1 Microextração em Fase Sólida – SPME

A qualidade de um método analítico é determinada pela boa execução de suas etapas considerando seus erros experimentais, porém esta qualidade depende da técnica de amostragem, com a qual se seleciona uma fração representativa da amostra. É comum não se analisar quimicamente matrizes na forma bruta, pois elas costumam ter e gerar interferências e incompatibilidades com equipamentos analíticos. Para contornar tais problemas são empregados procedimentos de preparo de amostra, com os quais se procura isolar e concentrar os analitos em níveis adequados, a fim de minimizar os níveis de contaminação. Portanto, o preparo da amostra também inclui a sua compatibilização com a técnica que fornecerá os dados químicos (LEMOS, 2007).

A microextração em fase sólida é uma opção relativamente recente, que tem sido empregada para essas operações, sendo particularmente interessante para cromatografia em fase gasosa (GC). A viabilização da análise por GC depende de um método adequado de preparo da amostra como o SPME, porque ele não utiliza solvente, tem elevado poder de concentração, tem grande aplicabilidade e facilita o transporte do material extraído para o cromatógrafo (LEMOS, 2007). Pode-se definir SPME como uma microtécnica, em que os processos de extração e pré-concentração de analitos ocorrem numa escala dimensional que não é das mais comuns (VALENTE & AUGUSTO, 2000).

Esta técnica de extração é muito versátil já que a retenção dos analitos pode ser feita na fase vapor, ou seja, no espaço livre (headspace) sobre equilíbrio de uma amostra sólida ou líquida ou também por imersão total da microfibra em uma amostra líquida. A primeira modalidade é conhecida como SPME em modo headspace (HS-SPME) e a segunda se denomina diretamente SPME, como mostra a Figura 8. O processo de dessorção também é bastante versátil. Nos casos de analitos voláteis, a fibra é inserida

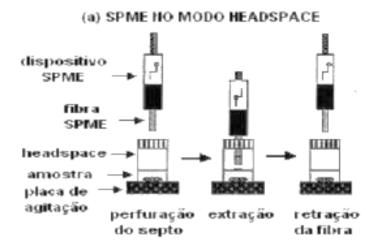
diretamente no injetor do cromatógrafo a gás, onde os analitos são termicamente dessorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica, sendo que as variáveis que afetam este processo são a temperatura de dessorção e o tempo e, no caso de analitos não voláteis, a dessorção deve ser conduzida em um meio líquido apropriado (LEMOS, 2007).

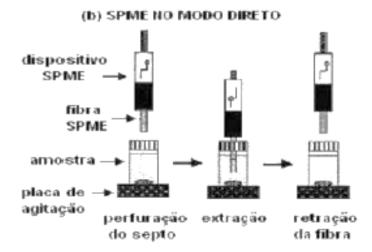
Os métodos tradicionais, como headspace (dinâmico ou estático), não eliminam a etapa de pré-concentração exigida para análises em níveis de traços, consumindo tempo e também solventes. Na SPME, muitas das dificuldades das outras técnicas não existem. Por exemplo, a melhor vantagem desta técnica é que não necessita do uso de solventes ou sistemas complicados de amostragem e pode ser usada para analisar tanto voláteis quanto semivoláteis nas fases líquida, gasosa e sólida. Além disso, possui o potencial de realizar análises não-destrutivas (GOMES, 2003).

Os compostos voláteis estão inseridos em classes altamente diversificadas e quase todas estão presentes no alimento em concentrações extremamente baixas. As dificuldades encontradas em sua análise qualitativa e/ou quantitativa advêm destas características (BELO, 2009).

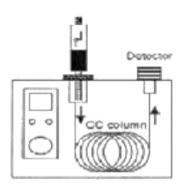
Uma característica importante da técnica de SPME é seu tamanho reduzido, que é conveniente para a concepção de aparelhos portáteis para trabalho de pesquisa. Como a quantidade da fase de extração é pequena, o equilíbrio do sistema não é perturbado (PAWLISZYN, 1997).

A variedade de analitos que podem ser analisados por *SPME* inclui voláteis, semivoláteis e ainda não voláteis, de espécies orgânicas e inorgânicas. Esta técnica tem sucesso acoplada à cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência, eletroforese capilar e espectrometria de massas (PAWLISZYN, 1997).





#### (c) DESSORÇÃO TÉRMICA



**Figura 8** Etapas da microextração em fase sólida. (a) extração no modo headspace (b) extração no modo direto (c) dessorção dos analitos no cromatógrafo.

Fonte: Adaptado de Kataoka et al. (2000).

A SPME tem tido uma ampla aceitação na indústria de alimentos, particularmente na área de aromas e fragrâncias. Esta técnica de extração não só controla o frescor e pureza de diversos produtos, mas também a caracterização do tempo ótimo da colheita (PAWLISZYN, 1997).

Bonino *et al.* (2003) analisaram os compostos voláteis por SPME e extração líquido-líquido de várias amostras de vinhos, provenientes de uvas de diferentes variedades e regiões. Três revestimentos de fibras de SPME foram avaliadas: 65 mm PDMS/DVB, 65 mm de Carbowax/DVB e 100 mm PDMS. A fibra PDMS/DVB teve boa seletividade para pesos moleculares baixo-médio e analitos semipolar. A Carbowax/DVB mostrou melhor seletividade para compostos mais polares, enquanto a fibra PDMS teve boa seletividade para analitos voláteis, como octanoato de etila e decanoato de etila. A SPME e a extração líquido-líquido produziram resultados comparáveis, no entanto, alguns compostos foram detectados apenas por extração por SPME.

Alves (2009) utilizou a técnica de SPME para análises de extração de compostos voláteis de bebida fermentada de lichia, sendo que a fibra usada foi polidimetilsiloxano (PDMS). Foi verificado que o aquecimento do vinho a 35°C com 15 minutos de exposição da fibra PDMS foi suficiente para detectar 37 compostos na bebida fermentada espontaneamente a partir do mosto de lichia, 42, 41 e 29 compostos nas bebidas fermentadas inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174, respectivamente. Dos compostos detectados pela cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas, foram identificados somente 22 a 28 compostos aromáticos nas diversas bebidas elaboradas. Os compostos voláteis que apareceram em maior número foram os álcoois e ésteres. As bebidas fermentadas de lichia apresentaram um perfil aromático muito semelhante aos de vinhos tintos e vinhos brancos.

Gomez-Ariza *et al.* (2006) utilizaram dois métodos de extração de compostos voláteis, SPME e 3 tipos de pervaporação ((PV-GC-MS/MS), (PV-CT-TD-GC-MS/MS) e (PV-CPL-GC-MS/MS)) para determinar o *off-flavor* em vinhos. Dois tipos diferentes de fibras foram testadas na técnica de SPME: PDMS e DVB-CAR-PDMS. Melhores resultados foram obtidos da fibra DVB-CAR-PDMS. Em relação a outras técnicas encontradas na literatura relacionadas a detecção de *off-flavors* nos vinhos, pode ser apontado que os limites de detecção para DHS-PEV-CPL-GC/MS, foram duas vezes

menores que os obtidos com PV-CT-TD-GC/MS. Usando PV-CPL-GC/MS, limites de detecção foram levemente mais altos. Por outro lado, a precisão e tempo de análise (25min) para PV-CPL-GC/MS é melhor do que da DHS-PEV-GC/MS (40min). A técnica de SPME apresentou várias desvantagens em sua aplicabilidade, especialmente relacionados com a quantidade relativamente pequena de sorventes disponíveis na fibra. Por outro lado, a repetibilidade de processo de adsorção/dessorção da SPME é menor quando ele é aplicado a matrizes complexas. Este problema pode ser superado pelo uso de dois sistemas: MHS-SPME e pervaporação. Portanto, ambas as técnicas são muito adequados para a determinação do *off-flavor* nos vinhos.

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1 Matéria-Prima

Foi utilizada a polpa de jabuticaba da variedade *Myrciaria cauliflora spp*. As frutas foram adquiridas no mercado municipal da cidade de Aracaju/SE, e foram transportadas até o Laboratório de Flavor e Análises Cromatográfica (LAF) da Universidade Federal de Sergipe. Os frutos foram sanitizados com solução de cloro ativo Mixkill Verd® a 50 ppm (parte por milhão). Todos os reagentes utilizados são de grau analítico.



Figura 9 Seleção e sanitização da jabuticaba

Fonte: arquivo pessoal do autor

#### 4.1.2 Microrganismo

Foram utilizadas três cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, onde uma foi isolada do fermento biológico seco instantâneo (marca: *Fleischmann*) e codificada como PMS. Para realizar o isolamento da cepa, pegou-se o fermento de pão com auxílio da alça de platina, foi colocado em contato, em forma de zigue-zague, com o meio sólido YM ((1% glicose, 0,5% peptona, 0,3% extrato de malte, 0,3% extrato de levedura, pH não ajustado) contido em placas de Petri. Em seguida as placas foram colocadas em estufa a 30 °C durante 72 horas. As colônias isoladas crescidas, com características macroscópicas de levedura foram semeadas, com auxílio de uma alça estéril, por esgotamento em placas de Petri contendo meio sólido YM. As placas foram colocadas em estufa a 30 °C durante 72 horas.

A segunda cepa utilizada é oriunda de processos industriais de obtenção de etanol com 70% de umidade, codificada como TAQ, adquirida por doação de uma empresa sucroalcooleira da região; e a terceira cepa foi doada pela Universidade de São Paulo e codificada com CAT. As cepas foram mantidas em tubos inclinados com meio YM e estocadas a 6°C, no LAF.

#### 4.2 Preparo da Polpa de Jabuticaba

Para o preparo da polpa de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* spp.) os frutos foram separados em dois lotes. No primeiro lote foi realizado o despolpamento manual da fruta, sendo a fruta espremida para que a casca fosse separada da polpa, onde as sementes encontram-se aderidas à polpa, após a despolpa manual as cascas e polpas foram envasadas juntas diretamente em recipientes de polipropileno, pesadas e, em seguida armazenadas sob congelamento a -18°C. Para o segundo lote foi realizada extração da polpa por meio de uma despolpadeira da Marca Itametal- modelo compacta, onde é separada a polpa da casca e semente, sendo armazenada em recipientes de polipropileno previamente esterilizadas, ficando a polpa separada das cascas e sementes. As polpas foram devidamente pesadas foram armazenadas sob congelamento a -18°C.

As bebidas fermentadas de jabuticaba foram elaboradas com método de despolpamentos distintos, pois algumas vinícolas em certas vinificações em tinto realizam o despolpamento, com ou sem seleção dos grãos. Nesse caso, as uvas são transportadas inteiras ao tanque de fermentação por meio de bombas peristálticas ou caçambas especiais, onde são esmagadas delicadamente e paulatinamente durante a fermentação. Outra possibilidade é o esmagamento delicado por meio de esmagadora regulável, após a seleção manual dos grãos previamente desengaçados, pois o esmagamento excessivo podem ocasionar danos as sementes e quebra dos engaces que aportam amargor e adstringência ao vinho, sendo o atrito do despolpamento e esmagamento, fator fundamental para a qualidade aromática e gustativa do vinho tinto (VENTURINI FILHO, 2010). RIZZON, *et al.* (2013) relata que o teor de metanol está relacionado com o sistema de vinificação adotado, especialmente no caso da intensidade do esmagamento durante maceração, e a forma de extração do mosto. A presença de metanol está relacionada aos teores de pectina dos mostos o que podem conferir atributos de amargor e adstringência.

#### 4.2.1 Caracterização físico-química da polpa de jabuticaba

A polpa de jabuticaba foi caracterizada quanto à composição físico-química. As análises realizadas foram: extrato seco, cinzas, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis, compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante, antocianinas, açúcares redutores, não redutores e totais, lipídios e proteínas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

- ✓ Extrato seco foi determinado pelo método gravimétrico, por secagem em estufa, a 105°C, por 2 horas até massa constante, segundo a metodologia do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 015/IV, 2008).
- ✓ O teor de cinzas foi determinado por incineração da amostra na mufla a 550 °C, o método descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 018/IV, 2008).
- ✓ O teor de acidez total titulável foi determinado por meio da titulação com NaOH 0,1N, utilizando método potenciométrico, a partir de 5 a 10 mL de amostra e

- diluída em 50 mL de água destilada, como descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 016/IV, 2008).
- ✓ Para a determinação do pH, foi utilizado um potenciômetro da marca Hanna modelo HANNA pH 21 pH/mv meter, segundo a metodologia descrita pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 016/IV, 2008).
- ✓ O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando refratômetro de Abbé (Marca Uricon) previamente calibrado com água destilada de acordo com a metodologia descrita pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 315/IV, 2008).
- ✓ O teor de açúcares redutores foi determinado pelo protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson, descrito pelo Comunicado Técnico 86 da Embrapa.
- ✓ O teor de açúcares totais foi determinado pelo protocolo para determinação de açúcares totais pelo método DNS, descrito pelo Comunicado Técnico 85 da Embrapa.
- ✓ Para a determinação do teor de lipídios, foi realizada uma extração direta em Soxhlet utilizando éter etílico, segundo método descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 032/IV, 2008).
- ✓ Para o teor de proteínas, a determinação do conteúdo de proteína foi realizada pela técnica de micro-Kjeldahl, segundo descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 036/IV, 2008). Para realizar o cálculo de proteínas foi multiplicado o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.
- ✓ Para determinação de antocianinas foi realizada a extração das antocianinas da casca da jabuticaba, segundo o método descrito por FRANCIS, (1982) com adequações.
- ✓ Os compostos fenólicos totais e os flavonoides foram extraídos das amostras das polpas de jabuticaba, pesando-se 2 g de amostra, diluindo-se esta em 40 mL de metanol deixando sob agitação em equipamento ultrasson, marca: Ecel, modelo: Alpha 3L Plus, por 30 minutos, em seguida a amostra foi filtrada em papel filtro, sendo o filtrado reservado em frasco âmbar e o resíduo recolocado no béquer com 40 mL de acetona e deixado novamente sob agitação no equipamento ultrassom por mais 30 minutos. Após este tempo a amostra foi filtrada em papel filtro no frasco âmbar que já continha o primeiro filtrado desta amostra. Este extrato foi colocado em balão e levado para o equipamento rotaevaporador, para concentração, retirada

- do metanol e da acetona da amostra, em seguida fez-se a resuspensão deste extrato no volume de 15 mL com metanol, e a filtragem deste extrato em filtro de 0,45 μm, com o auxílio de uma seringa. Este extrato obtido foi armazenado em frasco âmbar sobre refrigeração até a realização das análises de compostos fenólicos totais e flavonoides (RUFINO *et al.*, (2006, 2007) com adaptações).
- ✓ Os compostos fenólicos totais foram determinados por espectrofotometria utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteau 2N da marca sigma. O extrato foi obtido conforme descrito acima. Em tubos de ensaio colocou-se 0,5 mL do extrato da amostra, acrescentou-se 2 mL da solução aquosa de Na2CO₃ 10% e 2 mL do reagente Folin-Ciocalteu's 0,02N. Foi homogeneizado no vórtex por 1min, deixou no escuro por 30 min e depois foi lido no comprimento de onda 764 nm. Nas amostras, foi necessário diluir previamente o extrato da amostra com água 1:1, para então se proceder com a análise normalmente acima descrita. Para o branco substitui a amostra por água. Os cálculos da concentração foram feitos a partir da curva de calibração usando o ácido gálico como padrão com a concentração inicial de 0,1 mg/mL a 0,00078 mg/mL (RAGAZZINI & VERONESI, 1973, com adaptações).
- ✓ Os flavonoides foram determinados por espectrofotometria, com leitura feita na faixa de absorbância de 415 nm. O extrato foi obtido conforme a metodologia descrita no item anterior. Em tubos de ensaio colocou-se 3 mL do extrato da amostra e acrescentou-se 3 mL de AlCl₃ 2% em metanol. Homogeneizou em vórtex por 1 minutos, esperou por 30 minutos e fez-se a leitura no espectrofotômetro. Foi necessário se fazer uma diluição prévia com o extrato da amostra e água destilada na proporção de 1:1, para então se proceder com a análise normalmente acima descrita. Para o branco usou-se apenas o metanol. Os cálculos da concentração foram feitos a partir da curva de calibração usando o padrão da Quercetina com concentração inicial de 0,033 mg/mL a 0,00105 mg/mL. (MEDA *et al.* 2005; AHN *et al.*, 2007, com adaptações).
- ✓ A atividade antioxidante (FRAP, DPPH e ABTS), foram determinadas por metodologias descrita no Comunicado Técnico da Embrapa 125, 127 e 128, respectivamente.
- ✓ Para a determinação da atividade antioxidante através do radical DPPH, preparouse a solução controle de metanol, acetona e água com 40 mL de solução de metanol

50%, 40 mL de solução de acetona 70% e o volume do balão volumétrico de 100 mL completando com água destilada, homogeneizado, transferido para frasco âmbar e armazenado a temperatura ambiente. Também foi preparada a solução do radical DPPH, com 2,4 mg de DPPH diluído e completado com metanol em balão volumétrico de 100 mL, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e utilizado imediatamente. Em tubos de ensaio, preparou-se três diluições diferentes de 1:1, 1:2 e 1:3, com o extrato da amostra e metanol respectivamente. Para as amostras foi necessário fazer uma diluição prévia dos extratos de 1:10, 1:15 e 1:20 a partir destas diluições, colocou-se em tubos de ensaio, em triplicata, 0,1 mL da respectiva diluição com 3,9 mL da solução do radical DPPH, cada tubo foi agitado no vortex, esperou 30 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro à 515 nm. O branco utilizado foi o álcool etílico. O cálculo da atividade antioxidante foi feita a partir da curva padrão do DPPH em μM, este valor foi transformado para gM (RUFINO *et al.*,2007 com adaptações).

✓ Para a determinação da atividade antioxidante através do radical ABTS, preparouse a solução estoque de ABTS com 192 mg de ABTS diluído em água destilada completado em balão volumétrico de 50 mL, homogeneizado, transferido para frasco âmbar e armazenada sobre refrigeração. Também foi preparada a solução de persulfato de potássio, com 378,4 mg de persulfato de potássio diluído e completado com água destilada em balão volumétrico de 10 mL, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e armazenado a temperatura ambiente. Para o preparo do radical ABTS, calculou-se o tempo máximo de 16 horas antes a realização das análises, então foi preparado o radical com 5 mL da solução estoque de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio, acima citados seus preparos, esta solução foi mantida em frasco âmbar e no escuro por um período de 16 horas. Em seguida, em ambiente escuro foi feito o ajuste da absorbância da solução radical ABTS, preparada anteriormente, este ajuste ocorreu diluindo a solução radical ABTS em álcool etílico fazendo a leitura em espectrofotômetro a 734 nm até atingir a absorbância de 0,700 nm. Em tubos de ensaio, preparou-se três diluições diferentes, em triplicata, com o extrato da amostra e metanol, sendo respectivamente, 3:0, 2:1 e 1:2, acrescentando a cada tubo 3 mL da solução de ABTS, aguardou-se 6 minutos e foi realizada a leitura no espectrofotômetro à 734 nm. Para as amostras foi necessário se fazer uma diluição prévia dos extratos de

- 1:10, 1:15 e 1:20, para então proceder conforme descrito acima, como branco foi utilizado o álcool etílico. O cálculo da atividade antioxidante foi feita a partir da curva padrão do Trolox (RUFINO *et al.*,2007 com adaptações).
- ✓ Para a determinação da atividade antioxidante através do método de redução do ferro FRAP, preparou-se a solução de ácido clorídrico (HCl) 40 mM, com 3,34 mL de HCl concentrado e o volume do balão volumétrico de 1 L completado com água destilada, homogeneizado, transferido para frasco âmbar e armazenado a temperatura ambiente. Também foi preparada a solução TPTZ, com 3,12 mg de TPTZ, dissolvidos e avolumado em balão volumétrico de 1 L com HCl 40 mM homogeneizado e transferido para frasco âmbar e armazenado sobre refrigeração. Preparou-se também a solução de cloreto férrico 20 mM, com 5,4 g de cloreto férrico, dissolvidos e avolumado em balão volumétrico de 1 L com água destilada, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e armazenado sobre refrigeração. A solução de tampão acetato 0,3 M, pH 3,6, foi preparada com 3,1 g de acetato de sódio dissolvido em 16 mL de ácido acético glacial e o volume do balão volumétrico de 1 L completando com água destilada, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e armazenado a temperatura ambiente. A solução do reagente FRAP foi obtida pela mistura de 25 mL de tampão acetato 0,3 M com 2,5 mL de solução TPTZ 10 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, esta solução foi obtida e utilizada imediatamente. A solução padrão de sulfato ferroso 2 mM foi preparada com 27,8 g de sulfato ferroso dissolvidos e avolumado em balão volumétrico de 1 L com água destilada, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e utilizada imediatamente. Em tubos de ensaio, preparou-se três diluições diferentes de 1:1, 1:2 e 1:3, com o extrato da amostra e metanol respectivamente, para as amostras, sendo necessário fazer uma diluição prévia dos extratos de 1:10, 1:15 e 1:20 a partir destas diluições, colocou-se em tubos de ensaio, em triplicata, 90 μL da respectiva diluição com 270 μL de água e 2,7 mL da solução de FRAP. Todos os tubo foram colocados em banho maria, à 37°C sobre agitação por 30 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro à 595 nm. O branco utilizado foi à solução de FRAP. O cálculo da atividade antioxidante foi feita a partir da curva padrão do sulfato ferroso (RUFINO et al.,2006 com adaptações).

✓ Os dados obtidos nas análises foram tratados através da análise de variância (ANOVA), e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico SAS versão 9.0.

#### 4.3 Padronização do inóculo

Este estudo foi realizado para determinar o tempo de fermentação necessário para o mosto de jabuticaba atingir  $10^7$  células/mL, como também para padronizar todas as condições de fermentação. Uma alçada da levedura pura de *S. cerevisiae* (cepas PMS, CAT E TAQ) foi inoculada em um erlenmeyer contendo 20 mL de meio base e, após este procedimento; o conjunto foi colocado em um shaker a 100 rpm por 24 h. a  $30 \pm 3$  °C. Finalizado este período, transferiu um volume deste inóculo para o mosto de jabuticaba; este volume equivale a 10% do volume do mosto. A concentração inicial de leveduras foi ajustada para  $1x10^7$  células por mL no mosto, após 24 h. de fermentação utilizando a câmara de Neubauer, usando microscópio óptico.

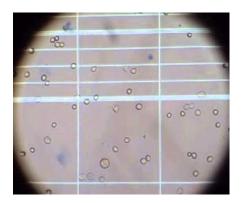


Figura 10 Concentração inicial de leveduras 1x107 células/mL

#### 4.4 Elaboração das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba

A elaboração das bebidas fermentadas de jabuticaba seguiu a metodologia descrita por Araújo, *et al.* (2011). As etapas da elaboração estão no fluxograma (Figura 11).



Figura 11 Fluxograma de elaboração das bebidas fermentadas de jabuticaba

As etapas detalhadas para a elaboração das bebidas fermentadas de jabuticaba estão a seguir:

**Lavagem e seleção:** As frutas foram lavadas em água corrente e selecionadas, excluindo as frutas estragadas;

**Sanitização e enxague:** as jabuticabas foram sanitizadas com solução de cloro ativo Mixkill Verd® a 50 ppm (parte por milhão), por 10 min., após este período, as frutas foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de sanitizante;

**Despolpamento:** Os frutos de jabuticaba foram despolpados manualmente e em despolpadeira mecânica, onde a polpa foi colhida diretamente nos recipientes de polipropileno de vários volumes, e resíduo foram guardado;

**Chaptalização:** Foi corrigido o teor de sólidos solúveis do suco acrescentando açúcar comercial até o °Brix desejado de 30 °B, medido por meio de refratômetro portátil de Abbé (Marca Uricon) previamente calibrado com água destilada;

**Adição de nutrientes:** Adicionou-se Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (metabissulfito de sódio), (NH<sub>4</sub>)<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub> (fosfato de amônio) e MgSO<sub>4.7</sub>H<sub>2</sub>O (sulfato de magnésio heptahidratado), sendo as quantidades 0,1 g/L; 1 g/L e 0,1g/L, respectivamente.

**Esterilização:** Cada mosto foi dividido, sendo colocado em erlenmeyers de vidro de 500 mL e de 2 L. Todos os recipientes foram esterilizados a 121 °C por 20 min. (Figura 12).

**Inoculação:** O mosto foi inoculado com leveduras ativas (*S. cereviseae*). A fermentação alcoólica foi conduzida em erlenmeyers de 2 L. contendo 1 L. de mosto a uma temperatura variando entre 27 e 31 °C, de acordo com o ideal da literatura que especifica um valor entre 25 e 35 °C (AQUARONE et al., 2001), por um período de 6 dias, com o acompanhamento do °Brix e pH.

**Fermentação:** A fermentação foi realizada em temperatura ambiente, sem agitação, sendo que a cada 24 h., alíquotas foram retiradas para realizar o acompanhamento fermentativo;

**Trasfega:** Após o final da fermentação, as bebidas permaneceram em refrigeração em temperatura em torno de 10 °C, visando separar dos sólidos solúveis (borra) que sedimentam e depositam-se no fundo dos erlenmeyers, assim foi realizada a trasfega, que consiste em transferir o fermentado de um recipiente para outro visando separá-los foram realizadas 3 trasfegas, sendo que cada uma foi realizada após 24 h. de decantação.

**Maturação:** Com o fim da fermentação, as bebidas foram mantidas na temperatura de 6 °C por 20 dias para maturar;

**Filtração:** As bebidas foram filtradas à vácuo e transferidas para garrafas de vidro escuro esterilizadas;

**Pasteurização:** foi realizada a 60 °C/30 min. e, em seguida, as garrafas foram resfriadas por meio de regeneração até o banho de gelo (10 °C). As bebidas fermentadas de jabuticaba foram armazenadas em refrigerador.



Figura 12 Mostos de jabuticaba esterilizados

Fonte: arquivo pessoal do autor



Figura 13 Trasfega da bebida fermentada de jabuticaba

Fonte: arquivo pessoal do autor

### 4.4 Produção das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba

Foram produzidas cinco bebidas fermentadas, onde os mostos de polpa de jabuticaba despolpada de forma manual e mecânica foram inoculados com as cepas isoladas PMS, CAT e TAQ, conforme a Figura 14. Todas as bebidas fermentadas foram produzidas em triplicata.

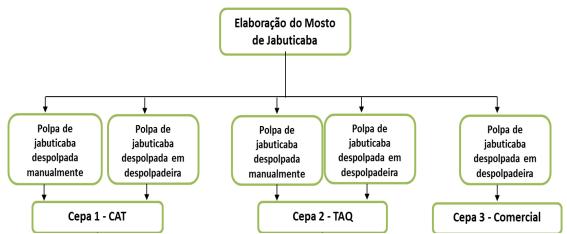


Figura 14 Elaboração dos mostos de jabuticaba



Figura 15 Fase tumultuosa da fermentação

Fonte: arquivo pessoal do autor

#### 4.5 Caracterização Físico-Química da Bebida Fermentada de Jabuticaba

Para caracterizar a composição físico-química e química da bebida fermentada de jabuticaba, foram realizadas as seguintes análises: extrato seco, cinzas, acidez total, acidez fixa e volátil, pH, sólidos solúveis, açúcares totais, redutores e não redutores, conforme metodologia citada anteriormente (item 7.2.1), densidade e grau alcoólico.

- ✓ Para determinação de acidez fixa, transferiu-se 10 mL da amostra para um frasco erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 100 mL de água destilada e evaporou em banho-maria até a metade do volume. Posteriormente, resfriou e adicionou 2 a 3 gotas de fenolftaleína. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio até coloração rósea, como descrito pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 312/IV, 2008).
- ✓ A determinação de acidez total foi realizada transferido 100 mL da amostra, para um frasco erlenmeyer de 500 mL. Foi titulado com solução de hidróxido de sódio até o ponto de viragem pH 8,2 8,4 utilizando o pHmetro.
- ✓ Para a determinação da acidez volátil, foi realizado o cálculo por diferença entre a acidez total e a acidez fixa. O resultado foi expresso em g de ácido acético por 100 mL de amostra, em g ou mg de ácido acético por 100 mL de álcool anidro.
- ✓ A determinação da densidade das amostras líquidas foi realizada por aerometria, de acordo com RIZZON, (2010).
- ✓ O teor do grau alcoólico baseou-se na destilação do álcool da amostra e posterior quantificação pela medida em alcoômetro, segundo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Item/Método 233/IV, 2008).

#### 4.5.1 Análise sensorial

Foi utilizado o teste de ordenação-preferência, que tem como princípio a preferência que o consumidor demonstra sobre um produto em relação a outro, a análise sensorial foi realizada com o intuito de os julgadores distinguiam a percepção de sabor em relação ao método de despolpamento e cepa utilizada na elaboração das bebidas fermentadas de jabuticaba. Foi realizada com 33 julgadores adultos, de idade variada, não treinados e escolhidos aleatoriamente entre alunos, professores e servidores da

Universidade Federal de Sergipe. A ficha utilizada para a avaliação sensorial está apresentada na figura 16. As amostras das bebidas fermentadas de jabuticaba, devidamente codificadas, em volume de 10 mL, foram servidas aos julgadores fazendo o balanceamento das amostras. Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio da tabela para o teste de ordenação de Newell e Mac Farlane que define o valor das diferenças críticas entre os totais de ordenação ao nível de 5% (DUTCOSKY, 2006).

# 

#### Figura 16 Ficha de análise sensorial ordenação e preferência

## 4.6 Determinação dos Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba

- ✓ A determinação das antocianinas nas bebidas fermentadas foi realizada na diferença de coloração das antocianinas em relação ao pH, visto que a variação da intensidade corante em dois valores de pH é proporcional ao teor de antocianinas, segundo o método descrito por RIZZON, (2010).
- ✓ A determinação do tanino total baseou-se na propriedade das proantocianidinas monômeras ou polimerizadas de originarem antocianinas por aquecimento em meio ácido. Como essa reação apresenta um rendimento relativamente baixo, de ordem de 20%, dependendo da estrutura dos taninos e das condições da reação, segundo o método descrito por RIZZON, (2010).
- ✓ Para a determinação de polifenóis totais foi diluída a bebida fermentada de jabuticaba na proporção de 1% com água destilada. Foi determinada por espectrofotometria, segundo o método descrito por RIZZON, (2010).

- ✓ Os compostos fenólicos totais foram determinados por espectrofotometria utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteau 2N da marca sigma. Foi utilizado a bebida fermentada de jabuticaba diluída em álcool etílico P.A. em uma proporção de 1:10. Em tubos de ensaio colocou-se 0,5 mL, acrescentou-se 2 mL da solução aquosa de Na₂CO₃ 10% e 2 mL do reagente Folin-Ciocalteu's 0,02N. Foi homogeneizado no vórtex por 1min. deixou no escuro por 30 min. e depois foi lido no comprimento de onda 764 nm. Para o branco substitui a amostra por água. Os cálculos da concentração foram feitos a partir da curva de calibração usando o ácido gálico como padrão com a concentração inicial de 0,1 mg/mL a 0,00078 mg/mL (RAGAZZINI & VERONESI, 1973, com adaptações).
- ✓ Os flavonoides foram determinados por espectrofotometria, com leitura feita na faixa de absorbância de 415 nm. Foi utilizada bebida fermentada de jabuticaba diluída em álcool etílico P.A. em uma proporção de 1:10. Em tubos de ensaio colocou-se 3 mL do extrato da amostra e acrescentou-se 3 mL de AlCl₃ 2% em metanol. Homogeneizou em vórtex por 1 minutos, esperou por 30 minutos e fez-se a leitura no espectrofotômetro. Para o branco usou-se apenas o metanol. Os cálculos da concentração foram feitos a partir da curva de calibração usando o padrão da quercetina com concentração inicial de 0,33 mg/mL a 0,00105 (MEDA et al. 2005; AHN et al., 2007, com adaptações).
- ✓ A determinação das atividades antioxidante, através dos radicais DPPH, seguiu-se a metodologia da Embrapa, respectivamente os comunicados técnicos127. Para a determinação da atividade antioxidante através do radical DPPH, preparou-se a solução controle de metanol, acetona e água com 40 mL de solução de metanol 50%, 40 mL de solução de acetona 70% e o volume do balão volumétrico de 100 mL completando com água destilada, homogeneizado, transferido para frasco âmbar e armazenado a temperatura ambiente. Também foi preparada a solução do radical DPPH, com 2,4 mg de DPPH diluído e completado com metanol em balão volumétrico de 100 mL, homogeneizado e transferido para frasco âmbar e utilizado imediatamente. Em tubos de ensaio, preparou-se três diluições diferentes de 1:1, 1:2 e 1:3, com o extrato da amostra e metanol respectivamente. Para as amostras de bebidas fermentadas de jabuticaba foi necessário fazer uma diluição prévia dos extratos de 1:10, 1:20 e 1:30 diluído em álcool etílico P.A., a partir destas diluições, colocou-se em tubos de ensaio, em triplicata, 0,1 mL da respectiva diluição com 3,9

mL da solução do radical DPPH, cada tubo foi agitado no vortex, aguardou-se 30 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro à 515 nm. O branco utilizado foi o álcool etílico. O cálculo da atividade antioxidante foi feita a partir da curva padrão do DPPH em μM, este valor foi transformado para gM (RUFINO et al.,2007 com adaptações).

# 4.7 Identificação e Quantificação de Compostos Fenólicos das Bebidas Fermentadas de Jabuticaba por HPLC- DAD

Para a identificação e quantificação de compostos fenólicos por HPLC-DAD a extração dos compostos fenólicos das bebidas fermentadas de jabuticaba foi realizada segundo o método descrito por Häkkinen, Karenlampi e Heinonen (1998). A análise dos padrões de (+) catequina hidratada, (-) epicatequina e ácido gálico foram realizados por HPLC equipado com desgaseificador (marca Shimadzu, modelo DGU-20 A5), uma bomba quaternária (marca Shimadzu, modelo LC-20AT), e injetor automático (marca Shimadzu, modelo SIL-20A) e um detector de arranjo diiodo (modelo SPD-20MA). Os padrões de compostos fenólicos foram separados e quantificados em coluna de fase reversa (marca Varian C18; 250 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 μm de espessura) pela injeção de 20 μL de solução padrão. O software utilizado nessa etapa será o LC Solution versão 1.21 da marca Shimadzu.

A fase móvel foi composta pelo solvente A (acetonitrila) e o solvente B (solução aquosa a 5% de ácido acético glacial P.A.) em sistema gradiente de eluição de 81% do solvente B por 10 min., passando para 75% do solvente B em 1 minuto e mantendo-se por 11 min., retornando a condição inicial em 1 minuto, numa vazão de 1 mL/min. Todas as análises foram realizadas em triplicata e monitoradas num comprimento de onda de 280 nm.

As amostras de bebidas fermentadas de jabuticaba foram filtradas em papel de filtro whatman n° 1, em seguida, realizadas diluições das mesmas em água Milli-Q (Elga Labwater) na proporção de 1:5, para posterior filtragem em filtro nylon de 0,45 μm (marca Allcrom) antes da análise em sistema de HPLC-DAD. A análise das amostras das bebidas

fermentadas de jabuticaba seguiram as mesmas condições utilizadas na análise das soluções padrão.

A identificação dos compostos nas amostras foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção destas com os tempos de retenção dos padrões e confirmados a partir da similaridade entre os perfis dos espectros de absorção dos compostos em estudo, para compostos padrões e analitos de interesse.

# 4.7.1 Extração e quantificação de ácidos orgânicos das bebidas fermentadas de jabuticaba por HPLC- DAD

Para a Identificação e quantificação de ácidos orgânicos por HPLC-DAD a extração dos ácidos tartárico e málico das bebidas fermentadas de jabuticaba foi realizada segundo o método descrito por RIZZON, (2010). A análise dos padrões de ácido tartárico L (+), e ácido málico L (-) foram realizados por HPLC equipado com desgaseificador (marca Shimadzu, modelo DGU-20 A5), uma bomba quaternária (marca Shimadzu, modelo LC-20AT), e injetor automático (marca Shimadzu, modelo SIL-20A) e um detector de arranjo diiodo (modelo SPD-20MA). Os padrões de ácidos orgânicos foram separados e quantificados em coluna de fase reversa (marca Varian C18; 250 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 μm de espessura) pela injeção de 20 μL de solução padrão. O software utilizado nessa etapa será o LC Solution versão 1.21 da marca Shimadzu.

A fase móvel foi composta pela solução de água ultrapura e ácido fosfórico (pH 2,5) na proporção de 98,8:1,2 v/v, com vazão de 0,9 mL min <sup>-</sup>1, à temperatura ambiente e pressão de 100 atmosfera, onde o volume injetado foi de 20 μL, com sensibilidade de 0,5 D.O Todas as análises foram realizadas em triplicata e monitoradas num comprimento de onda de 212 nm.

As amostras de bebidas fermentadas de jabuticaba foram diluídas a 10% com água Milli-Q (Elga Labwater), homogeneizadas e filtradas em papel de filtro whatman nº 1, em seguida, foi realizada filtragem em filtro nylon de 0,45 μm (marca Allcrom) antes da análise em sistema de HPLC-DAD. A análise das amostras das bebidas fermentadas de jabuticaba seguiram as mesmas condições utilizadas na análise das soluções padrão.

O teor de ácido tartárico e de ácido málico em gL<sup>-1</sup> é obtido por intermédio da comparação da superfície do pico do ácido tartárico das amostras das bebidas fermentadas de jabuticaba com a superfície do pico das soluções padrões.

#### 4.8 Extração, Separação e Identificação de Compostos Voláteis

#### 4.8.1 Extração de compostos voláteis

Para extração dos compostos voláteis das bebidas fermentadas de jabuticaba foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida (SPME), segundo a metodologia descrita por Torrens *et al.* (2004), utilizando as etapas seguintes:

- ✓ Foram pesadas 3 g de NaCl em um vial de 40 mL;
- ✓ Foi diluída a amostra na proporção de 1:2,5, com água deionizada;
- ✓ Foi adicionado no vial 7,5 mL da diluição citada e 30 μL de álcool etílico;
- ✓ Foi colocada a barra magnética no vial e fechando com a tampa vedando-o;
- ✓ Foi colocado o vial em um béquer com água a 40 °C, já presente no sistema de SPME:
- ✓ Foi realizada a pré-incubação por 10 min., ou seja, o sistema de agitação ficou acionado por 10 min. antes de inserir a fibra;
- ✓ Após a pré-incubação, a fibra foi exposta (Carboxen/DVB/PDMS) ao headspace da amostra por 40 min.
- ✓ Posteriormente foi retirada a fibra da amostra após a finalização do tempo de extração e a mesma foi inserida no injetor do cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (marca Varian, modelo GC/MS 4000). O tempo de dessorção foi de 10 min.



**Figura 17** Extração de voláteis por *SPME* **Fonte:** arquivo pessoal do autor

#### 4.8.2 Separação e identificação de compostos voláteis

Os compostos foram separados em uma coluna capilar HP-5 (30m x 0,25mm, 0,25 µm) em cromatógrafo a gás (marca Agilent; modelo 7820A) acoplado a um espectrômetro de massas (marca Agilent; modelo 5975). A temperatura da linha de transferência foi de 170°C com fonte de ionização por impacto de elétrons de 70 eV. A faixa de *scanning* de massa foi de 35 a 400 m/z.

O injetor utilizado foi do tipo *split/splitless*, empregado no modo *splitless* com uma temperatura de 220°C. As condições de temperatura seguiu a metodologia descrita por Galvão *et al.* (2007), em que a temperatura do forno inicial foi 35 °C mantida por 2 minutos, posteriormente, elevada até 100 °C a uma taxa de 10 °C/min. A temperatura foi mantida em 100 °C por 1 minuto e elevada até 240 °C à taxa de 3 °C/min. Sendo assim, o tempo da corrida de 56 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,0 mL/min. Para a identificação dos voláteis foram utilizados a biblioteca NIST (2008), os índices de retenção obtidos experimentalmente e na literatura científica e dos espectros e índices de retenção de uma série de n-alcanos (C8-C20), (C20-C40).

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5. 1 Caracterização Química e Físico-Química da Polpa e Casca de Jabuticaba

Os resultados das características químicas e físico-químicas da polpa e casca de jabuticaba utilizada na elaboração das bebidas fermentadas estão apresentados na Tabela 6.

Os teores de proteína encontrados na polpa e casca da jabuticaba foram 0,64% e 1,61% respectivamente, enquanto para lipídeos verificou-se que a polpa contém menor valor (0,6%), e na casca foi encontrado o valor de (2,3%). Os teores encontrados nesse trabalho foram relativamente baixos tanto para a casca como na polpa. Os mesmos resultados foram encontrados por LIMA, (2008), sendo os teores de proteína bruta e extrato etéreo baixos. A polpa da variedade Sabará apresentou os menores teores de extrato etéreo 0,06g/100 g em relação de 0,21 g/100 g da variedade Paulista, que apresentou maior quantidade (0,68 g/100 g) na casca. Segundo Oliveira, *et al* (2003) a região de cultivo, solo, clima e irradiação solar podem interferir na composição de nutrientes das jabuticabas.

Tabela 6 Composição química e físico-química da polpa e casca de jabuticaba

Características	Polpa	Casca
Umidade (%)	91,34 ± 0,33 <sup>a</sup>	73,31 ± 1,09 <sup>b</sup>
Aa	0,9884 ± 0,00°	0,9874 ± 0,01°
рН	$3.7 \pm 0.06^{a}$	$3.3 \pm 0.04^{b}$
ATT (g ácido cítrico/100g)	1,45 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,64 ± 0,02°
SST (°Brix)	9,4 ± 0,40 <sup>a</sup>	8,8 ± 0,14 <sup>a</sup>
Lipídeos (%)	0,6 ± 0,58 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,89°
Proteínas (%)	0,64 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,61 ± 0,03°
Cinzas (g)	0,33 ± 0,05	0,57 ± 0,02
Açúcares Redutores (%)	5,2 ± 0,12 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,06°
Açúcares não Redutores (%)	5,1 ± 0,15°	4,5 ± 0,12°
Açúcares totais (%)	9,0 ± 0,17 <sup>b</sup>	10,4 ± 0,06 <sup>a</sup>
Antocianinas (mg/g)	ND	7,6 ± 1,4 <sup>a</sup>

ND: Não detectado . Médias na mesma linha com a mesma letra não são significativamente diferentes, p<0,005.

Os sólidos solúveis totais (SST) representam o conteúdo de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores. A concentração desses sólidos constitui-se em uma das variáveis mais importantes para medir a qualidade de frutos. A polpa apresentou maior teor de SST (9,40 °Brix), e a casca de jabuticaba teve o valor (8,8 °Brix). Os teores encontrados nesse trabalho foram relativamente baixos, quando comparados com os resultados de SST encontrados por Brunini *et al.*, (2004) em polpa de jabuticaba que obteve variação de 12 a 15,5 °Brix, enquanto Pereira *et al.*, (2000) encontraram variação entre 9 a 14 °Brix para polpas de jabuticabas Sabará, ambos na região de São Paulo. Teores acima de 15° Brix podem sugerir uma menor conservação pós-colheita para jabuticaba, pois segundo Barros *et al.*, (1996), excesso de açúcares no fruto pode levar a uma rápida deterioração e fermentação e consequente redução da vida útil.

O teor de umidade da polpa de jabuticaba foi elevado (91,34%) quando comparada com a encontrada por Lima *et al*, (2008), que foi de 83,91% e o valor similar (82%) foi encontrado por Alezandro *et al*, (2013). Esta diferença pode está associada ao estágio de maturação, pois uma fruta madura tem uma umidade maior do que uma fruta "de vez".

Os açúcares e ácidos orgânicos contribuem de forma apreciável para o sabor do fruto. A fração de carboidratos solúveis da jabuticaba é formada principalmente por glicose e frutose, sendo que a sacarose está presente em reduzida quantidade (Corrêa *et al.*, 2007). O conteúdo de açúcar redutor obtido foi 5,2 e 4,5%, na polpa e casca respectivamente, este valor foi maior ao encontrado (2,93%) por Agostini *et al*, (2009), na polpa de jabuticaba.

Os principais ácidos orgânicos da jabuticaba são: cítrico, succínico, málico, benzóico, malônico e oxálico, e eles se concentram principalmente nas sementes (LIMA *et al.*, 2008). A acidez total titulável na polpa de jabuticaba apresentou teores de 1,45 g ácido cítrico/100g, sendo que este valor é elevado em comparação ao encontrado por Lima *et al*, (2008), que foi de 0,99 g ácido cítrico/100g. Já o valor de acidez total titulável na casca de jabuticaba foi de 1,64 g ácido cítrico/100g, valor similar (1,67 g ácido cítrico/100g) encontrado por LIMA *et al*, (2008). Normalmente durante o amadurecimento, a acidez e a adstringência diminuem e os açúcares solúveis aumentam tornando os frutos mais palatáveis.

O teor de antocianinas em jabuticaba madura é maior do que em outras frutas da família Myrtaceae, como o camu-camu e pitanga (ABE *et al.*, 2012). Cianidina 3-glucósido e delfinidina 3-glucósido têm sido encontrados na casca de jabuticaba madura, e o primeiro também tem sido detectado em pequenas quantidades na polpa (LEITE *et al.*, 2011 e LIMA *et al.*, 2011). Entre os compostos fenólicos encontrados nos vegetais estão as antocianinas, que são pigmentos solúveis na água, que dão cores as flores, frutos e folhas, variando entre laranja, vermelho e azul. Sendo a casca da jabuticaba altamente pigmentada, já se esperava altos teores desses compostos, onde verificou (7,56 mg/g) de antocianinas, enquanto que na polpa não foi detectada.

## 5.1.1 Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* spp)

Os compostos fenólicos são justamente aqueles que concentram grupos de antioxidantes, responsáveis principalmente pelo combate de radicais livres, agentes no processo de envelhecimento celular. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos

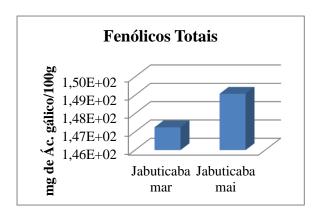
está diretamente ligada à sua estrutura química, a qual pode estabilizar radicais livres. Esses participam de processos degenerativos celulares que provocam a aterosclerose, câncer e outras doenças.

Os frutos de jabuticaba foram obtidos em duas épocas distintas (março/2013 e maio/2014) no CEASA do município de Aracaju/SE. Os resultados da caracterização da atividade antioxidante do fruto de jabuticaba utilizada na elaboração das bebidas fermentadas estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 Atividade Antioxidante da polpa de jabuticaba obtida em diferentes épocas

Atividades Antioxidantes	Frutas adquiri	das no mês/ano
	Março	Maio
Fenólicos Totais (mg de Ác. gálico/100g)	$0,1469 \pm 0,32$ a	$0,1496 \pm 0,06^{a}$
Flavonoides Totais (mg de quercetina/100g)	$0,\!1168 \pm 0,\!01^{b}$	$0,1304 \pm 0,0^{a}$
DPPH g/g	$0.94 \pm 0.08$ b	$1,33 \pm 0,02$ a
ABTS (µM TROLOX/g)	11,5 x $10^6 \pm 0.04$ <sup>a</sup>	12,1 x $10^6 \pm 0,10^a$
FRAP (µM sulfato ferroso/g)	$2{,}75 \times 10^6 \pm 0{,}04^{\ b}$	$3,62 \times 10^6 \pm 0,21^{\text{ a}}$

Médias na mesma linha com a mesma letra não são significativamente diferentes, p<0,005.



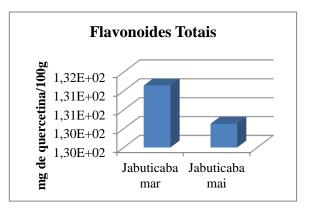
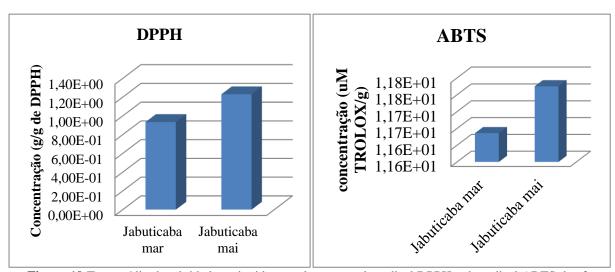
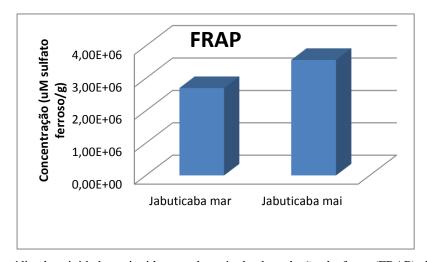


Figura 18 Teor médio de fenólicos e flavonoides totais das jabuticabas analisadas por espectrometria.



**Figura 19** Teor médio da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH e do radical ABTS dos frutos de jabuticaba analisadas por espectrometria.



**Figura 20** Teor médio da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) dos frutos de jabuticaba analisadas.

Analisando os resultados obtidos, foi observada diferença significativa (Tabela 7) na atividade antioxidante nas jabuticabas comercializadas no mês de março/2013 e maio/2014. Os resultados encontrados nesse trabalho revelaram que o teor de compostos fenólicos neste trabalho para o fruto inteiro da jabuticaba foi de 0, 1469 e 0,1496 mg de Ác. gálico/100g para as frutas comercializadas em março e maio, respectivamente; sendo considerado um valor muito baixo em comparação ao valor (4.089 mg EAG.100g<sup>-1</sup>) reportado por Vieites, *et al* (2011), Lima, (2008), investigou atividade antioxidante no fruto inteiro e casca de jabuticaba e constatou que o fruto inteiro da jabuticaba apresenta atividade antioxidante inferior em comparação à casca, onde a casca da jabuticaba apresentou maior atividade antioxidante, em equivalente de Trolox ® 2,06 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> que as polpas (0,09 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>) e para o fruto inteiro, o valor foi 1,20 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>.

Diferenças nas concentrações de antioxidante podem ser explicadas, pois quando o fruto está maduro pode apresentar um teor de fenólico total menor e, consequentemente, menor a capacidade antioxidante, o que pode ser explicado pelo fato de que, como frutos amadurecem, certos compostos sofrem várias modificações inclusive químicas e enzimáticas, tais como a hidrólise de glicósidos por glicosidases, a oxidação de fenóis e por fenoloxidases polimerização de fenóis livres. Além disso, os compostos fenólicos solúveis ocorrem em concentrações mais elevadas nas partes exteriores de plantas, tais como a casca, ao contrário das partes internas (AGOSTINI *et al.*, 2009). Diante dos resultados encontrados, observamos que as polpas de jabuticaba analisadas possuem consideráveis teores de compostos antioxidantes, possibilitando a produção de alimentos com propriedades potencialmente funcionais.

#### 5.2 Padronização do Inóculo

O estudo da padronização do inóculo determinou que o mosto de jabuticaba atingiu 10<sup>7</sup> células/mL com 24h de fermentação. Assim, todos os inóculos elaborados neste trabalho fermentaram por este período.

#### 5.2.1 Acompanhamento fermentativo

A fermentação durou 144 h para os 5 mostos de jabuticaba elaborados com as três cepas TAQ, CAT e PMS, sendo que o fator determinante para o término da fermentação foi a estabilidade do °Brix. Na Figura 21 encontram-se as curvas de °Brix em função do tempo durante o processo fermentativo.

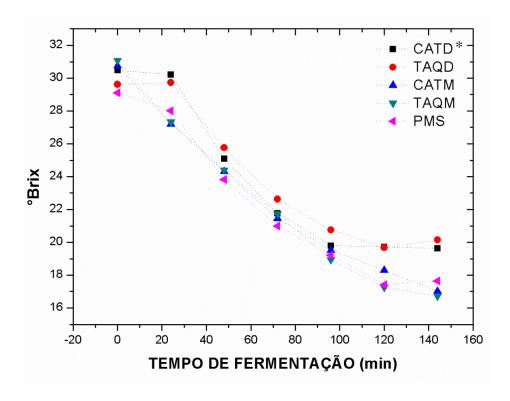


Figura 21 Variação do °Brix durante a fermentação dos mostos dos fermentados de jabuticaba

\*Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM

(fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS).

Os mostos tiveram um comportamento bastante similar no consumo do açúcar durante a fermentação. Houve acentuado decréscimo nas primeiras 96 h do processo e então, o consumo começou a diminuir gradativamente até estabilizar, com 16,7 °Brix, para os mostos inoculados com a cepa CAT e PMS; e 20,8 °Brix, para os mostos inoculados com a cepa TAQ. Os mostos de jabuticaba CAT e PMS consumiram uma maior quantidade de açúcares para um mesmo período de fermentação quando comparado com o mosto com a levedura TAQ. Na Figura 22 encontram-se as curvas de pH em função do tempo durante o processo fermentativo.

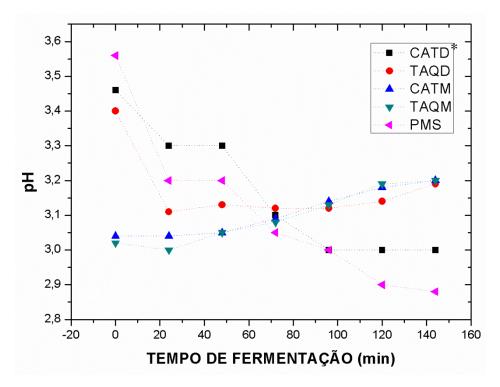


Figura 22 Valores do pH durante a fermentação do mosto de jabuticaba.

\_

<sup>\*</sup>Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS).

Os valores iniciais de pH das bebidas fermentadas de jabuticaba são considerados ideal (3,0 a 3,4). Mostos com pH baixo estão mais protegidos da ação das enzimas oxidativas, ao contrário, de bebidas com pH elevado que são mais suscetíveis às alterações oxidativas e biológicas, já que o teor de dióxido de enxofre livre é proporcionalmente menor (RIZZON *et al.*, 1998). O pH final das bebidas fermentadas de jabuticaba inoculados com as cepas TAQ, foi 3,6; enquanto para bebidas fermentadas de jabuticaba inoculados com as cepas a CAT e PMS o pH foi de 3,5. O comportamento do pH das bebidas foi semelhante, demonstrando não haver grande variação neste parâmetro.

Vinhos com elevado pH possuem maior susceptibilidade ao ataque de microrganismos indesejáveis. Afirma-se que o conhecimento do pH dos vinhos para os enólogos é de suma importância, uma vez que por ele se pode avaliar a resistência do vinho à infecção bacteriana ou a tendência à casse férrica ou a porcentagem de dióxido de enxofre presente na forma livre. Vinhos com pH 3,4 apresentam melhor resistência à infecção bacteriana que os com pH 3,8 (ASQUIERI *et al.*, 2008).

No trabalho de Muniz *et al.* (2002), os valores de pH do mosto de pinha variaram de 4,07 a 5,13 a, mantendo-se entre 4,07 e 4,19 até o final da fermentação. O pH dos mostos de ciriguela e mangaba apresentaram oscilações mínimas, sendo de 2,94 para 3,31, e 3,31 para 3,08, respectivamente, do início ao final da fermentação. Estudos realizados por Araújo *et al*, (2011), os valores iniciais de pH dos fermentados de caju são 4,0 a 5,0 considerados próximos ao valor ideal para o desenvolvimento das leveduras. No entanto o pH final das bebida fermentada de jabuticaba ficou entre 3,80 e 3,90.

#### 5.2.2 Análise sensorial das bebidas fermentadas de jabuticaba

A análise sensorial demonstrou que não houve diferença significativa entres as bebidas fermentadas de jabuticaba quanto ao método de despolpamento. A somatória das notas ordenadas das bebidas quanto à preferência dos julgadores (Tabela 8), onde os resultados foram avaliados estatisticamente por meio da tabela para o teste de ordenação e preferência de Newell e Mac Farlane (Anexo 1) onde a diferença críticas entre os totais de ordenação ao nível de 5% teria que ser ≥ 27 (DUTCOSKY, 2006).

Tabela 8 Soma das notas atribuídas pelos julgadores aos diferentes tratamentos

	Fermentado	Fermentado	Fermentado	Fermentado
	CATM	TAQM	CATD	TAQD
Somatóri o das notas	82ª	90ª	76ª	83ª

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias nas mesmas linhas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de ordenação e preferencia de Newell e Mac Farlane ao nível de 5%

O teste de ordenação-preferência evidenciou que a bebida fermentada de jabuticaba elaborada com polpa despolpada manualmente, inoculado com a cepa TAQ foi mais preferida; e a bebida fermentada de jabuticaba menos preferida foi aquela elaborada com polpa despolpada em despolpadeira inoculado com a cepa CAT, sem diferenças significativas. Como não houve diferença significativa entre as bebidas elaboradas com os métodos distintos de despolpamento, foi desenvolvida a bebida fermentada de jabuticaba com a cepa PMS.

#### 5.2.3 Caracterização físico-química das bebidas fermentadas de jabuticaba

Na Tabela 9, encontram-se os resultados das análises físico-químicas das bebidas fermentadas de jabuticaba, elaborados pelo uso de polpa de jabuticaba extraída por meio de despolpamento manual e despolpadeira, sendo inoculados com diferentes cepas.

As análises físico-químicas das bebidas fermentadas de jabuticaba evidenciaram que todas as bebidas elaboradas estão de acordo com o Decreto n. 2.314/1997 e a Portaria nº 64 de Publicado no Diário Oficial da União de 24/04/2008, com graduação alcoólica de 4 a 14% em volume, a 20 °C obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura.

Tabela 9 Características físico-químicas das diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

	Fermentado CATM	Fermentado TAQM	Fermentado CATD	Fermentando TAQD	Fermentado PMS
Teor alcoólico (°GL/20 °C)	$13 \pm 0.58$ <sup>a</sup>	$14 \pm 0.58^{a}$	$13 \pm 0.58$ <sup>a</sup>	$14 \pm 0.58^{a}$	$12\pm0,58$ <sup>a</sup>
Açúcares redutores (g/L)	$4,5\pm0,13$ <sup>a</sup>	4,6 $\pm$ 0,38 $^{\rm a}$	$4,2 \pm 0,11$ ab	$4,5\pm0,24$ <sup>a</sup>	$4,0\pm0,19^{b}$
Açúcares não redutores(g/L)	$1,25\pm0,12^{\rm a}$	$1,22\pm0,11^{\ a}$	1,03 $\pm$ 0,40 $^{\rm a}$	1,37 $\pm$ 0,04 $^{\rm a}$	$1,14 \pm 0,08$ a
Açúcares totais (g/L)	5,76 $\pm$ 0,01 $^{\rm a}$	$5{,}77\pm0{,}29$ $^{a}$	5,22 $\pm$ 0,47 $^{\rm a}$	$5,88 \pm 0,26$ a	$5,12 \pm 0,25$ a
Extrato seco g/100 mL	$1,33 \pm 0,00$ bc	$1,32 \pm 0,00$ bc	$1,31 \pm 0,02$ °	$1,42 \pm 0,02^{a}$	$1,35 \pm 0,00^{b}$
Densidade g mL <sup>-1</sup> a 20 °C	$0,9829 \pm 0,00^{\ b}$	$0,9817 \pm 0,00^{\text{ c}}$	$0,9828 \pm 0,00^{\ b}$	$0,9818 \pm 0,00$ <sup>c</sup>	$0,9840 \pm 0,00$ a
Cinzas gL <sup>-1</sup>	2,51 $\pm$ 0,02 $^{\rm a}$	$2,\!47\pm0,\!02^{\rm \ a}$	3,67 $\pm$ 1,77 $^{\rm a}$	$2{,}51\pm0{,}04$ $^{a}$	$2,56 \pm 0,10^{a}$
pН	$3,5 \pm 0,06^{a}$	$3,6\pm0,06$ <sup>a</sup>	$3,5\pm0,00^{a}$	$3,5\pm0,10^{\text{ a}}$	$3,5\pm0,00^{\rm a}$
SST (°B)	$18.0\pm0.03^{\text{ c}}$	$17.7\pm0.03^{\rm d}$	18,4 $\pm$ 0,13 $^{\rm b}$	$18,7\pm0,04^{\rm \ a}$	$17,3 \pm 0,13^{e}$
Acidez Total (meq/L)	$175,33 \pm 0,58$ a	174 ± 2,65 <sup>a</sup>	176,76 ± 1,53 <sup>a</sup>	180 ± 1,00 <sup>a</sup>	200,67 ± 11,37 °a
Acidez Fixa meq/L	$172 \pm 1,00^{\ b}$	170,33 ± 3,06 <sup>b</sup>	173,67 ± 1,53 <sup>b</sup>	$177,67 \pm 0,58$ b	196,67 ± 11,97 <sup>a</sup>
Acidez Volátil (meq/L)	$3,3 \pm 0,58$ ab	$3,7 \pm 0,58$ ab	$3,0 \pm 0,00$ ab	$2,3 \pm 0,58$ b	4,0 ± 0,00 <sup>a</sup>

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias nas mesmas linhas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se que as bebidas fermentadas de jabuticaba inoculadas com a cepa TAQ obtiveram os maiores teores alcoólico (14 °GL/20 °C), o que pode ser explicado, sendo a cepa oriunda de processos industriais de obtenção de etanol e foi adquirida por doação de uma empresa sucroalcooleira da região, a qual se destaca pela sua capacidade de produção de etanol. Nas bebidas fermentadas de jabuticaba inoculadas com a cepa CAT e PMS foram observadas teores alcoólicos de 13 °GL/20 °C e 12 °GL/20 °C, respectivamente. No trabalho de Araújo *et al.* (2010), os teores alcoólicos obtidos para fermentado de caju elaborado com cepas distintas de *S. cerevisiae* foram 10 e 11° GL. Nogueira *et al.* (2007), obtiveram uma variação de teor alcoólico de 7,17 a 7,42 °GL, para fermentado de maçã inoculada com cepas distintas. Corazza *et al.* (2001) analisaram a graduação alcoólica de fermentado de laranja e obtiveram o valor de 10,3 °GL. Mohanty *et al.* (2005), encontraram uma baixa graduação alcoólica de 5,0 °GL para bebida fermentada de caju. Estas variações de graduação alcoólica podem ter sido pelo microrganismo utilizado na inoculação das bebidas, pela matéria-prima, pelas condições de elaboração, etc.

Observa-se que a acidez total verificada nas diversas bebidas fermentadas encontra-se com valores variando de 175,33 a 200,67 meq/L (Tabela 9), estes valores apresentam-se fora do limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira para vinho de mesa, onde a acidez total máxima aceitável é de 130 meq/L. Resultados semelhantes foram encontrados em Silva, (2008), que analisou bebidas fermentadas de jabuticaba tipo artesanal, produzidos nas safras de 2002 a 2006 de 29 produtores artesanais, e os fermentados analisados foram considerados de acidez elevada, já que a maioria das amostras, em todas as safras, apresentou valores superiores a 130 meq/L.

As alternativas enológicas para reduzir a acidez baseiam-se na realização da fermentação malolática, em favorecer a salificação dos ácidos através de macerações mais longas e na precipitação do ácido tartárico, no caso de vinhos feitos a partir da uva. Rizzon, et al. (2002) e Silva, et al. (1999) analisaram diferentes tipos de vinhos elaborados a partir da uva e encontraram amostras dentro dos padrões legais vigentes, sendo que o valor médio máximo observado foi de 101,29 meq/L indicando maior controle da fermentação e da produção do vinho, em relação a bebida fermentada de jabuticaba. Em trabalho realizado com fermentados de frutas tropicais, foram observados valores mais elevados de acidez total em relação aos vinhos tradicionais, porém dentro do padrão, sendo relevantes os fermentados de laranja 135 meq/L (CORAZZA, et al. 2001) e de caju 120 meq/L

(TORRES NETO et al, 2006). Já em estudo realizado por Dias, et al. (2003) com fermentado de cajá, foram verificados valores de acidez total inferiores ao limite mínimo estabelecido pelo MAPA (55 meq/L), (BRASIL, 1988) diferentemente dos resultados obtidos neste trabalho. Valores elevados de acidez volátil podem indicar a presença de microrganismos indesejáveis após a elaboração, principalmente o Acetobacter sp., que eventualmente pode converter o vinho em vinagre, ou também elevada concentração de ácido acético no mosto a ser fermentado, comprometendo a qualidade sensorial da bebida (SILVA, et al, 2008).

O teor do extrato seco das amostras de bebidas fermentadas de jabuticaba variou de 1,31 a 1,42 g/100 mL, Santos *et al.* (2005) encontraram para fermentado de acerola o valor de 8,93 g/L de extrato seco. Arruda *et al.* (2007) reportaram para bebida fermentada de banana, na faixa de variação de 22,09 a 23,13 g/L, sendo o valor mais alto proveniente da bebida fermentada a 16°C. O extrato seco compreende a totalidade das substâncias restantes depois do processo de evaporação ou destilação. Entre estas substâncias encontram-se os hidratos de carbono, glicerina, ácidos não voláteis, combinações nitrogenadas, substâncias tânicas, álcoois superiores e minerais. Os vinhos elaborados a partir de mostos prensados contêm mais substâncias de extrato que os vinhos de mostos não prensados (VOGT & JAKOB, 1986, ARRUDA *et al.*, 2007).

O teor de cinzas das bebidas fermentadas de jabuticaba variou de 2,47 a 3,67 gL<sup>-1</sup>, onde as cinzas correspondem aos elementos minerais presentes. A legislação brasileira estabelece o mínimo de cinzas de 1,3 g.L<sup>-1</sup> (BRASIL, 1988), estando as bebidas fermentadas de jabuticaba nos padrões exigidos pela legislação. Comparado ao do fermentado tinto de jabuticaba (2,88 g.L<sup>-1</sup>) ( SILVA, *et al.* 2008), estando em desacordo com a afirmação de que os vinhos tintos são mais abundantes em cinzas que os vinhos brancos (VOGT & JAKOB, 1986). O teor encontrado por Santos (2006) para diferentes amostras de vinho tinto seco varietal *Carbenet Sauvignon* brasileiros variou de 2,30 a 4,46 g/L.

Quanto ao teor de açúcares totais, calculado em g/L de glicose, as bebidas fermentadas de jabuticaba podem ser designados de "Meio seco", conforme legislação brasileira para vinho de mesa (BRASIL, 1988). Os valores encontrados neste trabalho ficaram entre 5,12 g/L a 5,88 g/L. O valor obtido por Asquieri, *et al.* (2008) ficou em 8,28

g/L, para fermentado de jaca. No trabalho de Chiarelli, *et al.* (2005), houve uma variação (2,34 a 8,49 g/100 mL) deste teores devido a diferentes tratamentos utilizados na elaboração de bebidas fermentadas de jabuticaba,. Segundo a Legislação Brasileira, vinhos que possuem acima de 20 g/L de açúcares totais, são classificados como suave (BRASIL, 1988).

Os sólidos solúveis totais das bebidas fermentadas de jabuticaba variaram de 17,3 a 18,7 °Brix. Em trabalho realizado por Mouchrek Filho *et al.* (2002), foi encontrado o valor de 12 °Brix para vinho de caju, enquanto que Almeida *et al.* (2006) reportaram teor de sólidos solúveis de 5,5 °Brix para fermentado de mandacaru. O fermentado de jaca obteve 12 °Brix. Valor bem acima foram encontrados por Corazza, *et al.* (2001) para o fermentado de laranja, de 7,0 °Brix; para o fermentado de caju, de 3,6 °Brix (TORRES NETO *et al.*, 2006); para o fermentado de ata, (5,36) °Brix; para o fermentado de ciriguela, (5,76 °Brix); e para o fermentado de mangaba, (6,26 °Brix) (MUNIZ *et al.*, 2002). Os teores de açúcar redutor total (ART) variaram de 1,0 a 33,4 g/L para os vinhos de caju (ARAÚJO et al., 2011).

Nas bebidas fermentadas de jabuticaba a densidade obtida encontra-se na variação de 0,9817 a 0,9840 g mL<sup>-1</sup> a 20 °C. Valores próximos foram encontrados por Hernández, *et al.*, (1997) ao valor de 0,9928 g.cm<sup>-3</sup> para vinhos de uvas envelhecidos, enquanto valor encontrado por Silva *et al.* (2010) de 0,9944 g/cm<sup>-3</sup>, para vinho de abacaxi; e Santos *et al.* (2005) observaram o valor de 1,0083 g/mL em fermentado de acerola. Mouchrek Filho *et al.* (2002) encontraram o valor de 1,020 g/mL para vinho de caju. Asquieri, *et al.* (2008) encontraram valores de densidade a 20 °C de 1,03 g.cm<sup>-3</sup> do fermentado de jaca. Este dado é consequência do teor alcoólico e da quantidade de açúcar residual (RIZZON, *et al.* 2002). Valores próximos foram encontrados para bebidas fermentadas de jabuticaba seco e doce com 1 ano de armazenamento, de (1,003 e 1,029 g.cm<sup>-3</sup>), respectivamente (ASQUIERI, *et al* 2004).

O pH compreende a concentração hidrogeniônica (íons H+) no produto. Em vinhos, a concentração de íons H+ encontra-se entre (0,001 e 0,0001 g/L), o que significa que nessa bebida, de um modo geral, o pH varia entre 3 e 4 (HASHIZUME, 1983). Para as bebidas fermentadas de jabuticaba, o pH encontrado no intervalo de 3,5 a 3,6. Estes valores ficaram próximos aos obtidos por Silva, *et al.* (2008) em fermentados de jabuticaba tipo

artesanal, produzidos nas safras de 2002 a 2006 de 29 produtores artesanais, em que o valor médios de pH foi de 3,5. SANTOS, *et al.* (2005) reportaram o valor de 3,0 para fermentado de acerola. Araújo, *et al.* (2010) em bebidas fermentadas de caju, elaboradas com diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* reportaram o valor de pH entre 3,9 e 4,0. Valores obtidos por Ogunjobi & Ogunwolu (2010), foi de 3,63 para vinho de caju elaborado com o suco da fruta, e 3,92 para vinho feito do pó do caju. Lopes & Silva (2006), analisaram o pH dos fermentados de fruto integral e da polpa de figo-da-índia e encontraram o valor de 3,31, para o primeiro e 4,0 para a polpa.

## 5.3 Determinação dos compostos bioativos e atividade antioxidante das bebidas fermentadas de jabuticaba

O vinho é um tipo de bebida constituído por diversos compostos, dentre os quais alguns apresentam efeitos fisiológicos importantes como os polifenóis, antocianinas e taninos. A literatura relata a funcionalidade destas substâncias como agentes antioxidantes, os quais previnem a formação de radicais livres, estes, responsáveis por inúmeros prejuízos à saúde humana. Segundo Mamede & Pastore (2004), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está diretamente ligada à sua estrutura química, a qual pode estabilizar radicais livres. Inicialmente, curvas de padrão foram elaborados, os teores de compostos bioativos em bebidas fermentadas de jabuticaba estão demonstrados nas Figuras 23 e 24. O teor dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais determinados para as cinco bebidas fermentadas de jabuticaba são apresentados na Figura 25. Os cálculos da concentração para fenólicos totais foram feitos a partir da curva de calibração usando o ácido gálico como padrão com a concentração inicial de 0,1 mg/mL a 0,00078 mg/mL (Apêndice 1), e para os cálculos da concentração de flavonoides foram feitos a partir da curva de calibração usando o padrão da Quercetina com concentração inicial de 0,033 mg/mL a 0,00105mg/mL (Apêndice 1). A atividade antioxidante destas substâncias é de interesse nutricional, devido a uma associação de efeitos promotores da saúde humana através da prevenção de várias doenças (GIADA & MANCINI FILHO, 2006). O cálculo da atividade antioxidante foi feita a partir da curva padrão do DPPH em μM, este valor foi transformado para gM (Apêndice 2).

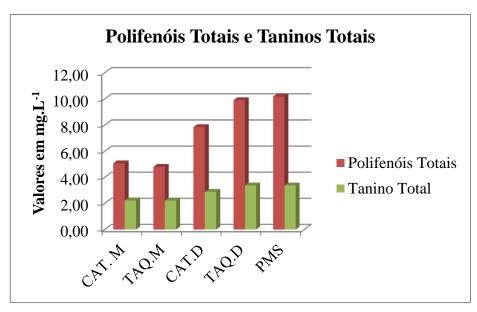


Figura 23 Teores de Polifenóis totais e taninos nas bebidas fermentadas de jabuticaba

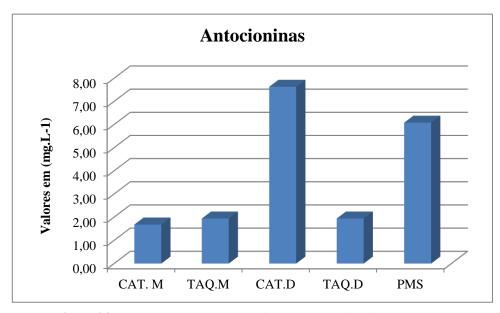


Figura 24 Teores de antocianinas nos fermentados de jabuticaba

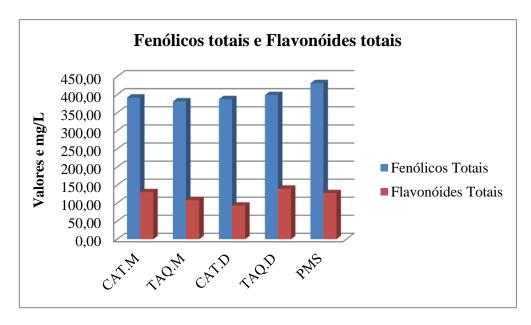


Figura 25 Teor de compostos fenólicos e flavonoides das bebidas fermentadas de jabuticaba

A bebida fermentada de jabuticaba elaborada com a cepa PMS obteve entre todos os experimentos, o maior teor de fenólicos totais (431,7 mg de ácido gálico/L), polifenóis e taninos totais (10,18 e 3,38 gL<sup>-1</sup>) respectivamente; sendo que, concentrações de flavonoides (127,7 mg de quercetina/L) e antocianinas (6,08 mg.L<sup>-1</sup>) apresentou valores inferiores à bebida fermentada de jabuticaba elaborada com a cepa TAQ e CAT. Todas as bebidas fermentadas de jabuticaba foram elaboradas com as mesmas condições (30 °Brix, pH 3,5, temperatura de fermentação de 25 °C, diluição da polpa na proporção 1:1, fosfato de amônio 1 g/L, sulfato de magnésio 0,1 g/L. com exceção das cepas e o método de despolpamento. Martins de Sá, *et al.* (2014) analisou bebidas fermentadas de jabuticaba nas variedades tinta, rose e branca e aguardente de jabuticaba, onde maior nível de fenóis dentre as bebidas fermentadas de jabuticaba foi encontrado na bebida tinta (1105 ± 57 mg GAE/mL), enquanto o menor foi encontrado na aguardente (19 ± 2 mg GAE/mL). As bebidas rose e branca apresentaram teores moderados e similares de compostos fenólicos (406 ± 2,9 mg GAE/mL e 373 ± 9,6 mg GAE/mL), respectivamente; valores considerados elevados, comparados ao encontrado nesse trabalho.

Tabela 10 Teores de compostos bioativos e em bebidas fermentadas de jabuticaba

	Antocianina (mg.L <sup>-1</sup> )	Polifenóis Totais (Taninos g.L <sup>-1</sup> )	Tanino Total (g.L <sup>-1</sup> )
Fermentado CATM	$1,68 \pm 0,59$ a	5,07 $\pm$ 0,04 $^{\rm d}$	2,22 ± 0,00 °
Fermentado TAQM	$1,94 \pm 0,39^{a}$	$4,80\pm0,09$ $^{\rm e}$	2,22 ± 0,01 °
Fermentado CATD	7,63 ± 3,48 <sup>a</sup>	7,84 ± 0,01 °	2,89 ± 0,17 <sup>b</sup>
Fermentados TAQD	1,94 ± 1,16 <sup>a</sup>	9,90 ± 0,08 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,03 <sup>a</sup>
Fermentado PMS	6,08 ± 3,14 <sup>a</sup>	10,18 ± 0,22 a	3,38 ± 0,03 <sup>a</sup>

Nota: \*Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); \* Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); \*Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); \*Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); \*Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fracasso *et al.* (2009) analisaram os teores de polifenóis totais nas amostras de vinhos tintos de 4 marcas diferentes e obtiveram seus teores variando de (0,0212 a 0,035 g/L<sup>-1</sup>). Estes valores foram inferiores aos obtidos neste trabalho para a bebida fermentada de jabuticaba que apresentou valores entre (4,08 a 10,18 g/L<sup>-1</sup>), que pode ser observados na Tabela 10. Quanto maior a concentração de polifenóis totais melhor a qualidade funcional da bebida. Gallice, *et al.* (2011) verificaram valores de concentração de polifenóis totais em 47 amostras de vinho tinto comercializados em Curitiba/PR, os valores encontrados foram de (0,97 e 2,91 g L<sup>-1</sup>). Concentração de compostos fenólicos varia consideravelmente, em função da variedade da uva, dos fatores ambientais no vinhedo, das técnicas de processamento e das condições de armazenamento e maturação. Zardo *et al.* (2008) encontraram para fermentado de maçã de 3 cultivares diferentes, os seguintes valores de compostos fenólicos totais: (397,0 mg/L) para cultivar Gala; (257,0 mg/L) para cultivar Fugi e (402,0 mg/L) para cultivar Joaquina. Araújo, *et al.* (2011) analisaram 15 amostras de fermentado de caju elaborados com cepas distintas e encontrou valores entre (67,26 e 137, 92 mg de ácido gálico/L) de fenólicos totais.

Tabela 11 Teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e DPPH encontrados nas bebidas fermentadas de jabuticaba

	Fenólicos totais (mg de Ác. gálico/L)	Flavonoides totais (mg de quercetina/L)	Atividade antioxidante (DPPH g/g)
Fermentado CATM	$391,8 \pm 0,01^{b}$	$130,2 \pm 0,02$ ab	$0,3534 \pm 0,12$ a
Fermentado TAQM	381,5 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	$108,5 \pm 0,02$ ab	$0,2243 \pm 0,09^{a}$
Fermentado CATD	387,6 $\pm$ 0,01 $^{\rm b}$	93,1 $\pm$ 0,01 $^{\rm b}$	5,6470 ± 6,46 <sup>a</sup>
Fermentado TAQD	399,0 ± 0,02 <sup>b</sup>	$140,0 \pm 0,03^{a}$	$0,4776 \pm 0,19$ a
Fermentado PMS	$431,7 \pm 0,02^{a}$	$127,7 \pm 0,03$ ab	$0,5717 \pm 0,20^{a}$

Nota: \*Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); \* Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); \*Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); \*Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); \*Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Martins de Sá, *et al.* (2014) analisou a atividade antioxidante de vinhos (tinto, branco, rose, espumante, vinho do porto) tendo em conta as variedades de uva usadas na produção do vinho, a região de origem e os parâmetros de qualidade. A atividade antioxidante antirradicalar foi determinada com base na habilidade dos extratos em capturarem os radicais DPPH, onde os vinhos tintos apresentaram maior capacidade antioxidante do que os brancos, O EC<sub>50</sub> médio para os vinhos tintos e brancos secos foram, respectivamente, de (20,1 mL e 98,4 mL). Na verdade, o valor mais alto EC<sub>50</sub> entre vinhos tintos secos, (26,9 mL), foi ainda menor que (56,4 mL), que representa o melhor valor de EC<sub>50</sub> entre os vinhos brancos estudados. No que diz respeito à atividade antiradicalar do DPPH, pode-se observar que os vinhos tintos apresentam cerca de cinco vezes mais compostos antioxidantes que os vinhos brancos. Freitas, (2006) analisou vinhos tintos das variedades *Vitis vinífera* (*Cabernet Sauvignon, Merlot* e *Tannat*), das safras de 2003 e 2004 provenientes da Região da Campanha e Serra gaúcha do Rio Grande do Sul, encontrou valores de (698 a 2823 mg de quercetina/L), valores considerados elevados em relação a encontrados nesse trabalho, em que a menor concentração de DPPH nas bebidas

fermentadas de jabuticaba foi de (0,02243 g/g) para a bebida TAQM e a maior concentração foi na bebida CATD (5,6470 g/g), que pode ser observados na Tabela 11.

Características de processamento de alguns tipos específicos de vinhos demonstraram exercer uma influência importante sobre o teor de compostos fenólicos e, como consequência, sobre o poder antioxidante final. Os vinhos fortificados como, por exemplo, o porto, o madeira, o *jerez*, o *Vermouth*, o *Commandaria* e vinhos do tipo *Marsala*, bem como os vinhos gaseificados, como espumante, frisante, também podem apresentar valores mais elevados EC<sub>50</sub> (MARTINS DE SÁ, *et al.* 2014), sendo assim, conclui-se que a adição de açúcar pode exercer um efeito de diluição e, além disso, a oxidação natural que ocorre durante o processo de envelhecimento pode explicar a menor atividade nas bebidas fermentadas de jabuticaba aqui avaliadas.

As concentrações de flavonoides em vinhos tintos foram determinados por Somers & Ziemelis (1985) os quais encontraram valores de (890 e 3160 mg L<sup>-1</sup>); Daudt & Polenta (1998) encontrara concentrações de (1245 e 2309 mg L<sup>-1</sup>) para variedade *Cabernet Sauvignon*. As concentrações de flavonoides nas bebidas fermentadas de jabuticaba variaram entre (93,1 mg de quercetina/L a 140,0 mg de quercetina/L).

# 5.4 Quantificação de Compostos Fenólicos nas Bebidas Fermentadas de Jabuticaba por HPLC

No vinho tinto, a catequina e o ácido gálico são os compostos fenólicos em maior abundância. Independentemente do vinho, a predominância desses compostos pode sofrer alterações de acordo com a procedência e o tipo da uva (ARAÚJO, *et al.* 2011).

Segundo Mamede & Pastore (2004), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está diretamente ligada à sua estrutura química, a qual pode estabilizar radicais livres. Esses participam de processos degenerativos celulares que provocam a aterosclerose, câncer e outras doenças. O vinho tinto pode ser mais eficaz no combate a essas doenças, provavelmente devido ao maior número de compostos fenólicos. A catequina constitui o polifenol mais abundante do vinho tinto, mas sua atividade antioxidante é menor que o ácido gálico. Porém nas amostras de bebida fermentada de

jabuticaba não foi encontrado catequina, mas houve a presença do ácido gálico. Entretanto, na análise realizada nas frutas de jabuticaba não foi identificado ácido gálico.

Para quantificar o ácido gálico foi obtido a equação da reta (Y= 5.10<sup>7</sup> x-36929) de regressão linear simples para a curva de padronização externa construída com o padrão de ácido gálico variando sua concentração de 1,14 a 2,22 x 10<sup>-3</sup> mg/mL, conforme apresentado no (Apêndice 2).O tempo de retenção do ácido gálico foi de 3,5 min. As concentrações do ácido gálico encontradas nas bebidas fermentadas de jabuticaba variaram de (0,0527 mg/mL a 0,0918 mg/mL) (Apêndice 3 e 4).

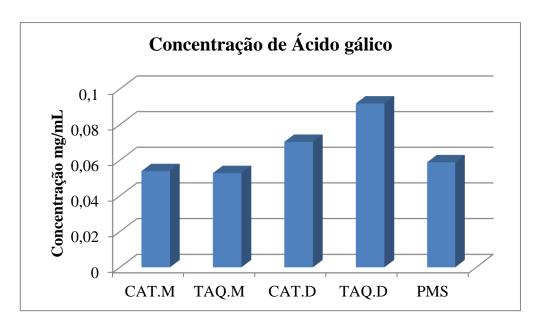


Figura 26 Concentrações de ácido gálico nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

As bebidas fermentadas de jabuticaba elaboradas com as cepas CAT, TAQ e PMS obtiveram os maiores teores de ácido gálico (Figura 26), sendo que as condições de elaboração destas bebidas fermentadas foram o despolpamento do fruto, onde foi utilizada a despolpa mecânica. Segundo Ribéreau-Gayon *et al*, (2003) as sementes de uvas são fonte de ácido gálico do vinho. O principal ácido hidroxibenzóico presente no vinho tinto é o ácido gálico, que é formado principalmente pela hidrólise de flavonóides galatos. Em vinhos envelhecidos em carvalho verificam-se, normalmente, níveis elevados de derivados do ácido hidroxibenzóico, principalmente de ácido elágico. Cris, (2010) ao caracterizar os principais compostos fenólicos presentes em vinhos *Cabernet Franc, Merlot, Sangiovese* e

Syrah de São Joaquim/SC, das safras 2006 e 2007, observou que o ácido gálico foi o constituinte predominante, representando, em média 76% do total dos ácidos hidroxibenzóicos quantificados, e apresentou conteúdo que variou entre (0,03285 a 0,544 mg/mL). A presença de quantidades elevadas desse ácido em vinhos tintos é devido à hidrólise de ésteres de flavonoides galatos. Não foi identificado ácido gálico na fruta de jabuticaba, mas houve sua presença somente nas bebidas fermentadas de jabuticaba, pois o ácido gálico pode ser produzido através da hidrólise dos taninos hidrolisáveis contidos na fruta.

Devido à importância desse composto para a saúde humana Schuldt, (2005) ao investigar a atividade de uma fração rica em compostos fenólicos — Fração Acetato de Etila (FAE), obtida a partir do extrato bruto desalcoolizado de um vinho tinto catarinense, sobre o sistema cardiovascular de ratos e camundongos com ablação gênica para o receptor de LDL, submetidos a uma dieta hipercolesterolêmico; constatou que, dentre todos os compostos quantificados por HPLC, o ácido gálico encontra-se em maior concentração na amostra da FAE. Sanae *et al.*,(2002) demonstraram que o ácido gálico aumentou a resposta vasoconstritora da fenelefrina, além de inibir o vasorelaxamento induzido pela acetilcolina e pelo nitroprussiato de sódio, em aorta torácica de ratos.

Ono, (2014) ao pesquisar vinhos das variedades Ancellota, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Carmenére, Malbec, Merlot, Pinot Noir, Shiraz, Tannat e Tempranillo adquiridos em comércio local de Campo Mourão/PR, constatou que o maior conteúdo de compostos fenólicos individuais foi observado na amostra correspondendo ao vinho elaborado com a uva Tempranillo. Os resultados mostraram que dentre os constituintes fenólicos dos vinhos a catequina é mais abundante seguido do ácido gálico.

Com objetivo de caracterizar compostos fenólicos por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) dos vinhos fortificados nacionais (*Goethe, Moscato, Cabernet Sauvignon, Merlot, Tannat e Touriga*), produzidos em diferentes regiões do Brasil, Arcari, (2010), reportou que o ácido gálico foi o composto mais abundantemente encontrado nos vinhos analisados, apresentando seu conteúdo que variaram entre (0,0676 a 0,795 mg/mL). Valores semelhantes encontrado nas bebidas fermentadas de jabuticaba em que o ácido gálico encontrado variou entre (0,0527 a 0,918 mg/mL), os resultados podem ser melhor visualizados na (Tabela 12).

Tabela 12 Teor (média ± desvio padrão) de ácido gálico nas bebidas fermentadas de jabuticaba

Amostra das	Fermentado	Fermentado	Fermentado	Fermentado	Fermentado
bebidas	CATM	TAQM	CATD	TAQD	PMS
Ác. Gálico (mg/mL)	$0,0538 \pm 0,00$ dc	$0,0527 \pm 0,00^{d}$	$0,0703 \pm 0,00^{b}$	$0,0918 \pm 0,00^{a}$	$0,05588 \pm 0,00^{\circ}$

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 5.4.1 Quantificação de ácidos orgânicos nas bebidas fermentadas de jabuticaba por HPLC

Os ácidos orgânicos estão presentes em vários alimentos, principalmente nas frutas e estes possuem propriedades importantes, como o sabor azedo que influenciam além do sabor, na cor, odor, estabilidade e manutenção da qualidade das frutas (SANTOS et al., 2013). Os ácidos também desempenham papel protetor contra doenças crônicas, devido as suas propriedades antioxidantes (BARROS et al. 2012). Os ácidos mais importantes no que se diz respeito à acidez de vinhos são o ácido tartárico, málico, cítrico, láctico e o ácido succínico. No entanto, vários outros ácidos podem estar presentes em vinhos. A maioria deles são ácidos orgânicos, ácidos inorgânicos, embora possam também estar presentes em pequenas quantidades. (DUARTE, et al., 2010b).

Para quantificar o ácido málico foi obtido a equação da reta (Y = 6,7x 10<sup>-5</sup> x - 7729,5) de regressão linear simples para a curva de padronização externa construída com o padrão de ácido L-málico variando sua concentração de 1 a 1,95 x 10<sup>-3</sup> mg/mL; e para ácido tartárico foi obtido a equação da reta (Y= 2.10<sup>7</sup> x + 6323,3) de regressão linear simples para a curva de padronização externa construída com o padrão de ácido L-tartárico variando sua concentração de 1 a 7,81 x 10<sup>-3</sup> mg/mL conforme apresentado no apêndice 5. O tempo de retenção do ácido L-málico e L-tartárico foi de 5,4 e 4,2 min., respectivamente. O cromatograma do ácido málico e tartárico presentes nas bebidas fermentadas de jabuticaba estão apresentados no apêndice 6.

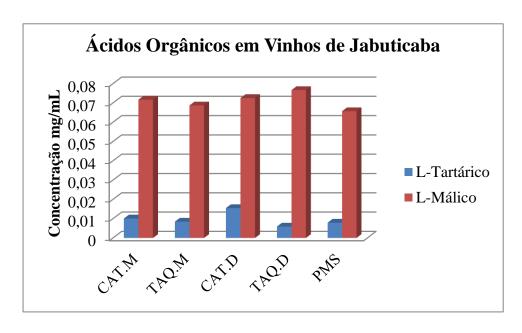


Figura 27 Concentração de ácido málico e tartárico nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

Os maiores teores de ácido málico foram encontrados nas bebidas fermentadas de jabuticaba codificadas TAQD e CATD (0,07667 mg/mL e 0,0717 mg/mL), respectivamente (Figura 27); sendo que as condições de elaboração destas bebidas foram o despolpamento do fruto, onde foi utilizada a despolpa mecânica. As concentrações de ácido málico nas bebidas fermentadas de jabuticaba variaram 0,07667 mg/mL, para maior concentração encontrada na bebida fermentada de jabuticaba codificadas TAQD, entretanto a menor concentração de 0,6871 mg/mL foi observada na bebida fermentada de jabuticaba TAQM. As bebidas foram elaboradas com a mesma cepa, e as mesmas condições de (30 °Brix, pH 3,5, temperatura de fermentação de 25 °C, diluição da polpa na proporção 1:1, fosfato de amônio 1 g/L, sulfato de magnésio 0,1 g/L); com exceção do método de despolpamento, o que podemos concluir que no despolpamento mecânico ocorre com maior intensidade o que pode influenciar no aumento do ácido málico.

Os ácidos málico, succínico e acético foram identificados em fermentados de frutas no trabalho realizado por Duarte, *et al.*, (2010b), que caracterizaram diferentes fermentados elaborados com as frutas de cacau, cupuaçu, gabiroba, jabuticaba e umbu, sendo que as bebidas fermentadas de cupuaçu e gabiroba obtiveram o maior valor de

concentrações de ácido málico (1760 mg/mL) e o menor valor (70 mg/mL), respectivamente.

Guimarães, (2006) no seu trabalho avaliou estresse potencial fermentativo de isolados de *Saccharomyces* na microvinificação da jabuticaba, e identificou a presença do ácido málico durante a fermentação em que a concentração de ácido málico, que estava (0,09 gramas para 100 mL) do mosto de jabuticaba, apresentou decréscimo de, aproximadamente, 50%, na sua concentração na bebida elaborada.

No estudo de Duarte, *et al.*, (2010b) e Guimarães, (2006), não foi identificado o ácido tartárico, que foi identificado nesse trabalho, e que podem estar relacionados a fatores naturais como clima, solo, região que influenciam na composição dos frutos. Guimarães, (2006) relaciona a não identificação do ácido tartárico ao tempo de retenção do ácido cítrico e do ácido tartárico, que foram próximos, e devido à alta concentração do ácido cítrico na amostra, o seu pico, no cromatograma, pode ter arrastado com ele (o ácido tartárico). Kotani *et al.* (2004) analisaram ácidos orgânicos em vinhos de uva e fermentados de laranja, por hplc, não conseguindo a separação cromatográfica entre o ácido cítrico e o tartárico, mesmo otimizando as condições analíticas do método de HPLC-UV.

Para concentrações de ácido tartárico foi observado o maior valor encontrado (0,1549 mg/mL) na bebida fermentada de jabuticaba CATD, e menor teor (0,0590 mg/mL) foi encontrado na bebida fermentada de jabuticaba TAQD. Entretanto, as condições para elaboração dos mesmos foram iguais, com exceção da cepa utilizada. As concentrações verificadas nesse estudo podem ser consideradas baixas ao comparado com trabalhos realizados com vinho tintos, porém não foi encontrado estudo com identificação de ácido tartárico nas bebidas fermentadas de jabuticaba. A Tabela 13 apresenta os dados das concentrações dos ácidos málico e tartárico identificados nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba.

Tabela 13 Teor (média ± desvio padrão) de ácido málico e tartárico nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

	Ácido Málico mg/mL	Ácido Tartárico mg/mL
Fermentado CATM	$0,0717 \pm 0,00^{d}$	$0,1009 \pm 0,00^{b}$
Fermentado TAQM	$0,6871 \pm 0,00^{a}$	$0,0846 \pm 0,00^{c}$
Fermentado CATD	$0,0725 \pm 0,00^{c}$	$0,1549 \pm 0,00^{a}$
Fermentado TAQD	$0,07667 \pm 0,00^{\mathrm{b}}$	$0,0590 \pm 0,00^{\rm e}$
Fermentado PMS	$0,0657 \pm 0,00^{\rm e}$	$0,0791 \pm 0,00^{d}$

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). As médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 5.5 Identificação dos Compostos Voláteis nas Bebidas Fermentadas de Jabuticaba

O perfil de compostos voláteis identificados, com seus respectivos índices de retenção linear (IRL<sub>médio</sub>), área % e descrição da nota do aroma, das diversas bebidas fermentadas de jabuticaba está apresentada na tabela 15. Os cromatogramas das bebidas fermentadas de jabuticaba encontram-se apêndice 7 e 8. No apêndice 9 encontra-se o perfil de compostos voláteis não identificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba. Para a identificação dos voláteis foram utilizados a biblioteca NIST (2008), os índices de retenção obtidos experimentalmente e na literatura científica e dos espectros e índices de retenção de uma série de n-alcanos (C8-C20), (C20-C40). Houve uma diferença no número de compostos encontrados em cada bebida fermentada de jabuticaba analisadas através de cromatografia a gás de alta resolução acoplada com espectrometria de massa.

A Tabela 14 apresenta o número total de compostos voláteis e as classes dos compostos encontrados nas bebidas fermentadas de jabuticaba avaliadas.

Tabela 14 Total de compostos voláteis identificados, e classes dos compostos nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

	Fermentado	TAQM	Fermentado	TAQD	Fermentado	CATM	Fermentado CATD		Fermentado PMS	
	Quantidade	Área %	Quantidade	Área %	Quantidade	Área %	Quantidade	Área %	Quantidade	Área %
Compostos detectados	143	100,00	101	100,00	92	100,00	101	100,00	101	100,00
Compostos identificados	60	60,56	56	84,77	58	79,81	54	75,76	54	78,56
Classes de compostos										
Álcoois	5	12,72	6	18,26	8	28,08	5	6,04	4	9,00
Ésteres	9	14,63	11	20,27	12	25,14	11	12,10	10	24,11
Terpenos	28	26,47	23	42,76	21	21,22	23	49,03	25	42,46
Aldeídos	5	0,19	5	0,21	7	0,52	3	5,73	6	0,29
Ácidos	5	4,99	4	2,04	3	2,43	3	1,07	2	1,45
Cetonas	3	0,72	3	0,53	3	1,74	3	1,17	3	0,80
Benzenos	1	0,11	1	0,12	1	0,15	1	0,07	1	0,19
Outros	4	0,74	3	0,58	3	0,53	4	0,56	3	0,26
Não Identificados	83	39,44	45	15,23	34	20,19	47	24,24	47	21,44

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS).

Tabela 15 Perfil de compostos voláteis identificados nas diversas bebidas fermentadas de jabuticaba

						Área (%)			
Nº	Compostos	IR <sub>Médio</sub>	IR ref. <sup>a</sup>	Fermentado TAQM	Fermentado TAQD	Fermentado CATM	Fermentado CATD	Fermentado PMS	Descrição de aroma <sup>b</sup>
	Álcoois								
1	Etanol	553	503	2,21		18,52			Doce
2	Isobutanol	581	580	0,10			0,26	$0,29 \pm 0,13$	
3	2,3-Butanodiol	819	806			0,13			Frutas, cebola
4	1-Heptanol	973	973		$0,04 \pm 0,00$	0,05			Química, verde
5	Linalool	1103	1102	$0,05 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	$0.08 \pm 0.03$	$0.06 \pm 0.04$	$0.05 \pm 0.01$	Rosas, lavanda
6	1-Hexanol, 2-etil	1028	1028	$0,06 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$		$0,03 \pm 0,02$		Rosa, verde
7	1-Octanol	1068	1068		$0,02 \pm 0,01$	0,03		$0.03 \pm 0.01$	Química, metal, queimado
8	2-fenil-etanol	1123	1124	$10,30 \pm 0,52$	$17,97 \pm 0,45$	$8,57 \pm 0,46$	$5,66 \pm 6,42$	$8,63 \pm 0,09$	Mel, especiarias, rosa
9	Citronelol	1227	1227		$0,04 \pm 0,01$	0,04	0,03		Rosas
10	Dodecan-1-ol	1469	1474			0,67			Floral
	Ésteres etílicos								
11	Acetato de etila	584	584	$1,65 \pm 1,38$	$0,89 \pm 0,45$	$2,65 \pm 0,96$	$0,58 \pm 0,37$	$2,08 \pm 0,42$	Abacaxi
12	Butirato de etila	804	802			0,07			Azedo
13	Botuonato de etila	779	780			0,12	$0,17 \pm 0,18$		Azedo
14	Acetato de isopentila	880	879	$0,89 \pm 0,84$	$1,18 \pm 0,03$	$1,55 \pm 0,14$	$0,29 \pm 0,27$	$3,73 \pm 0,91$	
15	Octanoato de etila	1199	1199		$7,65 \pm 1,76$	$9,87 \pm 1,24$	$3,77 \pm 4,32$	$7,51 \pm 0,94$	Óleo, frutas, pungente
16	Hexanoato de etila	1000	1000	$1,69 \pm 0,71$	$1,34 \pm 0,12$	$2,15 \pm 0,21$	$0,55 \pm 0,61$	$1,54 \pm 0,16$	Frutas, gordura
17	Fenilacético de etila	1247	1247	0,04	$0,06 \pm 0,01$	0,05	$1,49 \pm 1,66$	$0.03 \pm 0.01$	
18	Isopentil -hexanoato	1248	1250	0,01					
19	Acetato de 2-fenetila	1259	1260	$4,52 \pm 0,10$	$4,62 \pm 0.03$	$4,33 \pm 1,38$	$1,66 \pm 1,46$	$5,10 \pm 0,09$	Maçã, rosa, mel
20	Benzenopropanóico de etila	1349	1349	0,04	$0.03 \pm 0.00$	0,15	$0.11 \pm 0.10$	$0.05 \pm 0.00$	

						Área (%)			
Nº	Compostos	IR Médio	IR ref. <sup>a</sup>	Fermentado TAQM	Fermentado TAQD	Fermentado CATM	Fermentado CATD	Fermentado PMS	Descrição de aroma <sup>b</sup>
21	Acetato de 9-decenoato	1388	1389		$0,18 \pm 0,12$				
22	Decanoato de etila	1394	1397	$5,75 \pm 1,41$	$4,26 \pm 0,85$	$3,12 \pm 4,86$	$3,41 \pm 4,01$	$4,02 \pm 0,34$	Uva
23	Octanoato 3-metilbutila	1446	1446	0,04	$0.04 \pm 0.00$		0,05	$0.04 \pm 0.00$	
24	Dodecanoato de etila	1596	1593			$0.97 \pm 0.03$			
25	Hexadecanoato de etila	1995	1995		$0.02 \pm 0.00$		$0.02 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.00$	Cera
26	Palmitato de isopropilo	2027	2023			0,12			
	Terpenos								
27	o-Cymeno	1024	1025	0,02					Citros
28	Eucaliptol	1031	1031	$0,12 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,00$	$0,22 \pm 0,05$	$0.03 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.01$	Cânfora
29	Borneol	1169	1169	0,08	$0,07 \pm 0,00$	0,12	$0,09 \pm 0,06$	$0,06 \pm 0,01$	Óleo, anis, hortelã
30	Óxido de cis-Linalol	1169	1169	$0,02 \pm 0,01$		0,04		$0.03 \pm 0.01$	Flor
31	Terpinen-4-ol	1181	1181	1,96	$2,12 \pm 0,18$	2,33 ± 1,66	$2,30 \pm 0,45$	$2,29 \pm 0,44$	Terebintina, noz-moscada, mosto
32	α-Terpineol	1194	1195	2,45	$2,47 \pm 0,09$	$3,49 \pm 1,14$	$4,71 \pm 3,28$	$1,93 \pm 0,14$	Óleo, anis, hortelã
33	Cariofileno	1420	1420		0,04			$0.08 \pm 0.00$	Madeira, especiarias
34	Alloaromadendrene	1450	1450				0,12		Madeira
35	α-Himachalene	1460	1460		0,03				
36	Globulol	1551	1568			0,27		$2,30 \pm 0,16$	
37	Dihydro-β-agarofurane	1486	1501	$0,15 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,02$	0,12	$0,13 \pm 0,07$	$0,13 \pm 0,00$	
38	β-Guaiene	1503	1500	$0,10 \pm 0,06$			$0,22 \pm 0,15$	$0,08 \pm 0,00$	
39	Ledene	1511	1509	$0,21 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,53$	$0.35 \pm 0.07$	$0,18 \pm 0,00$	
40	α-Muurolene	1500	1500				0,37		Erva, especiaria
41	β-Cadinene	1523	1523		$0,35 \pm 0,02$		0,61		Tomilho, madeira

						Área (%)			
Nº	Compostos	IR <sub>Médio</sub>	IR ref. <sup>a</sup>	Fermentado TAQM	Fermentado TAQD	Fermentado CATM	Fermentado CATD	Fermentado PMS	Descrição de aroma <sup>b</sup>
42	Cubenene	1514	1514	0,06					
43	Calamenene	1514	1504	$0,22 \pm 0,02$					Erva, especiaria
44	δ-Selinene	1525	1520					$0.07 \pm 0.01$	
45	α-Calacorene	1542	1542	$0.11 \pm 0.01$	$0,20 \pm 0,02$		$0,55 \pm 0,22$	$0.09 \pm 0.04$	Madeira
46	Elemol	1549	1549	$0,50 \pm 0,02$	$0.83 \pm 0.04$		$0,47 \pm 0,31$	$0,69 \pm 0,01$	Verde, madeira
47	Nerolidol	1557	1556	$2,16 \pm 0,20$					
48	trans-Nerolidol	1564	1565			$0.87 \pm 1.33$			
49	Cariofileno álcool	1567	1568	$0,71 \pm 0,13$	$0.35 \pm 0.01$	2,85	$0,29 \pm 0,22$	$0.88 \pm 0.02$	Musgo, terra, especiarias
50	Viridiforol	1567	1566	0,20	$1,51 \pm 0,01$	1,33	$2,25 \pm 0,12$	$3,02 \pm 0,36$	Verde, doce
51	Isoaromadendrene epoxide	1576	1590	0,09					
52	Spathulenol	1577	1576		$0.07 \pm 0.00$	0,40	$0.11 \pm 0.01$		
53	Palustrol	1576	1579					$0,10\pm 0,01$	
54	Guaiol	1592	1593	$1,45 \pm 0,37$	$1,57 \pm 0,04$	$0.34 \pm 0.24$	$1,55 \pm 0,38$	$3,48 \pm 0,24$	Madeira, balsâmico
55	β-Eudesmol	1618	1618	$0.91 \pm 0.34$	$3,72 \pm 0,11$	$1,37 \pm 0,70$	$4,58 \pm 0,44$	$4,50 \pm 0,03$	
56	Humulane-1,6-dien-3-ol	1616	1619			0,20			
57	Cubenol	1623	1620	$0.87 \pm 0.65$	1,45 ± 1,22	$0,58 \pm 0,26$	$6,84 \pm 5,62$	$1,76 \pm 0,04$	Especiarias, ervas, chá verde
58	10-epi-γ-Eudesmol	1627	1623	$7,66 \pm 1,83$					Doce, madeira, flor
59	α-eudesmol	1631	1631	$1,56 \pm 1,90$	$3,67 \pm 0,07$	$0,65 \pm 0,09$	$4,64 \pm 1,60$	$5,08 \pm 0,23$	
60	α-acorenol	1633	1642	$0,22 \pm 0,30$					
61	γ-Eudesmol	1636	1636		$11,35 \pm 0,24$	$1,49 \pm 1,26$	$9,18 \pm 3,01$	$11,89 \pm 0,55$	Doce, madeira
62	τ-Cadinol	1641	1633	1,72		$2,48 \pm 3,09$		$2,85 \pm 0,00$	
63	τ-Muurolol	1643	1640	2,22	$6,19 \pm 0,17$	$0,74 \pm 0,78$	$4,13 \pm 2,91$		Erva, especiaria (fraco)
64	δ-Cadinol	1645	1645	$0,51 \pm 0,15$	$1,37 \pm 0,09$		$2,44 \pm 1,00$	$0,65 \pm 0,00$	Erva

Nº	Compostos	IR Médio	IR ref.ª						
				Fermentado TAQM	Fermentado TAQD	Fermentado CATM	Fermentado CATD	Fermentado PMS	Descrição de aroma <sup>b</sup>
65	α-Cadinol	1658	1660		$5,01\pm0,33$		$3,06 \pm 3,37$		
66	Bulnesol	1664	1666	$0.13 \pm 0.05$		0,86		$0.16 \pm 0.01$	Especiarias
67	Eudesm-7(11)-en-4α-ol	1692	1692	$0,06 \pm 0,03$	0,03			$0,10 \pm 0,00$	
	Aldeídos								
68	Heptanal	904	903			0,05			
69	Benzaldeído	963	962	$0.03 \pm 0.00$	$0,04 \pm 0,01$	0,04	0,02	$0,03 \pm 0,01$	Amêndoa, açúcar queimado
70	2-Furaldeído, 5-metil							0,03	
71	Octanal	1004	1005			0,03			
72	Nonanal	1107	1105	$0,05 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$	5,64 ± 6,44	$0,05 \pm 0,01$	Amêndoa, açúcar queimado
73	Fenilacetaldeído	1042	1042	0,03	$0,03 \pm 0,00$	0,03		$0,02 \pm 0,00$	
74	Decanal	1206	1206		$0,05 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$		$0,06 \pm 0,00$	Gordura, frutas cítricas, verde
75	Undecanal	1307	1308	0,03					
76	2-Undecenal	1363	1364			0,24			
77	Dodecanal	1405	1409	$0,05 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$		0,06	$0,10 \pm 0,01$	Sabão, casca de laranja, sebo
	Ácido								
78	Acido acético	586	580	$0,42 \pm 0,55$	$0,07 \pm 0,01$				Azedo
79	Ácido hexanóico	985	986	$0,42 \pm 0,12$	$0,12 \pm 0,07$	$0,37 \pm 0,14$	$0,10 \pm 0,07$	$0,15 \pm 0,03$	Rançosa, gordura
80	Ácido octanóico	1177	1178	3,43	$0,81 \pm 0,30$	1,75	0,16		Rançosa, gordura
81	Ácido nonanóico	1272	1272	0,13					Verde, gordura

Nº	Compostos	IR <sub>Médio</sub>	IR ref.ª	Área (%)					
				Fermentado TAQM	Fermentado TAQD	Fermentado CATM	Fermentado CATD	Fermentado PMS	Descrição de aroma <sup>b</sup>
82	Ácido decanóico	1373	1373	$0,61 \pm 0,56$	$1,04 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,44$	$0.80 \pm 0.83$	$1,30 \pm 0,19$	Suor, queijo
	Benzeno								
83	Estireno	893	893	$0,11 \pm 0,05$	$0,12 \pm 0,00$	0,15	$0,07 \pm 0,06$	$0,19 \pm 0,02$	Balsâmico, gasolina
	Cetona								
84	β-Damascenone	1385	1385	$0.07 \pm 0.03$	$0.05 \pm 0.02$	1,40	$0.17 \pm 0.11$	$0.12 \pm 0.03$	Maçã, rosa, mel
85	trans-Geranylacetone	1452	1453	$0.08 \pm 0.00$	$0.06 \pm 0.00$	0,09	$0,30 \pm 0,25$	$0.10 \pm 0.03$	
86	p-Benzoquinone, 2,6-di-tert- butyl	1462	1468	0,57	$0,43 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,28$	$0,70 \pm 0,25$	$0,58 \pm 0,04$	
	Outros								
87	Benzene, 1,4-dichloro-	1013	1013	$0.05 \pm 0.03$	$0,03 \pm 0,00$	0,06	$0.03 \pm 0.02$	$0,04 \pm 0,01$	
88	o-xileno, 4-etil	1090	1092	0,06	$0.03 \pm 0.00$			0,04	
89	2,5-dimetilbenzaldeído	1220	1208				$0.04 \pm 0.00$		
90	Butil-hidroxitolueno	1511	1513	$0.17 \pm 0.01$		0,15	$0.12 \pm 0.07$		
91	2,4,6-Trimethoxytoluene	1485	1486	$0,46 \pm 0,15$	$0,52 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,30$	$0,18 \pm 0,03$	

Nota: Fermentado CATM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQM (fermentado despolpado manualmente, inoculado com cepa TAQ); Fermentado CATD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa CAT); Fermentado TAQD (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa TAQ); Fermentado PMS (fermentado despolpado em despolpadeira, inoculado com cepa PMS). Números sobrescritos na coluna IRL<sub>médio</sub> representa o n° de bebidas fermentadas de jabuticaba elaboradas. NI.: Não Identificados. X.: Não detectado.

ACREE, T. E.; ARN, H. Flavornet. Ano 2004. Disponível em: <a href="http://www.flavornet.org/flavornet.html">http://www.flavornet.org/flavornet.html</a>. Acesso em: ago. 2014.

NIST. National Institute of Standards and Technology. Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, version 2.0. 2008.

Dentre os compostos identificados destacou-se etanol 2-fenil-etanol, acetato de etila, octanoato de etila, acetato de 2-feniletila, decanoato de etila, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, viridiforol, guaiol, 10-epi- $\gamma$ -eudesmol,  $\alpha$ -Eudesmol,  $\beta$ -Eudesmol,  $\gamma$ -Eudesmol,  $\alpha$ -Eudesmol,  $\beta$ -Eudesmol,  $\gamma$ -Eudesmol,  $\alpha$ -Eudesmol,  $\beta$ -Eudesmol e  $\gamma$ -Eudesmol, foram encontrados naturalmente nos frutos de jabuticaba (DUARTE, *et al.* 2010a), que são importantes para o aroma das bebidas fermentadas de jabuticaba, enquanto os demais compostos foram obtidos a partir do processo de fermentação.

Segundo Barre *et al.* (2000) os principais álcoois superiores são oriundos do metabolismo de aminoácidos ou açúcares durante a fermentação alcoólica (ZHANG *et al.*, 2010) são 1-propanol, isobutanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, 2,3-butanediol, butanol. Os álcoois identificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba foram etanol, Isobutanol, 2,3-Butanodiol, 1-Heptanol, Linalool, 1-Hexanol, 2-etil, 1-Octanol, 2-feniletanol, Citronelol, Dodecan-1-ol sendo que a bebida que obteve maior porcentagem por área (18,52%) d e etanol, foi elaborada com despolpamento manual e inoculada com a cepa CAT (CATM). Valor relativamente alto se comparado com as demais bebidas; sendo que nas bebidas fermentada de jabuticaba TAQD, CATD e PMS não foram detectadas a presença desse composto. Já para as bebidas fermentadas TAQM foi verificada a presença do etanol representando a área de 2,21%.

O composto 2-feniletanol foi identificado em todas as bebidas fermentadas de jabuticaba, e seus valores foram relativamente altos em comparação aos demais compostos encontrados nesse trabalho, sendo que, para a bebida fermentada de jabuticaba TAQM e TAQD foram observados valores de 10,30% e 17,97 %, respectivamente; enquanto que na bebida CATM, CATD e PMS os valores 8,57 %, 5,66 % e 8,53 %, respectivamente. A presença deste composto é muito positiva para o aroma do vinho, pois ele contribui com nuances florais, especialmente de rosa, com o tempo ele oxida e muda para um aroma semelhante a mel.

Com relação à qualidade dos compostos, a bebida fermentada de jabuticaba PMS obteve uma maior área% de ésteres, os quais contribuem com as notas aromáticas "frutais" e "doce". As bebidas TAQM,TAQD e PMS apresentaram um maior número de compostos voláteis responsáveis pelo aroma (Tabela 14), tiveram algumas condições de

formulação iguais, sendo o método de despolpamento das frutas de jabuticaba distinto entre elas, a qual na elaboração de bebida TAQM, foi realizado o método manual, enquanto que a bebida fermentada de jabuticaba TAQD e PMS foram realizadas o método de despolpa mecânica da fruta de jabuticaba. Outra distinção entre essas bebidas foi a cepa utilizada para a fermentação da bebida. A bebida fermentada de jabuticaba TAQM e TAQD foram inoculadas com a cepa TAQ, e a bebida PMS foi inoculada com a cepa comercial, o que evidenciou que, o método de despolpamento e as cepas utilizadas não interferem na quantidade de compostos encontrados nas bebidas, porém influência na qualidade aromática, pois compostos voláteis extraídos por SPME e identificados por GC/MS que apareceram em maior número na bebida fermentada de jabuticaba PMS foram os álcoois (4), e ésteres (10), em que estão presentes o 2-fenil-etanol e acetato de 2-feniletila que obtiveram as maiores percentagem de (8,53% e 5,10%) respectivamente, estes compostos são responsáveis por notas aromáticas de mel e rosa.

Os acetatos e etil ésteres são os maiores responsáveis pelo aroma frutais e florais (DUARTE *et al.*, 2010a), e os composto acetato de 2-feniletila, octanoato de etila e decanoato de etila são os compostos majoritários dessa pesquisa. Acetato dá um aroma de "frutado" e sabor "florido" com uma nota de mel (Rapp & Mandery, 1986; *Apud* Duarte, *et all.*, 2010b), acetato de 2-feniletila (maçã, mel e rosas) foram encontrados em todas as bebidas elaboradas (Tabela 15); a bebida fermentada de jabuticaba PMS apresentou a maior percentagem de (5,10%) para este composto. Octanoato de etila foi verificados em quatro das cinco bebidas elaboradas, sendo sua maior percentagem (9,87 %) na bebida fermentada de jabuticaba CATM, e a menor (3,77 %) na bebida CATD. De acordo com Perestrelo *et al.* (2006), os acetatos são o resultado da reação de acetil com álcoois superiores, que são formados através da degradação aminoácidos ou hidratos de carbono.

Ácidos graxos de cadeia curta, como isobutírico, butírico, são compostos minoritários nos vinhos e o seu odor pode ser tão forte como a do ácido acético; por conseguinte, estes ácidos podem contribuir significativamente para os aromas de vinhos e bebidas espirituosas (SOUFLEROS *et al.*, 2001). Os ácidos que se verificou estar presente em concentrações mais altas nas bebidas fermentadas de jabuticaba foram os ácidos octanóico e decanóico. Entre as bebidas fermentadas de jabuticaba a TAQM obteve a mais alta percentagem (3,43%) de ácido octanóico, Já para o ácido decanóico foi encontrada a maior percentagem (1,30 %) na bebida fermentada PMS (Tabela 14). Resultados contendo

estes compostos foram relatados por outros autores em bebidas fermentadas elaboradas com frutas (DUARTE, *et al.* 2010b), e vinhos (PERESTRELO *et al.*, 2006).

Segundo Peña, (2005), a obtenção de um "perfil terpênicos" é extremamente útil para diferenciar os vinhos monovarietais genuinamente daquelas feitas por uma mistura de algumas outras variedades. Compostos terpênicos desempenham um papel importante no sabor varietal do mosto e outros sucos de frutas. A fração volátil de terpenos foi composta por quarenta e oito compostos dessa classe, como pode ser visualizado na Tabela 14, alguns compostos foram encontrados na fruta da jabuticaba como α-eudesmol, 10-epi-γ-eudesmol, β-eudesmol e γ-eudesmol (DUARTE, et al. 2010a). Estes compostos podem ser utilizados como marcadores da bebida fermentada de jabuticaba, pois são compostos característicos da fruta. 10-epi-y-eudesmol foi encontrado apenas na bebida fermentada de jabuticaba TAQM (7,66%). Já o composto α-eudesmol, foi verificado em todos as bebidas elaboradas, sendo que os valores variam entre 0,65% a 5,08%. O composto γ-eudesmol foi encontrado em quatro das cinco bebidas fermentadas, onde o maior valor 11,89% deste composto foi verificado na bebida fermentada de jabuticaba PMS, e o menor valor 1,49% foi averiguado na bebida CATM, porém o β-Eudesmol está presente em todas as bebidas fermentadas de jabuticaba e apresentou valores de 0,91% a 4,58%.

Alguns compostos estão entre os compostos mais odoríferos, especialmente linalol, α-terpineol, nerol, geraniol, citronelol e ho-trienol, que tem um aroma floral reminiscência de essência de rosas. Os limiares de percepção olfativa destes compostos são bastante baixos e tão pouco como algumas centenas microgramas por litro (DUARTE *et al.*, 2010b); α-terpineol, linalol e citronelol foram identificados em algumas bebidas fermentadas de jabuticaba (Tabela 14).

Duarte *et al.* (2010b) realizaram um estudo comparativo de compostos voláteis de bebidas fermentadas a partir de cacau, cupuaçu, gabiroba, jabuticaba e umbu e a utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) para determinação dos compostos. A análise de GC-MS permitiu a identificação e quantificação de oitenta e três compostos voláteis, sendo os compostos encontrados em bebida fermentada de jabuticaba 1- hexanol, (z)-3-hexen-1-butanol, 3-metil-1-pentanol, 2-etil-1-hexanol, propionato de etila, butirato de etila, hexanoato de etila, acetato de 3-metilbutil,

de 2-feniletila, 4-terpineol, linalool, α-terpineol, borneol, ácido hexanóico e octanóico. Foram ainda quantificados nove compostos: acetaldeído, 1,1 dietoxietano, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol e 2-feniletanol. Dentre todos os fermentados elaborados, cacau e jabuticaba tiveram os maiores teores de metanol sendo 195 mg/L e 181 mg/L, respectivamente.

Alguns dos compostos identificados por (DUARTE *et al.* 2010b), também foram identificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba, sendo compostos majoritários etanol, 2-fenil-etanol, acetato de etila, octanoato de etila, acetato de 2-feniletila, decanoato de etila, terpinen-4-ol, α-terpineol, 10-epi-γ-eudesmol, τ.-muurolol, β-eudesmol, α-eudesmol, γ-eudesmol, ácido octanóico, ácido decanóico. Diante do exposto, a bebida fermentada de jabuticaba inoculada com a cepa PMS apresentou o melhor perfil de voláteis, e assim como as demais bebidas elaboradas utilizando a despolpa mecânica, apresentaram as maiores concentrações de compostos bioativos.

#### 6. CONCLUSÃO

A caracterização físico-química da polpa e casca de jabuticaba revelou que a polpa de jabuticaba contém o maior teor de SST (9,40 °Brix), enquanto a casca de jabuticaba teve o valor 8,8 °Brix. O teor de umidade da polpa de jabuticaba foi elevado (91,34%). O conteúdo de açúcar redutor obtido foi (5,2 e 4,5%), na polpa e casca respectivamente. A acidez total titulável na polpa e casca de jabuticaba apresentaram teores de 1,45 e 1,64 g ácido cítrico/100g, respectivamente. O teor de antocianinas na casca de jabuticaba foi alto (7,56 mg/g) enquanto na polpa, não houve presença de antocianinas.

No acompanhamento fermentativo foi verificado que os mostos de jabuticaba CAT e PMS consumiram uma maior quantidade de açúcares (16,7 °Brix), para um mesmo período de fermentação em relação do mosto com a levedura TAQ (20,8 °Brix), entretanto, o comportamento do pH das bebidas foi semelhante (3,5), demonstrando não haver variação neste parâmetro.

O teste de ordenação-preferência evidenciou que a bebida fermentada de jabuticaba elaborada com polpa despolpada manualmente, inoculada com a cepa TAQ foi a mais preferida; e a bebida fermentada de jabuticaba menos preferida foi a elaborada com polpa despolpada em despolpadeira inoculada com a cepa CAT.

As análises físico-químicas das bebidas fermentadas de jabuticaba evidenciaram que todas as bebidas elaboradas estão de acordo com o Decreto n. 2.314/1997. Verificou-se que as bebidas fermentadas de jabuticaba inoculadas com a cepa TAQ obtiveram os maiores teores alcoólicos (14 °GL/20 °C), do que as bebidas fermentadas de jabuticaba inoculadas com a cepa CAT e PMS sendo os teores alcoólicos de 13 °GL/20 °C e 12 °GL/20 °C, respectivamente.

Quanto ao teor de açúcares totais, as bebidas fermentadas de jabuticaba podem ser designadas de "meio seco", conforme legislação brasileira para vinho de mesa. Os valores encontrados neste trabalho para diversas bebidas fermentadas ficaram entre 5,12 g/L a 5,88 g/L, enquanto O pH das bebidas foi de 3,5 a 3,6.

Na determinação dos compostos bioativos e atividade antioxidante das bebidas fermentadas de jabuticaba, a bebida inoculada com a cepa PMS obteve entre todas, o maior teor de fenólicos totais (431,7 mg de ácido gálico/L), polifenóis (10,18 g.L<sup>-1</sup>) e taninos totais (3,38 g.L<sup>-1</sup>). A bebida fermentada TAQD obteve a maior concentração de flavonoides (140,0 mg de quercetina/L), entre as bebidas fermentadas de jabuticaba. Já as concentrações de DPPH nas bebidas fermentadas de jabuticaba foram relativamente baixas de (0,02243 g/g) para a bebida TAQM, e a maior concentração foi na bebida CATD (5,6470 g/g). Conclui-se que a adição de açúcar pode exercer um efeito de diluição e, além disso, a oxidação natural que ocorre durante o processo de envelhecimento pode explicar a menor atividade nas bebidas fermentadas de jabuticaba aqui avaliadas.

Para a quantificação de compostos fenólicos nas bebidas fermentadas de jabuticaba por HPLC, não foi identificado ácido gálico na polpa de jabuticaba, mas houve sua presença somente nas bebidas fermentadas de jabuticaba. A catequina constitui o polifenol mais abundante do vinho tinto, mas sua atividade antioxidante é menor que o ácido gálico, porém nas amostras de bebidas fermentadas de jabuticaba não foi encontrado catequina. As bebidas fermentadas de jabuticaba elaboradas com as cepas CAT, TAQ e PMS obtiveram os maiores teores de ácido gálico, sendo que foi utilizada a despolpa mecânica para a elaboração destas bebidas, verificando-se a variação da concentração de ácido gálico entre 0,0527 a 0,918 mg/mL.

Os ácidos orgânicos identificados e quantificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba foram ácido málico e tartárico, sendo que os maiores teores de ácido málico foram encontrados nas bebidas fermentadas de jabuticaba codificadas TAQD e CATD (0,07667 mg/mL e 0,0717 mg/mL, respectivamente); entretanto a menor concentração (0,6871 mg/mL) foi observada na bebida fermentada de jabuticaba TAQM. As bebidas foram elaboradas com a mesma cepa, e as mesmas condições (30 °Brix, pH 3,5, temperatura de fermentação de 25 °C, diluição da polpa na proporção 1:1, fosfato de amônio 1 g/L, sulfato de magnésio 0,1 g/L); com exceção do método de despolpamento, o que se pode concluir que no despolpamento mecânico ocorre com maior atrito que pode influenciar no aumento do ácido málico.

Para concentrações de ácido tartárico foi observado o maior valor encontrado (0,1549 mg/mL) na bebida fermentada de jabuticaba CATD, e menor teor (0,0590 mg/mL)

foi encontrado na bebida fermentada de jabuticaba TAQD. Entretanto, as condições para elaboração dos mesmos foram iguais, com exceção da cepa utilizada.

Dentre os compostos voláteis identificados destacou-se etanol, 2-fenil-etanol, , acetato de etila, octanoato de etila, acetato de 2-feniltila, decanoato de etila, terpinen-4-ol, α-terpineol, viridiforol, guaiol, 10-epi-γ-eudesmol, δ-Cadinol, τ.-muurolol, α-eudesmol, γ-eudesmol, β-eudesmol, ácido octanóico, ácido decanóico. As bebidas TAQM,TAQD e PMS apresentaram um maior número de compostos voláteis responsáveis pelo aroma, e estes tiveram algumas condições de formulação iguais, sendo o método de despolpamento das frutas de jabuticaba distinto entre elas.

O composto 2-feniletanol foi identificado em todas as bebidas fermentadas de jabuticaba, e seus valores foram relativamente altos em comparação aos demais compostos encontrados nesse trabalho, sendo que, para a bebida fermentada de jabuticaba TAQM e TAQD foram observados valores de 10,30% e 17,97%, respectivamente; enquanto que na bebida CATM, CATD e PMS os valores 8,57%, 5,66% e 8,83%, respectivamente. A presença deste composto é muito positiva para o aroma do vinho, pois ele contribui com nuances florais, especialmente de rosas.

A fração volátil de terpenos foi composta por quarenta e um compostos terpênicos, alguns compostos foram encontrados na fruta da jabuticaba como α-eudesmol, 10-epi-γ-eudesmol e γ-eudesmol. Estes compostos podem ser utilizados como marcadores da bebida fermentada de jabuticaba, pois são compostos característicos da fruta. 10-epi-γ-eudesmol foi encontrado em todas as bebidas fermentadas de jabuticaba.

Diante do exposto, a bebida fermentada de jabuticaba inoculada com a cepa PMS apresentou o melhor perfil de voláteis, e assim como as demais bebidas elaboradas utilizando a despolpa mecânica, apresentaram as maiores concentrações de compostos bioativos.

#### REFERÊNCIAS

- Abe, L. T., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2012). Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 1679–1687
- AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. **Dietery flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. Nutrition,** New York, v.18, n.1, p.75-81, 2002.

  AHN, M.R, KUMAZAWA, S., USUI, Y., NAKAMURA, J., **Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China**. Food chemistry 101 (2007)

1383-1392.

- ALMEIDA, J. B. O.; SEVERO Jr., J. B.; CORREIA, E. C. O.; MELO, V. V.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. Use of Yeast from Tropical Fruits Wines in Human Feeding. Braz. J. Food Technol. 5° SIPAL, março, 2005.
- ALVES, J. A. Características químicas, físico-químicas e sensoriais de bebida fermentada de lichia. (Dissertação de mestrado). Lavras, UFLA, 2009.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos Uma breve revisão. Revista Instituto Adolfo Lutz, v.66, n.1, p.1-9, 2007.
- ANUÁRIO brasileiro da fruticultura 2011. Cesta farta. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2011. Disponível em: <a href="http://www.anuarios.com.br/upload/publicacaoCapitulo/pdfpt/pdf545.pdf">http://www.anuarios.com.br/upload/publicacaoCapitulo/pdfpt/pdf545.pdf</a>>. Acesso em: 26 junho, 2011.
- AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação.** São Paulo: Ed. Edgarg Blücher Ltda, v. 5. 2001.
- ARAÚJO, S. M.; SILVA, C. F.; MOREIRA, J. J. S.; NARAIN, N.; SOUZA, R.R. Biotechnological process for obtaining new fermented products from cashew apple fruit by *Saccharomyces cerevisiae* strains. J Ind Microbiol Biotechnol, 38:1161–1169 2011.
- ARCARI, S. G. Caracterização química de vinhos fortificados produzidos em diferentes regiões do Brasil. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis SC.

ARRUDA, A. R.; CASIMIRO, A. R. S.; GARRUTI, D. S.; ABREU, F. A. P. Caracterização físico-química e avaliação sensorial de bebida fermentada alcoólica de banana. Rev. Ciênc. Agron., Fortaleza, v.38, n.4, p.377-384, 2007.

ASQUIERI, E. R.; CÂNDIDO, M. A.; SILVA, A. G. M. Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 28(4): 881-887, out.-dez. 2008

ASQUIERI, E. R.; DAMIANI, C.; CANDIDO, M. A.; ASSIS, E. M. Vino de jabuticaba (Myrciaria cauliflora Berg): Estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados com la fruta integral. Alimentaria, n. 355, p. 111-122, 2004.

ASQUIERI, E. R.; SILVA, A. G. M.; CÂNDIDO, M. A. **Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 29(4): 896-904, out.-dez. 2009

AZNAR, Margarita.; ARROYO, Teresa. Analysis of wine volatile profile by purge-and-trap—gas chromatography—mass spectrometry Application to the analysis of red and white wines from different Spanish regions. Journal of Chromatography A, 1165 .151–157, 2007.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S.; **Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses.** Food Chemistry, v.99, n.1, p.191-203, 2006.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermnetación alcohólica. In: FLANZY, C. Enología: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. Madrid: Mundi-Prensa e AMV, 2000, p. 274-315.

BARROS, J. A. C.; CAMPOS, R. M. M.; MOREIRA, A. V. B. **Antioxidant activity in wines made from jabuticaba and grape.** Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v. 35, n. 1, p. 73-83, 2010.

BARROS, L., PEREIRA, C., FERREIRA, I. C. F. R., Análise cromatográfica de ácidos orgânicos em cogumelos silvestres comestíveis do Nordeste de Portugal: validação de uma técnica de UFLC-PDA. 11º Encontro Nacional de Química de Alimentos. Bragança – Portugal, 2012.

BARROS, R. S.; FINGER, F. L.; MAGALHÃES, M. M. Changes in non-structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jabuticaba*. S. Horticulturae. 1996; 16: 209-215.

BELO, R. F. C. Caracterização de genótipos de pequizeiro (*Caryocar brasiliense Camb.*) pelo perfil cromatográfico de voláteis. (Dissertação de mestrado). Belo Horizonte, 2009.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Introdução à Química de Alimentos. 3.ed. São Paulo: Varela, 2003.

BONINO, M.; SCHELLINO, R.; RIZZI, C.; AIGOTTI, R.; DELFINI, C.; BAIOCCHI, C. Aroma compounds of an Italian wine (Ruche) by HS–SPME analysis coupled with GC–ITMS. Food Chemistry 80 (2003) 125–133.

BRASIL. Congresso nacional. **Decreto n. 2.314 de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei n. 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.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 05 set. 1997. Disponível em: <a href="http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Decretos/Ant2001/Ant1999/Dec231497">http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Decretos/Ant2001/Ant1999/Dec231497</a>. htm>. Acesso em: 15 maio. 2013.

BRASIL. Congresso nacional. Lei n. 7.678 de 8 de novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 nov. 1988. Disponível em: <a href="http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Leis/Ant2001/lei767888.htm">http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Leis/Ant2001/lei767888.htm</a>. Acesso em: 15 maio. 2013.

BRAVO L. **Polyphenols:** chemistry, dietary sources, metabolism and nutriotion significance. Revista Nutrition, v.56, n.11, p.317-33, 1998.

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. de. **Avaliação das alterações em polpa de manga "Tommy-Atkins" congeladas**. Revista Brasileira de Fruticultura, v.24, n.3, p.651-653, 2002.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.;, SALANDINI, C. A. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticaba (vell) Berg cv sabará. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2004; 24: 378-383.

BURNS, J. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. Journal of Agriculture Food Chemistry, Chicago, v.49, p.5797-5808, 2001.

CHIARELLI, R. H. C.; NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. Jabuticaba (Myrciaria Cauliflora Berg) fermented beverages: production processes, physical-chemical characteristics and yield. Braz. J. Food Technol., v.8, n.4, p. 277-282, out./dez. 2005.

CITADIN, I.; DANNER M. A. SASSO, S. A.Z. **Jabuticabeiras.** Rev. Bras. Frutic. vol.32 no.2 Jaboticabal, 2010.

CORAZZA, L.M.; RODRIGUES, G.D.; NOZAKI, J. **Preparação e caracterização do vinho de laranja**. Química Nova. Vol. 24, No. 4, 449-452, 2001.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. Journal Agriculture and Food Chemistry, Chicago, v.50, n. 9, p. 2581-2586, 2002.

CORREA, M.O.G.; PINTO, D.D.; ONO, E.O. **Análise da atividade respiratória em frutos de jabuticabeira**. Revista Brasileira de Biociências 5(supl.2): 831-833, 2007.

DAUDT, C.E; POLENTA, G.A. Phenols from Cabernet Sauvignon and isabel musts submitted to several treatments. J. Sci. Tech. Tonnellerie, v. 5, p 57-64, 1998

DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Elaboração de fermentado de cajá. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 23(3): 342-350, 2003.

DUARTE<sup>b</sup>, W. F.; DISNEY, R. D.; OLIVEIRA, J. M.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J. B. A.; SCHWAN, R.F. Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabiroba, jaboticaba and umbu. LWT - Food Science and Technology 43 (2010) 1564e1572.

DUATE<sup>a</sup>, A. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI P. H. **Environmental Influence on Phenols and Essential Oils of** *Myrciaria cauliflora* **Leave**s. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 21, No. 9, 1672-1680, 2010.

DUTCOSKY, S. D. Análise Sensorial de Alimentos. Curitiba: Champagnat, 2006.

FENNEMA, O. R. Química de Alimentos de Fennema. 4ª.ed. Artmed, 2010.

FRACASSO, D.; FUENTEFRIA, A. M.; TEIXEIRA, M. L. Avaliação toxicológica e quantificação de agentes antioxidantes em vinhos tintos comercializados no município de concórdia, Santa Catarina. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.11, n.2, p.181-189, 2009. ISSN 1517-8595.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, 1982.

FREITAS, D. M. Variação dos compostos fenólicos e de cor dos vinhos de uvas (Vitis vinífera) tintas em diferentes ambientes. Tese de Doutorado Universidade Federal de Santa Maria. 2006.

GALLICE, W.C.; MESSERSCHMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. Quim. Nova, Vol. 34, No. 3, 397-403, 2011.

GALVÃO, M. G.; NARAIN, N.; MADRUGA, M. S. Volatile compounds captured through purge and trap technique in caja-umbu (*Spondias sp.*) fruits during maturation. Food Chemistry 102. p.726–731, 2007.

GARRUTI, D. S.; FRANCO, M. R. B.; SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; ALVES, G. L., Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale L.*) juice by Osme gas chromatography/olfactometry technique. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.83 3:1455–1462, 2003.

GOMES, F. Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE). (Dissertação de mestrado). Porto Alegre, 2003.

GOMEZ-ARIZA, J. L.; GARCIA-BARRERA, T.; LORENZO, F.; BELTRAN, R. Use of multiple headspace solid-phase microextraction and pervaporation for the determination of off-flavours in wine. Journal of Chromatography A, 1112 (2006) 133–140.

GRIS, E. F. Perfil fenólico e atividades antioxidante e hipolipemiante de vinhos de variedades Vitis vinifera cultivadas em São Joaquim. Tese de Doutorado -UFSC- 2010.

GROSS, J. Antocyaninis. In: Pigments in Fruits. New York: Academic Press, 1987.

GUIMARÃES, D. P. Avaliação de estresse e do Potencial fermentativo de Isolados de *saccharomyces* na Microvinificação da jabuticaba. Dissertação de mestrado. Lavras/MG: UFLA, 2006.

GUIMARÃES, T. M. Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura saccharomyces cerevisiae para elaboração de vinho. (Dissertação de Mestrado). Curitiba, PR, 2005.

HASHIZUME, T. Fundamentos da Tecnologia do Vinho. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, V. **Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação.** São Paulo: Edgard Blücher, 1983. cap. 2, p. 14-43.

HERNÁNDEZ, G. G.; TORRE, H.; LÉON, J. J. A. Densidad, grado alcohólico y azúcares reductores del mosto y vino tinto tradicional de la Comarca de Denominación de Origen Tacoronte-Acentejo (Islas Canarias). Alimentaria, n. 284, p. 97-105, 1997.

HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart desease: the Zutphen elderlystudy. American Journal Epidemiology, p.1007-1011, 1993.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos** - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020. versão eletrônica.

JABUTICABAL, Vinícola. Disponível em:< http://www.vinicolajabuticabal.com.br/>. Acesso em dezembro de 2013.

JANZANTTI, N. S. Compostos Voláteis e Qualidade de Sabor da Cachaça. (Tese de doutorado). Campinas, SP: [s.n.], 2004.

KONDRASHOV, A.; SEVCIK, R.; BENAKOVA, H.; KOSTIROVA, M.; STIPEK, S. **The key role of grape variety for antioxidant capacity of red wines**. European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism 4 (2009) 41–46.

KOTANI, A.; MIYAGUCHI, Y.; TOMITA, E.; TAKAMURA, K.; KUSU, F. **Determination of organic acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection during wine brewing**. Journal of Agriculture Food Chemistry, Washington, v. 52, n. 6, p. 1440-1444, Mar. 2004.

LEITE, A. V., MALTA, L. G., RICCIO, M. F., EBERLIN, M. N., PASTORE, G. M., & MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. (2011). **Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel** (*Myrciaria jaboticaba Vell Berg*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 2277–2283.

LEMOS, A. B. Potencial da microextração em fase sólida (SPME) em análises de embalagens. Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens. Ital. Vol. 19-n° 2. Abril/maio/junho- 2007.

LIMA, A. J. B., CORRÊA, A.D., DANTAS-BARROS, A.M., NELSON, D. L., & AMORIM, A.C. L. (2011). **Sugars, organic acids, minerals and lipids in jabuticaba.** Revista Brasileira de Fruticultura, 33, 540–550.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; BARROS, A. M. D. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora Berg*) e de suas frações. Archivos latinoamericanos de nutricion, Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, Vol. 58 Nº 4, 2008.

LOPES, R. V. V.; SILVA, F. L. H. **Elaboração de fermentados a partir do figo-daíndia**. Revista de Biologia e Ciências da Terra. ISSN 1519-5228. Volume 6- Número 2 - 2° Semestre 2006.

LOPEZ-TOLEDANO, A.; VILLANO-VALENCIA, D.; MAYEN, M.; MERIDA, J.; MEDINA, M. Interaction of yeast with the product resulting from of condensation

**reaction between (+)-catechins and acetaldehyde.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, n. 4, 2376–2381 2004.

LOSEKAN, O. Headspace solid-phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry (HS-SPME-GC–MS) determination of volatile compounds in roasted plantains (Frenchsombre and Dwarf Kalapua). Food Science and Technology. v.46, p. 536-541,2012.

MAEDA, R. N., ANDRADE, J. S. Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dúbia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. Acta Amazônica 33(3), 489-498 2003.

MAMEDE, M. E. O; PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. B. CEPPA, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 233-252, 2004.

MARTINS DE SÁ, L. Z.C.; CASTRO, P.F.S.; LINO F. M. A.; BERNARDES, M. J. C.; VIEGAS, J. C. J.; DINIS, T. C. P.; SANTANA, M. J.; ROMAO, W.; VAZ, B. G.; LIÃO, L. M.; GHEDINI, P. C.; ROCHA, M. L. **Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jabuticaba berry** (*Myrciaria jaboticaba*). Journal of Functional Foods Volume 8, May 2014, Pages 169–179.

MEDA, A., LAMIEN, C. E., ROMITO, M., MILLOGO, J., NACOULMA, O.G.. **Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity**. Food chemistry 92 (2005) 571-577.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques.** Boca Raton: CRC Press, v. 2, p 159. 1987.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. **Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos.** Boletim Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.36, n.1, p.1-11, 2002.

MINGOTI, S. A. Análise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada: Uma Abordagem Aplicada. 1ª Ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005.

MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial: Estudo com Consumidores**. Viçosa, 225p. Ed. UFV. 2006.

MOHANTY, S.; RAY, P.; SWAIN, M. R.; RAY, R. C. Fermentation of cashew (*Anacardium Occidentale L.*) "apple" into wine. Journal of Food Processing and Preservation 30 (2006) 314–322.

MOUCHREK FILHO, V. E.; SANTOS, A. A. dos; MOUCHREK FILHO, J. E.; NASCIMENTO, A. R.; MARINHO, S. C.; MENDES, J. da C.; LOPES, N. A.; GARCIAS JÚNIOR, A. V.; MARTINS, A. G. L. de A. **Produção, processamento e análise bromatológica do vinho obtido de caju** (*Anacardium occidentale* **L.**). Cad. Pesq., São Luís, v. /3, n. 1, p. 46-59, jan. jun. 2002.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P.; NASSU, R. T.; FREITAS, C. A. S. **Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais.** B.CEPBPA, CURITIBA, v.20, n.2, 2002.

NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A.; DANTAS, A. P.; MONGRUEL, C.; WOSIACKI, G. Influência da cepa de *Saccharomyces cerevisiae* na cinética de fermentação do vinho de maçã. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v. 01, n. 01: p. 30-36, 2007.

OGUNJOBI, M. A. K.; OGUNWOLU, S. O. **Development e physicochemical evaluation of wine produced from cashew apple powder**. Journal of Food Technology 8 (1): 18-23, 2010.

OLIVEIRA, J. M. M. Aromas varietais e fermentação determinantes da tipicidade das castas Loureiro e Alvarinho. (Tese de doutorado). Universidade do Minho. Portugal. 2000.

ONO. M. I. Estudo in vitro da composição de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em vinhos finos tintos. Trabalho de conclusão de Engenharia de Alimentos Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão. 2014.

PAULA, de Breno. **Produção de fermentado de umbu** (*Spondias tuberosa Arr. Cam.*). (Dissertação de mestrado), Salvador, 2011.

PAWLISZYN, J. **Solid Phase Microextraction: Theory and Practice.** New York: Wiley-VCH, 1997. 247 p.

PEÑA, R. M., Barciela, J., Herrero, C., & García-Martín, S. (2005). **Optimization of solidphase microextraction methods for GCeMS determination of terpenes in wine**. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85(7), 1227e1234.

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L.C.C.; MOTA, W.F.; VIEIRA, G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jabuticabeiras. Rev. Bras. de Frutic. 2000; 22: 16-21.

PERESTRELO, R., FERNANDES, A., ALBUQUERQUE, F., MARQUES, J., & CAMARA, J. (2006). Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: identification of the main odorants compounds. Analytica Chimica Acta, 563(1e2),154e164.

PETERSON, J.; DWYER, J. **Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity.** Nutrition Research, v.18, n.12, p.1995-2018, 1998.

PIO, R. et al. **Substratos na produção de mudas de jabuticaba.** Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, RS, v. 11, n. 4, p. 425-427, out./dez., 2005. Disponível em: <a href="http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v11n4/artigo06.pdf">http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v11n4/artigo06.pdf</a>>. Acesso em 04 maio. 2012.

POEJO, P. L. P., Avaliação da atividade antioxidante em diferentes tipos de bebidas: vinho cerveja. (Tese de mestrado). Lisboa/Portugal. 2009.

RAGAZZI, E., VERONESE, G.. Quantitative analysis of phenolic compounds after thin-layer chromatographic separation. Journal of chromatography, 77 (1973) 369-375. RIBÉREAU-GAYON, Pascal et al. **Tratado de Enología: Química del Vino, Estabilización y Tratamientos.** Vol. 2. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 2003. p. 177-256, 457-459.

RIZZON, L. A. Metodologia para análise de vinho. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2010.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv.cabernet sauvignon para elaboração de vinho tinto. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 22, n. 2, p. 192-198, 2002.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; SCOPEL, G. Características analíticas de vinhos *riesling itálico* da serra Gaúcha. R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.17, n.2-4, p.273-276, abr-jun, 2011.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO, E.S., MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.D., Comunicado técnico on line 125 - Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa, Fortaleza-Ce, 2006.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO, E.S., MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.D., Comunicado técnico on line 127 - Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo captura do radical livre DPPH. Embrapa, Fortaleza-Ce, 2007.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO, E.S., MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.D., Comunicado técnico on line 128 - Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo captura do radical livre ABTS. Embrapa, Fortaleza-Ce, 2007.

RUPASINGHE, H. P.V.; CLEGG, S. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. Journal of Food Composition and Analysis 20, 133–137. 2007.

RUTZ, Josiane Kuhn; VOSS, Glenise Bierhalz; ZAMBIAZI, Rui Carlos. **Compostos fenólicos em amora-preta** (*rubus spp.*) **Cv. Tupy em Diferentes estádios de maturação. XII** Encontro de Pós – Graduação Universidade Federal de Pelotas, 2010.

SAMPAIO, K. de L. Identificação do perfil de voláteis e caracterização de seus impactos odoríferos em water phase e essências naturais de caju (*Anacardium occidentale L.*) (Tese de doutorado). Campinas, SP: [s.n.], 2007.

SANAE. F, Miyaichi Y, Hayashi H. Potentiation of vasoconstrictor response and inhibition of endothelium-dependent vasorelaxation by gallic acid in rat aorta. Planta Med.2002, 68: 690-693.

SANTOS, B. A. C. dos. Compostos voláteis e qualidade dos vinhos secos jovens varietal cabernet sauvignon produzidos em diferentes regiões do Brasil. (Tese de doutorado). Campinas, SP: [s.n.], 2006.

SANTOS, M. S., TELES, J. S., SANTOS, R. M., GERVASIO, A. P. G.. **Determinação de ácidos orgânicos em sucos de frutas tropicais por Eletroforese Capilar de Zona**. Scientia plena, VOL. 9, NUM. 7, 2013.

SANTOS, S. C., ALMEIDA, S. S., TOLEDO, A. L., SANTANA, J. C. C., SOUZA, R. R. Avaliação físico-química e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia punicifolia L.*) Braz. Journal Food Technol., 5°SIPAL, v. 16, n. 2, p. 147-154 mar., 2013.

SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jabuticaba. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(4): 890-896, out.-dez. 2007.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. **Dietary intake and bioavailability of polyphenols.** J. Nutr., v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHULDT, E. Z., Estudo de uma fração rica em compostos fenólicos provenientes de uvas da variedade bordô (*Vitis labrusca* L.), sobre o sistema cardiovascular: enfoque na aterosclerose experimental. (Tese doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.2005

SILVA, J. L. A. da; DANTAS, D. L. L.; GASPARETO, O. C. P.; FALCÃO FILHO, R. dos S. **Utilização de abacaxi para elaboração de vinhos: avaliação físico-química e aceitabilidade.** HOLOS, Ano 26, Vol. 3. 2010.

SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C.; TONON, B.; MOTA, S. J. D.; PINTO, V.T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*myrciaria jabuticaba*). Quim. Nova, Vol. 31, No. 3, 595-600, 2008.

SILVA, T. G.; REGINA, M. A.; ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A.; CHALFUN, N. N. J.; Ciênc. agrotec. 1999, 23, 632.

SIMÕES, D. R. S. Abordagem tecnológica e sensorial nos produtos de maçã; suco, fermentado e sidra (Tese de doutorado). - Curitiba, 2008. 174 f.: i l., tabs, grafs.

SLUIS, A. A. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. Journal of Agriculture and Food Chemistry, v.49, n.8, p. 3606-3613, 2001.

SOMERS, T. C. **Pigment development during ripening of the grape.** Vitis. v.14. p.269-277, 1976.

SOUFLEROS, E. H., PISSA, P., PETRIDIS, D., LYGERAKIS, M., MERMELAS, K., BOUKOUVALAS, G. Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine, sensory evaluation and optimisation of its composition. Food Chemistry, 75(4), 487e500. 2001.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory Evaluation Practices. San Diego, CA: Academic Press, 308 p.

TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale L.*). Química Nova, Vol. 29, No. 3, 489-492, 2006.

UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA** – 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPA- 2011.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. **Microextração por fase sólida**. Quim. Nova, v. 23, P.523-530, 2000.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia.** São Paulo: Editora Blucher, vol.1. P.85-232, 2010.

VIEIRA, Claudia Regina. **Dossiê técnico: Produção de fermentados a partir de frutas.** Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais — CETEC, 2012. Copyright © - Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Disponível em:<a href="http://www.sbrt.ibict.br">http://www.sbrt.ibict.br</a>.

VIEITES, R. L.; DAIUTO, É. R.; MORAES, M. R.; NEVES, L. C.; CARVALHO, L. R. Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jabuticaba armazenada sob

**diferentes temperaturas.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 33, n. 2, p. 362-375, Junho 2011.

VOGT, E.; JAKOB, L. **El Vino: Obtención, Elaboración y Análisis.** 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1986. 294p.

WAGNER, R.; Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos italiano e milano. 2008.299 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; DANTAS, A. P. C.; GUYOT, S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Efeito do processamento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante em fermentados de maçã. Semina: Ciências Agrárias, v.30, n. 2, 2009.

ZHANG, Xia, Y.;, B.; Li, W.; Xu, G. Changes in volatile compound composition of Antrodia camphorate during solid state fermentation. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 91, p. 2463-2470, 2011.

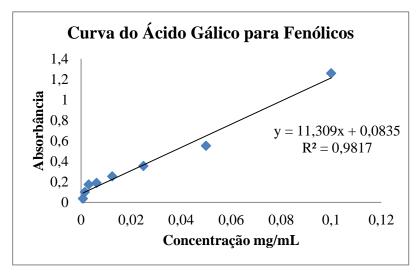
**ANEXO 1** 

#### TABELA de NEWELL e MAC FARLENE

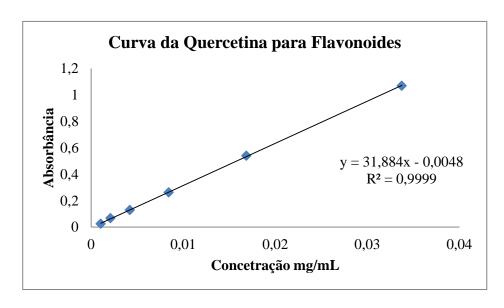
Diferenças críticas entre os totais das somas de ordenação

	Nível de significância 5%  ode No de amostras											ا	Víve	l de				a 1%			
Nº de respostas	3	4	5	6	l⁰ de 7	amos 8	stras 9	10	11	12	Nº de respostas	3	4	5	N	º de a	amost 8	ras 9	10	11	12
3	6	8	11	13	15	18	20	23	25	28	3		9	12	14	17	19	22	24	27	30
4	7	10	13	15	18	21	24	27	30	33	4	8	11	14	17	20	23	26	29	32	36
5	8	11	14	17	21	24	27	30	34	37	5	9	13	16	19	23	26	30	33	37	41
6	9	12	15	19	22	26	30	34	37	42	6	10	14	18	21	25	29	33	37	41	45
7	10	13	17	20	24	28	32	36	40	44	7	11	15	19	23	28	32	36	40	45	49
8	10	14	18	22	26	30	34	39	43	47	8	12	16	21	25	30	34	38	43	49	53
9	10	15	19	23	27	32	36	41	46	50	9	13	17	22	27	32	36	41	46	51	56
10	11	15	20	24	29	34	38	43	48	53	10	13	18	23	28	33	38	44	49	54	59
11	11	16	21	26	30	35	40	45	51	56	11	14	19	24	30	35	40	46	51	57	63
12	12	17	22	27	32	37	42	48	53	58	12	15	20	26	31	37	42	48	54	60	66
13	12	18	23	28	33	39	44	50	55	61	13	15	21	27	32	38	44	50	56	62	68
14	13	18	24	29	34	40	46	52	57	63	14	16	22	28	34	40	46	52	58	65	71
15	13	19	24	30	36	42	47	53	59	66	15	16	22	28	35	41	48	54	60	67	74
16	13	19	25	31	37	42	49	55	61	67	16	17	23	30	36	43	49	56	63	70	77
17	14	20	26	32	38	44	50	56	63	69	17	17	24	31	37	44	51	58	65	72	79
18	15	20	26	32	39	45	51	58	65	71	18	18	25	31	38	45	52	60	67	74	81
19	15	21	27	33	40	46	53	60	66	73	19	18	25	32	39	46	54	61	69	76	84
20	15	21	28	34	41	47	54	61	63	75	20	19	26	33	40	49	55	63	70	78	86
21	16	22	28	35	42	49	56	63	70	77	21	19	27	34	41	49	56	64	72	80	88
22	16	22	29	36	43	50	57	64	71	79	22	20	27	35	42	50	58	66	74	82	90
23	16	23	30	37	44	51	58	65	73	80	23	20	28	35	43	51	59	67	75	84	92
24	17	23	30	37	45	52	59	67	74	82	24	21	28	36	44	52	60	69	77	85	94
25	17	24	31	38	46	53	61	68	76	84	25	21	29	37	45	53	62	70	79	87	96
26	17	24	32	39	46	54	62	70	77	85	26	22	29	38	46	54	63	71	80	89	98
27	18	25	32	40	47	55	63	71	79	87	27	22	30	38	47	55	64	73	82	91	100
28	18	25	33	40	48	56	64	72	80	89	28	22	31	39	48	56	65	74	83	92	101
29	18	26	33	41	49	57	65	73	82	90	29	23	31	40	48	57	66	75	85	94	103
30	19	26	34	42	50	58	66	75	83	92	30	23	32	40	49	58	67	77	86	95	105
31	19	27	34	42	51	59	67	76	85	93	31	23	32	41	50	59	69	78	87	97	107
32	19	27	35	43	51	60	68	77	86	95	32	24	33	42	51	60	70	79	89	99	108
33	20	27	36	44	52	61	70	78	87	96	33	24	33	42	52	61	71	80	90	100	110
34	20	28	36	44	53	62	71	79	89	98	34	25	34	43	52	62	72	82	92	102	112
35	20	28	37	45	54	63	72	81	90	99	35	25	34	44	53	63	73	83	93	103	113
36	20	29	37	46	55	63	73	82	91	100	36	25	35	44	54	64	74	84	94	105	115
37	21	29	38	46	55	64	74	83	92	102	37	26	35	45	55	65	75	85	95	106	117
38	21	29	38 39	47	56	65	75	84	94	103	38	26	36	45 46	55	66	76	86	97	107	118
39 40	21 21	30 30	39	48 48	57 57	66 67	76 76	85 86	95 96	105 106	39 40	26 27	36 36	46	56 57	66 67	77 78	87 88	98 99	109 110	120 121
41	22	31	40	49	58	68	77	87	97	107	41	27	37	47	57	68	79	90	100	112	123
42	22	31	40	49	59	69	78	88	98	109	42	27	37	48	58	69	80	91	102	113	124
43	22	31 32	41	50	60	69	79	89	99	110	43	28	38	48	59	70	81	92 93	103	114	126
44 45	22 23	32	41 41	51 51	60 61	70 71	80 81	90 91	101 102	111 112	44 45	28 28	38 39	49 49	60 60	70 71	82 82	93	104 105	115 117	127 128
46	23	32	42	52	62	72	82	92	103	114	46	28	39	50	61	72	83	95	106	118	130
47	23	33	42	52	62	72	83	93	104	115	47	29	39	50	62	73	84	96	108	119	131
48	23	33	43	53	63	73 74	84	94	105	116	48	29	40	51	62	74 74	85	97	109	121	133
49 50	24 24	33 34	43 44	53 54	64 64	74 75	85 85	95 96	106 107	117 118	49 50	29 30	40 41	51 52	63 63	75	86 87	98 99	110 111	122 123	134 135
55	25	35	46	56	67	78	90	101	112	124	55	31	43	54	66	79	91	104	116	129	142
60	26	37	48	59	70	82	94	105	117	130	60	32	45	57	69	82	95	108	121	135	148
65 70	27 28	38 40	50 52	61	73	85	97 101	110	122	135	65 70	34	46	59	72	86 89	99	113	126	140	154
70 75	29	41	53	64 66	76 79	88 91	101	114 118	127 131	140 145	70 75	35 36	48 50	61 64	75 78	92	103 106	117 121	131 136	146 151	160 166
80	30	42	55	68	81	94	108	122	136	150	80	37	51	66	80	95	110	125	140	156	171
85	31	44	57	70	84	97	111	126	140	154	85	38	53	68	83	98	113	129	144	160	176
90	32	45	58	72	86	100	114	129	144	159	90	40	54	70	85	101	116	132	149	165	181
95	33	46	60	74	88	103	118	133	148	163	95	41	56	71	87	103	120	136	153	169	186
100	34	47	61	76	91	105	121	136	151	167	100	42	57	73	89	103	123	140	157	174	191

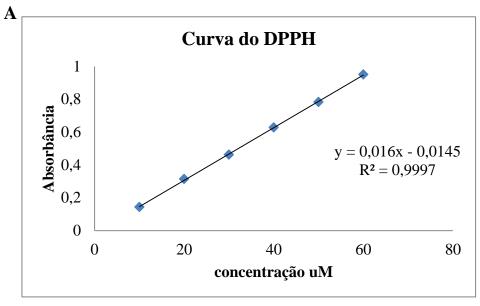
Fonte: Newell & Mac Farlane, 1987



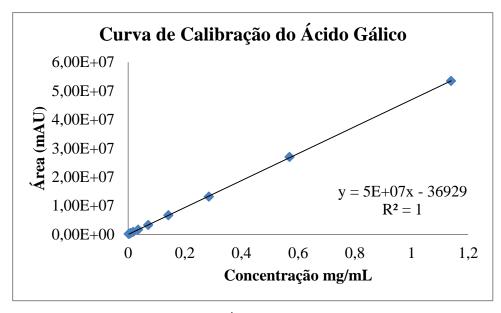
Curva do ácido gálico para fenólicos



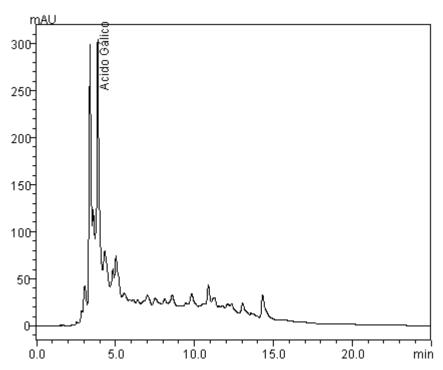
Curva da Quercetina para flavonoides



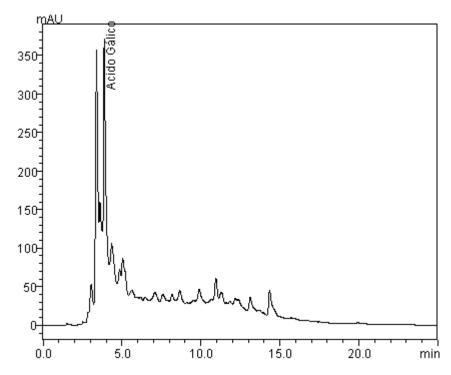
Curva do DPPH



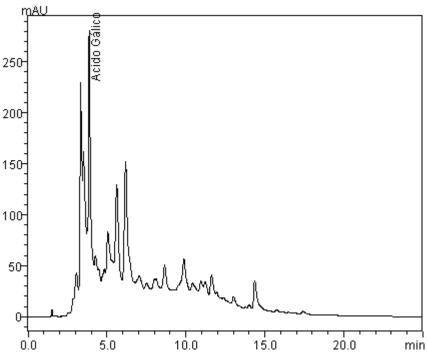
Curva de Padronização Externa do Ácido Gálico



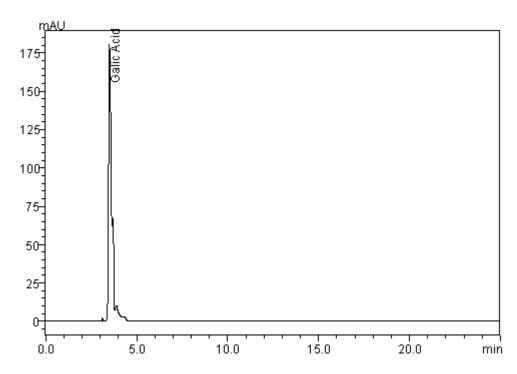
Cromatograma do ácido gálico presentes na bebida fermentada elaborado com despolpa mecânica e inoculado com a cepa CAT



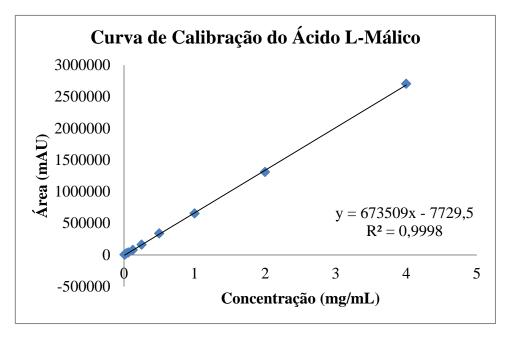
Cromatograma gálico presentes na bebida fermentada de jabuticaba elaborada com despolpa mecânica e inoculado com a cepa TAQ



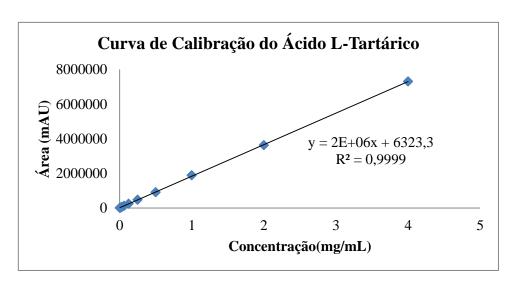
Cromatograma do ácido gálico presentes na bebida fermentada de jabuticaba elaborada com despolpa mecânica e inoculado com a cepa PMS



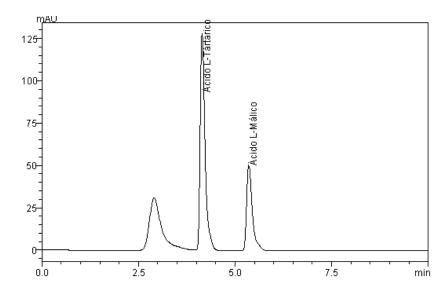
Cromatograma de padrão de ácido gálico (1,14 mg/mL)



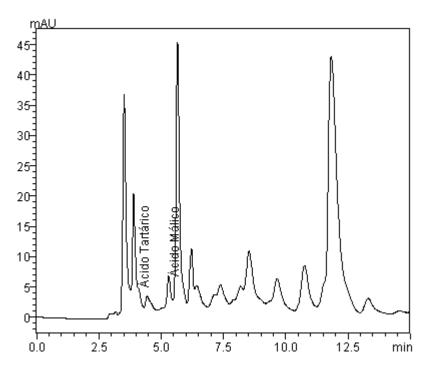
Curva de padronização do ácido L-málico



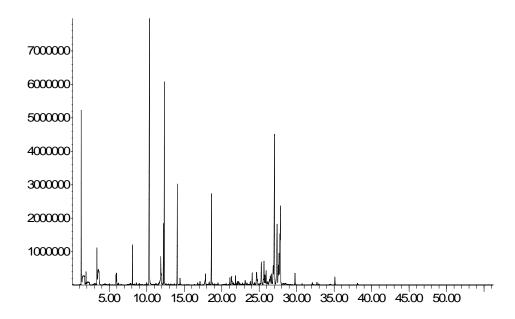
Curva de padronização do ácido L-tartárico



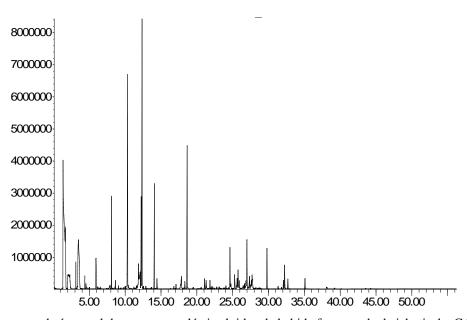
Cromatograma do ácido málico e tartárico presentes nas bebidas fermentadas de jabuticaba



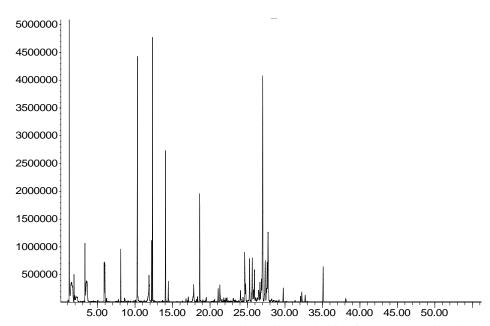
Cromatograma do padrão de ácido málico com concentração de 1,00 mg/mL  $\,$  e ácido tartárico com concentração de 1,00 mg/mL  $\,$ 



Cromatograma do íon total dos extratos voláteis obtidos da bebida fermentada de jabuticaba TAQ.M



Cromatograma do íon total dos extratos voláteis obtidos da bebida fermentada de jabuticaba CAT.D



Cromatograma do íon total dos extratos voláteis obtidos da bebida fermentada de jabuticaba PMS

APÊNDICE 9

Perfil de compostos voláteis não identificados nas bebidas fermentadas de jabuticaba

Nº	IR <sub>médio</sub>	Compostos	Fermentado TAQM			Fermentado TAQD		Fermentado CATM		Fermentado CATD		Fermentado PMS	
		Não identificados	Área%	DP	Área%	DP	Área%	DP	Área%	DP	Área%	DP	
1	556	NI							0,21	0,26			
2	560	NI									1,51		
3	562	NI	3,02								2,85		
4	570	NI							3,41	0,55			
5	575	NI									0,14		
6	584	NI			0,11								
7	634	NI							0,79	0,84			
8	638	NI	0,03	0,02					0,89	0,77			
9	642	NI			0,03	0,00					0,03	0,00	
10	645	NI	0,60	0,89					0,42	0,32	1,28		
11	647	NI	0,39		3,48	3,44					3,97	5,16	
12	649	NI			2,97								
13	655	NI			0,31						3,19		
14	656	NI	0,87										
15	659	NI							0,63	0,54			
16	664	NI					3,98	4,16					
17	675	NI							0,40	0,61			
18	680	NI	0,02	0,01									
19	685	NI			0,01	0,00					0,02		

Nº	IR <sub>médio</sub>	Compostos	Fermentado TAQM		entado QD	Fermer CAT	Fermentado CATD		Fermentado PMS	
20	688	NI					0,09	0,08	0,05	
21	692	NI		0,09					0,06	
22	699	NI	0,03	0,02	0,01				0,02	
23	803	NI	0,45							
24	811	NI	0,12							
25	872	NI					0,07			
26	904	NI	0,05							
27	922	NI	0,01							
28	962	NI					0,02	0,00		
29	972	NI	0,02							
30	996	NI	0,02							
31	1007	NI	0,03			0,07				
32	1028	NI				0,09			0,08	0,05
33	1047	NI					0,04	0,01		
34	1052	NI		0,05	0,01	0,04			0,04	0,01
35	1056	NI	0,10			0,04	0,03	0,02		
36	1068	NI	0,04				0,02			
37	1090	NI				0,05				
38	1108	NI	0,01							
39	1112	NI	0,04							
40	1122	NI							0,09	
41	1135	NI	0,03	0,03					0,03	0,00
42	1158	NI	0,01							
43	1163	NI	0,05			0,04			0,03	
44	1170	NI	0,04			0,13				
45	1181	NI							0,39	

Nº	IR <sub>médio</sub>	Compostos	Fermentado TAQM		Fermentado TAQD			entado TM		entado ATD	Fermentado PMS	
46	1199	NI	14,00	9,66								
47	1206	NI	0,07									
48	1211	NI							0,05	0,01		
49	1216	NI	0,04	0,02								
50	1219	NI	0,03	0,01	0,03		0,04					
51	1221	NI			0,02	0,01						
52	1228	NI	0,02		0,03							
53	1233	NI	0,00									
54	1236	NI	0,01									
55	1242	NI	0,07									
56	1246	NI									0,05	0,00
57	1249	NI			0,02							
58	1260	NI	0,03	0,07			0,07					
59	1265	NI			0,03	0,01						
60	1269	NI	0,74				0,41	0,06			0,74	
61	1273	NI			0,37	0,01					0,75	
62	1288	NI	0,02	0,11								
63	1294	NI	0,01									
64	1296	NI	0,01									
65	1306	NI							0,25	0,16		
66	1322	NI	0,21									
67	1324	NI	0,01									
68	1328	NI									0,04	0,03
69	1333	NI	0,00									
70	1338	NI	0,01									
71	1343	NI	0,12		0,11	0,01	0,44				0,12	0,00

N°	IR <sub>médio</sub>	Compostos	Fermentado TAQM		Ferme TA	entado QD	-	entado TM	Fermentado CATD		Fermentado PMS	
72	1345	NI	2,48	0,01					0,07	0,04		
73	1352	NI	0,23		0,18	0,02	0,05				0,24	0,02
74	1358	NI	0,00									
75	1359	NI	0,20									
76	1363	NI	0,01						0,85	0,78		
77	1388	NI	0,25								0,20	0,00
78	1393	NI	0,22						3,50	3,91		
79	1402	NI	0,10		0,10	0,06	6,61		0,07	0,04	0,11	0,07
80	1415	NI	0,05								0,04	0,00
81	1422	NI	0,14	0,02	0,12	0,00	0,08				0,20	0,01
82	1428	NI							0,14	0,08		
83	1440	NI	0,06	0,16	0,05	0,00					0,03	0,01
84	1449	NI	0,48		0,04	0,01			0,05		0,06	0,00
85	1472	NI	0,46	0,70	0,75	0,03	0,53	0,25			1,02	0,01
86	1476	NI							0,52	0,43		
87	1483	NI							0,39	0,27		
88	1491	NI	0,10	0,57	0,08	0,01	0,53					
89	1495	NI					0,08					
90	1500	NI			0,30	0,03			0,12		0,24	0,00
91	1503	NI			0,12	0,03						
92	1507	NI	0,08									
93	1514	NI									0,08	0,01
94	1518	NI						_	0,04			
95	1522	NI	0,09								0,22	0,01
96	1530	NI			0,13	0,02	0,14		0,20	0,15	0,11	0,02
97	1531	NI									0,05	

N°	IR <sub>médio</sub>	Compostos	Fermentado TAQM		Fermentado TAQD		Fermer CAT	Fermentado CATD		Fermentado PM	
98	1535	NI						0,10	0,06		
99	1538	NI	0,09	0,03	0,04	0,00	0,06	0,06			
100	1543	NI	0,18	0,05							
101	1549	NI					0,08				
102	1558	NI	0,15		0,15	0,01	0,05			0,26	0,04
103	1561	NI						1,04	0,95		
104	1566	NI	0,07								
105	1570	NI	0,10								
106	1572	NI	1,54	0,01	0,07	0,01		0,10	0,01	0,07	0,00
107	1580	NI			0,09	0,00		1,30	1,36	0,10	0,01
108	1583	NI	1,89	0,05	1,95	0,05					
109	1585	NI	1,40								
110	1589	NI	1,22					2,15	0,42		
111	1597	NI	0,20	0,15	0,84	0,06		1,24	0,21		
112	1605	NI	0,99								
113	1606	NI	0,41								
114	1612	NI								0,43	0,07
115	1616	NI	0,59	0,50	0,92	0,01		0,86	0,25	0,92	0,02
116	1623	NI					0,42	1,52	0,52		
117	1645	NI					1,54				
118	1655	NI	0,12								
119	1660	NI	0,04								
120	1661	NI	0,07	0,02	0,03						
121	1663	NI			0,11	0,08		0,11	0,03		
122	1665	NI						0,13	0,04		
123	1666	NI			0,10	0,04		0,17			

N°	IR <sub>médio</sub>	Compostos		Fermentado TAQM		entado QD		entado TM	Fermentado CATD		Fermentado PMS	
124	1670	NI	0,11		0,08	0,04						
125	1673	NI	0,22	0,07	0,09	0,04					0,08	0,03
126	1676	NI	0,08						0,13	0,04		
127	1678	NI	0,06	0,05			0,10					
128	1682	NI					0,13				0,06	
129	1694	NI							0,57	0,53		
130	1709	NI	1,61		0,70	0,01	0,87	1,47			0,51	0,16
131	1723	NI							0,59	0,51		
132	1736	NI			0,06	0,00						
133	1755	NI	0,13	0,17			1,34		0,18	0,04	0,07	0,01
134	1769	NI	0,06	0,02			0,14					
135	1777	NI	0,37		0,13	0,00	0,22	0,27			0,23	0,06
136	1780	NI	0,96	0,04			0,66	0,63	0,15	0,08	0,38	0,14
137	1788	NI							0,18	0,12		
138	1796	NI	0,41	0,06	0,16	0,00	0,62	0,37	0,21	0,08	0,26	0,07
139	1802	NI			0,07	0,00						
140	1826	NI							0,13	0,03		
141	1850	NI			0,05	0,01						
142	1881	NI					0,49					
143	1923	NI							0,06	0,05		
144	1961	NI					0,06					
145	2027	NI	0,04	0,07	_			_	_			

NI.: Não Identificados. X.: Não detectado. ACREE, T. E.; ARN, H. Flavornet. Ano 2004. Disponível em: <a href="http://www.flavornet.org/flavornet.html">http://www.flavornet.org/flavornet.html</a>. Acesso em: ago. 2014. NIST. National Institute of Standards and Technology. Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, version 2.0. 2008.