



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA

ANA PAULA GUEDES PINHEIRO

PREPARO E CARACTERÍSTICAS DE PRODUTOS ORIUNDOS DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACÉTICA DO CUPUAÇU “*Theobroma*
***grandiflorum* SCHUM”**

MANAUS
2015

ANA PAULA GUEDES PINHEIRO

**PREPARO E CARACTERÍSTICAS DE PRODUTOS ORIUNDOS DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACÉTICA DO CUPUAÇU “*Theobroma
grandiflorum* SCHUM”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof Dra Érica Simplício de Souza

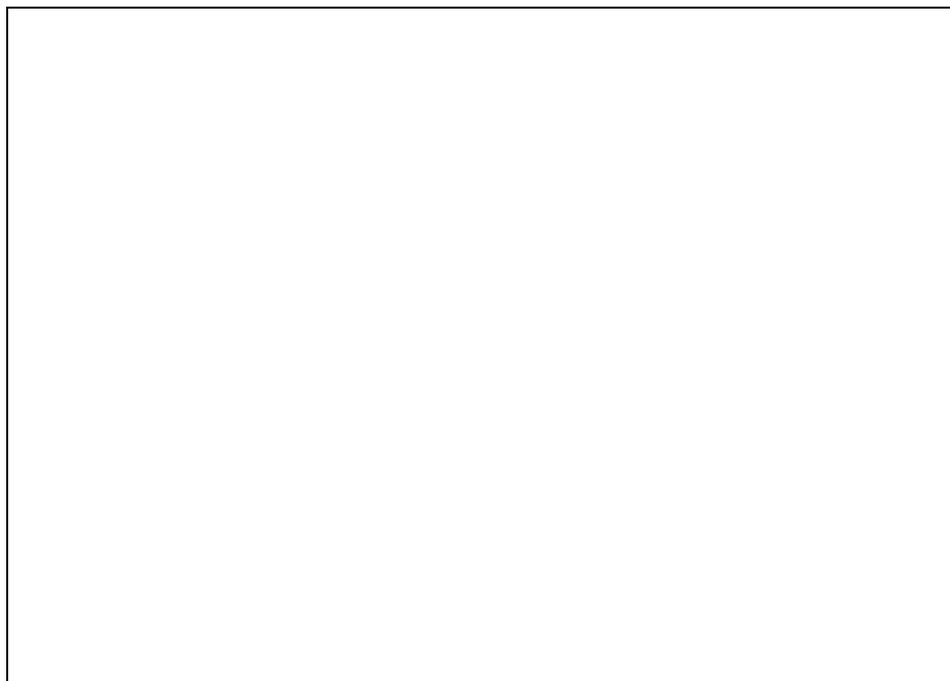
Co-Orientador: Prof^a Dr João Vicente Braga de Souza

MANAUS

2015

Ficha Catalográfica

(Catalogação na fonte realizada pela Biblioteca Central – UEA)



ANA PAULA GUEDES PINHEIRO

**PREPARO E CARACTERÍSTICAS DE PRODUTOS ORIUNDOS DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACÉTICA DO CUPUAÇU “*Theobroma
grandiflorum* SCHUM”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Data da aprovação ___/___/___

Banca Examinadora:

Dra. Érica Simplício de Souza
Universidade do Estado do Amazonas

Dra. Patrícia Melchionna Albuquerque
Universidade do Estado do Amazonas

Dra. Ormezinda C.Celeste Fernandes
Fundação Oswaldo Cruz

MANAUS

2015

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, fonte inesgotável de amor e misericórdia, pela presença constante em minha vida.

Aos meus queridos pais, *Waldecy e Edna*, que sempre me apoiaram e incentivaram a trilhar os caminhos da vida com muita força e coragem.

Às minhas queridas irmãs, *Rosa Emília, Nádia e Ellen*, sem o apoio e o amor de todas vocês, não teria conseguido.

Ao *Dr. João Vicente Braga de Souza*, minha eterna gratidão, pela valiosa orientação, simplicidade e competência. Obrigado pelos ensinamentos e pela amizade, que levarei por toda a vida.

À minha querida orientadora, *Dra Érica Simplício de Souza*, pela sua disponibilidade, apoio e compreensão durante todo o curso. Meu muito obrigado!

Ao *Dr. Cleiton Fantin*, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, pela amizade e confiança.

Ao *Dr. Orlando José dos Santos*, grande incentivador na minha jornada de mestrado, pela confiança em mim depositada, mostrando-me que seria capaz deste grande feito.

Aos meus colegas do Laboratório de Micologia do INPA, pela ajuda, e, sobretudo, pela amizade. Em especial, à *Luana, Michele, Márcia, Alita, Ralyvan, Joãozinho e Débora*.

A todos os funcionários do Laboratório de Micologia do INPA, pela amizade e presteza em todas as etapas do meu trabalho.

À *Lana Cynthia Magalhães*, amiga especial e parceira do mestrado. Vencemos!!

Às minhas amigas, *Regiane Sablina e Ana Angélica*, pelo apoio, carinho e incentivo para superar os obstáculos nesta caminhada.

À FAPEAM, pelo apoio à pesquisa e concessão da bolsa de estudo.

À Universidade do Estado do Amazonas (UEA), pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

E a todos que contribuíram de alguma maneira; alguns com pequenos gestos, mas que fizeram a diferença.

Muito obrigada!

DEDICATÓRIA

À meu esposo, Charles; e ao meu filho, Caio, meus amores e porto seguro.

“O meu corpo e o meu coração poderão fraquejar, mas Deus é a fortaleza do meu coração e a minha porção para sempre”.
(Salmo 73:26)

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Marthin Luther King)

RESUMO

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) é uma fruta importante na economia do Estado do Amazonas. Apesar das inúmeras preparações pertencentes à culinária regional, até o presente momento, poucos estudos foram realizados no sentido de se obter seus sub-produtos fermentados. O objetivo do presente trabalho foi investigar o preparo e as características de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética do cupuaçu. Com a finalidade de investigar quais as condições mais adequadas para a obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu foram realizados experimentos univariados que avaliaram a influência de diferentes fatores (concentração da polpa, concentração de extrato de levedura, concentração de sacarose, pH, razão do volume de meio de cultivo/biorreator, tamanho do inóculo e tipo de levedura) na fermentação alcoólica. Uma vez obtido o fermentado alcoólico de cupuaçu, experimentos foram realizados com a finalidade de investigar a obtenção de um fermentado acético. As melhores condições para a fermentação alcoólica foram: 45 g/L de concentração da polpa, 2,4 g/L de concentração do extrato de levedura, 24 g/L de concentração de sacarose, pH 5, razão do volume de meio de cultivo/biorreator 1/5, tamanho do inóculo de 14 g/L de levedura e a levedura do fornecedor C. A maior Produtividade e Rendimento de etanol foram observados em 24h. Quanto à fermentação acética, os experimentos realizados no reator de coluna de bolha com acidez inicial de 1 e 3% promoveram as melhores produções de ácido acético. O presente trabalho foi importante, pois investigou a influência dos fatores envolvidos no bioprocessamento de obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu e demonstrou a viabilidade de realizar a fermentação acética a partir do fermentado alcoólico de cupuaçu obtido.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentações, Frutos, Amazônia.

ABSTRACT

Cupuaçu is a very important fruit in our State economy. Although we have many ways to prepare related to the local food; up to the present time, few studies have been performed in order to obtain their sub-fermented products. The main purpose of this study was to investigate the preparation and characteristics of products derived from the alcoholic fermentation and acetous cupuaçu. With the purpose to investigate the most suitable conditions for obtaining the fermented alcoholic strength of cupuaçu, there were performed a lot of experiments that evaluated the influence of different factors (concentration of pulp, concentration of yeast extract, sucrose concentration, pH, why the volume of culture medium/bioreactor, inoculum size and type of yeast) in the alcoholic fermentation. Once you have obtained the fermented alcoholic strength of cupuaçu, experiments were carried out with the purpose of investigating the obtaining of a fermented acetic acid. The best conditions for the alcoholic fermentation were: 45 g/L concentration of pulp, 2.4 g/L concentration of yeast extract, 24 g/L of sucrose concentration, pH 5, and that is why the volume of culture medium/bioreactor 1/5, inoculum size of 14 g/L of yeast and yeast supplier C. The best Productivity and yield of ethanol were observed per 24 h. The acetous fermentation, the experiments performed in column reactor bubble with initial acidity of 1 and 3% has promoted the best production of acetic acid. The present work was important because it has investigated the influence of the factors involved in bioconversion process for obtaining the fermented alcoholic strength of cupuaçu and demonstrated the feasibility of the acetous fermentation from the fermented alcoholic strength of cupuaçu obtained.

KEY WORDS: fermentation, fruits, Amazon.

LISTA DE SIGLAS

°Brix - Graus Brix

°GL - Graus Gay-Lussac

g/L - Grama por litro

PPM - Parte por milhão

g - Grama

mL - Mililitro

M - Molar

g.L⁻¹ - Grama por litro

mg/L - Miligrama por litro

m/v - Massa por volume

RPM - Rotação por minuto

v/v - Volume por volume

p/v - Peso por volume

cm - Centímetro

L - Litro

Nm - Nanômetro

g.L .H - Grama por litro de hora

UFC. mL - Unidade Formadora de Colônia por mililitro

Ha - hectare

t - tonelada

Kcal - Quilocalorias

% - Porcentagem

Mg - Miligrama

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. A) Indivíduo adulto de *T. grandiflorum*; B) Fruto do *T. grandiflorum*; C) Sementes de *T. grandiflorum* envolvidas pela polpa branco-amarelada.

Figura 2. Fluxograma dos usos do cupuaçu. Fonte: Pinheiro, Ana Paula Guedes. 2015.

Figura 3. Esquema didático do processo de fermentação alcoólica, elucidando os compostos utilizados no processo (Glicose e ADP) e os resultantes ao final da degradação (2ATP, CO₂ e Etanol).

Figura 4. Bactérias do gênero *Acetobacter* que transformam o etanol do vinho em ácido acético. Fonte: http://microengenheiros.blogspot.com.br/2011_06_05_archive.html

Figura 5. Via metabólica simplificada da fermentação acética. O etanol é convertido a acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase e em sequência o acetaldeído é oxidado a ácido acético pela enzima acetaldeído desidrogenase. Baseado em SPINOSA, 2002 e ZILIOLI, 2011.

Figura 6. Recipiente utilizado para elaboração de vinagre pelo processo Orleans. Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006).

Figura 7. Corte transversal de um acetificador com suporte poroso: A) grade; B) maravalha de madeira; C) bomba para movimentação do vinho em processo de acetificação; D) dispersor do vinho; E) refrigerante de água; F) dispositivo de condensação de vapores. Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006).

Figura 8. Vista geral de um acetificador em aço inoxidável Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006).

CAPÍTULO 1

Figura 1: Biorreatores utilizados para fermentação acética a partir do fermentado alcoólico de cupuaçu. A) Reator de coluna de bolhas e b) Reator não aerado de grande superfície de troca gasosa. H= altura e D= Diâmetro.....36

Figura 2: Influência dos fatores concentração da polpa, concentração do extrato de levedura, concentração da sacarose, pH, razão do volume de meio de

cultivo/biorreator, tamanho do inóculo e tipo de levedura na variável de resposta redução dos sólidos solúveis (Δ °Brix = °Brix inicial- °Brix final) dos mostos investigados para obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM). As médias apresentadas com as mesmas letras não apresentam diferenças estatísticas entre si (Teste T, 95% confiança).....38

Figura 3: Concentração de etanol, de açúcares redutores totais e sólidos totais durante a produção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM).....39

Figura 4: Produtividade (g/L.h^{-1}) e Rendimento (%) durante a produção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM).....40

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1. Composição da polpa de cupuaçu *in natura* (Brasil, 2000)
.....17

Tabela 2. Composição nutricional por 100 g de parte comestível: centesimal, minerais, vitaminas e colesterol (TACO, 2011)
.....17

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Produção Máxima de ácido acético a partir do Fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM) durante os bioprocessos realizados com diferentes acidez inicial e biorreatores.....41

Tabela 2: Características dos fermentados alcoólico e acético de cupuaçu *Theobroma grandiflorum* SCHUM.....42

Tabela 3: Valores ótimos dos fatores envolvidos na obtenção do vinho de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM) e também valores dos mesmos fatores utilizados na obtenção de outros fermentados alcoólicos de frutas.....43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Cupuaçu (<i>Teobroma grandiflorum</i> (Wild.Ex.Spreng) K.Schum).....	14
2.1.1 Importância econômica do cupuaçu	14
2.1.2 Composição química da polpa de cupuaçu	16
2.2 Fermentação alcóolica	17
2.2.1 Bioquímica da fermentação alcóolica	17
2.2.2 Fermentado alcóolico de frutas	19
2.4 Fermentação acética	19
2.4.1 Bioquímica da fermentação acética	20
2.4.2 Processos de produção do vinagre	20
2.4.3 Processamento final do vinagre	22
2.4.4 Fatores que interferem na qualidade do vinagre	23
2.5 Fermentado acético de frutas	24
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL.....	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
CAPÍTULO I	30
Produção e características de produtos oriundos da fermentação alcóolica e acética do cupuaçu “<i>Theobroma grandiflorum</i> SCHUM”.	31
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAIS E MÉTODOS	33
2.1 Polpa de cupuaçu.....	33
2.2 Microrganismos.....	34
2.3 Fermentação alcoólica.....	34
2.4 Fermentação acética.....	35
2.5 Métodos analíticos.....	36
3 RESULTADOS	37
4 DISCUSSÃO	42
5 CONCLUSÃO	45
6. REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

O cupuaçu é uma fruta consumida e apreciada em todo país e mais consumida nos estados do Norte do Brasil. A fruta possui uma polpa que é utilizada pela população para produção de sucos, licores, sorvetes, geleias, doces e balas (ROCHA NETO; FIGUERÊDO; SOUZA, 1997). Até o presente momento, poucas pesquisas foram feitas a respeito da fermentação alcoólica e nenhuma sobre a fermentação acética desse fruto (DUARTE et al., 2010).

A produção de cupuaçu é de 14000 t/ano e ele é principalmente cultivado nos estados da região norte do país. Diversas preparações são feitas com a polpa por indústrias de diferentes portes e também de forma artesanal. Por ser uma das frutas mais populares do norte do país, novas preparações e novos produtos ainda são requeridos pelo mercado (FILGUERA, 1998).

Vinhos e vinagres são preparações que devem ser estudadas/pesquisadas utilizando-se o cupuaçu. A literatura atual apresenta somente um trabalho publicado apresentando uma preparação alcoólica de cupuaçu (PEREIRA et al., 2014) e nenhuma apresentando formulação de vinagre a partir dessa fruta. Nesse sentido pesquisas para produção e avaliação desses produtos são necessárias.

Se produtos como o vinho e o vinagre forem obtidos, o mercado desse fruto poderá aumentar. Esse aumento pode gerar benefícios para os cultivadores, aqueles que produzem a polpa do cupuaçu e, ainda, permitiria o desenvolvimento de uma indústria de bioprocessamento da polpa desse fruto. O benefício econômico gerado pode melhorar o mercado e também gerar uma ampliação no consumo desse fruto.

Diante dessa situação, o presente trabalho teve como objetivo investigar o preparo e as características de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética da polpa do cupuaçu.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng) K. Schum.)

O cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum*, pertence à família Sterculiaceae, que compreende aproximadamente 65 gêneros e cerca de 1.000 espécies, com distribuição predominantemente tropical e subtropical (CRONQUIST, 1981; BRUMIT, 1992).

Esta espécie é encontrada espontaneamente nas áreas de mata do sul e sudeste da Amazônia oriental brasileira, nordeste do Maranhão e também na região Amazônica de países vizinhos (SCHWAN, 2000).

É uma árvore de altura entre 4 e 10 m, podendo apresentar indivíduos silvestres com até 15 m de altura em ambientes de mata alta (CALZAVARA, 1970). As folhas são simples, alternadas e com pecíolo curto, mais ou menos brilhosa na face superior e ferruginosa na face inferior. As flores apresentam coloração branca ou vermelha, com tonalidade clara a escura, sendo as maiores do gênero e crescendo normalmente nos ramos (ALVES, 2002). O fruto é uma baga, com formatos variáveis, extremidades obtusa ou arredondada, com casca dura, levando cerca de 240 dias para seu desenvolvimento. O ponto de maturação pode ser identificado pelo aroma característico do fruto, que se torna mais pronunciado nesse período (VILACHICCA, 1999). Apresentam em média 36 sementes por fruto, de formato ovóide-elipsóide, estando envolvidas por uma polpa abundante branco-amarelada de sabor ácido (Figura 1A, B e C).



Figura 1. A) Indivíduo adulto de *T. grandiflorum*; B) Fruto do *T. grandiflorum*; C) Sementes de *T. grandiflorum* envolvidas pela polpa branco-amarelada.

2.1.1 Importância econômica do cupuaçu

O cultivo do cupuaçuzeiro é bastante explorado na região Norte e até o início da década de 80 tinha sua produção inteiramente extrativista, restrita a pomares domésticos. Na Amazônia brasileira, os principais estados produtores de cupuaçu são os Estados do Pará, Amazonas, Rondônia e Acre e a área cultivada com essa espécie teve expressivo aumento, estimando-se atualmente em 25000 ha.

A produção brasileira de polpa de cupuaçu é estimada entre 12000 t e 15000 t/ano, sendo que mais de 80% é oriunda de pomares comerciais (CARVALHO *et al.*, 2004). Segundo Costa *et al.* (2003), dentre as diversas frutas tropicais nativas da Amazônia, o cupuaçu é a que reúne as melhores condições de aproveitamento industrial.

Por apresentar frutos perecíveis que se deterioram em poucos dias, tem sua comercialização *in natura* dificultada a grandes distâncias (GADELHA *et al.*, 2009). Além disso, estima-se que perdas pós-colheita variem de 15 a 50%, dentro da média brasileira de perda de frutos tropicais que se situa na ordem de 30% dos produtos comercializados (XAVIER *et al.*, 2009).

O elevado potencial de múltiplos usos do cupuaçu destaca-se nos contextos nacionais e internacionais. Na indústria de alimentos essa fruta pode ser utilizada para gerar vários produtos, como: geléia, néctar, iogurte, pudim, sorvete, picolé, licor, doce, compota, biscoito e muitos outros (FILGUERA, 1998).

A utilização do consumo da polpa tem a preferência pelo mercado, devido o seu uso mais prático que o das frutas inteiras congeladas. As amêndoas são aproveitadas para obtenção do chocolate, mais conhecido como “cupulate”, mas também podem ser utilizadas na indústria de cosméticos e para alimentação de peixes. A gordura obtida das amêndoas é semelhante à manteiga de cacau, já a casca do cupuaçu, depois de seca e triturada, também pode ser aproveitada como fertilizante, possuindo variados nutrientes, como nitrogênio (0,72%), fósforo (0,04%) e potássio (1,5%) (FILGUERA, 1998). Na figura 2, estão descritos os usos potenciais do cupuaçu.

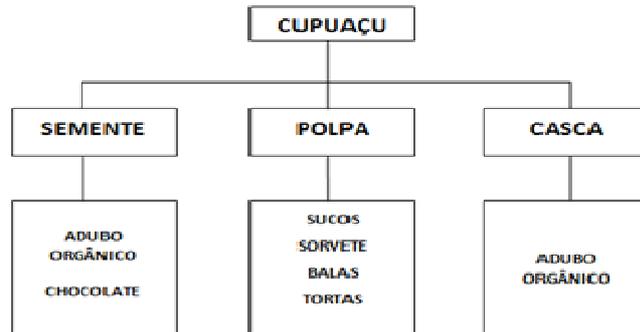


Figura 2. Fluxograma de usos do cupuaçu. Fonte: Pinheiro, Ana Paula Guedes.2015.

A contínua expansão do comércio de polpa de cupuaçu tem gerado uma demanda crescente pelo produto, garantindo ao produtor a segurança de venda da sua produção. Nos últimos anos, houve um incremento da exploração econômica de produtos e subprodutos de algumas frutíferas específicas, atribuído à crescente preocupação do consumidor com a relação entre dieta e saúde. Portanto, a caracterização físico-química dos frutos e a quantificação de componentes bioativos são importantes para o conhecimento do valor nutricional, e do ponto de vista comercial, para agregar valor e qualidade ao produto final (YAHIA, 2010).

2.1.2 Composição química da polpa do cupuaçu

A polpa de cupuaçu é o produto não fermentado e não diluído, obtido da parte comestível do cupuaçu, exceto semente, através de processo tecnológico adequado, com teor mínimo de sólidos totais. Deve apresentar as características de cor branca e branca amarelada, sabor levemente ácido e aroma próprio e, composição (**Tabela 1**), em conformidade com o que estabelece a Instrução Normativa n. 01 de 07 de janeiro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento para Padrões de Identidade e Qualidade fixada para polpa de frutas (BRASIL, 2000).

Tabela 1. Composição da polpa de cupuaçu *in natura* (Brasil, 2000).

Componentes	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis em °Brix, a 20° C	9,00	-
pH	2,60	-
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100 g)	1,50	-
Ácido ascórbico (mg/100 mg)	18,00	-
Açúcares totais naturais do cupuaçu (g/100 g)	6,00	-
Sólidos totais (g/100 g)	12,00	-

Fonte: (BRASIL, 2000).

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), 2011, a polpa de cupuaçu apresenta-se como um alimento rico em componentes indispensáveis a saúde humana (Tabela 2)

Tabela 2. Composição nutricional do cupuaçu por 100 g de parte comestível: centesimal, minerais, vitaminas e colesterol (TACO, 2011).

Tabela de valor nutricional	
Umidade (%)	86,2
Energia (Kcal)	49
Proteína (g)	0,8
Lipídeos (g)	0,6
Colesterol (mg)	N.A.
Carboidrato (g)	11,4
Fibra alimentar (g)	1,6
Cinzas (g)	0,6
Cálcio (mg)	5
Magnésio (mg)	14

2.2 Fermentação alcoólica

2.2.1 Bioquímica da fermentação alcoólica

Há mais de 4000 anos a fermentação vem sendo utilizada pelos egípcios, para a fabricação de pães e bebidas alcólicas a partir de cereais e frutas (LIMA et al., 2001). Mas, apenas recentemente, por volta de 1850, houve a elucidação e

identificação dos microorganismos responsáveis por esse processo, por Louis Pasteur concluiu que a transformação do açúcar em etanol dependia da existência de células vivas, as leveduras (PEREIRA, JUNIOR, 1999).

Na fermentação ocorrem reações enzimáticas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples liberando energia (REGODON et al.; 1997). O processo se inicia com a ativação da glicose, que recebe em reações sucessivas, fornecidos por duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato), dois fosfatos energéticos, que se transformam em ADP (adenosina difosfato). A glicose então é convertida em gliceraldeído 1,3-difosfato e ao final da reação, cada gliceraldeído é transformado em ácido pirúvico ou piruvato. O rendimento desse processo são duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose utilizada (HASHIZUME, 2001). **(Figura 3)**

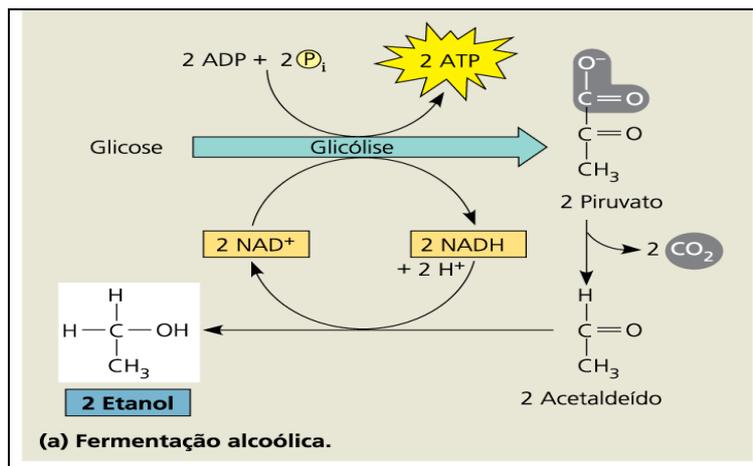


Figura 3. Esquema didático do processo de fermentação alcoólica, elucidando os compostos utilizados no processo (Glicose e ADP) e os resultantes ao final da degradação (2ATP, CO₂ e Etanol). Fonte: CAMPBELL, A.N. *et al.* Biologia. 8ª Edição, Editora Artmed, 1464 p., 2010.

De forma global, pode-se representar a fermentação alcoólica pela Equação de Gay-Lussac, na qual se observa que 1 mol de glicose (180 g) produz 2 moles de etanol (92 g) e 2 moles de dióxido de carbono (CO₂) (88 g) e 57 kcal de energia (LEHNINGER et al., 1995; KOLB, 2002).



Durante a fermentação alcoólica são formados, além do etanol, importantes componentes em menor quantidade, como os álcoois superiores, glicerol, aldeídos, ésteres e acetatos, compostos importantes para a formação do aroma de bebidas alcoólicas fermentadas, como o vinho (LURTON et al., 1995; DIAS, 1996; MARQUES & PASTORE, 1999).

2.2.2 Fermentado alcoólico de frutas

Segundo a Legislação vigente fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, à 20°C obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, sadia, fresca e madura. Fermentados que não são provenientes da uva, devem, obrigatoriamente, ser rotulados com a denominação fermentado acompanhado do nome da fruta da qual se originou, com sabores característicos de cada fruta (BRASIL, 2008).

Qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato constitui-se como matéria prima para obtenção de etanol. Os substratos (mostos) devem ser adequados ao desenvolvimento do microrganismo e à finalidade de sua atividade, que é produzir uma determinada substância (LIMA et al., 2001).

As concentrações dos mostos, nas destilarias brasileiras, são comumente expressas em graus Brix, quantidade de sólidos totais dissolvidos em uma solução açucarada à 20°C expressos em g/100g (GAVA, 1998).

Os vinhos ou fermentados de frutas são divididos em três classes no que se refere à quantidade de açúcares residuais. A primeira classe apresenta os vinhos do tipo seco, com até 5 g/L de açúcares totais, a segunda entre 5,1 e 20 g/L são do tipo meio seco e a terceira e última é a classe dos vinhos suaves ou doces com mais de 20,1 g/L (ALMEIDA, 2007).

Apesar de toda tecnologia já aplicada nas indústrias de frutas, ainda existe possibilidade de se desenvolver novos processamentos. Essa medida pode permitir a redução das perdas, devido a excedentes de safras, e como consequência irá agregar valor a essas frutas por meio de seu beneficiamento (SILVA et al., 2011).

Fermentados de frutas são produtos com elevada tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de sua produção contribuir na diminuição das perdas pós-colheita de frutos mais facilmente perecíveis. Tradicionalmente, emprega-se uvas e maçãs para obter bebidas fermentadas, porém muitos países, principalmente os europeus, produzem fermentados de frutas diferenciadas, como a pêra, a groselha, a framboesa, e a cereja (MUNIZ et al, 2002). Já em países de clima tropical, frutas como laranja, goiaba, abricó, abacaxi, manga e caju têm sido estudados na produção de fermentados alcóolicos (PAULA, 2001).

Uma das alternativas para diminuição do número de perdas é a produção de bebidas alcoólicas a partir de frutas nativas ou daquelas que podem ser facilmente propagadas (DIAS *et al*, 2003; GOMES, 2007). Estes produtos, provenientes da tecnologia de fermentação vem sendo cada vez mais estudados, em razão do aumento deste segmento no Brasil e a valorização mercadológica das frutas utilizadas como matéria-prima (RECAMALES, 2011).

Além da necessidade de desenvolvimento de novos processamentos que permitam a redução das perdas, uma das vantagens na produção dos fermentados de frutas é o fácil cultivo de árvores frutíferas no solo brasileiro, principalmente as mais rústicas, tropicais, que produzem sabores diferenciados.

No Brasil, foram realizados estudos com diferentes espécies de frutos tropicais como jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), laranja-pêra (*Citrus sinensis*), abacaxi (*Ananas comosus* L.), melancia (*Citrullus lanatus*), umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câm), alcançando resultados promissores (NETO et al., 2010; TESSARO et al., 2010; SILVA et al., 2010; FONTAN et al., 2011; GOMES et al., 2010), demonstrando, dessa forma, mais uma opção para o aproveitamento destes frutos tropicais.

2.3 Fermentação acética

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2011) os fermentados acéticos são definidos como os produtos obtidos da fermentação acética do fermentado alcóólico de mosto de frutas, cereais, vegetais, de mel, ou ainda da mistura hidroalcóolica, devendo apresentar acidez volátil mínima de 4,0

g/100mL, expressa em ácido acético. Sua graduação alcoólica não pode exceder a 1°GL e deve ser obrigatoriamente pasteurizado. Um vinagre com mais de 80 g/L de acidez volátil é o concentrado de vinagre usado exclusivamente para diluição (BRASIL, 1999).

A produção de vinagre ocorre por meio de processos bioquímicos diferenciados, primeiro pela ação de microrganismos através da fermentação alcoólica, pela ação das leveduras, comumente espécies de *Saccharomyces*, sobre as matérias-primas açucaradas e/ou amiláceas, e em seguida da fermentação acética, pela ação de bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter* (BORTOLINI et al.; 2001). **(Figura 4)**. As bactérias acéticas são encontradas em frutas e vegetais e participam da acidificação bacteriana de sucos de frutas, bebidas alcóolicas, produção de vinagre e fermentação de sementes de cacau (SACHS, 1990).

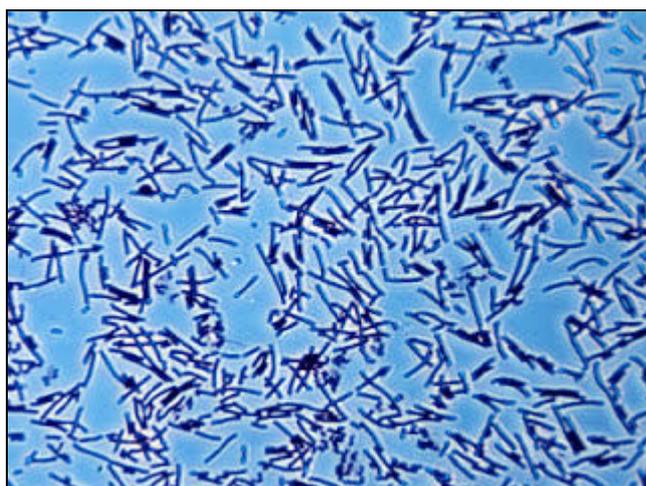


Figura 4. Bactérias do gênero *Acetobacter* que transformam o etanol do vinho em ácido acético. Fonte: http://microengenheiros.blogspot.com.br/2011_06_05_archive.html

As bactérias acéticas constituem um grupo de microrganismos de amplo interesse econômico, de um lado pela sua função de produção de ácido acético e, de outro, pelas alterações que provocam em alimentos e bebidas (HOFFMANN, 2006). Pertencem à família Pseudomonodaceae, gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter* e são responsáveis pelo azedamento do vinho e dos sucos de frutas. (MENEGUZZO; RIZZON, 2009).

Na fermentação acética não se utiliza culturas puras, e sim, uma microflora mista de *Acetobacter* contendo diferentes espécies ou variedades dessa bactéria, sendo considerada a mais eficiente (AQUARONE et al., 2001, SACHS, 1990). Desta forma, após o término da fermentação alcoólica, o vinho é inoculado com essa mistura de bactérias ativas adicionando “vinagre forte”, que é o vinagre não diluído e não pasteurizado de uma fermentação anterior, contendo altas concentrações de bactérias acéticas (AQUARONE et al., 2001).

As bactérias do gênero *Acetobacter* apresentam a capacidade de oxidação da molécula de etanol e do ácido acético a CO_2 e H_2O . Formam película ou crosta na superfície da cultura, comumente chamada de “mãe do vinagre”, de onde iniciam os repiques, essas películas variam de acordo com a espécie, podendo ser delgadas, espessas, contínuas ou em ilhas. Apresentam bastonetes elipsoidais, retos ou ligeiramente curvos. Quando jovens são gram-negativas e as células velhas são gram variáveis (AQUARONE et al., 2001).

2.3.1 Bioquímica da fermentação acética

A oxidação de etanol à ácido acético dá-se por duas reações sequenciais. Na primeira reação, o etanol é transformado em acetaldeído ao nível da membrana citoplasmática através da enzima álcool desidrogenase, ligada ao NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) ou ao NADP que agem como aceptores intermediários de hidrogênio, formados durante o processo de respiração. O acetaldeído formado é, então, hidratado e sofre uma nova oxidação, pela ação da enzima acetaldeído-desidrogenase ligada ao NADP, que leva a formação de ácido acético (**Figura 5**).

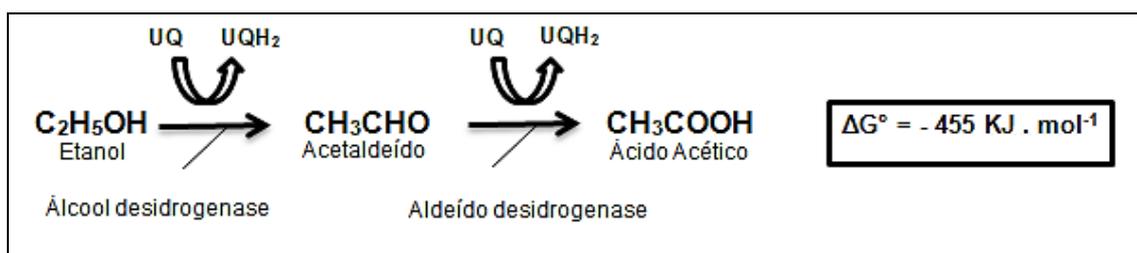


Figura 5. Via metabólica simplificada da fermentação acética. O etanol é convertido a acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase e em sequência o acetaldeído é oxidado a

ácido acético pela enzima acetaldeído desidrogenase. Baseado em SPINOSA, 2002 e ZILIOLI, 2011.

2.3.2 Processos de produção do vinagre

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

a) Processo de Orleans:

Também conhecido como lento, superficial ou estacionário, considerado o processo mais antigo (surgiu em 1670) e até hoje é empregado para a fabricação caseira de vinagre. Produz vinagre de ótima qualidade, sendo utilizado apenas fermentado como matéria-prima (BELMONT, 2002).

O vinagre é produzido em barris de mais ou menos 200 litros, com abertura na parte superior com orifícios para entrada do ar. O procedimento consiste em acrescentar no barril, média de um terço de sua capacidade com vinagre, quantidades de vinho ou o fermentado de fruta vai sendo adicionados entre 10 a 15 litros por semana, durante um mês. Ao término de cinco semanas, são retirados aproximadamente 20 litros de vinagre substituindo-se por outro tanto de vinho novo, sendo o processo repetido ao longo do tempo (CASTELO, 2002).

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

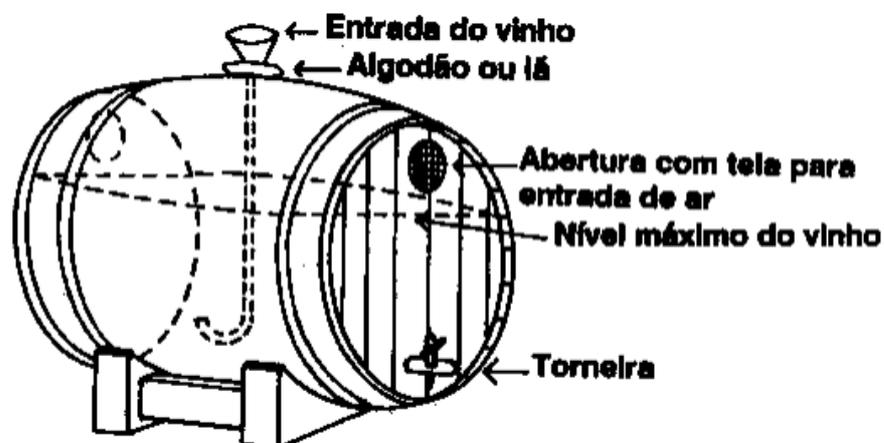


Figura 6. Recipiente utilizado para elaboração de vinagre pelo processo Orleans
Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006)

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

Em relação à temperatura para este processo, a mesma não deve exceder 25°C, a fim de evitar perdas de álcool por evaporação. As entradas e janelas do prédio, assim como as aberturas do barril, devem ser protegidas com telas finas, para evitar a presença de insetos, atraídos pelos odores do vinagre (AQUARONE *et al.*, 2001).

b) Processo Rápido, Alemão ou Schützenback Boerhave

Processo introduzido na Alemanha em 1832 por Schützenback, baseado na passagem da mistura de vinho em vinagre por uma grande superfície exposta ao ar, obtida através da adição de carvão, bagaço de cana ou milho, madeira, ou outros materiais no quais estarão aderidas as bactérias acéticas. Esse equipamento é conhecido como gerador ou vinagreira, composto por três partes: porção superior (responsável pela distribuição da mistura em acetificação sobre o material de enchimento), porção intermediária (contêm o material de enchimento) e a porção inferior (reservatório do líquido). Método muito susceptível à infestação por insetos e moscas, como por exemplo, a *Drosophyla melanogaster* ou por nematoides, além da reprodução acentuada de bactérias produtoras de polímeros que interferem na circulação da mistura (vinho / vinagre) dentro do cilindro central onde as bactérias estão aderidas (MORETTO *et al.*, 1988; AQUARONE, 2001; ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1999, 2002; AQUARONE *et al.*, 2001) . **(Figura 7)**.

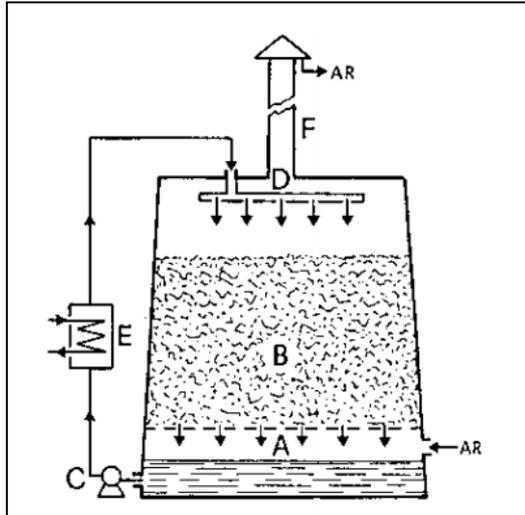


Figura 7. Corte transversal de um acetificador com suporte poroso: A) grade; B) maravalha de madeira; C) bomba para movimentação do vinho em processo de acetificação; D) dispersor do vinho; E) refrigerante de água; F) dispositivo de condensação de vapores. Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006).

c) Processo submerso

Surgido em 1950. Método baseado em manter a cultura de bactérias acéticas imergidas no vinho a ser acetificado com um suprimento abundante de ar. Após a acetificação da matéria-prima, é realizada a eliminação de uma parte do vinagre, sendo substituída por uma parte de vinho, sem que o processo pare. O processo de transformação se dá em média de 20 horas (CASTELO, 2002).

Neste processo, o substrato alcóolico pode ser fermentado trinta vezes mais rapidamente que por qualquer outro processo. O ar deve ser monitorado cautelosamente, já que um decréscimo da pressão parcial de oxigênio aumenta o metabolismo bacteriano (AQUARONE *et al.*, 2001).

A figura 8 mostra o acetificador Frings em aço inoxidável utilizado na produção de vinagre.



Figura 8. Vista geral de um acetificador em aço inoxidável Fonte: (MENEGUZZO; RIZZON, 2006).

O processo de acetificação deve permitir, através da serpentina, a dissipação térmica, viabilizando, dessa maneira, o controle da temperatura dentro de uma faixa satisfatória, e esta depende da concentração do substrato, sendo a mesma por volta de 28°C (CASTELO, 2002).

O processo de fermentação submersa apresenta muitas vantagens: alta eficiência: pode produzir cerca de 6% ou mais, diariamente, de vinagre; rendimento: calculado em relação ao rendimento teórico, atingem de 90 a 95%; praticidade: dispensa tratamentos de clarificação e de filtração, que costumam ser onerosos e demorados.

O equipamento mais utilizado para o produção de vinagre no processo submerso é conhecido como acetificador de Frings, fabricado e patenteado pela Heinrich Frings-Bonn, Alemanha (AQUARONE *et al.*, 2001).

2.3.3 Processamento final do vinagre

Antes de o vinagre ser submetido à comercialização, este deve receber alguns tratamentos para melhorar o aspecto e oferecer estabilidade ao produto final. Estes consistem no armazenamento pós-fermentação, clarificação e envelhecimento.

O vinagre não deve permanecer na vinagreira após a fermentação, pois as bactérias irão oxidar o ácido acético, na ausência de álcool para metabolizar, enfraquecendo o vinagre. Já fermentado, o vinagre deve ser acondicionado em recipientes adequados e serem mantidos longe do contato com o ar, pois na ausência de oxigênio as bactérias são inibidas (SACHS, 1990).

A etapa de clarificação é realizada de maneira natural ou através do emprego de coadjuvantes de clarificação; físico-química, química ou desmetalização; mecânica, por substâncias orgânicas e inorgânicas usadas como clarificantes (caseína, albumina, bentonita, argilas, entre outras) (SACHS, 1990, AQUARONE et al., 2001).

O vinagre deve ser envelhecido por um período de um ano, durante esse tempo ocorrem reações de esterificação, que proporcionarão o desenvolvimento de aromas agradáveis (AQUARONE et al., 2001).

2.3.4 Fatores que interferem na qualidade do vinagre

Os fatores que podem interferir na qualidade do vinagre são a linhagem e a seleção do microrganismo, a matéria-prima, a concentração do álcool, a temperatura de fermentação (20° a 30°C), a quantidade de O₂, pH ótimo na faixa de 5 e 6, a maturação e a conservação, a clarificação, envase e a pasteurização (CASTELO, 2011).

No que se refere à *concentração alcoólica*, esta afeta muito o desenvolvimento das bactérias ou a qualidade do vinagre. Concentrações acima de 13% de álcool dificultam a acetificação, pois o álcool é oxidado de maneira incompleta. A concentração utilizada na indústria é de 6% de álcool etílico.

A acidificação inicial é importante, pois evita as fermentações paralelas indesejáveis permitindo que a acetificação se processe em boas condições, havendo a necessidade de se obter certa acidez no líquido a ser acetificado, pelo qual é comum a adição de vinagre forte não pasteurizado, na proporção de 1:3 a 1:4 do vinho.

Já referente ao controle da oxigenação, a acetificação do álcool é primariamente uma oxidação e depende de considerável suprimento de oxigênio para formar-se normalmente. A ausência de oxigênio interfere na vida aeróbia das bactérias e, por conseguinte, na produção do vinagre.

A temperatura ideal para o crescimento das bactérias acéticas fica entre 27° a 30°C, crescendo lentamente abaixo desse limite, e acima apresentam-se fracas, acarretando na perda da capacidade funcional se não retornarem ao seu valor ótimo de temperatura.

A bactéria acética pode demonstrar crescimento ótimo entre 5 a 6,5; apesar de apresentar grande capacidade de sobrevivência em pH entre 3 e 4 (ROMERO et al., 1994).

2.4 Fermentado acético de frutas

Vinagres de frutas são avaliados com características sensoriais e nutritivas superiores quando comparados a outros tipos de vinagres, apresentando características como sabor e aroma próprios, além de serem constituídos de vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas, aminoácidos originados do fruto e da fermentação alcoólica (LU *et al.*, 1999). Contudo, a qualidade final do vinagre pode sofrer interferência pela matéria-prima utilizada como substrato para sua fabricação, pelo sistema de acetificação utilizado e pela presença ou não de processos de envelhecimento em madeira (TESFAYE *et al.*, 2002).

O vinagre é um produto consumido no mundo inteiro como condimento e conservante de alimentos, sendo destacado como um importante complemento para a alimentação humana (GRANADA *et al.*, 2000).

A utilização do vinagre na alimentação pode ocorrer nas formas de condimento, conferindo sabor ácido, como conservante evitando o crescimento de microrganismos (ENTANI *et al.*, 1998; SEGUN; KARAPINAR, 2004), além de apresentar bastante utilidade como amaciante de carnes temperadas e legumes em conservas (BORTOLINI; SANT`ANNA; TORRES, 2001; GRANADA *et al.*, 2000).

O vinagre pode apresentar efeitos fisiológicos positivos em relação à regulação da glicose sanguínea (EBIHARA; NAKAJIMA, 1988; JOHNSTON; BULLER, 2005), controle da pressão arterial, auxílio da digestão, estimulação do apetite (XU; TAO; AO, 2007) e promoção da absorção de cálcio (HADFIELD; BEARD; LEONARD-GREEN, 1989; XU; TAO; AO, 2007).

A produção de vinagres de qualidade, com propriedades nutricionais relevantes e com potencial funcional pode conquistar um mercado seletivo de consumidores, fato ainda não atentado pela indústria brasileira. De acordo com Aquarone *et al.* (1983), esse comportamento induz à produção a partir de matérias-primas mais baratas e por processos cada vez mais produtivos, obtendo-se, por conseguinte, vinagres que se apresentam apenas como uma solução ácida, em detrimento da obtenção de vinagres finos originados de vinhos de frutos, mel, cereais e outros, tão apreciados em países desenvolvidos, cujo valor de uma garrafa pode atingir dezenas de dólares, sendo comum a realização de testes sensoriais, por degustadores experientes, à semelhança do que ocorre com os vinhos, cervejas e uísques.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o preparo e características físico-químicas de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*_SCHUM).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar a obtenção de um fermentado alcoólico do cupuaçu;
2. Investigar a obtenção de um fermentado acético do cupuaçu;
3. Analisar as características físico-químicas dos fermentados alcoólico e acético obtidos do cupuaçu.

CAPÍTULO I

PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE PRODUTOS ORIUNDOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACÉTICA DO CUPUAÇU “*Theobroma grandiflorum* SCHUM”

PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE PRODUTOS ORIUNDOS DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E ACÉTICA DO CUPUAÇU “*Theobroma grandiflorum* SCHUM”

RESUMO

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) é uma fruta importante na economia do Estado do Amazonas. Apesar das inúmeras preparações pertencentes à culinária regional, até o presente momento, poucos estudos foram realizados no sentido de se obter seus produtos fermentados. O objetivo do presente trabalho foi investigar o preparo e as características de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum). Com a finalidade de investigar quais as condições mais adequadas para a obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu foram realizados experimentos univariados que avaliaram a influência de diferentes fatores (concentração da polpa, concentração de extrato de levedura, concentração de sacarose, pH, razão do volume de meio de cultivo/biorreator, tamanho do inóculo e tipo de levedura) na fermentação alcoólica. Uma vez obtido o fermentado alcóólico de cupuaçu, experimentos foram realizados com a finalidade de investigar a obtenção de um fermentado acético. As melhores condições para a fermentação alcoólica foram: 45 g/L de concentração da polpa, 2,4 g/L de concentração do extrato de levedura, 24 g/L de concentração de sacarose, pH 5, razão do volume de meio de cultivo/biorreator 1/5, tamanho do inóculo de 14 g/L de levedura e a levedura do fornecedor C. A maior Produtividade e Rendimento de etanol foram observados em 24h. Quanto à fermentação acética, os experimentos realizados no reator de coluna de bolha com acidez inicial de 1 e 3% promoveram as melhores produções de ácido acético. O presente trabalho foi importante pois investigou a influência dos fatores envolvidos no bioprocessamento de obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu e demonstrou a viabilidade de realizar a fermentação acética a partir do fermentado alcoólico de cupuaçu obtido.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentações, Frutos, Amazônia

ABSTRACT

Cupuaçu is a very important fruit in our State economy. Although we have many ways to prepare related to the local food; up to the present time, few studies have been performed in order to obtain their fermented products. The main purpose of this study was to investigate the preparation and characteristics of products derived from the alcoholic fermentation and acetous cupuaçu. With the purpose to investigate the most suitable conditions for obtaining the fermented alcoholic strength of cupuaçu, there were performed a lot of experiments that evaluated the influence of different factors (concentration of pulp, concentration of yeast extract, sucrose concentration, pH, why the volume of culture medium/bioreactor, inoculum size and type of yeast) in the alcoholic fermentation. Once you have obtained the fermented alcoholic strength of cupuaçu, experiments were carried out with the purpose of investigating the obtaining of a fermented acetic acid. The best conditions for the alcoholic fermentation were: 45 g/L concentration of pulp, 2.4 g/L concentration of yeast extract, 24 g/L of sucrose concentration, pH 5, and that is why the volume of culture medium/bioreactor 1/5, inoculum size of 14 g/L of yeast and yeast supplier C. The best Productivity and yield of ethanol were observed per 24 h. The acetous fermentation, the experiments performed in column reactor bubble with initial acidity of 1 and 3% has promoted the best production of acetic acid. The present work was important because it has investigated the influence of the factors involved in bioconversion process for obtaining the fermented alcoholic strength of cupuaçu and demonstrated the feasibility of the acetous fermentation from the fermented alcoholic strength of cupuaçu obtained.

KEY WORDS: fermentation, fruits, Amazon

1 INTRODUÇÃO

O cupuaçu *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng) K. Schum é um dos mais importantes frutos tipicamente amazônicos, é uma fruta originária do Sul e do Sudeste da Amazônia, sendo bastante apreciado pelo sabor ácido e aroma intenso de sua polpa (Freire et al., 2009; Said, 2011). Apesar das inúmeras preparações pertencentes à culinária regional, até o presente momento, poucos estudos foram realizados no sentido de se obter seus produtos fermentados (Duarte et al., 2010).

Entre os produtos fermentados mais importantes destacam-se o vinho e vinagre. Vinhos e vinagres de fruta podem ser obtidos a partir de frutos sendo que esses produtos possuem potencial para evitar desperdício pós-colheita e ainda são considerados produtos de valor agregado apresentando-se como importante alternativa econômica. Isso ocorre, pois, de uma forma geral, os processos fermentativos resultam em produtos com novas características nutricionais e físico-químicas (Tessaro et al., 2010).

Até o presente momento poucos estudos foram realizados com produtos de fermentação alcoólica de cupuaçu (Duarte et al., 2010; Pereira, Alves, Landim, & Chaves, 2014) e nenhum estudo foi realizado com produtos de fermentação acética. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi investigar o preparo e as características de produtos oriundos da fermentação alcoólica e acética do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Polpa de cupuaçu

Foi utilizada uma polpa comercial obtida na Cidade de Manaus em junho de 2014. A polpa apresentava sólidos totais de 9,36 %, sendo destes: 26% de carboidratos, 7g de proteínas por 100 g, 57% de fibra alimentar e valor energético de 132 kcal/100 g de polpa.

2.2 Microrganismos

Para a fermentação alcoólica foram utilizadas células de *Saccharomyces cerevisiae* comercializadas por 4 diferentes fornecedores (A,B,C,D). A fermentação acética foi conduzida pela inoculação de bactérias ácido-acéticas provenientes de vinagre de álcool não pasteurizado (vinagre forte), fornecido por uma indústria de vinagre de álcool da cidade de Manaus.

2.3 Fermentação alcoólica

O mosto foi preparado misturando-se a polpa (30% v/v), corrigindo-se acidez (pH 5,0), chaptalizando-se com sacarose (24 °Brix), transferindo-se 25 mL deste para erlenmeyers de 125 mL e inoculando-se (4 g/L) com leveduras. A incubação ocorreu à temperatura ambiente de forma estática por 72 horas. Um sistema de batoque foi colocado em cada erlenmeyer com a finalidade de evitar a entrada de oxigênio no erlenmeyer.

A partir dessas condições descritas, foi investigada, de forma univariada, a influência dos fatores: concentração da polpa (15-60% p/v), concentração do extrato de levedura (0-24 g/L), sacarose-chaptalização (12-32 %), pH (4-7), razão do volume de meio de cultivo/biorreator (1/5 a 4/5), tamanho do inóculo (2 a 16 g/L de levedura sêca) e tipo de levedura (4 diferentes fornecedores) na redução dos sólidos solúveis (Δ °Brix = °Brix inicial - °Brix final) em 72h de bioprocesso.

Em seguida, foi realizado um experimento, com volume final de 12 litros, com as condições ótimas definidas por cada um dos experimentos univariados descritos acima. O acompanhamento desse experimento ocorreu a cada 24 h por 72 h, onde foram determinadas a redução dos sólidos solúveis, açúcares redutores e álcool (g/L).

Com os dados obtidos nos bioprocessos, foi possível determinar a produtividade e o rendimento de acordo com as Equações 1 e 2, respectivamente.

Equação 1:

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = P/t$$

Onde:

P: concentração de etanol experimental;

t - tempo de fermentação (h).

Equação 2:

$$\text{Rendimento} = \text{ME}/\text{MAR} \times 100$$

Onde:

ME: massa de etanol produzida (g);

MAR: massa de açúcares redutores consumida (g).

2.4 Fermentação acética

A fermentação acética foi conduzida em um reator de coluna de bolhas (aerado na vazão de 100 v/v.m^{-1}) de 700 mL e em um reator não aerado de grande superfície de troca gasosa de 5000 mL (Figura 1). Ambos trabalharam com um volume útil de 500 mL de fermentado alcoólico de cupuaçu. Esse último foi diluído para obter-se uma concentração de etanol de 6%. Diferentes concentrações iniciais de acidez (ácido acético) foram investigadas, essas concentrações foram obtidas colocando-se diferentes volumes do vinagre forte ou água destilada. A produção de acidez foi monitorada por 21 dias, sendo retiradas as amostras a cada 24 horas, e não foi realizada nenhuma alimentação para que se pudesse observar a produção máxima de ácido acético com uma única batelada.

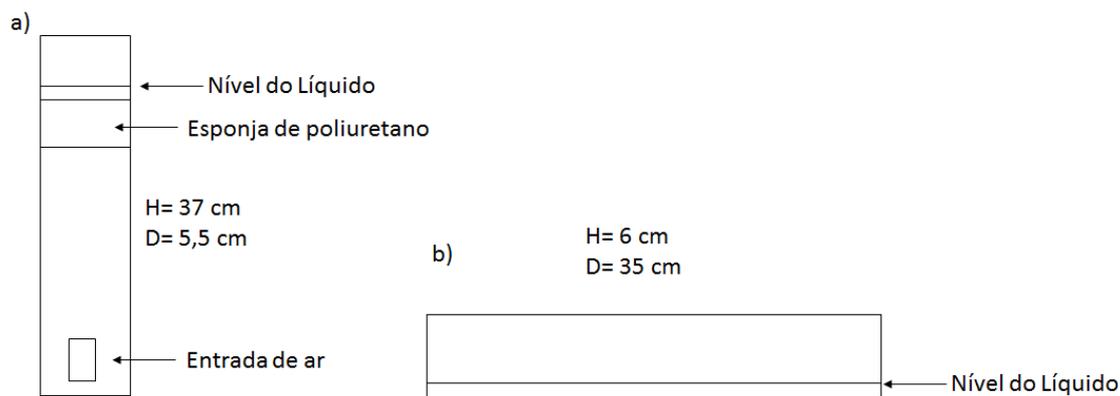


Figura 1: Esquema dos Biorreatores utilizados para fermentação acética a partir do fermentado alcoólico de cupuaçu. A) Reator de coluna de bolhas e b) Reator não aerado de grande superfície de troca gasosa. H= altura e D= Diâmetro.

2.5 Métodos analíticos

As metodologias analíticas utilizadas foram baseadas nas normas da AOAC- Analytical Association of Official Chemist (1999).

Sólidos totais: Foram transferidos, com auxílio de uma pipeta, 10 mL de amostra, para uma cápsula de massa conhecida e a amostra foi aquecida a 105°C por 2 horas. A amostra seca foi resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada.

Sólidos solúveis: Os teores de sólidos solúveis (°Brix) foram determinados por leitura direta de um refratômetro manual Instrutherm (São Paulo-Brasil) com escala de 0 a 32° Brix e precisão de 0,2° Brix.

Etanol: Foram transferidos 100 mL de amostra para um balão de destilação. Este foi acoplado à uma coluna de destilação e esta a um condensador. Foi calculado o volume e a densidade do destilado obtido com a finalidade de determinar o teor de etanol (% (v/v) na amostra.

Acidez Total em ácido acético: 1 mL da amostra foi titulado contra NaOH (0,1 M) utilizando como indicador do ponto de viragem a solução de fenolftaleína.

Densidade: Foi realizada a higienização com água do picnômetro, enxaguado com álcool, e, posteriormente com éter. Seco naturalmente e pesado. O picnômetro foi preenchido com água à 20°C e pesado. Após, o picnômetro foi lavado e seco e procedeu-se da mesma maneira com a amostra.

Açúcares Redutores Totais: Foram determinados por método espectrofotométrico com DNS (ácido 3-5 dinitrosalicílico) (Embrapa, 2013). As amostras foram previamente hidrolisadas (HCl 2 M) para inversão da sacarose dando origem aos açúcares redutores que foram quantificados e, em seguida, foram neutralizadas (NaOH). 1 mL da amostra devidamente diluída e 1 mL do reagente de DNS foram misturados e submetidos a aquecimento (100 °C por 5 min). As amostras foram lidas a 540 nm e uma curva de glicose foi realizada de forma a utilizá-la para quantificar a presença dos açúcares redutores na amostra.

Potencial Hidrogeniônico (pH): o pH da amostra foi determinado por um pHmetro digital à 24°C.

3 RESULTADOS

Com a finalidade de investigar quais as condições mais adequadas para a obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu foram realizados experimentos univariados que avaliaram a influência dos fatores concentração da polpa, concentração do extrato de levedura, concentração da sacarose, pH, razão do volume de meio de cultivo/biorreator, tamanho do inóculo e tipo de levedura na variável de resposta redução dos sólidos solúveis (Δ °Brix = °Brix inicial - °Brix final) dos mostos investigados para obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu (Figura 2). As melhores condições para redução dos sólidos solúveis foram: 45 g/L de concentração da polpa, 2,4 g/L de concentração do extrato de levedura, 24 g/L de concentração de sacarose, pH 5, razão do volume de meio de cultivo/biorreator 1/5, tamanho do inóculo de 14 g/L de levedura e a levedura do fornecedor C.

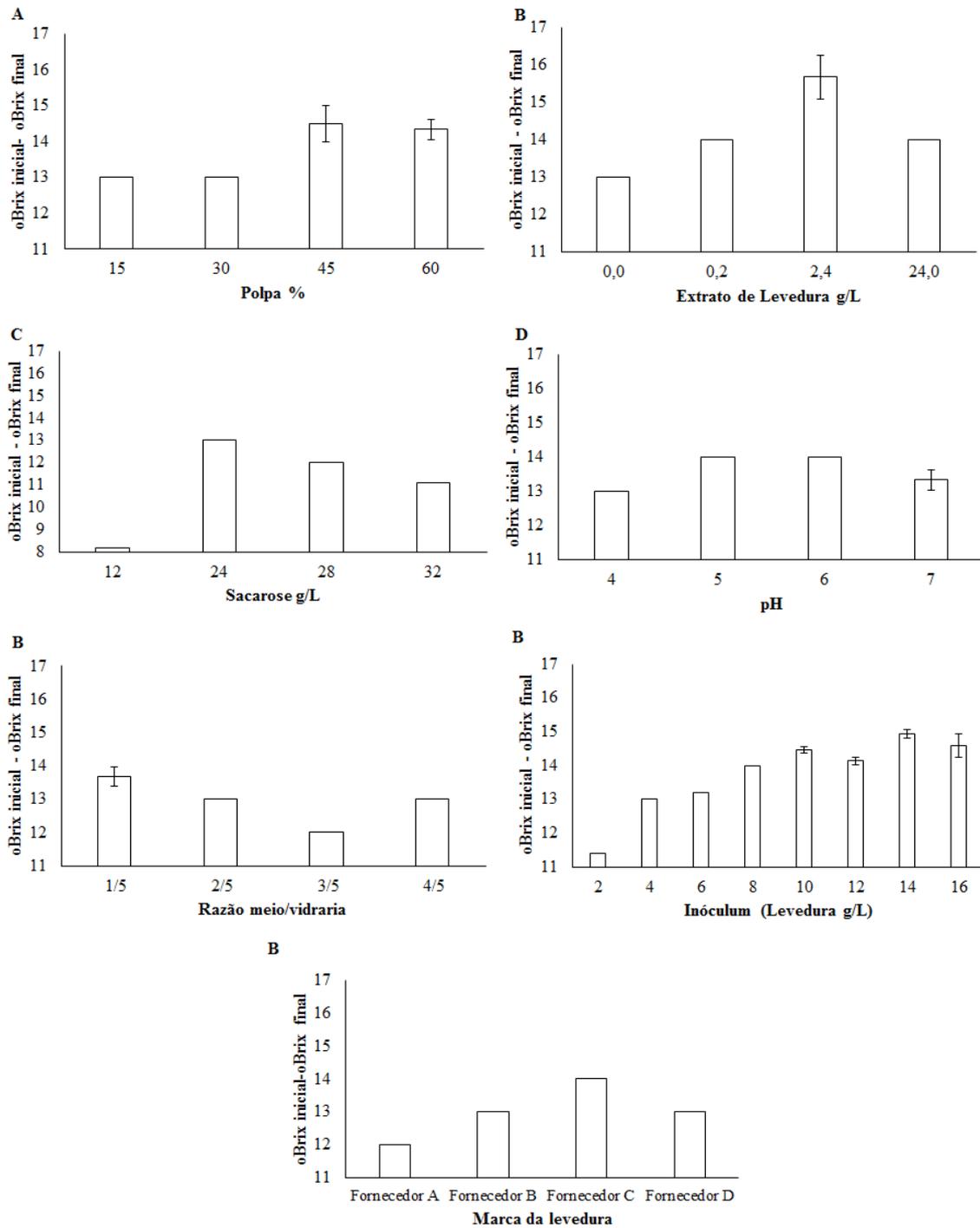


Figura 2: Influência dos fatores concentração da polpa (A), concentração do extrato de levedura (B), concentração da sacarose (C), Ph (D), razão do volume de meio de cultivo/biorreator (E), tamanho do inóculo (F) e tipo de levedura (G) na variável de resposta redução dos sólidos solúveis (Δ °Brix = °Brix inicial - °Brix final) dos mostos investigados para obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM). As médias apresentadas com as mesmas letras não apresentam diferenças estatísticas entre si (Teste T, 95% confiança).

Uma vez determinada, de forma univariada, a influência dos fatores para a preparação do fermentado alcoólico de cupuaçu, foi realizado o bioprocesso na escala de 12 litros com os fatores ajustados para maior redução dos sólidos solúveis. Esse experimento foi realizado para obter-se volume de fermentado alcoólico suficiente para os ensaios de fermentação acética. Na Figura 3 pode ser observada a concentração de etanol, de açúcares redutores totais e sólidos totais durante a produção do fermentado alcoólico de cupuaçu.

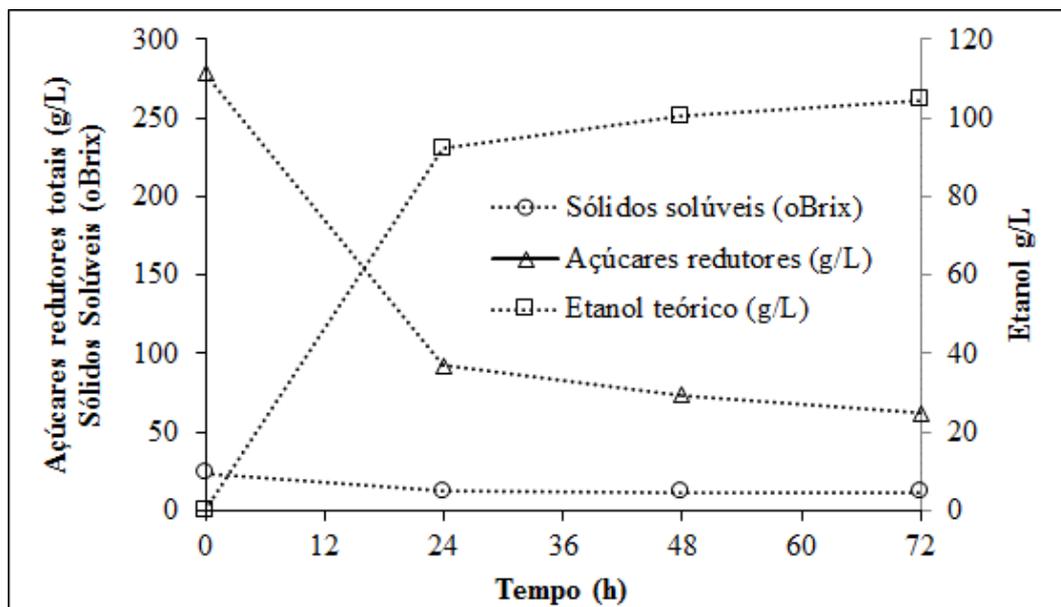


Figura 3: Concentração de etanol, de açúcares redutores totais e sólidos totais durante a produção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM).

A partir dos dados apresentados na Figura 3, com o objetivo de investigar parâmetros de qualidade do bioprocesso, foi determinada a produtividade e rendimento do bioprocesso (Figura 4). A maior Produtividade e Rendimento do bioprocesso foram observados em 24h.

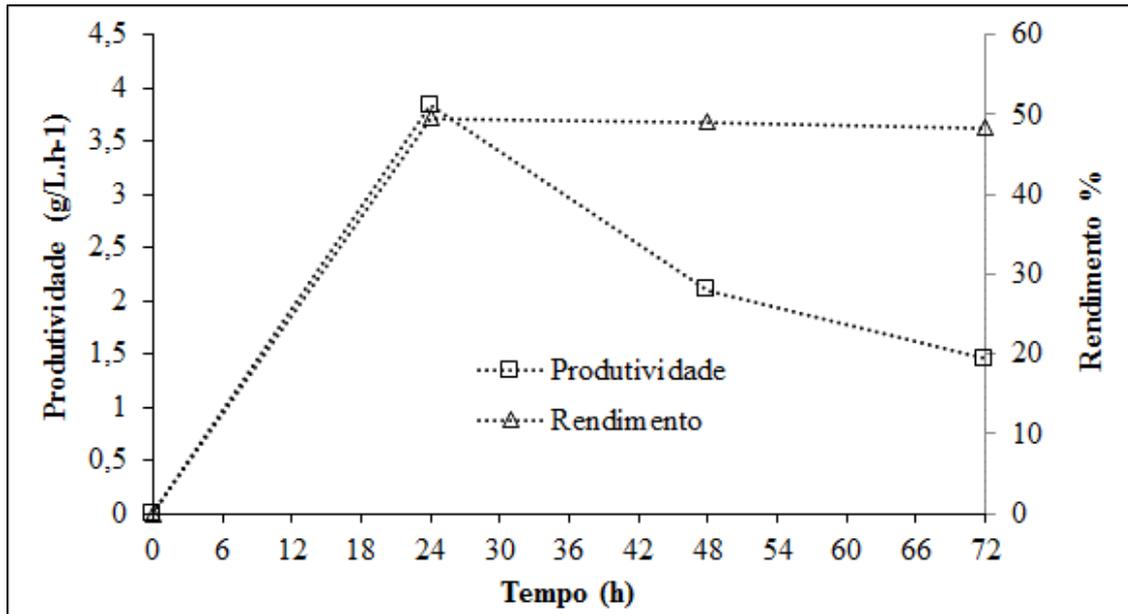


Figura 4: Produtividade (g/L.h^{-1}) e Rendimento (%) durante a produção do fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM).

Uma vez obtido o fermentado alcóolico de cupuaçu, experimentos foram realizados com a finalidade de investigar a obtenção de um fermentado acético. Para tanto, o fermentado alcóolico teve seus nutrientes e etanol corrigidos e, em seguida, foi misturado com vinagre forte em diferentes proporções com a finalidade de investigar a influencia da acidez inicial no bioprocesso. Dois diferentes tipos de reatores foram utilizados nesses experimentos, um reator de coluna de bolhas e um reator não aerado de grande superfície de troca gasosa. A Tabela 1 apresenta a produção máxima de ácido acético a partir do Fermentado alcóolico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM) durante os bioprocessos realizados com diferentes acidez inicial e biorreatores.

Tabela 1: Produção Máxima de ácido acético a partir do Fermentado alcoólico de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM) durante os bioprocessos realizados com diferentes acidez inicial e biorreatores.

Bioreator	Acidez inicial (%)	Acidez máxima final (%)	Ácido Acético Produzido (%)	Tempo Necessário (d)
Coluna de bolhas	1,0	2,5 ± 0	1,54	15
	3,0	4,46 ± 0,03	1,46	18
	5,0	4,68 ± 0,03	-0,32	21
Não aerado de grande superfície	1,6	2,3 ± 0	0,68	6
	2,6	3,17 ± 0,05	0,57	9
	3,6	3,87 ± 0,03	0,27	12

Quanto a influencia da acidez, pode-se observar que os reatores com acidez inicial alta (> 3,6 %) produziram pouco ou nenhum ácido acético. Quanto a influência dos biorreatores, observou-se que o reator de coluna de bolhas resultou em maior produtividade de etanol. Os experimentos realizados no reator de coluna de bolha com acidez inicial de 1 e 3% pararam de produzir ácido acético a partir do 15 e 18, respectivamente. Os experimentos realizados nos reatores não aerados e alta superfície de troca gasosa com acidez inicial de 1,6 e 2,6 apresentaram a partir dos dias 6 e 9, diminuição do conteúdo de ácido acético.

Com a finalidade de investigar a composição dos fermentados alcoólicos e acéticos de cupuaçu esses foram caracterizados e seus dados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Características dos fermentados alcoólico e acético de cupuaçu *Theobroma grandiflorum* SCHUM.

	Fermentado alcoólico	Fermentado acético
Sólidos totais (g/L)	61,9 +/-0,9	80 +/- 2
Sólidos solúveis (°Brix)	11,4 +/- 1	n.r.
Ph	12	6
Etanol % (p/v)	10,4	n.r.
Ácido acético % (p/v)	n.r.	4,46
Densidade	1,01	1,05

4 DISCUSSÃO

O presente trabalho apresentou aspectos preliminares referentes à produção e características de fermentados alcoólicos e acético de cupuaçu. Essa temática é importante pois apresenta alternativas tecnológicas para a obtenção de produtos de valor agregado a partir do cupuaçu, uma das frutas mais importantes da dieta do homem do norte (Said, 2011). Fatores envolvidos na fermentação alcoólica do cupuaçu foram investigados e resultaram em um vinho de fruta com potencial para sofrer acetificação.

O mosto elaborado para obtenção do vinho de cupuaçu apresentava particularidades quanto a sua densidade, sólidos totais e composição, isso motivou uma investigação dos fatores envolvidos na fermentação alcoólica dessa fruta. A Tabela 3 apresenta os valores ótimos dos fatores envolvidos na obtenção do vinho de cupuaçu e também valores dos mesmos fatores utilizados na obtenção de outros fermentados alcoólicos de frutas. Os valores dos fatores investigados apresentaram-se similares ou semelhantes aos parâmetros observados na obtenção de outros vinhos de frutas.

Tabela 3: Valores ótimos dos fatores envolvidos na obtenção do vinho de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* SCHUM) e também valores dos mesmos fatores utilizados na obtenção de outros fermentados alcoólicos de frutas.

Fruta	Conc. Polpa (%)	Ext lev. (g/L)	Sacarose (%)	pH	Razão volume/vidraria	Tamanho do inóculo (g/L)	Tempo (h)	Conc. Final de etanol (%v/v)	Produtividade (g/L.h)	Referência
Cupuaçu	45%	2,4g/L	24%	5,0	1/5	14g/L	72h	10,4	1,45	Presente trabalho
Laranja	(fruto)	-	18 e 22%	3,55	1/5	100g/L	48h	4,83 a 12	0,10 a 0,25	(Tessaro et al., 2010)
Fisalis	70%	-	16%	3,8	2/5	0,2 g/L	-	6,0	0,49	(Xavier, Ivanov, & Andrade, 2011)
Açaí e cupuaçu	25%	-	24%	-	½	4 g/L	240h	6,8	-	(Pereira et al., 2014)
Abacaxi	(fruto)	-	21%	4,5	-	0,2g/L	480h	13	-	(K. Gomes et al., 2009)
Melancia	(fruto)	-	18%	4,1	¾	3,7g/L	480h	10	-	(Fontan, Veríssimo, Silva, Bonomo, & Veloso, 2011)
Umbu	(fruto)	-	10%	4,0	¼	2,4g/L		11,6	-	(E. M. S. Gomes, Lima, Rabelo, & Silva, 2010)
Laranja lima	33%	-	18%	4,5	4/5	1,0g/L	168h	9,3 a 10,2	-	(Araújo, Silva, & Abud, 2012)

kiwi	(fruto)	-	18 e 22%	3,8 a 4,0	2/5	100g/L	48h	3,54 a 9,60	0,738 a 2,0	(Bortolini, Sebasti, & Torres, 2001)
------	---------	---	-------------	-----------------	-----	--------	-----	----------------	----------------	---

Diferenças nos tempos de fermentação alcoólica podem estar relacionadas a diferentes aspectos do processo de produção, tais como características inerentes ao suco da fruta, formas e condições de condução do processo fermentativo.

Corroborando com dados previamente apresentados pela literatura (Oberoi, Vadlani, Madl, Saida, & Abeykoon, 2010; Tessaro et al., 2010) as maiores produtividades observadas no presente trabalho ocorreram nas primeiras 48 horas de bioprocessamento. Os rendimentos observados foram todos acima de 0,45 g/g demonstrando uma conversão adequada dos açúcares redutores em etanol.

No presente trabalho, foi avaliada a possibilidade de se produzir ácido acético a partir de um fermentado alcoólico de cupuaçu, sendo que, durante esse processo, foi investigada a influência da acidez inicial e do tipo de reator na acetificação. Os experimentos com acidez altas (>3,6 %) não apresentaram boa produção, esse resultado está de acordo com a literatura que demonstra que acidez maior 3% induzem a uma partida lenta no processo de acetificação (Lima, Aquarone, Borzani, & Schimidell, 2001; Pedrosa et al., 2010; Tessaro et al., 2010). Os experimentos realizados no reator de coluna de bolhas resultaram em maior concentração de ácido acético final. Os experimentos realizados nos reatores não aerados resultaram em diminuição nos títulos de ácido acético alcançados logo nos primeiros dias de fermentação. Nesses reatores, a baixa aeração e a diminuição no conteúdo de etanol devem ter resultado na colonização por bactérias facultativas e anaeróbias que resultaram no mal cheiro observado e na redução da acidez. Esse resultado ressalta a importância do tipo de transferência gasosa no processo de acetificação (Bortolini et al., 2001).

Segundo a Legislação vigente (Brasil, 2005), Fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura. Neste estudo, as análises demonstraram que o fermentado alcoólico de cupuaçu se encaixa nesse conceito. Por sua vez, o vinagre de frutas deve apresentar uma

acidez volátil mínima de 4 % (g. 100 mL⁻¹) expressa em ácido acético. O bioprocesso apresentou acidez inicial de 3% (reator de coluna de bolhas) e acidez final de 4,6%.

O presente estudo apresentou algumas limitações, entre elas: a) Não foram utilizadas metodologias para estudar o crescimento microbiano durante os bioprocessos; b) não foi utilizado um estudo multivariado para investigação da influência dos fatores envolvidos na fermentação alcoólica; c) Durante os bioprocessos de acetificação, devido a limitações analíticas, o etanol não foi dosado sistematicamente e d) Estudos de aceitabilidade do tipo análise sensorial dos novos produtos não foram realizados. Novos estudos devem ser realizados com a finalidade de se obter essas importantes informações.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se essa discussão descrevendo-se que: a) o presente trabalho foi importante pois investigou a influência dos fatores envolvidos no bioprocessos de obtenção do fermentado alcoólico de cupuaçu e b) demonstrou a viabilidade de realizar a fermentação acética a partir do fermentado alcoólico de cupuaçu. Ambos os resultados servem de base teórica para a obtenção desses produtos de valor agregado a partir dessa fruta tão importante regionalmente.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M.; OLIVEIRA, A. S.; AMORIM, B. C.; FREIRE, R. M. M.; OLIVEIRA, L. S. C.; ILVA, F. L. H. Características físicas e físico-químicas do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.). In: I Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita De Frutos Tropicais, 2005, João Pessoa, p.1-6, 2007.

ALVES, RAFAEL MOYSÉS. Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Wild. Ex. Spreng) Schum., por marcadores moleculares microsátélites e descritores botânico-agronômicos. 2002. Tese (Doutorado em Genética), 146p. il., Piracicaba, 2002.

AOAC- ANALYTICAL ASSOCIATION OF OFFICIAL CHEMIST. (1999). *Official methods of analysis*. (Ed. Arlington, Ed.) (15 th., p. 1268). Sidney William.

ARAÚJO, L. T., SILVA, C. E. F., & ABUD, A. K. S. (2012). Produção de vinagre de laranja “ Lima ” em vinagreira artesanal. *Scientia Plena*, 8(12), 1–7.

AQUARONE, EUGÊNIO *et al.* Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos, Vol. 4. São Paulo, ed. Edgard Blücher, 2001.

AQUARONE, E. *et al.* Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação. São Paulo, ed. Edgard Blücher, 243 p. 1983.

AQUARONE, E.; ZANCANARO JR., O. Vinagres. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. (ed.). Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. São Paulo: Edgard Blücher, 1990. p.105-123.

BAMFORTH S.M.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *J Chem Technol Biotechnol* 80:723–736, 2005.

BELMONT. Indústria de Vinagres Belmont. Disponível na Internet: <http://www.vinagrebmont.com.br>, 26/06/2002.

BORTOLINI, F., SEBASTI, E., & TORRES, R. C. (2001). Comportamento das fermentações alcóolica e acética de sucos de Kiwi (*Actinidia deliciosa*); Composição dos mostos e métodos de fermentação acética. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 21(2), 236–243.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO Instrução Normativa n. 24, de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. , Pub. L. No. 20 de setembro de 2005, Seção 1, p. 11. (2005). Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF,.

BRASIL, Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 1, de 07 de janeiro de 2000.

BRASIL. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Regulamento Técnico para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para a polpa de fruta. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 abr. Seção 1. Brasil, Decreto nº 2314, 4 de setembro de 1997, Dispõe sobre o registro, classificação, padronização, controle, inspeção e fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União. Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 36, 14 de outubro de 1999. Estabelece o regulamento técnico para fixação dos

padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil, Brasília, DF, 15 out. 1999. Seção 1, p. 76.

BRUMITT, R. K; POWELL, C. E. Authores of plant names. Kew: Royal Botanic gardens, 732p., 1992.

CASTELO. Indústria de vinagres Castelo. Disponível em: <<http://www.vinagrecastelo.com.br>>. Acesso em: 07 de março 2014.

CALZAVARA, B. B. G. Fruteiras: abieiro, abricozeiro, biribazeiro, cupuacúzeiro. Belém: IPEAN, Série Culturas da Amazônia, v.1, n.2, 84p., 1970.

CARVALHO, J. E. U. de.; MULLER, C. H.; ALVEZ, R. M; NAZARÉ, R. F. R. de. Cupuaçuzeiro. Belém, (Embrapa Amazônia Oriental), Comunicado Técnico, 115p., 2004.

CLETO, F. V. G., MUTTON, M. J. R. Rendimento e Composição das aguardentes de cana, laranja e uva com utilização de lecitina no processo fermentativo. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.28, n. 3, p. 577-584, maio/jun., 2004.

COSTA, M.C.; MAIA, G. A.; FILHO, M. de S. M. S.; FIGUEIREDO, R. W.; NASSU, R. T.; MONTEIRO, J. C. S. Conservação de polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Wild. Ex Spreng.) Schum) por métodos combinados. Rev. Bras. Frutic., São Paulo, v. 25, n. 2, p. 213-215, Agosto, 2003.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, 1262p. 1981.

DIAS, D. R.; SCHAWN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23 n. 3, p. 342-350, Setembro, 2003.

DUARTE, W. F., DIAS, D. R., OLIVEIRA, J. M., TEIXEIRA, J. A., ALMEIDA, JOÃO B. DE D, S., & ROSANE F. SCHWANA, A. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabioba, jaboticaba and umbu. *Food Science and Technology*, 43(10), 1564–1572. doi:10.1016/j.lwt.2010.03.010.

EBIHARA, K.; NAKAJIMA, A. Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 52, n. 5, p. 1311-1312, 1988.

ENTANI, E. *et al.* Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, v. 61, n. 8, p. 953-959, 1998.

FONTAN, R. da C. I., Veríssimo, L. A. A., Silva, W. S., Bonomo, R. C. F., & Veloso, C. M. (2011). Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. *Boletim CEPPA*, 29(2), 203–210. Retrieved from <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/alimentos/article/viewArticle/25485>

FILGUEIRA, FRANCISCO DE SOUZA. Produção de Cupuaçu , Viçosa, CPT, 1998.

FREIRE, M. T., PETRUS, R., FREIRE, C. M., OLIVEIRA, C. A., FELIPE, A. M., & GATTI, J. (2009). Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma gradiflorum*, Schum). *Brazilian Journal of Food Technology*, 12(1), 09–16. doi:10.4260/BJFT2009060800002

GADELHA, A. J. F. *et al.*. Avaliação de Parâmetros de Qualidade Físico-Químicos de Polpas Congeladas de Abacaxi, Acerola, Cajá e Caju. *Revista Caatinga*. v. 22, n.1, p.115-118, 2009. Disponível em: <<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema/article/viewFile/1012/546>>. Acessado em 20 de junho de 2014.

GAVA, A. J. (1984) Princípios de tecnologia de alimentos. 7ª ed. São Paulo: Editora Nobel, p.25.

GAVA, J. A. Princípios da tecnologia de alimentos. São Paulo: Editora Nobel, p.284, 1998.

GOMES, P. Fruticultura brasileira. 13 ed. São Paulo: Nobel, 446 p., 2007.

GOMES, E.M.S.; LIMA, T.O.; RABELO, T. C. B.; OLIVEIRA, E. G.; SILVA, M. C. dos S. Produção de fermentado alcóolico a partir de polpa de umbu. *Revista Científica do IFAL*, n. 1, v. 1, Julho/Dezembro, 2010.

GOMES, K., ARAÚJO, L., SABAA-SRUR, A. U. O., RODRIGUES, F. S., RIBEIRO, L., MANHÃES, T., & WEBER, M. (2009). Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv . Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos - estudo da composição química e aceitabilidade, 29(1), 56–61.

GRANADA, G. G. *et al.* Vinagres de folhas de videira: aspectos sensoriais. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 18, n. 1, p.51-56, jan/jun 2000.

HASHIZUME, T.; Manual prático da fabricação de vinhos de frutas. ITAL-Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP, p 30, 2001.

HADFIELD, L. C.; BEARD, L. P.; LEONARD-GREEN, T. K. Calcium content of soup stocks with added vinegar. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 89, n. 12, p. 1810-1811, 1989.

HOFFMANN, ALEXANDRE. Embrapa Uva e vinho. Sistema de produção de Vinagre. Bento Gonçalves, Ago. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/Vinagre/legislacao.htm>>. Acesso em: 12 nov. 2014.

JOHNSTON, C. S.; BULLER, A. J. Vinegar and peanut products as complementary foods to reduce postprandial glycemia. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 105, n. 12, p. 1939-1942, 2005.

KOLB, E. Vinos de frutas – Elaboración artesanal e industrial. Zaragoza – Espanha. Ed. Acribia, p. 232, 2002.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M. Princípio de bioquímica. Traduzido por SIMÕES, A. A.; LODE, W. R. N. São Paulo: Ed. Sarvier, 2ªed., p. 839 tradução de: *Principles of biochemistry*, 1995.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. vol. 3. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, v.68, p.81-85, 1999.

LURTON, L. SNAKKERS, G. Influence of the fermentation yeast strains on the composition of wine spirits. *Journal of the Science of Food Agriculture: Great Britain*. v. 67, n. 4, p. 485-491, Apr.1995.

LIMA, U., AQUARONE, E., BORZANI, W., & SCHMIDELL, W. (2001). *Biotecnologia Industrial* (1ª Edição., p. 593). São Paulo: Edgard blucher LTDA.

MALDONADE, I. R., CARVALHO, P. G. B., & FERREIRA, N. A. (2013). *Comunicado Técnico 85 - 2 Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS* (pp. 1-4).

MAPA. Anuário Estatístico da Agroenergia 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia. 2010

MASQUES, D.M.; PASTORE, G. M. Produção de aromas naturais por microrganismo. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 33, n. 1, p. 80-85, 1999.

MENEGUZZO, J.; RIZZON, L. A. Sistema de produção de vinagre. Sistemas de Produção (Embrapa Uva e Vinho), Bento Gonçalves, n. 13, ago. 2009.

MORETTO, E. et al. Vinhos e vinagres (processamento e análises). Florianópolis: Editora da UFSC, 1988. 167 p.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P. Bebidas fermentadas a partir de frutas tropicais. BOLETIM do CEPPA, Curitiba, V. 20 n. 2, p. 309-322, ju/dez. 2002.

NETO, M.B., Características Físico-Químicas E Aceitação Sensorial De Geleia De Pitanga Roxa (*Eugenia uniflora* L.) – CBPFH – Magistral, 2010.

OBEROI, H. S., VADLANI, P. V., MADL, R. L., SAIDA, L., & ABEYKOON, J. P. (2010). Ethanol production from orange peels: two-stage hydrolysis and fermentation studies using optimized parameters through experimental design. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3422–9. doi:10.1021/jf903163t

PAULA, B. Obtenção e caracterização do fermentado de umbu (*spondias tuberosa* arr. cam.) do semiárido nordestino em escala semiindustrial. 2001. Salvador-BA. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Curso de pós Graduação da Universidade Federal da Bahia- Faculdade de Farmácia, 2001.

PEREIRA, S., ALVES, R., LANDIM, L. B., & CHAVES, N. M. (2014). Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 8(1), 1216–1226.

PEREIRA, J. N. Bioprocessos industriais. Tecnologia Enzimática. Rio de Janeiro: ENZITEC, 24-46, 1999.

PEDROSA, F., MARQUES, P., SPINOSA, W., FERNANDES, K. F., FREDERICO, C., CASTRO, D. S., & CALIARI, M. (2010). Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais Quality pattern and identity of commercial fruit and vegetable vinegar (Acetic acid fermentation), 30, 119–126.

PEREIRA, S., ALVES, R., LANDIM, L. B., & CHAVES, N. M. (2014). Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 8(1), 1216–1226.

RECAMALES, A. F.; GALLO, V.; HERNANZ, D.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Effect of Time and Storage Conditions on Major Volatile Compounds of Zalema White Wine. *Journal of Food Quality*, v.34, p.100–110, 2010.

REGODÓN, J. A.; PEREZ, F.; VALDES, M. E.; DE MIGUEL, C.; RAMIREZ, M.; 1997: A simple and effective procedure for selection of wine yeast strains. *Food Microbiol.* 14, 247-254.

ROCHA NETO, O. G.; FIGUERÊDO, F. J. C.; SOUZA, N. G. Comportamento estomático e fotossintético de plantas jovens de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum. In: Seminário Internacional sobre Pimenta-do-Reino e Cupuaçu. 1997, Belém. Anais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.440, 1997.

ROMERO, N.C.; S.N.; OLIVER, G. Inhibition of *Shigella sonnei* by *Lactobacillus casei* and *Lact. acidophilus*. *J. Appl.Bacteriol.*, v. 73, p. 407-411, 1994

SACHS, L. G. Tecnologia dos produtos agropecuários: transformações de produtos vegetais. Bandeirantes: FFALM, 1990.

SAID, M. M. (2011). *Aspectos culturais e potencial de uso do cupuaçu (Theobroma grandiflorum (Willd. Ex Spreng. Schum.) no estado do Amazonas*. Universidade Federal do Amazonas.

SCHWAN, R. F. et al. Cupuaçu [*Theobromagrandiflorum (WilldExSpreng.)*] . In: ALVES, R. E., FILGUEIRAS, H.A.C., MOURA, C.F.H.(coords.). Caracterização de frutas nativas da América Latina. Jaboticabal: FUNEP, P.31-34 (Série Frutas Nativas, 9), 2000.

SEGUN, I. Y.; KARAPINAR, M. Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.). *International Journal of Foods Microbiology*, v. 96, p. 301-305, 2004.

SILVA, N. S. *et al.* Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir do suco de manga rosa (*Mangifera indica* L.). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, PR, v.5, n.1, p. 367-378, 2011. Disponível em: . Acesso em 16 dez. 2011.

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

SPINOSA, W. Utilização do amido da quireira de arroz na produção de vinagre. 1996. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos)-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1999.

SPINOSA, WILMA APARECIDA. Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre. 2002. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas- Unicamp, Campinas, 2002.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, 4ª Edição, 2011.

TESSARO, D., LARSEN, A. C., DALLAGO, R. C., DAMASCENO, S. G., SENE, L., & COELHO, S. R. M. (2010). Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. *Acta Scientiarum. Technology*, 32(2), 201–205. doi:10.4025/actascitechnol.v32i2.4275

TESFAYE, W. et al. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, v. 13, p. 12-21, 2002.

TESSARO, D., LARSEN, A. C., DALLAGO, R. C., DAMASCENO, S. G., SENE, L., & COELHO, S. R. M. (2010). Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. *Acta Scientiarum. Technology*, 32(2), 201–205. doi:10.4025/actascitechnol.v32i2.4275

VILLACHICA, H. L. CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H.; CAMILO DIAZ, J.; ALMANZA, M. Frutales de Hortalizas Promissorios de La Amazônia. Lima. Peru. FAO/PNUDI/ICRAF/PNUMA/PRAPICA-CAF/IICA-PROCITROPICOS/IICA-GTZ, 367 p., 1999.

XAVIER, D., IVANOV, R. C., & ANDRADE, E. (2011). Produção e caracterização de vinagre de fisalis. *Revista Brasileira de Pesquisa Em Alimentos*, 2(1), 27–32.

YAHIA, E. M. The Contribution of Fruit and Vegetable Consumption to Human Health. In: ROSA, L.A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZ-AGUILARA; G.A. Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability. Hoboken: Wiley-Blackwell,. p. 3-51, 2010.

XAVIER, I. F. et al. Qualidade pós-colheita da manga Tommy Atkins" comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais no município de Mossoró- RN. Revista Caatinga, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 7- 13, 2009.

XU, Q.; TAO, W.; AO, Z. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. Food Chemistry,.102, n. 3, p. 841-849, 2007.

ZILIOLI, Estêvão. Composição química e propriedades funcionais no processamento de vinagres. 2011. 84 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.