

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ANDRESSA CLÁUDIA DA SILVA SANTANA CAVALCANTE

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA ALCOÓLICA
FERMENTADA GASEIFICADA DO FRUTO DO SAPOTIZEIRO
(Manilkara zapota L.)

JOÃO PESSOA - PB

2022

ANDRESSA CLÁUDIA DA SILVA SANTANA CAVALCANTE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA
GASEIFICADA DO FRUTO DO SAPOTIZEIRO (*Manilkara zapota* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Profa. Dra. Julice Dutra Lopes
Coorientadora: Profa. Dra. Josilene de Assis Cavalcante

JOÃO PESSOA – PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C376d Cavalcante, Andressa Claudia da Silva Santana.
Desenvolvimento de uma bebida alcoólica fermentada
gaseificada do fruto do sapotizeiro (Manilkara zapota
L.) / Andressa Claudia da Silva Santana Cavalcante. -
João Pessoa, 2022.
96 f. : il.

Orientação: Julice Dutra Lopes.
Coorientação: Josilene de Assis Cavalcante.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Engenharia química. 2. Fermentado de fruta. 3.
Sapoti. 4. Fermentação alcoólica. 5. Cinética
fermentativa. 6. Compostos fenólicos. 7. Atividade
antioxidante. I. Lopes, Julice Dutra. II. Cavalcante,
Josilene de Assis. III. Título.

UFPB/BC

CDU 66.0(043)

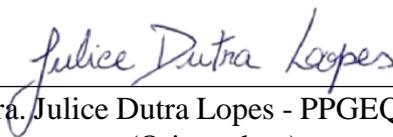
ANDRESSA CLÁUDIA DA SILVA SANTANA CAVALCANTE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA
GASEIFICADA DO FRUTO DO SAPOTIZEIRO (*Manilkara zapota* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em 25 de Março de 2022.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Julice Dutra Lopes - PPGEQ/CT/UFPB
(Orientadora)



Profa. Dra. Josilene de Assis Cavalcante - PPGEQ/CT/UFPB
(Coorientadora)



Prof. Dr. Flavio Luiz Honorato da Silva - PPGEQ/CT/UFPB
(Examinador Interno)



Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz - DEA/CT/UFPB
(Examinador Externo)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me manter sã e dar-me a condição de perseguir os sonhos com força e determinação durante toda esta árdua caminhada.

Agradeço à minha família. Meus amados pais, Maria José e José Antônio, que não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. À minha querida irmã, Amanda, por ser tão atenciosa, prestativa e amiga. Ao meu querido sobrinho, Murilo, que nos presenteia, todos os dias, com sua alegria. E a minha prima-irmã, Maria da Penha, pela sua amizade, companheirismo e cumplicidade. Agradeço ainda, a meu cunhado Gustavo, por acreditar e contribuir no meu sucesso profissional.

Agradeço também a meu querido marido Júnior, a quem amo tanto, que certamente foi presente de Deus na minha vida, sempre me dando carinho, atenção e conforto, mesmo em horas difíceis. E com quem passarei o resto de minha vida.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte da minha formação pelas contribuições formais e informais, incentivos e exemplos. E, em especial, a professora Julice Dutra Lopes que me recebeu como orientanda oferecendo-me todo o apoio acadêmico para desenvolver nossos projetos, assim como minha coorientadora Josilene de Assis Cavalcante.

Agradeço aos amigos que me acompanharam durante a vida acadêmica, desde a Escola Centro Educacional Santa Terezinha (Cest), até chegar a Graduação e Pós-Graduação na Universidade Federal da Paraíba (Juliana Dantas, Yalle Coutinho, Paulo Felix, Eudézia Rodrigues, Ingrid Marinho, Elaine Cristina e Fernanda Felix).

Agradeço aos amigos da vida não acadêmica, que me acompanham desde a infância, Mayara, Arielle, Gabrielle, Carol, Priscila, Ariana e Maria de Lourdes. Agradeço as amigas que meu primeiro emprego na indústria me proporcionou e que levarei para o resto da vida, Jéssica Vale e Raquel Lima.

A todos agradeço por acreditarem no meu potencial, nos meus ideais e nos meus devaneios, principalmente quando nem eu mais acreditava.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo.”

Albert Einstein

RESUMO

O processamento de frutas para a obtenção de bebidas é uma forma de agregar valor à matéria-prima, além de melhorar a remuneração do produtor pelo desenvolvimento de novos produtos. Tendo essa ideia como premissa, objetivou-se, neste trabalho, elaborar e caracterizar bebidas fermentadas gaseificadas à base de sapoti. Com frutos adquiridos na cidade de João Pessoa (PB), foram elaboradas bebidas a partir de três concentrações iniciais de sólidos solúveis totais distintas (14 °Brix, 16 °Brix e 20 °Brix). As análises realizadas foram acidez total titulável, acidez volátil e acidez fixa, pH, sólidos solúveis totais, extrato seco total, cinzas, açúcar redutor, açúcar não redutor e açúcar redutor total, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, teor alcoólico e concentração de biomassa. Para todas as formulações foram calculados os parâmetros cinéticos da fermentação: rendimento em produto, rendimento em células, produtividade em produto e eficiência da fermentação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e o teste de Tukey foi aplicado para identificar diferenças significativas entre as médias, a um nível de confiança de 95%. Os fermentados alcoólicos gaseificados provenientes das três formulações apresentaram valores médios de 7,4 % v/v para o teor alcoólico; 3,54 para o pH; 2,2 °Brix para o teor de sólidos solúveis totais e 145,20 meq/L para a acidez total titulável. Os resultados dos parâmetros cinéticos para as três formulações variaram de 0,28 a 0,34 para o rendimento em produto, de 0,009 a 0,012 para o rendimento em células, de 0,17 a 0,21 para a produtividade em produto e de 55,56 a 67,30 % para a eficiência da fermentação. Para o teor de compostos fenólicos totais, a formulação com 16 °Brix apresentou o maior resultado, sendo 8,51 mg EAG/100 mL, com capacidade antioxidante de 488,75 µM TEAC/g de inibição do radical DPPH, 596,04 µM TEAC/g de inibição do radical ABTS e 705,24 µM TEAC/g de poder redutor FRAP. O parâmetro teor alcoólico para todos os fermentados de sapoti gaseificados apresentaram valores dentro da faixa estabelecida pela legislação brasileira para fermentados de frutas, já para a acidez total titulável o único fermentado que obteve resultado dentro do especificado pela legislação foi a bebida desenvolvida pela formulação com 20 °Brix, com valor médio de 122,4 meq/L.

Palavras-chave: Fermentado de fruta; sapoti; fermentação alcoólica; cinética fermentativa; compostos fenólicos; atividade antioxidante.

ABSTRACT

The processing of fruit to obtain beverages is a way to add value to the raw material, in addition to improving the producer's remuneration for the development of new products. Having this idea as a premise, the objective of this work was to elaborate and characterize carbonated fermented beverages based on sapodilla. With fruits acquired in the city of João Pessoa (PB), beverages were prepared from three different initial concentrations of total soluble solids (14 °Brix, 16 °Brix and 20 °Brix). The analyzes performed were total titratable acidity, volatile acidity and fixed acidity, pH, total soluble solids, total dry extract, ash, reducing sugar, non-reducing sugar and total reducing sugar, total phenolic compounds, antioxidant activity, alcohol content and biomass concentration. For all formulations, fermentation kinetic parameters were calculated: product yield, cell yield, product productivity and fermentation efficiency. The data obtained were submitted to analysis of variance and the Tukey test was applied to identify significant differences between the means, at a confidence level of 95%. The aerated alcoholic fermented products from the three formulations showed average values of 7.4% v/v for alcohol content; 3.54 for pH; 2.2 °Brix for the total soluble solids content and 145.20 meq/L for the total titratable acidity. The results of the kinetic parameters for the three formulations ranged from 0.28 to 0.34 for product yield, from 0.009 to 0.012 for cell yield, from 0.17 to 0.21 for product productivity and from 55.56 to 67.30% for fermentation efficiency. For the content of total phenolic compounds, the formulation with 16 °Brix presented the highest result, being 8.51 mg EAG/100 mL, with antioxidant capacity of 488.75 $\mu\text{M TEAC/g}$ and DPPH radical inhibition, 596.04 $\mu\text{M TEAC/g}$ of ABTS radical inhibition and 705.24 $\mu\text{M TEAC/g}$ of FRAP reducing power. The alcohol content parameter for all aerated sapodilla fermented products presented values within the range established by the Brazilian legislation for fruit fermented, while for the total titratable acidity, the only fermented product that obtained a result within the specified by the legislation was the drink developed by the formulation with 20 °Brix, with an average value of 122.4 meq/L.

Keywords: Fruit fermented; sapodilla; alcoholic fermentation; fermentative kinetics; phenolic compounds; antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 3.1 | O Sapotizeiro | 18 |
| Figura 3.2 | Sapoti | 19 |
| Figura 3.3 | Divisões das classes dos compostos fenólicos | 20 |
| Figura 3.4 | Consumo de bebidas alcólicas no Brasil no ano de 2017 | 23 |
| Figura 3.5 | Classificação de bebidas alcoólicas | 24 |
| Figura 3.6 | Algumas leveduras importantes do filo <i>Ascomycota</i> : A) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , B) <i>Kluyveromyces marxianus</i> e C) <i>Brettanomyces anomalus</i> | 31 |
| Figura 5.1 | Consumo de sólidos solúveis e formação de etanol em função do Tempo | 52 |
| Figura 5.2 | Consumo de substrato (ART) e formação de etanol em função do tempo | 52 |
| Figura 5.3 | Variação de pH e acidez total titulável em função do tempo | 53 |
| Figura 5.4 | Fermentado alcoólico de sapoti gaseificado proveniente do teste preliminar: A) formação de espuma ao despejar o líquido no béquer e B) evidência de bolhas persistentes | 57 |
| Figura 5.5 | Consumo de sólidos solúveis totais em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 59 |
| Figura 5.6 | Consumo de substrato (ART) em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 60 |
| Figura 5.7 | Formação de etanol em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 60 |
| Figura 5.8 | Variação do pH em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 62 |
| Figura 5.9 | Variação da acidez total titulável em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 63 |
| Figura 5.10 | Concentração de biomassa em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3) | 64 |
| Figura 5.11 | Potencial antioxidante das bebidas fermentadas gaseificadas de Sapoti | 73 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| Tabela 3.1 | Quantidade de micronutrientes (mg/100g) na casca e polpa do sapoti | 19 |
| Tabela 3.2 | Especificação físico-química para os fermentados de fruta | 25 |
| Tabela 4.1 | Codificação das formulações finais do fermentado de sapoti | 35 |
| Tabela 4.2 | Formulação das soluções diluídas de glicose, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L | 40 |
| Tabela 4.3 | Formulação das soluções de trolox, usadas na elaboração da curva de calibração | 44 |
| Tabela 5.1 | Rendimento dos componentes do sapoti | 48 |
| Tabela 5.2 | Caracterização do caldo de sapoti | 49 |
| Tabela 5.3 | Valores utilizados no cálculo dos parâmetros cinéticos para o teste Preliminar | 54 |
| Tabela 5.4 | Resultado dos cálculos dos parâmetros cinéticos para teste preliminar | 54 |
| Tabela 5.5 | Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti proveniente do teste preliminar | 55 |
| Tabela 5.6 | Valores utilizados no cálculo dos parâmetros cinéticos para as formulações finais | 65 |
| Tabela 5.7 | Resultado dos cálculos dos parâmetros cinéticos para as formulações Finais | 66 |
| Tabela 5.8 | Caracterização físico-química das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti proveniente das formulações finais | 68 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| ABTS | 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| AR | Açúcares redutores |
| ART | Açúcares redutores totais |
| ANR | Açúcares não redutores |
| ATP | Adenosina Trifosfato |
| BT | Biorreator Teste |
| B1 | Biorreator 1 |
| B2 | Biorreator 2 |
| B3 | Biorreator 3 |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidrazil |
| EAG | Equivalente Ácido Gálico |
| FRAP | Poder antioxidante de redução de ferro |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| PNDP | Plano Nacional de Desenvolvimento da Fruticultura |
| POF | Pesquisa de Orçamentos Familiares |
| P_0 | Concentração de produto inicial |
| P_F | Concentração de substrato final |
| P_p | Produtividade em produto |
| P_{teo} | Concentração de produto teórico |
| P_{exp} | Concentração de produto experimental |
| SST | Sólidos solúveis totais |
| S_0 | Concentração de substrato inicial |
| S_F | Concentração de substrato final |
| TEAC | Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox |
| T_F | Tempo total da fermentação |
| $Y_{p/s}$ | Rendimento em produto |
| $Y_{x/s}$ | Rendimento em célula |
| X_0 | Concentração de células inicial |
| X_F | Concentração de células final |
| %Ef | Eficiência da fermentação |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | OBJETIVOS | 16 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 16 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA | 17 |
| 3.1 | FRUTAS | 17 |
| 3.1.1 | Sapoti | 18 |
| 3.2 | BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA | 22 |
| 3.2.1 | Fermentado de Fruta | 24 |
| 3.3 | FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA | 27 |
| 3.3.1 | Fatores que Afetam a Fermentação | 29 |
| 3.4 | AGENTE FERMENTATIVO | 31 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 34 |
| 4.1 | MATÉRIA-PRIMA | 34 |
| 4.2 | EXTRAÇÃO DO CALDO | 34 |
| 4.3 | PADRONIZAÇÃO DO CALDO | 35 |
| 4.4 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 35 |
| 4.5 | PRIMEIRA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA | 36 |
| 4.6 | SEGUNDA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA (CARBONATAÇÃO NATURAL) | 37 |
| 4.7 | ANÁLISES REALIZADAS | 37 |
| 4.7.1 | pH | 38 |
| 4.7.2 | Sólidos Solúveis Totais | 38 |
| 4.7.3 | Acidez Total, Volátil e Fixa | 38 |
| 4.7.4 | Açúcares Redutores | 39 |
| 4.7.5 | Açúcares Redutores Totais | 40 |
| 4.7.6 | Açúcares Não Redutores | 40 |
| 4.7.7 | Concentração de Biomassa | 40 |
| 4.7.8 | Teor Alcoólico | 41 |
| 4.7.9 | Extrato Seco Total | 42 |
| 4.7.10 | Cinzas | 42 |
| 4.7.11 | Compostos Fenólicos Totais | 43 |
| 4.7.12 | Atividade Antioxidante | 43 |
| 4.8 | PARÂMETROS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO | 46 |
| 4.9 | AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS | 47 |

| | |
|--|-----------|
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 48 |
| 5.1 RENDIMENTO DO SAPOTI..... | 48 |
| 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI..... | 48 |
| 5.3 TESTE PRELIMINAR | 51 |
| 5.3.1 Acompanhamento Cinético do Teste Preliminar..... | 51 |
| 5.3.2 Parâmetros Cinéticos da Fermentação para o Teste Preliminar | 54 |
| 5.3.3 Caracterização das Bebidas Oriundas do Teste Preliminar | 55 |
| 5.4 FORMULAÇÕES FINAIS | 59 |
| 5.4.1 Acompanhamento Cinético das Formulações Finais | 59 |
| 5.4.2 Parâmetros Cinéticos da Fermentação para as Formulações Finais | 65 |
| 5.4.3 Caracterização das Bebidas Oriundas das Formulações Finais..... | 68 |
| 6 CONCLUSÃO | 76 |
| REFERÊNCIAS | 77 |
| APÊNDICES..... | 89 |

1 INTRODUÇÃO

Conforme o Plano Nacional de Desenvolvimento da Fruticultura (PNDF), a fruticultura brasileira é uma das mais diversificadas do mundo e a área de cultivo com frutas no país supera dois milhões de hectares. O Brasil é o terceiro produtor mundial de frutas, atrás da China e da Índia, com um volume de 40,5 milhões de toneladas e participação de 4,5 % na produção da fruticultura mundial, gerando um expressivo resultado em termos de geração de empregos no campo, na agroindústria e ao longo de toda a cadeia produtiva (GERUM et al., 2019; FAO, 2021). Este cenário, somado a uma relevante contribuição à sustentabilidade social e ambiental das propriedades rurais de frutas, coloca a fruticultura como uma das atividades mais relevantes do agronegócio brasileiro (GERUM et al., 2019).

Dentre as frutas produzidas e consumidas no Brasil, existe o fruto do sapotizeiro (*Manilkara zapota* L.), que apesar de não fazer parte das frutas mais consumidas pelos brasileiros, de acordo com a pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2017-2018, possui grande potencial de produção, comercialização e processamento industrial (BANDEIRA et al., 2003; IBGE, 2019).

O sapotizeiro é uma espécie frutífera da família *Sapotaceae*, cultivado, principalmente, para produção de frutos consumidos *in natura*. Apresenta casca fina, polpa terra e suculenta, com sabor característico bastante doce. O aroma, sabor e valor nutritivo do fruto são características marcantes, que impulsionam sua comercialização (SILVA JÚNIOR et al., 2014).

Ainda de acordo com Silva Júnior et al. (2014), no Brasil, a maior parte da produção desse fruto está localizada no Nordeste, onde Pernambuco destaca-se como maior produtor nacional. Outros estados produtores são Bahia, Ceará, Pará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Sergipe.

O fruto possui um amadurecimento muito rápido, devido às muitas mudanças fisiológicas e bioquímicas após a colheita e pelo alto teor de água, sendo sua conservação dependente do estágio de maturação da colheita, tornando-se mais perecível quando colhido em estágio maduro (BALA e KUMAR, 2017).

O alto índice de perdas na comercialização de frutas no Brasil faz com que uma pequena parcela chegue à mesa do consumidor. Em função deste desperdício, várias técnicas têm sido desenvolvidas para aumentar o aproveitamento pós-colheita destes frutos. A polpa do sapoti tem sido utilizada na parte gastronômica em vários países, tem-se o suco e o sorvete que são produzidos a partir da fruta. Outros produtos têm sido estudados, principalmente na

Índia, porém, na maioria das vezes, o processamento leva à perda do sabor característico da fruta (SANTOS et al., 2020b). Dentre as técnicas de processamento, destaca-se a fermentação como uma alternativa de desenvolvimento de novos produtos, como fermentados alcoólicos de frutas (FAGUNDES et al., 2015).

As bebidas fermentadas de fruta são desenvolvidas a partir de processos fermentativos em que as leveduras são utilizadas para transformar o açúcar em álcool. Estes microrganismos podem ser diferenciados pelo seu aspecto, suas propriedades, sua forma de reprodução e também pela maneira de transformar o açúcar (AQUARONE et al., 2001).

A *Saccharomyces cerevisiae* é o principal microrganismo utilizado como agente fermentativo em processos industriais de produção de bebidas alcoólicas devido a sua capacidade de fermentar uma vasta gama de açúcares (TEIXEIRA, 2015). No entanto para fermentações alcoólicas com alto teor de açúcar a *Saccharomyces bayanus* tornou-se comumente utilizada, já que esta variedade possui maior resistência às concentrações de álcool ao fim da fermentação, mesmo com baixos níveis de açúcares fermentescíveis no meio (HORNSEY, 2007).

A fermentação alcoólica proveniente de uva madura ou do suco de uva, é a bebida fermentada mais antiga e que se tem mais relatos de estudos. Porém podem ser utilizados como matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas fermentadas, qualquer fruto ou vegetal que contenha umidade, açúcar e nutrientes para as leveduras (FAGUNDES et al., 2015).

Conforme o Decreto nº 6871, de 04 de Junho de 2009, os fermentados de frutas são as bebidas com graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume, a 20 °C, obtidas da fermentação do mosto de fruta sã, fresca e madura. Segundo a Instrução Normativa nº 34 de 29 de Novembro de 2012, a denominação do fermentado de fruta deverá ser acrescida dos seguintes dizeres: i) a expressão relacionada quanto ao teor de açúcar desta bebida; ii) a expressão gaseificado (caso seja gaseificado); iii) a expressão sem álcool (caso seja desalcoholizado) (BRASIL, 2009; BRASIL, 2012).

Uma das classificações dos fermentados de frutas, são os fermentados de frutas gaseificados, e uma das mais importantes características de bebidas gaseificadas é a espuma, pois consiste no primeiro atributo percebido pelos consumidores. A sua formação está ligada à presença de pequenas bolhas lentamente liberadas através do líquido e sua persistência são características apreciadas. As bolhas de gás aumentam a percepção sensorial de bebidas gaseificadas por transportarem moléculas de aromas (LIGER-BELAIR et al., 2001; LIGER-BELAIR et al., 1999). A obtenção dessa espuma em bebidas fermentadas de fruta pode ser

feita através de um processo de gaseificação natural, como também pode ser feita a injeção de gás carbônico (CO₂) de forma artificial.

As pesquisas sobre fermentados de fruta que não sejam uvas têm aumentado nos últimos anos. No Brasil, foram realizados estudos com diferentes espécies de frutos tropicais como manga (FONSECA et al., 2020), abacaxi (DINIZ e PINHEIRO, 2013; PARENTE et al., 2014), melão (BESSA et al., 2018), goiaba (SANTOS et al., 2020a), umbu (DANTAS e SILVA, 2017), maracujá e beterraba (ROCHA, 2018), Jabuticaba (NEVES et al. 2021), alcançando resultados promissores.

Diante do exposto e visando a expansão dos conhecimentos acerca das possibilidades do processamento do fruto do sapotizeiro, desenvolveu-se uma bebida alcoólica fermentada de sapoti gaseificada, onde foram estudadas as cinéticas fermentativas dos mostos e verificadas as melhores condições de concentração de sólidos solúveis totais (SST) para obtenção de uma bebida alcoólica fermentada com melhor rendimento e assim corroborar com estudos futuros da aplicação do fruto sapoti na biotecnologia industrial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção de uma bebida alcoólica fermentada gaseificada, do fruto do sapotizeiro (*Manilkara zapota* L.), a fim de agregar valor a este fruto, aproveitando suas boas características fermentescíveis e sensoriais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar o caldo de sapoti através das análises físico-químicas: Acidez total, Sólidos Solúveis Totais, pH, Açúcares Redutores, Açúcares Redutores Totais e Açúcares Não Redutores;
- Realizar acompanhamento cinético da primeira fermentação utilizando caldos de sapoti com três diferentes concentrações de Sólidos Solúveis Totais;
- Analisar os parâmetros cinéticos: Rendimento em produto - ($Y_{p/s}$); Rendimento em célula - ($Y_{x/s}$); Produtividade em produto - (P_p) e Eficiência da fermentação - (%Ef) e fazer a comparação entre as formulações;
- Realizar segunda fermentação pelo método *primer*;
- Determinar o conteúdo total de compostos fenólicos e atividade antioxidante (pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS) do caldo e dos fermentados de sapoti gaseificados;
- Caracterizar os fermentados de sapoti gaseificados físico-quimicamente e comparar com a legislação vigente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FRUTAS

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, ficando atrás apenas da China e da Índia, com produção de cerca de 45 milhões de toneladas ao ano, das quais 65% são consumidas internamente e 35% são destinadas ao mercado externo (EMBRAPA, 2020). No entanto, existem perdas e desperdícios que ocorrem em todas as etapas da cadeia produtiva das frutas, desde a colheita até o consumo (GORAYEB et al., 2019).

As frutas estão entre os alimentos mais consumidos no mundo, podendo ser consumidos de várias formas. De modo geral, são compostas de substâncias de grande importância nutricional e potencialmente funcional, como: fibras alimentares, compostos antioxidantes, vitaminas, minerais (potássio, ferro, manganês, magnésio, cálcio, fósforo, etc.) e outros componentes benéficos para o organismo (LAGO, MAIA e MATTA, 2016).

Além da composição em nutrientes e compostos fenólicos, as frutas também contêm substâncias que conferem as suas características de aroma, sabor, cor e textura; e que as tornam desejadas e apreciadas pela maioria das pessoas, particularmente quando estão no seu ponto adequado de maturação (LAGO, MAIA e MATTA, 2016).

Numa dieta saudável, as frutas desempenham papel de grande destaque, seja pelo simples prazer de consumi-las, seja pela saúde que proporcionam, traduzida em aumento da expectativa de vida, vitalidade, prevenção de inúmeras doenças; como também pela presença de uma vasta gama de vitaminas, minerais e fibras. Tudo isso as tornam um alimento essencial, salutar e sem precedentes (LORENZI et al., 2006).

Em geral, as frutas são calóricas devido ao seu teor de açúcar, fato que merece atenção para quem precisa controlar a sua ingestão. Frutas como caqui, uva, sapoti e banana, por exemplo, possuem alto teor de açúcar. O abacate e o açaí, por sua vez, também são frutas altamente energéticas, porém em função do teor de gordura. Encontram-se inúmeras citações atribuindo às frutas diferentes tipos de ação nutricional e de benefícios à saúde (LAGO, MAIA e MATTA, 2016).

Segundo Barret, Somogyi e Ramaswamy (2005), as frutas por serem extremamente perecíveis, são, em sua grande maioria, processadas na forma de sucos, néctares, polpas, geleias, doces, entre outros. Desta maneira, o processamento colabora com o aumento da vida útil, além de facilitar o transporte e agregar valor ao produto.

3.1.1 Sapoti

Características gerais do sapoti

O sapotizeiro [*Manilkara zapota* (L.) P. van Royen], ilustrado na Figura 3.1, é a espécie frutífera mais conhecida da família *Sapotaceae*. Intimamente relacionado com a cultura das civilizações pré-colombianas do México e América Central, foi, por muitos anos, uma importante matéria-prima para fabricação do chiclete, a partir da extração do látex do tronco. Gomas sintéticas vêm substituindo as naturais e, na maioria dos países produtores, o sapotizeiro é cultivado, principalmente, para produção de frutos consumidos *in natura*; sendo sua casca fina e a polpa tenra e muito doce, contendo uma substância gelatinosa que lhe dá um aroma singular (SILVA JÚNIOR et al., 2014).

Figura 3.1 - O sapotizeiro



Fonte: Santos (2021)

O sapoti é um fruto com formato ovalado, de tamanho pequeno variando de 5 a 9 cm de diâmetro e com peso entre 45 a 200 g, como mostrado na Figura 3.2. O sapoti apresenta casca fina e de coloração marrom, e em sua superfície encontra-se um pó que se desprende fácil ao tocar no fruto. Quando imaturo, possui polpa dura, esbranquiçada e muito adstringente, já no seu estágio de amadurecimento, apresenta polpa suculenta de coloração castanho-avermelhada, amarelada ou marrom-escura, com sabor bastante adocicado e sem acidez (SILVA JÚNIOR et al., 2014). A evidência de uma fruta estar em estágio de maturação não está ligada à cor, mas antes à consistência, macia sem estar demasiadamente mole (LAGO, MAIA e MATTA, 2016).

Figura 3.2 - Sapoti.



Fonte: Mesquita (2021)

Composição do sapoti

Para fins de estudos, geralmente, frutos como sapoti são separadas a casca, a polpa e a semente. Quanto à distribuição percentual dos componentes do fruto (polpa, casca e sementes), Alves, Filgueiras e Moura (2000), encontraram que em média o sapoti possui 10,36% de casca, 2,13% de sementes e 87,51% de polpa.

O sapoti é um fruto adocicado, rico em SST e açúcares, com reduzida acidez total dos frutos, conforme observado por Soares (2018) e Costa et al. (2017), embora possa haver grande variação nessas características, dependendo da cultivar. A polpa de sapoti é considerada pouco ácida, apresentado valores de pH entre 5,09 e 6,52 (OLIVEIRA et al., 2017; SOARES, 2018), e acidez total entre 0,10 e 0,18 g/100 mL (SOARES, 2018; SOUSA et al., 2012).

De modo geral, no estudo da composição dos alimentos, é importante determinar a quantidade de cinzas, pois a partir dela pode-se fazer uma quantificação de minerais presentes no alimento. Assim, para o sapoti, Bramont et al. (2018), afirmam que a quantidade de cinzas presente na casca é de 1,32% e na polpa é de 0,52%. Os valores dos teores de micronutrientes na casca e polpa do fruto do sapotizeiro são apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Quantidade de micronutrientes (mg/100g) na casca e polpa do sapoti

| | Sódio (Na) | Potássio (K) | Cálcio (Ca) | Lítio (Li) |
|-------|------------|--------------|-------------|------------|
| Casca | 23,46 | 366,00 | 71,73 | 1,79 |
| Polpa | 8,61 | 104,86 | 14,06 | 0,94 |

Fonte: Adaptado de Bramont et al. (2018)

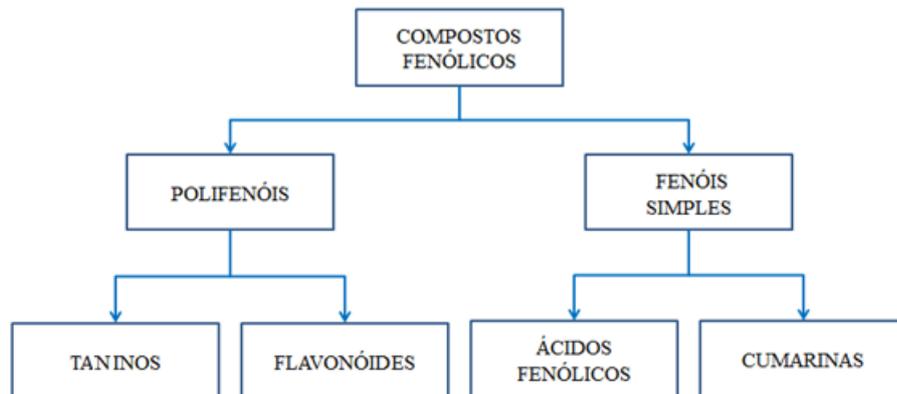
Ainda pode ser observado na composição do fruto do sapotizeiro vitaminas A, Complexo B, C e minerais como cálcio, fósforo e ferro. Se tratando do potencial calórico para 100 g da polpa da fruta têm-se 96 calorias, 75% de umidade, 26% de carboidratos, 0,7% de proteínas. Além disso, o sapoti possui elevados teores de SST na casca e polpa (LUZ et al., 2019; COIMBRA et al., 2017; BRAMONT et al., 2018).

Compostos fenólicos totais

Em frutas como o sapoti são encontradas substâncias benéficas muito importantes como os antioxidantes. Estes são substâncias que apresentam função de proteção celular contra radicais livres. Além disso, podem ainda aumentar a imunidade e prevenir contra algumas doenças. Entre os antioxidantes mais conhecidos têm-se as vitaminas A, C, E e compostos fenólicos (TURECK, 2017; MORAIS, 2018).

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante (ARNOSO, COSTA e SCHMIDT, 2019). Esses compostos podem ser divididos em classes e subclasses como mostrado na Figura 3.3.

Figura 3.3 - Divisões das classes dos compostos fenólicos



Fonte: Adaptado de Schafranski (2019)

Segundo Rezende (2010), a polpa congelada do sapoti tem concentração de compostos fenólicos totais de 50,25 mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g. Morais (2018) encontrou valores de compostos fenólicos totais para diferentes polpas de sapoti que variaram de 9,86 a 16,24 mg EAG/100 g. Além desses, Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) obtiveram o valor médio do teor total de fenólicos para o suco puro de sapoti igual a 46,98 mg EAG/100 mL.

Ainda em relação à atividade antioxidante, Morais (2018) obteve resultados a partir da metodologia DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) para a polpa de sapoti que variou entre 9,88 a 12,60 $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$ de amostra, enquanto Murnisyazwani e Rabeta (2019) obtiveram porcentagem de inibição de DPPH para o suco diluído de sapoti (proporção de diluição 1:1) de 36,75% em acetona 70%, 36,75% em etanol 70% e 14,06% em água.

Produção e comercialização do sapoti

A maioria da produção e comercialização do sapoti está concentrada em países como Índia, Filipinas, Sri Lanka, Malásia, México, Venezuela, Tailândia, Indonésia, Brasil e países da América Central e Caribe. Nessas regiões, a produção é quase que totalmente voltada para o consumo nos próprios países de origem, no entanto existe uma demanda crescente pela fruta em outros países, principalmente da Europa, América do Norte, Oriente Médio e Sudeste Asiático (SILVA JÚNIOR et al., 2014).

No Brasil, Pio-Corrêa (1969), afirma que o sapoti foi introduzido das Antilhas. Uma das mais importantes introduções deu-se no início dos anos 1800, a partir da Guiana Francesa, juntamente com diversas espécies exóticas, com o envio de mudas para os jardins botânicos de Belém e, posteriormente, Olinda e Rio de Janeiro (SANJAD, 2010).

A produção do sapoti ocorre desde o Estado de Roraima até o Rio Grande do Sul, no entanto é nas regiões Norte e Nordeste, onde o sapotizeiro encontra as melhores condições para o seu desenvolvimento. Os estados nordestinos como: Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará se destacam na produção de sapoti devido, principalmente, às condições propiciadas pelo clima associado com o uso de irrigação. Um grande incentivo para os produtores é o elevado preço que esse fruto atinge no mercado interno. O sapotizeiro, embora se adapte facilmente às mais diferentes condições de solo, clima e altitude, é mais produtivo em altitudes inferiores a 400 m, temperatura elevada, acima de 28 °C, suportando longos períodos de seca, apesar de se beneficiar com a irrigação em épocas críticas (ALVES, FILGUEIRAS e MOURA, 2000).

A maioria das fruteiras exóticas cultivadas no Brasil, e que atualmente faz parte de expressivos mercados nacional e internacional, foi introduzida de diferentes continentes e o seu cultivo teve adaptação regionalizada por conta de características ambientais. No entanto, existe um número expressivo de espécies frutíferas exóticas cultivadas com relativo sucesso que ainda não alcançaram níveis consideráveis de comercialização, como é o caso do sapoti (ALBUQUERQUE e SILVA, 2008).

No Brasil, a maior parte da produção do sapoti é consumida de forma fresca, apesar de já está ganhando aceitação dos consumidores na forma de doces, refrescos, conservas, geleias, xaropes, etc., produzidos de forma artesanal, e ainda muito pouco conhecidos (SOARES, 2018).

A indisponibilidade do fruto do sapotizeiro ou de produtos derivados dele, em regiões não produtoras, mostra a importância do emprego de tecnologias para proporcionar um prolongamento da vida útil para que o produto possa chegar até estes lugares (SOARES, 2018).

3.2 BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA

As bebidas alcoólicas são tão antigas quanto à humanidade. Ao longo de dez milhões de anos, civilizações do mundo todo fabricaram bebidas alcoólicas, fermentando açúcares presentes em todo o tipo de frutos e, até, descobrindo formas de fermentar cereais e raízes com amido (CURRY, 2020).

Segundo Curry (2020), cerca de 7000 a.C., a chicha, fabricada com milho fermentado, já era consumida nos banquetes. A uva pode ter surgido originalmente na Europa, região de Geórgia, mas a primeira data concreta para a produção de vinho, cerca de 5400 a.C., remonta às vizinhas montanhas Zagros, no Irã. Já no Egito Antigo, os trabalhadores ganhavam forças com uma cerveja de trigo e cevada produzida em quantidades industriais pelo Estado, 3150 a.C.. Alguns historiadores relatam que cananeus, fenícios e gregos disseminam a vinicultura no Mediterrâneo (2000 a.C.). Em Honduras foram encontrados fragmentos cerâmicos que revelam cacau fermentado que remetem a 2000 a.C. e 1000 a.C..

Sales (2010) afirma que mesmo antes da chegada dos europeus, os indígenas produziam e consumiam uma diversidade de bebidas fermentadas obtidas de frutas, sementes, raízes, seiva de palmeiras e mel de abelha. São exemplos de bebidas alcoólicas por eles: o pulque, no México; o guarapo e o sinisco, na América Central; a chicha, no Peru; a aloja, na Argentina e o cauim, no Brasil.

No Brasil colonial consumia-se o vinho importado da metrópole portuguesa, nos salões, enquanto os menos favorecidos consumiam a aguardente de cana (subproduto da indústria açucareira, a partir da segunda metade do século XVII). No entanto, a partir do início do século XIX, o consumo da aguardente se difundiu e se popularizou em todo o país (SALES, 2010; SOUZA 2004).

Nos dias atuais, o Brasil é um grande mercado consumidor de bebidas alcoólicas. Segundo Acselrad et al. (2014), mais da metade da população consome bebidas alcoólicas e

em grande quantidade (mais de 18 litros de álcool puro por ano), o triplo da média global. Na Figura 3.4 é observado o ranking, em milhares de litros, das bebidas alcoólicas consumidas no Brasil no ano de 2017.

Figura 3.4 - Consumo de bebidas alcoólicas no Brasil no ano de 2017



Fonte: Laporta (2018)

Segundo Aquarone et al. (2001) a bebida alcoólica, no Brasil, é definida como um produto refrescante, aperitivo ou estimulante destinado à ingestão humana no estado líquido, sem finalidade medicamentosa e contendo mais de meio grau Gay-Lussac de álcool etílico.

Já a classificação das bebidas alcoólicas, perante a legislação brasileira, é feita segundo o Decreto N° 6.871, de 4 de Junho de 2009 (BRASIL, 2009), que estabelece que bebida alcoólica é a bebida com graduação alcoólica acima de meio por cento em volume até cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, a saber:

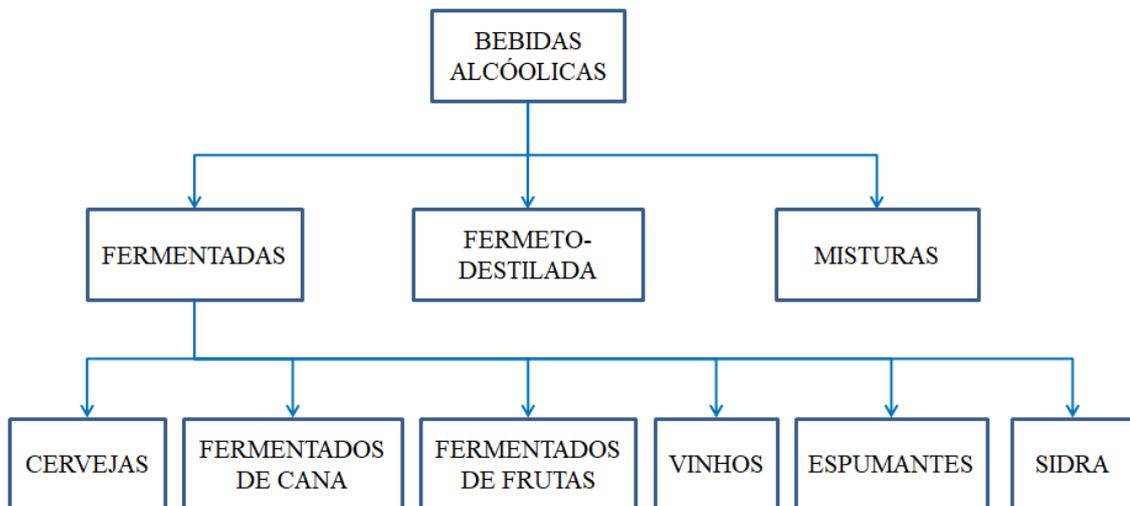
- a) bebida alcoólica fermentada: é a bebida alcoólica obtida por processo de fermentação alcoólica;
- b) bebida alcoólica destilada: é a bebida alcoólica obtida por processo de fermento-destilação, pelo rebaixamento do teor alcoólico de destilado alcoólico simples, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica destilada;
- c) bebida alcoólica retificada: é a bebida alcoólica obtida por processo de retificação do destilado alcoólico, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico

potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica retificada;

- d) bebida alcoólica por mistura: é a bebida alcoólica obtida pela mistura de destilado alcoólico simples de origem agrícola, álcool etílico potável de origem agrícola e bebida alcoólica, separadas ou em conjunto, com outra bebida não alcoólica, ingrediente não alcoólico ou sua mistura.

Outra forma de classificação das bebidas alcoólicas está apresentada na Figura 3.5.

Figura 3.5 - Classificação de bebidas alcoólicas



Fonte: Adaptado de Brasil (2009)

3.2.1 Fermentado de Fruta

A legislação brasileira denomina fermentado de fruta como sendo a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze % em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos ser adicionado de água. Ainda refere que o fermentado será denominado “fermentado de ...”, acrescido do nome da fruta utilizada e que, quando adicionado de dióxido de carbono, o fermentado de fruta será denominado “fermentado de ...”, acrescido do nome da fruta, gaseificado (BRASIL, 2009). Ainda em relação à classificação de fermentados de frutas, são denominados gaseificados aqueles que apresentam pressão entre 2 e 3 atm (BRASIL, 2012), outras especificações para bebidas fermentadas de frutas estão apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Especificação físico-química para os fermentados de fruta

| Parâmetro | Limite mínimo | Limite máximo | Classificação |
|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Acidez fixa (meq/L) | 30 | - | - |
| Acidez total (meq/L) | 50 | 130 | - |
| Acidez volátil (meq/L) | - | 20 | - |
| Anidrido sulfuroso total (g/L) | - | 0,35 | - |
| Cloretos totais (g/L) | - | 0,50 | - |
| Extrato seco reduzido (g/L) | 12 | - | - |
| Gradação alcoólica (%v/v a 20 °C) | 4 | 14 | - |
| Pressão (atm) | 2 | 3 | Gaseificado |
| | - | ≤ 3 | Seco |
| Teor de açúcar (g/L) | > 3 | - | Doce ou suave |

Fonte: Adaptado de Brasil (2012)

O vinho é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto da uva sã, fresca e madura, e que resulta em uma bebida com gradação alcoólica de 8,6% a 14% em volume. No entanto, mesmo sendo um fermentado de fruta, é regulamentado separadamente no Brasil. Assim como derivados da uva e do vinho comercializados em todo o território nacional, produzidos no Brasil e importados (BRASIL, 2018).

Dias, Schawn e Lima (2003) alertam que a tecnologia para elaboração dessas bebidas não é padronizada e única, no que diz respeito à levedura a ser utilizada, a temperatura ideal de fermentação, e o tipo de tratamento que o mosto da fruta, ou a própria fruta, deve sofrer na fase pré-fermentativa.

Corazza, Rodrigues e Nozaki (2001) relatam que as operações do processo de fabricação de bebida alcoólica fermentada são: extração e preparo de mosto, fermentação alcoólica, trasfega, clarificação, maturação e armazenamento. Em escala industrial, essas operações são aplicadas na produção do vinho, mas também podem ser empregadas para outras frutas. Teoricamente, qualquer fruto ou vegetal que contenha umidade, açúcar e nutrientes para as leveduras pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas fermentadas.

Nos últimos anos vários tipos de frutas têm sido utilizados como matéria-prima na produção de fermentados de frutas no Brasil. Santos e Souza (2020) produziram fermentado alcoólico de pinha, que segundo eles, apresentou características que são adequadas a este tipo

de produto. Além disso, comprovaram que a utilização de leveduras de panificação, *Saccharomyces cerevisiae*, também pode ter um bom desempenho na produção deste.

Neves et al. (2020) fizeram a caracterização físico-química do fermentado de caju e resultados mostraram que o pseudofruto apresenta um excelente potencial no que se refere à produção de bebidas fermentadas, podendo então, ser uma forma de diminuição do alto índice de desperdício, em seu período de safra.

Bessa et al. (2018) produziram fermentado alcoólico a partir da polpa do melão das variedades amarelo e cantaloupe. O fermentado também foi caracterizado e determinados os parâmetros cinéticos do processo fermentativo da bebida, apresentando conformidade com a legislação em sua maioria, com destaque para o teor alcoólico (5,03% e 6,80% v/v), para a bebida do melão amarelo.

Santos et al. (2021) desenvolveram fermentado alcoólico de maracujá da Caatinga, a partir do fruto em dois estádios de maturação aparente (intermediário e maduro), com e sem diluição da polpa. Os fermentados obtidos apresentaram graduação alcoólica de 6,99 a 8,12% v/v, e valores relevantes para compostos fenólicos e atividade antioxidante, principalmente os obtidas a partir do fruto em estágio intermediário de maturação e sem diluição.

Neves et al. (2021) elaboraram e caracterizaram o fermentado alcoólico de jaboticaba (*Plinia jaborcaba*) produzido artesanalmente. Nesse estudo avaliaram o pH (3,128); teor de compostos fenólicos totais (861,574 mg/L); antocianinas totais (35,758 mg/L), monoméricas e polimerizadas; açúcares totais (4,700 g/L); etanol (8,797 °GL); taninos (15,864 mg/L); capacidade antioxidante (6,854 µmol Trolox/L); intensidade de cor, tonalidade e composição da cor; teor de ácido elágico; ácidos orgânicos; 2,3,-butanodiol; glicerina; aminoácidos; aminas biogênicas e íon amônia.

Existem poucos estudos sobre o uso de sapoti para produção de bebida alcoólica fermentada. Patra, Singdevsachan e Swain (2016) obtiveram fermentado de sapoti com 7,33 °GL e destacaram o potencial antioxidante encontrado no fermentado obtido. Albuquerque et al. (2017) obtiveram fermentados de sapoti com 5,9, 7,35 e 7,5 °GL, enquanto Ranjitha et al. (2015) obtiveram fermentados de sapoti com teores alcoólicos entre 10,1 e 11,2% (v/v). Além dos fermentados de sapoti, o fruto também foi utilizado na produção de cerveja, onde Bonifácio (2018) desenvolveu uma cerveja artesanal com polpa de sapoti e observou que o teor alcoólico da cerveja com a polpa de sapoti (3,6 °GL) foi superior à cerveja sem a fruta (3,0 °GL). O mesmo foi observado por Freire et al. (2020), na produção de cerveja artesanal com adição de 17% (p/v) de polpa de sapoti, observou-se aumento do teor alcoólico e compostos fenólicos totais, quando comparado a cerveja produzida sem adição da polpa.

Ao que se refere a bebidas alcoólicas fermentadas de frutas gaseificadas, uma das mais importantes características desta bebida é a espuma, pois consiste no primeiro atributo percebido pelos consumidores. A sua formação está ligada à presença de pequenas bolhas lentamente liberadas através do líquido e sua persistência são características apreciadas (LIGER-BELAIR et al., 1999). As bolhas de gás aumentam a percepção sensorial de bebidas gaseificadas por transportarem moléculas de aromas (LIGER-BELAIR et al., 2001). A obtenção dessa espuma em bebidas fermentadas de fruta pode ser feita através de um processo de gaseificação natural, como também pode ser feita através da injeção de CO₂ de forma artificial.

Segundo Panesar et al. (2017) um vinho espumante é um vinho com adição de CO₂ (não inferior a 5 g/L a 20 ° C), produzido por fermentação secundária em recipientes fechados, como garrafa ou tanque, para reter o CO₂ produzido.

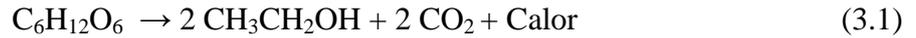
Panesar et al. (2017) ao estudar sobre o desenvolvimento de “vinho espumante” de ameixa obtido por dois métodos distintos: *charmat* (método que consiste na segunda fermentação ocorrendo em tanques isobáricos, para aprisionamento do CO₂) e *champenoise* (método que consiste na segunda fermentação ocorrendo na garrafa, para aprisionamento do CO₂), concluiu que o vinho espumante obtido pelo método *champenoise* foi superior na maioria das características físico-químicas, como quantidade de aldeídos, ésteres, compostos fenólicos totais, antocianinas totais teor de etanol, minerais e etc. Dos dois métodos utilizados, o vinho fermentado em garrafa obteve a pontuação mais alta e foi considerado o melhor em todas as qualidades sensoriais, devido ao melhor aroma, grau de carbonatação e adstringência.

Bertagnolli et al. (2017) desenvolveram e fizeram a caracterização físico-química e volátil de um fermentado de fruta utilizando goiabas maduras da variedade Paluma, pelo método *champenoise*. “O espumante” produzido apresentou uma composição complexa de aroma frutado e floral, com características físico-químicas equivalentes aos espumantes elaborados a partir de vinho.

3.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

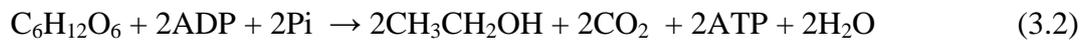
O processo fermentativo consiste no ponto central para produção de qualquer bebida alcoólica, possuindo como principal objetivo a conversão de açúcares em etanol e CO₂, pela levedura, sob condições anaeróbicas. (VENTURINI FILHO, 2016).

No processo de fermentação alcoólica de açúcares, os principais produtos, álcool etílico e CO₂ são produzidos em proporções equimolares, conforme a equação de Gay-Lussac (Equação 3.1):



Entretanto, a molécula de glicose passa em processo anaeróbio através de doze etapas intermediárias antes de ser transformado em etanol e CO_2 . A grande maioria dos organismos fermentadores tem em comum o fato de metabolizar a fonte de carbono até o piruvato e, deste, sintetizar outros compostos orgânicos retentores de energia. Nessa reação, as duas moléculas de piruvato são convertidas em duas moléculas de acetaldeído e duas de dióxido de carbono por ação da piruvato descarboxilase, que promove descarboxilação simples e não envolve a oxidação do piruvato. Em um segundo passo, o acetaldeído é reduzido a etanol por ação da enzima álcool desidrogenase (VENTURINI FILHO, 2016).

A equação geral da fermentação alcoólica é dada pela Equação 3.2:



Simultaneamente são formados ao lado de etanol e CO_2 , acetaldeído, glicerol, 2,3 butilenoglicol, ácido láctico, ácido succínico, ácido cítrico, como produtos resultantes da fermentação alcoólica, e que contribuem para o sabor e o aroma da bebida. Os ésteres, como o acetato de etila, são também formados pela esterificação de ácidos orgânicos fixos, como os ácidos tartárico e málico, também catalisados pelas enzimas da levedura (AQUARONE et al., 2001).

Os açúcares constituem-se em um dos mais importantes componentes a serem caracterizados na elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas, pois a fermentação alcoólica consiste na sua conversão em álcool e CO_2 . Quanto maior a concentração de açúcares mais interessante será em termos de fermentação, em função da menor necessidade de correção através da adição de açúcar. É necessário ainda, avaliar a capacidade e eficiência da levedura em metabolizar os açúcares presentes nos frutos (OLIVEIRA, 2006).

O conteúdo de SST indica o teor aproximado de açúcar no mosto. Assim, um mosto com 10 °Brix contém, aproximadamente, 10% de açúcar. Considera-se que 2 °Brix produz, aproximadamente, 1 °GL após a fermentação (CORAZZA, RODRIGUES e NOZAKI, 2001).

De acordo com Cleto e Mutton (2004) o processo fermentativo se inicia assim que a levedura entra em contato com o mosto e é dividido em três fases:

1. Fase preliminar: essa fase que se denomina também de fase lag, inicia-se no momento do contato da levedura com o mosto, caracteriza-se pela intensa multiplicação celular, pequena elevação da temperatura e pequeno

desprendimento de CO₂. A duração dessa fase varia de acordo com o sistema de fermentação, ela pode ser reduzida pelo uso de um inóculo bem volumoso;

2. Fase principal ou tumultuosa: essa fase se caracteriza pelo desprendimento volumoso e intenso de dióxido de carbono, consequência da existência de um número suficiente de células para desdobrar os açúcares fermentescíveis no mosto. É a fase de maior tempo de duração, a temperatura eleva-se rapidamente, a densidade do mosto reduz-se e a porcentagem de álcool e acidez elevam-se;
3. Fase de fermentação complementar ou pós-fermentação: onde se observa a redução brusca da atividade fermentativa, há uma diminuição da intensidade do desprendimento de gás carbônico e diminuição da temperatura. Nessa fase a concentração de açúcares chega ao fim.

3.3.1 Fatores que Afetam a Fermentação

Existem inúmeros fatores que afetam a fermentação, dentre os quais podemos citar: pH, temperatura, concentração inicial de substrato (açúcar) e concentração de células no meio (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). Todos estes fatores podem afetar o rendimento, ou seja, a eficiência de conversão de substrato em produto.

pH

O pH é um fator importante para se determinar no meio de fermentação, pois pode inibir o crescimento celular e a formação do produto. Ward (1991) menciona que valores de pH na faixa entre 3 e 6 são na maioria das vezes favoráveis não só ao crescimento celular e atividade fermentativa como na formação de subprodutos, como glicerol. Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5 (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). No estudo de fatores sinérgicos entre sulfito, ácido láctico, pH e etanol na fermentação alcoólica da levedura, Dorta (2006) verificou que o pH 3,6 foi o que mais interferiu no metabolismo das linhagens estudadas; concluindo também que o pH 4,5 mostrou ser suficiente para minimizar os efeitos danosos do sulfito e etanol sobre a célula. Vale salientar que fermentações conduzidas em meios mais ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, devido à baixa produção de glicerol. Esta condição também auxilia no controle das infecções, pois reduz o crescimento de bactérias contaminantes (MARTINS, 2009).

Temperatura

A temperatura pode ser considerada outro parâmetro de alta relevância, pois influencia na eficiência e desenvolvimento do processo fermentativo (OLIVEIRA, 2006). Para microrganismos produtores de etanol a temperatura ideal é considerada a ambiente, em torno de 30 °C. As temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26 a 35 °C, mas, não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38 °C (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001).

Para Torija et al. (2001) quando o biorreator opera com temperaturas amenas (15 a 20 °C) tem-se um maior rendimento alcoólico, contudo, a obtenção da produção máxima de etanol torna-se mais demorada. Quando a fermentação ocorre entre 25 e 31 °C a taxa inicial de fermentação é maior, e em temperaturas maiores que 35 °C observa-se um decréscimo na viabilidade celular e uma maior evaporação do álcool. Em seu estudo, Atala, Costa e Maciel (2001) observaram um decréscimo significativo nos parâmetros de produtividade, conversão e concentração final de biomassa para a fermentação a 40 °C. Os danos térmicos para as células de leveduras resultam do rompimento das ligações de hidrogênio e das interações hidrofóbicas, promovendo desnaturação das proteínas e ácidos nucleicos (WALKER, 1994). O aumento da temperatura no meio fermentativo favorece a contaminação bacteriana, além de favorecer a toxicidade da levedura pelo etanol e ocasionar uma maior formação de espuma no processo (LEÃO e AMORIM, 2005).

Concentração de substrato

O crescimento celular exibe uma cinética do tipo saturação quando a concentração do substrato aumenta, conforme modelo de Monod. Em muitas situações, quando a concentração de açúcar aumenta, extrapola essa região de saturação, passando então a ocorrer inibição pelo substrato. Da mesma forma, quando a concentração de produto atinge altos valores, é muito comum a existência da inibição pelos produtos. A inibição pelo substrato desativa importantes enzimas, além de modificar o caminho metabólico que é vital para a sobrevivência da levedura. O efeito inibidor provocado pelo substrato na fermentação alcoólica ocorre quando a concentração supera 150 g/L (THATIPAMALA, ROHAI e HILL, 1992).

Concentração do inóculo

Experimentalmente constata-se que maiores concentrações de leveduras no biorreator permitem fermentações mais rápidas, com maior produtividade e controle contra contaminantes, além de restringir o crescimento do próprio microrganismo. Deve-se ressaltar que para altas concentrações celulares são necessárias elevadas concentrações de substrato para suportar tal concentração celular (OLIVEIRA, 2006).

3.4 AGENTE FERMENTATIVO

Leveduras são agentes fermentativos da fermentação alcoólica. Estes microrganismos podem ser diferenciados pelo seu aspecto, suas propriedades, sua forma de reprodução e também pela maneira de transformar o açúcar (AQUARONE et al., 2001).

As leveduras pertencem ao grupo Ascomiceto, denominado como fungos superiores, são organismos unicelulares, eucarióticos e heterotróficos, ou seja, são organismos com um alto grau de organização celular, contendo núcleo celular delimitado por uma membrana nuclear e organelas como mitocôndria (responsáveis pelo metabolismo energético da célula), vacúolos (reservatório de nutrientes, enzimas e produtos tóxicos), retículo endoplasmático e Complexo de Golgi (MORAIS, 2013).

As leveduras podem ser classificadas em dois filos, *Ascomycota* (Figura 3.6) e *Basidiomycota* (fungos superiores). O primeiro é vastamente utilizado industrialmente e comercialmente, para produção de pão, vinho e cerveja (*Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus*, fabricação de vinho), bebidas lácteas do kefir (*Kluyveromyces marxianus*) ou contaminando a produção de vinho (*Brettanomyces anomalus*) (SANTOS, 2006).

Figura 3.6 - Algumas leveduras importantes do filo *Ascomycota*: A) *Saccharomyces cerevisiae*, B) *Kluyveromyces marxianus* e C) *Brettanomyces anomalus*



Fonte: Santos (2006)

Segundo Morais (2013), as leveduras realizam a fermentação do açúcar para obter energia química (ATP) essencial para sua sobrevivência, seu crescimento, manutenção e multiplicação, sendo o etanol apenas um subproduto da fermentação. A obtenção do ATP se dá através da hidrólise dos açúcares através de reações bioquímicas mediadas por enzimas no interior da célula.

A introdução da técnica da cariotipagem das leveduras, a partir da década de 90, foi um marco para a evolução da tecnologia da fermentação alcoólica. Esta técnica permitiu identificar quais leveduras estavam no processo e ficou demonstrado que algumas linhagens desaparecem dos fermentadores, enquanto outras leveduras dominam a fermentação (AMORIM NETO et al., 2013).

A *Saccharomyces cerevisiae* é o principal microrganismo utilizado como agente fermentativo em processos industriais de produção de bebidas alcoólicas devido a sua capacidade de fermentar uma vasta gama de açúcares (TEIXEIRA, 2015). No entanto para fermentações alcoólicas com alto teor de açúcar a *Saccharomyces bayanus* tornou-se comumente utilizada, já que esta variedade possui maior resistência às concentrações de álcool ao fim da fermentação, mesmo com baixos níveis de açúcares fermentescíveis no meio (HORNSEY, 2007).

Segundo BIOTECSUL (2021), a *Saccharomyces bayanus* apresenta as seguintes características gerais:

- Bom desempenho fermentativo mesmo em baixas temperaturas;
- Curta fase de latência e rápida fermentação;
- Baixa produção de acidez volátil;
- Baixa produção de H₂S;
- Tendência para respeitar o ácido málico;
- Leveduras secas ativas;
- Forma granular;
- Coloração bege claro.

Em relação a sua aplicação é recomendado utilizar em vinhos brancos e rosados, elaboração de vinhos espumantes pelo método *Charmat*.

De acordo com Eglinton et al. (2000) cepas até então caracterizadas como *Saccharomyces bayanus* também parecem ser capazes de sintetizar ácido málico durante a fermentação, diferentemente das cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, que tendem a degradar o ácido málico. Assim, a *Saccharomyces bayanus* pode ser usada para corrigir deficiências em

alguns vinhos e fermentados de frutas, como baixo grau de acidez ou baixa concentração de glicerol.

Alguns fermentados de frutas, como fermentados de caju (GARRUTI, CASIMIRO e ABREU, 2003), de maçã e cereja (ADAMENKO et al., 2019), e de ata (pinha), ciriguela e mangaba (MUNIZ et al., 2002), foram obtidos a partir da inoculação do mosto com a levedura *Saccharomyces bayanus*. A fermentação alcoólica pode acontecer de forma mais rápida ou mais lenta em função da fruta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA), do Departamento de Engenharia Química, do Centro de Tecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, Campus I – João Pessoa/PB.

4.1 MATÉRIA-PRIMA

O fruto usado na pesquisa, o sapoti, foi adquirido na feira orgânica que fica localizada dentro da Universidade Federal da Paraíba, na cidade de João Pessoa – PB, já em estágio de maturação maduro. Os frutos passaram por um processo de seleção e de sanitização, onde foram mergulhados em uma solução de 50 ppm de hipoclorito de sódio por um período de 10 minutos (BESSA et al., 2018) e então foram lavados com água corrente para retirada dos resíduos da solução sanitizante, e postos em cestas perfuradas para escoamento total da água. Após secos foram pesados para cálculo de rendimento e então despulpados com auxílio de faca de aço inox para obtenção da polpa, livre de cascas e sementes. Em seguida a polpa foi armazenada em freezer horizontal com temperatura de – 18 °C até sua utilização no processo de extração para obtenção do caldo de sapoti.

A levedura utilizada na fermentação dos mostos de sapoti foi a cepa da espécie *Saccharomyces bayanus* da marca Red Star Premier Blanc, adquirida através de compra online pela loja Indupropil. É uma cepa muito utilizada na produção de vinhos, espumantes e fermentados de fruta, tem alto potencial de sedimentação, alta resistência a álcool e uma taxa de espuma moderada. A quantidade de levedura utilizada neste estudo foi a recomendada pelo fabricante, 0,25 g de fermento para cada litro de mosto.

4.2 EXTRAÇÃO DO CALDO

O caldo do sapoti foi obtido através de um sistema de prensa hidráulica de acionamento manual com capacidade de 30 toneladas, marca SKAY. Devido às características do material extraído, foram usados sacos de algodão forrando o interior do cilindro da prensa. Foi utilizada no processo de extração do caldo de sapoti uma pressão de 15 toneladas. Após a extração, uma alíquota foi retirada para análises químicas e físico-químicas e o restante foi submetido à padronização do teor de SST para posterior fermentação.

4.3 PADRONIZAÇÃO DO CALDO

O caldo de sapoti extraído foi filtrado e utilizado no teste preliminar e nas formulações finais. O teste preliminar teve padronização do caldo em 16,1 °Brix e para as formulações finais foi feito a padronização do caldo de sapoti em três diferentes concentrações de SST: 14, 16 e 20 °Brix. Os valores de SST nas padronizações do caldo de sapoti foram escolhidos com base no estudo de Albuquerque et al. (2017) e com base na faixa de graduação alcoólica para bebida fermentada de fruta que a legislação permite, a fim de obter fermentados com teores alcoólicos que estejam perto dos limites inferior, médio e superior, da faixa que a legislação estabelece.

Para o preparo dos mostos nas concentrações desejadas, foram realizadas diluições com água potável.

As formulações finais as quais foram padronizadas com diferentes concentrações de SST foram codificadas de acordo com a Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Codificação das formulações finais do fermentado de sapoti

| Formulação | Codificação |
|------------|-------------|
| 14 °Brix | B1 |
| 16 °Brix | B2 |
| 20 °Brix | B3 |

4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Foi realizado um teste preliminar a fim de se conhecer melhor as características da fermentação, e do fermento utilizado no processo. Esse teste foi realizado em um único biorreator fechado, com adaptação de torneira plástica no fundo do recipiente e mangueira na parte superior ligando o recipiente a outro recipiente com água, com o objetivo de facilitar a saída de CO₂ produzido durante o processo de fermentação, mas sem entrada de oxigênio no sistema, de polietileno, com capacidade de 10 L. Foi preparado 8 L de mosto de sapoti e o mesmo foi conduzido à fermentação em freezer com temperatura controlada de 14 °C, o controle da temperatura foi feito através de um controlador da marca *Full Gauge*, modelo MT-512e 2HP. O processo fermentativo teve duração de 20 dias, onde periodicamente eram retiradas alíquotas do mosto em fermentação para análises de acompanhamento do processo. Inicialmente as alíquotas foram retiradas a cada 24 horas, até o sexto dia de fermentação e depois as alíquotas foram retiradas em um espaço de tempo maior, a cada 72 horas, até que o teor de SST estabilizou, chegando ao fim da fermentação.

Tendo em vista o longo tempo de fermentação do teste preliminar e a temperatura de fermentação recomendada pelo fabricante do fermento, temperatura ideal entre 15 e 30 °C foram feitos ajustes no processo para que o desenvolvimento das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti desse estudo fosse realizado nas melhores condições.

Com isso, após o teste preliminar, foram realizadas as fermentações das três formulações finais (Tabela 4.1), em três biorreatores fechados, com adaptação de torneira plástica no fundo do recipiente e mangueira na parte superior ligando o recipiente a outro recipiente com água, com o objetivo de facilitar a saída de CO₂ produzido durante o processo de fermentação, mas sem entrada de oxigênio no sistema, de polietileno, com capacidade de 10 L cada, os biorreatores foram conduzidos à fermentação em freezer com temperatura controlada de 20 °C, o controle da temperatura foi feito através de um controlador da marca *Full Gauge*, modelo MT-512e 2HP, a temperatura de 20 °C está dentro do intervalo recomendado pelo fabricante do fermento, sendo também a mesma temperatura de calibração dos equipamentos de laboratório.

Periodicamente eram retiradas alíquotas do mosto em fermentação para análises de acompanhamento do processo. Para o B1 e B2 as amostras foram retiradas no início do processo fermentativo e com intervalo de 72 horas até o sexto dia de fermentação, depois disso as alíquotas foram retiradas a cada 24 horas, até que o teor de SST se estabilizassem. Para o B3 foi feita retirada de uma amostra no início do processo fermentativo, após 72 horas do tempo inicial e depois disso a cada 24 horas, até que o teor de SST se estabilizasse, chegando ao fim da fermentação.

4.5 PRIMEIRA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A primeira fermentação alcoólica dos mostos de sapoti foi conduzida em biorreatores fechados, de polietileno, acondicionados em freezer, sob temperatura controlada, em sistema de batelada, com capacidade de 10 litros cada. Durante a condução do processo de fermentação, foi feito o acompanhamento cinético dos biorreatores, onde eram retiradas alíquotas de cada biorreator para realização das análises de pH, concentração de SST, acidez total, concentração de biomassa, teor de etanol, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e açúcares não redutores (ANR), até que o teor de SST dos mostos se estabilizassem. Finalizado o processo fermentativo os fermentados foram separados da biomassa por decantação.

4.6 SEGUNDA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA (CARBONATAÇÃO NATURAL)

Os fermentados de sapoti obtidos pela primeira fermentação alcoólica foram conduzidos para uma segunda fermentação que ocorreu em recipiente fechado (garrafas de vidro âmbar) para a produção do CO₂, onde foi obtido um fermentado de sapoti gaseificado a partir de um processo natural. Antes do engarrafamento do fermentado alcoólico de sapoti, foi adicionado ao mesmo, o *primer* (açúcar diluído em água) em uma proporção de 7 gramas de açúcar para cada litro do fermentado, o açúcar utilizado no preparo do *primer* foi a sacarose, da marca Alegre, foi feita uma homogeneização do fermentado com o *primer* e logo após realizou-se o envase da bebida, as garrafas foram fechadas com tampas metálicas do tipo corona e foram deixadas em repouso sob temperatura controlada, à mesma temperatura da primeira fermentação, para que ocorresse a refermentação, por um período mínimo de 7 dias (VENTURINI FILHO, 2016).

4.7 ANÁLISES REALIZADAS

Para a caracterização do caldo de sapoti, foram realizadas análises de pH por leitura direta em pHmetro; concentração de SST, por leitura direta utilizando refratômetro de campo; acidez total, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008); AR, ART e ANR, determinados pelo método ácido 3,5-dinitro salicílico (DNS) descrito por Miller (1959) e adaptado por (VASCONCELOS, PINTO e ARAGÃO, 2013); determinação do conteúdo total de compostos fenólicos de acordo com a metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965) e atividade antioxidante pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS (RUFINO et al., 2006; RUFINO et al., 2007a; RUFINO et al., 2007b).

Para o acompanhamento cinética da fermentação alcoólica, foram realizadas análises de pH, concentração de SST, acidez total, AR, ART e ANR, concentração de biomassa, obtida pelo método de massa seca e densidade óptica e concentração de etanol utilizando um ebuliômetro.

Para os fermentados alcoólicos gaseificados de sapoti foram realizadas as mesmas análises feitas na caracterização do caldo de sapoti, além das análises de concentração de etanol, acidez volátil e acidez fixa (meq/L), extrato seco total e cinzas, conforme metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Todas as determinações feitas nos produtos finalizados foram realizadas na amostra descarbonatada conforme metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), a fim evitar leituras incorretas. Para remover o CO₂ transferiu-se a amostra para um béquer de 500 mL e agitou-se com um bastão até completa descarbonatação.

4.7.1 pH

A medida do pH foi realizada em potenciômetro digital (modelo Q799-D2, Quimis), com eletrodo de vidro. O equipamento foi calibrado com tampões de pH 7,0 e 4,0 antes da leitura.

4.7.2 Sólidos Solúveis Totais

Para análise do teor de SST foi utilizado refratômetro portátil (Kasvi, modelo K52-032) na caracterização do caldo de sapoti e sacarímetro de Brix (Incoterm) no acompanhamento cinético da fermentação e no produto finalizado.

Para o uso do refratômetro, primeiramente foi feita a calibração do aparelho com água destilada, a qual foi seca com papel absorvente e então se procedeu a leitura da amostra colocando-se uma gota da amostra, livre de compostos sólidos, na lente do refratômetro e realizou-se a leitura.

Para uso do sacarímetro de Brix, foram transferidos 250 mL da amostra para uma proveta de vidro de 250 mL, o sacarímetro foi inserido na amostra e então realizou-se a leitura.

4.7.3 Acidez Total, Volátil e Fixa

A acidez total titulável foi determinada por titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M. Colocou-se 1 mL da amostra, 10 mL de água destilada e 3 gotas de indicador fenolftaleína em um erlenmeyer de 125 mL e procedeu-se a titulação até o ponto de viragem (rosa claro). O cálculo da acidez total foi realizado através da Equação (4.1).

$$Acidez\ total\ (meq/L) = \frac{n \cdot f \cdot M \cdot 1000}{V} \quad (4.1)$$

Onde,

n = Volume em mL de solução de NaOH gasto na titulação;

f = Fator de correção da solução de NaOH;

M = Molaridade da solução de NaOH;

V = Volume em mL da amostra.

Para determinar a acidez volátil, primeiramente destilou-se a amostra. No sistema de arraste de vapor, coletou-se 100 mL do destilado em um frasco erlenmeyer de 250 mL, contendo 20 mL de água destilada e 3 gotas do indicador fenolftaleína e então foi feita a titulação com NaOH 0,1 M, seguindo o procedimento adotado (IAL, 2018).

A acidez fixa foi determinada pela diferença entre a acidez total e a volátil, como na Equação (4.2).

$$\text{Acidez fixa (meq/L)} = A_t - A_v \quad (4.2)$$

Onde,

A_t = Acidez total em meq/L;

A_v = Acidez volátil em meq/L.

4.7.4 Açúcares Redutores

A concentração de AR foi determinada por meio da metodologia proposta por Miller (1959) e adaptada por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013) da Embrapa Agroindústria Tropical. Este método consiste na redução do ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) a 3-amino-5nitrosalicílico, conjuntamente com a oxidação do grupamento aldeído do açúcar ao grupo carboxílico. A solução tornou-se marrom avermelhada devido ao aquecimento e o AR pôde ser quantificado no espectrofotômetro UV-Vis da marca DRAWELL, modelo DU-8200 em um comprimento de onda de 540 nm.

As amostras foram diluídas com água destilada, após diluição alíquotas de 0,5 mL das amostras foram transferidas para tubos de ensaio e aos tubos foram adicionados 0,5 mL da solução DNS. Os tubos com a mistura de amostra e solução DNS foram homogeneizados e levados a banho-maria a 100 °C por um período de 5 minutos, em seguida foram resfriados a temperatura ambiente e adicionados de 4 mL de água destilada; logo foram feitas novas homogeneizações e então realizou-se as leituras da intensidade da cor em espectrofotômetro a 540 nm. O mesmo tratamento foi realizado para construção da curva de calibração (Apêndice A e B).

Após leituras feitas no espectrofotômetro foi plotado em gráfico com os valores de absorvância no eixo Y contra concentração de glicose (g/L) no eixo X para construção da curva de calibração. A partir da equação da reta gerada foi possível calcular as concentrações de AR em glicose fazendo a substituição dos valores de absorvância na equação da reta. Os resultados foram expressos em g/L.

Para o preparo da curva de calibração foi preparado inicialmente uma solução mãe de glicose na concentração de 1,0 g/L. A partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L, foram preparadas soluções com concentrações variando de 0,1 g/L a 0,9 g/L, conforme Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Formulação das soluções diluídas de glicose, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L

| Volume de solução de glicose (mL) | Volume de água destilada (mL) | Concentração final (g/L) |
|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 10 | 90 | 0,1 |
| 20 | 80 | 0,2 |
| 30 | 70 | 0,3 |
| 40 | 60 | 0,4 |
| 50 | 50 | 0,5 |
| 60 | 40 | 0,6 |
| 70 | 30 | 0,7 |
| 80 | 20 | 0,8 |
| 90 | 10 | 0,9 |

4.7.5 Açúcares Redutores Totais

A concentração de ART foi determinada por meio da metodologia proposta por Miller (1959) e adaptada por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013).

As amostras foram diluídas com água destilada, em seguida acidificadas com solução de ácido clorídrico (HCl) 2 M (0,5 mL da amostra diluída para 0,5 mL de HCl), após acidificação a mistura foi aquecida em banho-maria a uma temperatura de 100 °C por 5 minutos, resfriada à temperatura ambiente e neutralizada com 1,5 mL de solução de NaOH 1,0 M. Após a neutralização, 0,5 mL da amostra foi transferida para um tubo de ensaio e 0,5 mL de solução DNS foi adicionada ao tubo, essa mistura foi homogeneizada e repetiu-se o procedimento feito na análise de AR e então foi feita a leitura em espectrofotômetro da marca DRAWELL, modelo DU-8200 a 540 nm.

4.7.6 Açúcares Não Redutores

A concentração de ANR foi determinada pela diferença entre os açúcares redutores totais e os açúcares redutores, de acordo com a Equação (4.3).

$$\text{ANR (g/L)} = \text{ART} - \text{AR} \quad (4.3)$$

4.7.7 Concentração de Biomassa

Essa análise foi realizada no acompanhamento cinético das formulações finais e ela constitui em obter a concentração celular através de uma curva de calibração (apêndices F, G e H) mediante a correlação da densidade óptica em espectrofotômetro (D.O.) com a massa seca de células. Uma alíquota de 2 mL de células provindas do cultivo do inóculo foi adicionada a tubos ependorf da mesma capacidade e os mesmos foram centrifugadas a 10.000

rpm por 15 minutos em micro centrífuga (MiniSpinplus eppendorf). Ao término da centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células lavadas 3 vezes com água destilada, a concentração celular foi quantificada conforme Equações (4.4) e (4.5) após secagem em estufa a 105 °C por 24 horas.

$$MS = m - m_t \quad (4.4)$$

Onde:

MS = massa seca (g);

m = massa do tubo com a amostra (g);

m_t = massa do tubo vazio (g).

$$X = \frac{MS}{V_a} \quad (4.5)$$

Onde:

X = concentração de células (g/L); e

V_a = volume da amostra (L).

Simultaneamente, com a mesma amostra de inóculo, foram preparadas diversas diluições (1:1 – 1:2 – 1:5 – 1:10 – 1:15 – 1:20 – 1:30 – 1:40 – 1:50 mL) para construção da curva. Essas diluições foram submetidas à leitura em espectrofotômetro marca (DRAWELL), modelo (DU-8200) a 600 nm, utilizando água destilada como branco. Após as leituras feitas no espectrofotômetro foi plotado em gráfico de excel os valores de absorbância no eixo Y contra concentração de biomassa (g/L) no eixo X para construção da curva de calibração. A partir da equação da reta gerada pelo excel, foi possível calcular as concentrações de biomassa das amostras retiradas dos mostos em fermentação durante o acompanhamento cinético das formulações finais fazendo a substituição dos valores de absorbância na equação da reta. Os resultados foram expressos em g/L.

4.7.8 Teor Alcoólico

O teor alcoólico foi determinado em ebuliômetro, fabricado pela Vidrolex Comercial Rio Preto Eireli – ME.

Inicialmente calibrou-se o equipamento colocando-se água destilada no condensador e uma alíquota de 50 mL de água destilada na caldeira, a fim de determinar a temperatura de

ebulição da água. O ponto de ebulição foi verificado quando a coluna de mercúrio do termômetro se manteve constante.

Em seguida, retirou-se a alíquota de água destilada da caldeira do ebuliômetro, substituindo-a por uma alíquota de 50 mL da amostra a ser analisada (mosto em fermentação), para determinação de seu ponto de ebulição.

Para a determinação do teor alcoólico, igualou-se o “zero” da régua central (que mede a graduação alcoólica decimal) com a temperatura de ebulição da água na régua externa, e, logo após, a leitura do resultado foi feita diretamente na régua central, a partir do valor da temperatura de ebulição da amostra na régua externa, os valores de teor alcoólico foram expressos em °GL.

4.7.9 Extrato Seco Total

Para determinação do extrato seco total do fermentado de sapoti gaseificado utilizou-se o método por evaporação e secagem em estufa.

Com o auxílio de pipeta volumétrica foram transferidas alíquotas de 25 mL da amostra para cápsulas de porcelana, previamente secas a 105 °C por 1 hora, resfriadas em dessecador e em seguida pesadas. As amostras foram evaporadas em banho-maria fervente até que os resíduos apresentassem uma consistência aparentemente seca ou xaroposa. Os resíduos foram aquecidos em estufa a 105 °C por 1 hora, em seguida foram resfriados em dessecador e pesados, repetiram-se tais operações até peso constante. Os resultados de extrato seco total foram obtidos de acordo com a Equação (4.6).

$$ES = \frac{1000 \times M}{V} \quad (4.6)$$

Onde,

ES = Extrato seco (g/L);

M = massa do resíduo (g);

V = volume da amostra (mL).

4.7.10 Cinzas

Para determinar o teor de cinzas no fermentado de sapoti gaseificado, primeiramente foram pesados cadinhos de porcelana, previamente secos em estufa a 105 °C por 1 hora, e em seguida, com auxílio de uma pipeta graduada, transferiu-se 5 g da bebida para cada cadinho e, então as amostras foram evaporadas em chapa-aquecedora. Após evaporação completa das amostras, estas foram carbonizadas e, por fim, calcinadas em mufla a 550 °C por 3 horas até

eliminação completa do carvão, resultando em resíduos brancos ou levemente acinzentados. Os cadinhos foram resfriados em dessecador e logo em seguida pesados. Após a primeira pesagem, os cadinhos voltaram para a mufla por mais 1 hora, repetindo-se os procedimentos de resfriamento e pesagem até peso constante. Os resultados das cinzas foram obtidos de acordo com a Equação (4.7).

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{100 \times M}{P} \quad (4.7)$$

Onde,

M = massa das cinzas (g);

P = massa da amostra (g).

4.7.11 Compostos Fenólicos Totais

Este método baseia-se na redução do Reativo Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico) pelas hidroxilas fenólicas presentes nas amostras, produzindo um complexo de coloração azul que absorve entre 620 e 760 nm. A reação ocorre em meio alcalino e a solução saturada de carbonato de sódio é a base mais indicada.

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965). 300 µL de caldo/fermentado de sapoti gaseificado foram misturados com 2,5 mL da solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10%, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 2 minutos protegida da luz, transcorrido o tempo de repouso foram adicionados 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 7,5%, a mistura foi homogeneizada e incubada em banho-maria a 50 °C por 15 minutos. Após 15 minutos de incubação as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e a absorbância foi lida em triplicata, em espectrofotômetro da marca DRAWELL, modelo DU-8200 a 760 nm. O conteúdo total de compostos fenólicos foi calculado com base na curva de calibração do ácido gálico (apêndice I) e expresso como equivalente em ácido gálico. As concentrações utilizadas para construção da curva de calibração foram 0 – 0,5 – 5 – 10 – 20 – 30 – 40 – 50 – 75 – 100 mg/L de ácido gálico. A equação obtida da curva de calibração foi usada para determinar o conteúdo total de fenólicos das amostras.

4.7.12 Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante do caldo de sapoti e dos fermentados de sapoti gaseificados foi determinada por três metodologias distintas, sendo elas: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), FRAP (Poder redutor do ferro) e ABTS 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-

ácido sulfônico), todas em triplicata. Esses métodos são comumente utilizados para determinar a atividade antioxidante de frutas. Pérez-Jiménez et al. (2008) recomendam mais de um método ou todos os possíveis de se executar, para que seja possível adquirir mais informações sobre a capacidade antioxidante do alimento.

Para todos os métodos foi utilizada uma curva de calibração (apêndices C, D e E) com solução de trolox. Inicialmente foi preparada uma solução de trolox 2000 μM e a partir dela foram feitas diluições para obtenção dos pontos usados nas curvas de calibração para os três métodos de avaliação de atividade antioxidante. As concentrações de trolox usadas para construção das curvas foram de 20, 50, 100, 150, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600 e 2000 μM . O preparo das soluções usadas nas curvas de calibração está previsto conforme Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Formulação das soluções de trolox, usadas na elaboração das curvas de calibração

| Volume de solução de trolox (μL) | Volume de álcool etílico (μL) | Concentração de trolox (μM) |
|---|--|--|
| 0 | 2000 | 0 |
| 20 | 1980 | 20 |
| 50 | 1950 | 50 |
| 100 | 1900 | 100 |
| 150 | 1850 | 150 |
| 200 | 1800 | 200 |
| 400 | 1600 | 400 |
| 600 | 1400 | 600 |
| 800 | 1200 | 800 |
| 1200 | 800 | 1200 |
| 1600 | 400 | 1600 |
| 2000 | 0 | 2000 |

Método DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2007a) com modificações, onde 100 μL da amostra foram adicionadas a 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (0,06 mM). A mistura foi agitada em vórtex e mantida em ambiente escuro por 60 minutos. A absorbância da mistura foi lida em espectrofotômetro da marca DRAWELL, modelo DU-8200 no comprimento de onda de 515 nm contra um branco, solução controle de álcool metílico, acetona e água. Os resultados foram expressos em % de inibição do radical DPPH e μM de TEAC/g da amostra.

O mesmo tratamento foi realizado para a construção da curva de calibração (Apêndice C), onde foram utilizados os pontos 20, 50, 100, 150, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600 e 2000 μM de trolox, sendo o tempo de espera em ambiente escuro 30 minutos.

Após leituras feitas no espectrofotômetro foi plotado em gráfico os valores de absorvância no eixo Y contra concentração de trolox (μM) no eixo X para construção da curva de calibração. A partir da equação da reta gerada foi possível calcular a capacidade antioxidante equivalente ao trolox fazendo a substituição dos valores de absorvância na equação da reta.

Método FRAP

A determinação da atividade antioxidante foi realizada de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2006) com modificações, onde 90 μL da amostra foram adicionadas a 270 μL de água destilada e 2700 μL de solução FRAP. A mistura foi agitada em vórtex e mantida em banho-maria a 37 °C e ambiente escuro por 30 minutos. A absorvância da mistura foi lida em espectrofotômetro da marca DRAWELL, modelo DU-8200 no comprimento de onda de 595 nm contra um branco, solução FRAP. Os resultados foram expressos em % poder redutor FRAP e μM de TEAC/g da amostra.

O mesmo tratamento foi realizado para a construção da curva de calibração (Apêndice D), onde foram utilizados os pontos 20, 50, 100, 150, 200, 400, 600 e 800 μM de trolox.

Método ABTS

A determinação da atividade antioxidante foi realizada de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2007b) com modificações, onde 30 μL da amostra foram adicionadas a 3,0 mL da solução ABTS. A mistura foi agitada em vórtex e mantida em ambiente escuro por 6 minutos. A absorvância da mistura foi lida em espectrofotômetro da marca DRAWELL, modelo DU-8200 no comprimento de onda de 734 nm contra um branco, álcool etílico. Os resultados foram expressos em % de inibição ABTS e μM de TEAC/g da amostra.

O mesmo tratamento foi realizado para a construção da curva de calibração (Apêndice E), onde foram utilizados os pontos 100, 400, 600, 800, 1200 e 2000 μM de trolox.

4.8 PARÂMETROS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO

A partir dos resultados obtidos nas análises feitas durante o acompanhamento cinético da fermentação, foram realizados os cálculos dos parâmetros cinéticos: rendimento em produto - $Y_{P/S}$ (Equação 4.8); rendimento em célula - $Y_{X/S}$ (Equação 4.9); produtividade em produto - P_p (Equação 4.10) e eficiência da fermentação - $\%Ef$ (Equação 4.11):

$$Y_{P/S} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \quad (4.8)$$

$$Y_{X/S} = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} \quad (4.9)$$

$$P_p = \frac{P_f}{T_f} \quad (4.10)$$

$$\%Ef = \frac{P_{exp}}{P_{teo}} \times 100 \quad (4.11)$$

Onde:

P_0 = concentração inicial de produto;

P_f = concentração final de produto;

S_0 = concentração inicial de substrato;

S_f = concentração final de substrato;

X_0 = concentração inicial de células;

X_f = concentração final de células;

T_f = tempo total da fermentação;

P_{exp} = concentração de produto experimental;

P_{teo} = concentração de produto teórico.

Para o cálculo do P_{teo} faz-se necessário multiplicar a concentração de substrato consumido por 0,511 (fator determinado pela estequiometria da reação, equação de Gay Lussac). Sendo P_{exp} calculada pela Equação (4.12).

$$P_{exp} = 0,789 \text{ (g/L)} \times (\text{°GL}/100) \times 1000 \text{ (ml/L)} \quad (4.12)$$

Os resultados obtidos para os parâmetros cinéticos: $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$, P_p e $\%Ef$ foram calculados utilizando os valores de S_0 , S_f , P_0 , P_f , X_0 , X_f , P_{teo} , P_{exp} e T_f . As concentrações

iniciais e finais de substrato, produto e células são dadas em g/L e o tempo final da fermentação dado em horas.

4.9 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados das determinações foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a um nível de confiança de 95%. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Foi utilizado o pacote estatístico Statistica®, versão 6.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão apresentados nesta seção são referentes ao fruto do sapotizeiro, a caracterização do caldo de sapoti, ao teste preliminar e as três formulações finais para produção dos fermentados alcoólicos gaseificados de sapoti.

5.1 RENDIMENTO DO SAPOTI

Antes dos frutos de sapoti serem processados para desenvolvimento dos fermentados alcoólicos gaseificados, os mesmos foram sanitizados, secos e pesados para cálculo de rendimento dos seus componentes; esse rendimento foi obtido apenas para um processo de despulpamento (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 - Rendimento dos componentes do sapoti

| Parâmetros | Peso (kg) | Rendimento (%) |
|-------------------|-----------|----------------|
| Peso dos frutos | 54,9385 | - |
| Peso da polpa | 42,3160 | 77,02 |
| Peso das sementes | 1,1540 | 2,10 |
| Peso das cascas | 10,5040 | 19,12 |
| Resíduo | 0,9645 | 1,76 |

De acordo com Alves, Filgueira e Moura (2000), a distribuição percentual dos componentes do fruto do sapotizeiro, em média, é de 87,51% de polpa, 10,36% de casca e 2,13% de sementes. Nesse estudo o percentual de polpa determinado foi de 77,02%, inferior ao reportado pelos autores citados anteriormente, provavelmente devido ao método de descascamento, confirmado pelo maior rendimento de casca encontrado nesse estudo (19,12%) quando comparado aos dados reportados por Alves, Filgueira e Moura (2000), que encontraram 10,36% de casca.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI

O caldo de sapoti foi caracterizado físico-quimicamente e os resultados estão expressos na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Caracterização do caldo de sapoti

| Parâmetros | Média ± Desvio Padrão |
|---------------------------------|-----------------------|
| pH | 4,97 ± 0,01 |
| SST (°Brix) | 26,20 ± 0,00 |
| Acidez Total (meq/L) | 21,60 ± 0,00 |
| Açúcares Redutores (g/L) | 232,90 ± 1,12 |
| Açúcares Redutores Totais (g/L) | 302,50 ± 1,06 |
| Açúcares Não Redutores (g/L) | 69,60 ± 1,68 |
| CFT (mg EAG/100 g) | 11,00 ± 0,00 |
| AA – DPPH (µM TEAC/g) | 60,12 ± 13,02 |
| AA – FRAP (µM TEAC/g) | 428,94 ± 1,78 |
| AA – ABTS (µM TEAC/g) | 462,03 ± 2,54 |

* SST = sólidos solúveis totais. CFT = compostos fenólicos totais. AA = atividade antioxidante.

Para o valor de pH, Monteiro et al. (2020) obtiveram a partir da caracterização da polpa de sapoti um valor igual a 5,87 e Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) encontraram no suco puro de sapoti um pH de 5,51, valores superiores ao encontrado nesse estudo que foi de 4,97. Do ponto de vista da tecnologia de alimentos, o pH do sapoti está acima da faixa considerada segura (4,5), pois os alimentos pouco ácidos apresentam tendência de crescimento de microrganismos (SOUSA et al., 2012).

Da extração foi obtido um caldo com SST igual a 26,2 °Brix, superior aos valores encontrados por Monteiro et al. (2020) de 18 °Brix, por Soares (2018) de 20,2 a 21,8 °Brix e por Santos et al. (2020b) de 13,0 °Brix ao estudarem o fruto do sapotizeiro. Segundo Silva et al. (2020) o teor de SST é o principal responsável pelo sabor do fruto e pode ser influenciado pelas condições impostas durante o processo produtivo, como adubação, temperatura e disponibilidade de água e, principalmente, por características genéticas do material. Além disto, este parâmetro representa uma das melhores formas de avaliação do grau de doçura do produto, que é maior com a evolução da maturação, devido aos processos de biossíntese ou ainda de degradação de polissacarídeos (CHITARRA e CHITARRA, 2005; RAMOS et al., 2013; BOTELHO et al., 2019). Quanto maior for o teor de sólidos solúveis, melhor a matéria-prima para a industrialização.

Para a acidez total titulável, o caldo do sapoti obtido nesse estudo apresentou 21,6 meq/L que equivale a 0,14 g de ácido cítrico/100 mL, valor dentro da faixa encontrada por Soares (2018) ao caracterizar a polpa de sapoti com 0,12 a 0,18 g de ácido cítrico/100 g. Monteiro et al. (2020) apresentaram em seu estudo, uma acidez total de 0,22 g de ácido cítrico/100 g em polpas de sapoti. Esses valores de acidez demonstram que o sapoti possui baixo grau de acidez total, o que indica que são frutos doces.

Os açúcares redutores totais (ART) para polpas de sapoti encontrados por Monteiro et al. (2020) tiveram valores iguais a 12,38 g/100 g em glicose, já Soares (2018) obteve resultados um pouco maiores que variaram de 15,71 a 17,96 g/100 g em glicose, enquanto nesse estudo o valor encontrado para ART no caldo do sapoti foi de 302,50 g/L, que equivale a 30,25 g/100 mL. Para os açúcares redutores (AR) Monteiro et al. (2020) encontraram valor igual a 10,81 g/100 g em glicose, Soares (2018) obteve resultados superiores, variando de 14,10 a 16,13 g/100 g em glicose e para o caldo de sapoti desse estudo o valor de AR foi de 232,90 g/L, que equivale a 23,29 g/100 mL. Para os açúcares não redutores (ANR) Monteiro et al. (2020) reportaram 1,57 g/100 g em sacarose para polpa de sapoti, enquanto Soares (2018) obteve de 0,0 a 3,86 g/100 g em sacarose. O valor de ANR encontrado para o caldo de sapoti nesse estudo foi de 69,60 g/L, que equivale 6,96 g/100 mL.

Compostos fenólicos pertencem à classe de compostos que inclui diversidade de estruturas simples e complexas, com pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila (ESCARPA e GONZALES, 2001).

A quantificação de compostos fenólicos totais é uma estimativa do conteúdo de todos os compostos pertencentes às subclasses de compostos fenólicos presentes em uma amostra, no caldo de sapoti o valor médio encontrado foi de 11,00 mg EAG/100 g de amostra, resultado bem inferior ao reportado por Oliveira et al. (2017) que encontraram 67,0 mg EAG/100 g em sapoti maduro e por Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) ao avaliarem o suco puro de sapoti que resultou em 46,98 mg GAE/100 mL. Enquanto se aproximou dos valores encontrados por Lee et al. (2013) e Almeida et al. (2011) que ao estudarem o fruto do sapotizeiro obtiveram 16,6 mg GAE/100 g e 13,5 mg EAG/100 g, respectivamente e por Morais (2018) que obteve valores variando de 9,86 a 16,24 mg EAG/100 g.

A diferença de compostos fenólicos em diferentes tipos de frutas ou até de amostras do mesmo fruto pode ser explicada pela natureza química dos compostos bioativos, que variam desde simples substâncias a compostos altamente polimerizados, que incluem diferentes proporções de ácidos fenólicos, antocianinas, taninos, entre outros (CÔTÊ, CAILLET e DOYON, 2010).

As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetivas e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos. A atividade antioxidante é a capacidade de retardar a velocidade de reações oxidativas, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres, reação com oxigênio singlete, absorção de energia e por complexação de metais (ROESLER et al., 2007). Alimentos que têm, naturalmente, em sua composição, substâncias com caráter antioxidante,

têm atraído o interesse da comunidade científica devido aos possíveis efeitos nutricionais e terapêuticos associados ao seu consumo.

Em relação à capacidade de sequestro do radical DPPH, o caldo de sapoti deste estudo apresentou 19,27 % de inibição ou 60,12 μM TEAC/g, resultado inferior aos reportados por Murnisyazwani e Rabeta (2019) que encontraram no suco de sapoti uma porcentagem de inibição do DPPH igual a 36,75 % e por Mendonça e Vieites (2019) que encontraram 28,88 % ao avaliarem o fruto sapoti. Costa et al. (2017) ao estudarem o sapoti em diferentes estádios de amadurecimento, afirmaram que o sapoti maduro tem maior teor de açúcares e menor concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante.

No ensaio FRAP, o caldo de sapoti resultou em 428,94 μM TEAC/g ou 42,89 μM TEAC/100 g, valor dentro da faixa reportada por Morais (2018) que encontrou valores de 40,77 a 52,64 μmol TEAC/100 g de amostra ao estudar o potencial antioxidante do sapoti. Murnisyazwani e Rabeta (2019) encontraram no sapoti fresco valores que variaram de 6367,00 a 9157,00 μM Fe(II)/g.

Para o ensaio ABTS o caldo de sapoti deste estudo apresentou atividade antioxidante superior (462,03 μM TEAC/g) ao valor encontrado por Oliveira et al. (2017) que obtiveram 338,00 μM TEAC/g para o sapoti após 180 dias da colheita.

Os métodos DPPH e ABTS são métodos que se baseiam no mesmo princípio, o de inibição de radicais livres, fazendo uma comparação dos resultados obtidos nestes dois métodos avaliados, observou-se que pelo método ABTS o caldo de sapoti possui maior capacidade antioxidante.

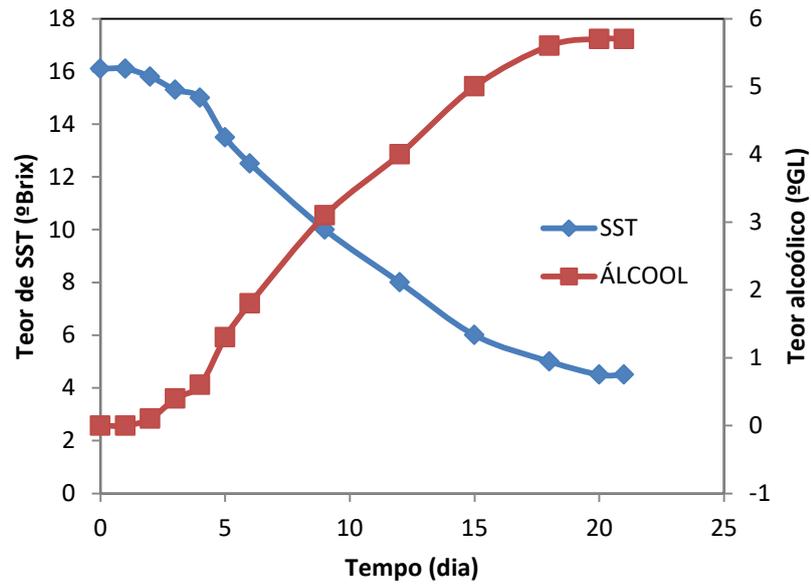
5.3 TESTE PRELIMINAR

5.3.1 Acompanhamento Cinético do Teste Preliminar

Após a padronização do teor de SST, o mosto apresentou valores de acidez total titulável de 11,32 meq/L, concentração de SST de 16,1 °Brix e pH de 4,90.

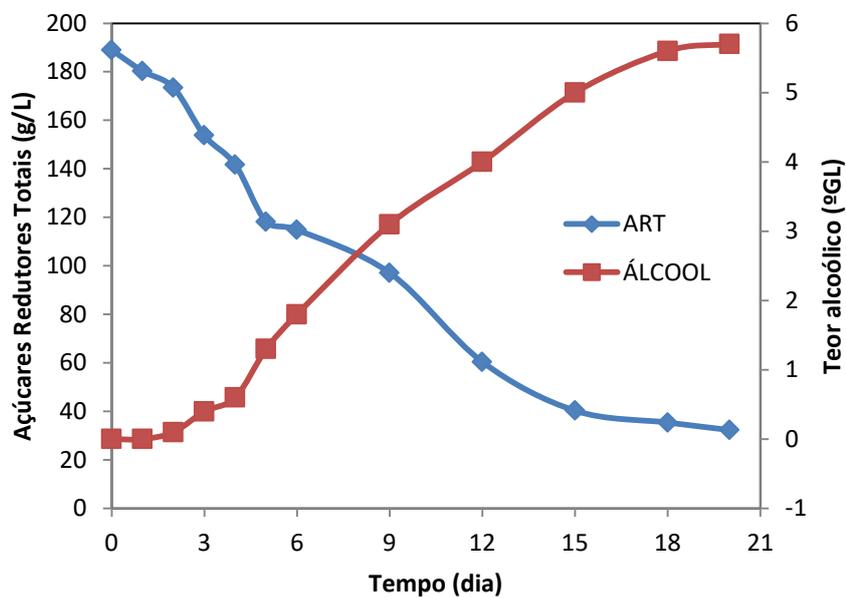
Os resultados do acompanhamento do comportamento cinético, SST, ART, teor alcoólico, pH e acidez total encontram-se nas Figuras 5.1 a 5.3.

Figura 5.1 – Consumo de sólidos solúveis e formação de etanol em função do tempo



*SST = sólidos solúveis totais.

Figura 5.2 - Consumo de substrato (ART) e formação de etanol em função do tempo



*ART = açúcar redutor total.

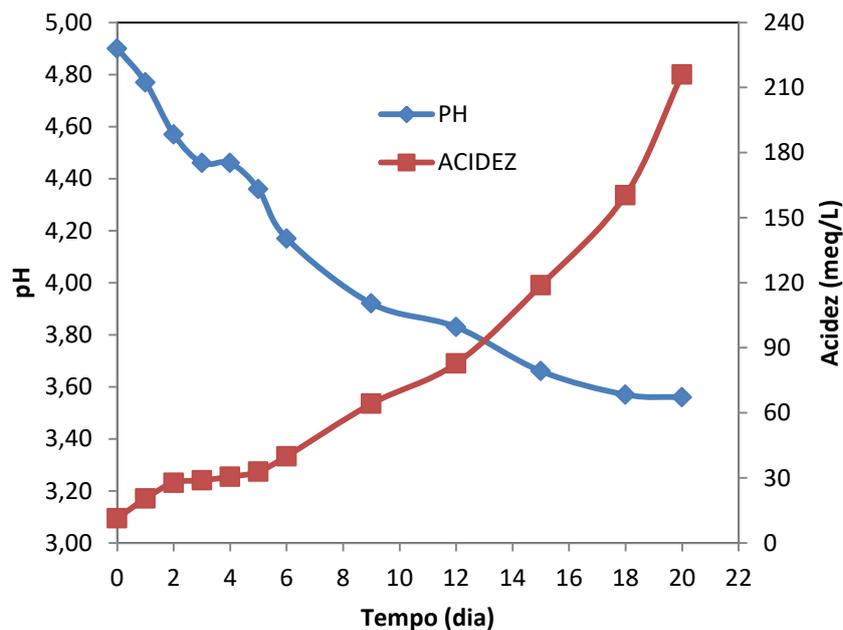
Nas Figuras 5.1 e 5.2 verificou-se a cinética de consumo do substrato (açúcares) e a formação de etanol em função do tempo de fermentação. Durante o processo houve um baixo consumo de substrato nos primeiros dias, provavelmente, em decorrência da adaptação dos microrganismos ao meio.

Do quarto ao décimo quinto dia de fermentação foi possível observar um aumento no consumo de substrato, correspondendo à fase tumultuosa da fermentação, pois as leveduras já estavam adaptadas ao meio e com açúcar suficiente para ser consumido.

A partir do décimo quinto dia o consumo de substrato começou a diminuir gradualmente. A concentração de SST se estabilizou em 4,5 °Brix, o que indicou o fim da fermentação.

Com relação ao teor alcoólico, a produção de etanol foi lenta nos quatro primeiros dias, não havendo expressiva produção de etanol. Do quarto ao décimo quinto dia de fermentação, a produção de etanol foi mais relevante, haja vista que as leveduras já estavam adaptadas ao meio, passando a consumir regularmente o açúcar, e conseqüentemente convertendo-o a etanol. Ao final da fermentação foi obtido 5,7 °GL de álcool no fermentado de sapoti.

Figura 5.3 - Variação de pH e acidez total titulável em função do tempo



Na Figura 5.3 foi observado que o pH do mosto de sapoti diminuiu ao longo do período de fermentação, passando de 4,90 para 3,56 ao final do processo. A diminuição nos valores de pH já era esperado, pois se trata de uma característica de processos de fermentação alcoólica. Este comportamento foi semelhante ao encontrado por Albuquerque et al. (2017), que observaram uma diminuição gradativa deste parâmetro durante a fermentação do caldo de sapoti.

A acidez total titulável do mosto de sapoti variou do início ao final do período fermentativo de 11,316 a 216,0 meq/L. O aumento dos valores de acidez em fermentações alcoólicas indica que há produção de ácidos orgânicos ajudando a manter o meio isento de bactérias. Porém, o valor de acidez total encontrado nesse estudo não está dentro da faixa estabelecida pela legislação Brasileira para acidez total em fermentados de fruta que permite um conteúdo mínimo de 50,00 meq/L e máximo de 130,00 meq/L (BRASIL, 2019). Durante a fermentação do mosto de sapoti, a acidez total encontrada por Albuquerque et al. (2017) variou de 0,1 a 1,5 g/100 mL de ácido acético.

5.3.2 Parâmetros Cinéticos da Fermentação para o Teste Preliminar

Para o cálculo dos parâmetros cinéticos da fermentação, foram utilizados os dados obtidos nas análises de acompanhamento de processo que são observados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Valores utilizados no cálculo dos parâmetros cinéticos para o teste preliminar

| Parâmetros | Média ± Desvio Padrão |
|-------------|-----------------------|
| S_0 (g/L) | 188,94 ± 0,47 |
| S_F (g/L) | 32,34 ± 0,21 |
| P_0 (g/L) | 0 |
| P_F (g/L) | 44,97 |
| T_F (h) | 480 |

* S_0 = concentração de substrato inicial, S_F = concentração de substrato final, P_0 = concentração de etanol inicial, P_F = concentração de etanol final e T_F = tempo final da fermentação.

Os resultados obtidos com os cálculos dos parâmetros cinéticos são observados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Resultado dos cálculos dos parâmetros cinéticos para o teste preliminar

| Parâmetros | Média ± Desvio Padrão |
|---------------|-----------------------|
| $Y_{p/s}$ | 0,29 ± 0,00 |
| P_p (g/L.h) | 0,09 |
| Ef (%) | 56,20 ± 0,16 |

* $Y_{p/s}$ = fator de conversão de substrato em produto, P_p = produtividade em produto e Ef = eficiência da fermentação.

O teste preliminar resultou em 0,29 para o $Y_{p/s}$, valor bem abaixo do valor máximo teórico de conversão que é 0,511 determinado pela estequiometria da reação de fermentação alcoólica. O resultado desse estudo foi próximo ao valor reportado por Ponce et al. (2016) que encontraram valores entre 0,29 – 0,33.

Para a P_p o resultado obtido nesse estudo foi de 0,09 g/L.h, valor muito inferior ao que Almeida et al. (2020) obtiveram ao fermentarem suco de mangaba: 4,38 g/L.h, essa

grande diferença é devido ao longo período de fermentação no desenvolvimento do fermentado de sapoti realizado nesse estudo, que teve duração de 480 h, contra 14 h de fermentação no desenvolvimento do fermentado de mangaba.

O valor da eficiência de fermentação para esse estudo (56,20 %) ficou abaixo de alguns valores encontrados na literatura para fermentados de fruta, como na fermentação de mostos de tomate em que Barros (2020) obteve eficiência que variou de 89,65 a 93,62 % e Fernandes (2016) apresentou valores de 95,97 % e 98,95 % para fermentados alcoólicos de físalis e pitaia.

5.3.3 Caracterização das Bebidas Oriundas do Teste Preliminar

Os resultados da caracterização do fermentado alcoólico de sapoti gaseificado proveniente do teste preliminar estão mostrados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Caracterização das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti proveniente do teste preliminar

| Parâmetros | Legislação | Média ± Desvio Padrão |
|--------------------------|--------------------|-----------------------|
| pH | - | 3,43 ± 0,01 |
| SST (°Brix) | - | 4,50 ± 0,00 |
| Teor Alcoólico (% v/v) | 4 – 14 % | 5,90 |
| Acidez Total (meq/L) | 50 – 130 | 226,80 ± 0,00 |
| Acidez Volátil (meq/L) | Máx. 20 | 29,52 ± 0,62 |
| Acidez Fixa (meq/L) | Mín. 30 | 197,28 ± 0,62 |
| Cinzas (%) | - | 0,34 ± 0,01 |
| Extrato Seco Total (g/L) | - | 56,49 ± 0,09 |
| Pressão (Atm) | 2 – 3 | 2,90 ± 0,00 |
| AR (g/L) | - | 16,42 ± 0,66 |
| ART (g/L) | - | 21,07 ± 0,09 |
| ANR (g/L) | - | 4,64 ± 0,58 |
| Teor de Açúcar (g/L) | >3 (doce ou suave) | 21,07 ± 0,09 |
| CFT (mg EAG/100 mL) | - | 8,79 ± 0,00 |
| AA - DPPH (µM TEAC/g) | - | 518,76 ± 4,39 |
| AA - FRAP (µM TEAC/g) | - | 671,44 ± 12,09 |
| AA -ABTS (µM TEAC/g) | - | 437,42 ± 12,97 |

* SST = sólidos solúveis totais. AR = açúcar redutor. ART = açúcar redutor total. ANR = açúcar não redutor. CFT = compostos fenólicos totais. AA = atividade antioxidante.

O pH da bebida final apresentou valor igual a 3,43, como resultado da produção de ácidos.

O teor de SST foi mensurado em 4,5 °Brix, mesmo valor encontrado antes da adição do *primer* para que ocorresse a carbonatação natural do fermentado. Isso mostra que as leveduras consumiram apenas o açúcar adicionado no *primer* deixando ainda o quantitativo de açúcar remanescente da primeira fermentação alcoólica.

Em relação ao teor alcoólico, o produto final resultou em uma pequena elevação de teor alcoólico após a carbonatação, saindo de 5,7 ao final da primeira fermentação para 5,9 % v/v no produto finalizado. Outros autores ao produzirem fermentados de fruta encontraram teores de etanol no produto finalizado de 6,99 a 8,12 % v/v para fermentado de maracujá da caatinga, 5,03 e 6,80 % para fermentado de melão e 6,30 % para fermentado de manga (SANTOS et al., 2021; BESSA et al., 2018; FONSECA et al., 2020).

A acidez total titulável de 226,8 meq/L ficou acima da faixa estabelecida pela legislação (50 a 130 meq/L). Fonseca et al. (2020), Barbosa et al. (2017) e Santos et al. (2021) também relataram resultados acima do permitido em fermentados de manga (143,00 meq/L), jabuticaba (187,00 meq/L) e maracujá da Caatinga (429,86 - 527,50 meq/L), respectivamente. O resultado de acidez total titulável obtido nesse teste pode ter sido afetado pelo tempo de fermentação, outra possível explicação para o alto valor encontrado foi a não realização da sulfitação o que dificultaria a contaminação por outros microrganismos competidores, caso fosse realizada (OLIVEIRA et al., 2012).

Para a acidez volátil a legislação brasileira exige um padrão máximo de 20,0 meq/L (BRASIL, 2012). O presente estudo resultou em um fermentado de sapoti gaseificado, proveniente do teste preliminar, com acidez volátil acima do máximo permitido pela legislação, sendo 29,52 meq/L. Valores altos de acidez volátil estão associados à sanidade do material utilizado, processamento e armazenamento dos fermentados (FELLOWS, 2008). Bartowsky et al. (2003) observaram que o envelhecimento das garrafas na vertical com o uso de tampas rosqueadas e tampas de borracha, permitem maior entrada de oxigênio e, conseqüentemente, maior teor de acidez volátil. Esses são fatores que podem ter ocasionado o valor alto para a acidez volátil.

A determinação da acidez fixa se dá pela diferença entre a acidez total e a volátil. O valor obtido neste estudo foi de 197,28 meq/L dentro da faixa estabelecida pela legislação.

As cinzas representam os elementos minerais presentes no fermentado e, geralmente, correspondem a aproximadamente 10% do extrato seco reduzido (RIZZON e MIELE, 2001). A Legislação Brasileira não estabelece limites de cinzas em fermentados de frutas. A Concentração de cinzas encontrada no fermentado de sapoti gaseificado foi 0,34 %.

A legislação brasileira não estabelece limites de extrato seco total nem para vinhos nem para fermentados de fruta. Comparando-se o resultado obtido nesse teste (56,49 g/L) com os valores reportados pela literatura, este foi superior ao encontrado por Dantas e Silva (2017) em fermentado de umbu (22,59 g/L) e por Diniz (2017) em fermentado da casca de abacaxi (44,02 g/L).

Para esse fermentado de sapoti gaseificado, a 20 °C, a pressão foi de 2,9 Atm, estando dentro da faixa estabelecida pela legislação para fermentados de fruta gaseificados que estabelece limite de 1 a 3 Atm à 20 °C. Na Figura 5.4 é mostrado o aspecto da carbonatação no produto finalizado, formação de espuma ao despejar o líquido no béquer e evidência de bolhas persistentes no produto após a dissolução da espuma.

Figura 5.4 – Fermentado alcoólico de sapoti gaseificado proveniente do teste preliminar: A) formação de espuma ao despejar o líquido no béquer e B) evidência de bolhas persistentes



Os valores de açúcares totais, redutores e não redutores obtidos para o fermentado de sapoti gaseificado, proveniente do teste preliminar, também são encontrados na Tabela 5.5 e mostram que de acordo com o valor de ART (21,07 g/L), comparando-o às especificações para fermentados de fruta, o mesmo é classificado como doce ou suave.

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos e sua quantidade pode variar consideravelmente em diferentes tipos de vinhos e fermentados alcoólicos, o que depende da variedade da uva ou do fruto, de fatores ambientais e das técnicas de processamento do vinho (HEIM, TAGLIAFERRO e BOBILYA, 2002; LI et al., 2009).

Para os compostos fenólicos totais, o fermentado gaseificado de sapoti proveniente do teste preliminar apresentou valor igual a 8,79 mg EAG/100 mL, valor inferior ao reportado Ranjitha et al. (2015) que encontraram 30,0 e 40,2 mg/100 mL em fermentados de sapoti de duas espécies diferentes, assim como Santos et al. (2021) que encontraram valores variando

de 73,59 a 81,95 mg EAG/100 mL ao fermentarem maracujá da caatinga em diferentes estádios de maturação e Neves et al. (2021) que obtiveram 86,16 mg/100 mL no fermentado alcoólico de jabuticaba.

A capacidade antioxidante para o fermentado de sapoti gaseificado foi avaliada em três metodologias distintas, onde, para o método DPPH resultou em 518,76 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 47,29 % de inibição do radical, para o método FRAP resultou em 671,44 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 48,93 % de poder redutor e para o método ABTS resultou em 437,42 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 20,63 % de inibição do radical ABTS.

Em comparação aos resultados obtidos pelos métodos DPPH e ABTS que partem do mesmo princípio de inibição de radicais livres, o fermentado de sapoti gaseificado proveniente do teste preliminar apresentou maior capacidade antioxidante pelo método DPPH (518,76 $\mu\text{M TEAC/g}$), foi possível observar também que os resultados obtidos para os fermentados de sapoti gaseificados, pelos métodos DPPH e FRAP, foram superiores aos resultados obtidos na avaliação do caldo de sapoti, mostrando que a bebida possui uma capacidade antioxidante maior que o caldo do fruto.

Para a metodologia DPPH, na literatura foram estudados fermentados de frutas, como o fermentado de jabuticaba que possui capacidade antioxidante de 6,854 $\mu\text{mol Trolox/L}$ (NEVES et al., 2021), inferior ao valor obtido neste estudo, assim como os fermentados de caju oriundos das cultivares E 51 e CCP 1001 que apresentaram atividade antioxidante máxima de 7,13 e 10,66 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (SILVA e NERY, 2020). Osto e Leitão (2018) ao desenvolverem um melomel de jambolão, encontraram 47,26 % de inibição do radical DPPH, próximo à capacidade antioxidante obtida neste estudo.

Para a metodologia FRAP, Santos et al. (2021) obtiveram fermentado de maracujá da caatinga oriundo do tratamento 2 (bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutos maduros sem diluição) com capacidade antioxidante de 7,61 $\mu\text{mol TEAC/mL}$.

Na literatura científica foram encontrados fermentados alcoólicos de frutas, os quais foram analisados a sua capacidade de sequestrar o radical livre ABTS, por exemplo: Danguì et al. (2019) ao produzirem fermentado alcoólico de melancia com e sem a adição de própolis encontraram valores inferiores ao obtido neste estudo, 36,61 $\mu\text{mol TEAC/100 mL}$ e 34,14 $\mu\text{mol TEAC/100 mL}$, respectivamente. Enquanto Patra, Singdevsachan e Swain (2016) ao fermentarem o suco de sapoti encontraram de 21,00 a 30,00 % de inibição do radical ABTS, sendo um potencial antioxidante maior que o obtido nesse estudo (20,63 %).

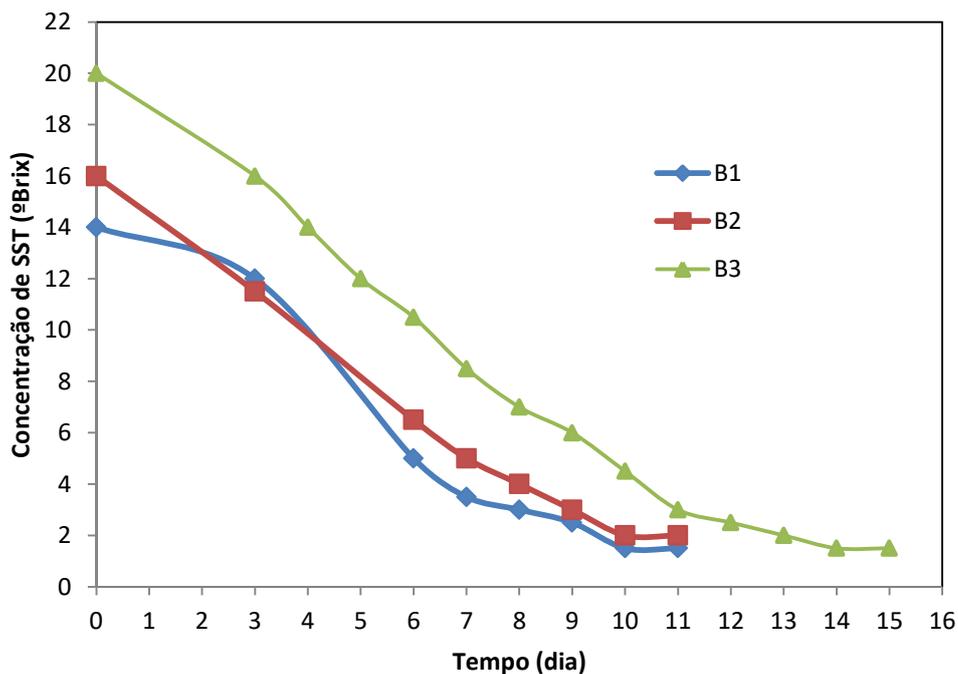
5.4 FORMULAÇÕES FINAIS

5.4.1 Acompanhamento Cinético das Formulações Finais

Após o preparo das formulações finais de mostos de sapoti, foram feitas as análises físico-químicas iniciais do processo de fermentação e os resultados iniciais dos mostos apresentaram valores de pH iguais a 4,94; 4,92 e 4,95 e concentração de SST de 14, 16 e 20 °Brix para os biorreatores 1, 2 e 3, respectivamente e acidez total titulável de 18,0 meq/L para o B1 e 21,6 meq/L para os B2 e B3. O processo fermentativo do B1 e B2 teve duração de 11 dias e o processo fermentativo do B3 teve duração de 15 dias.

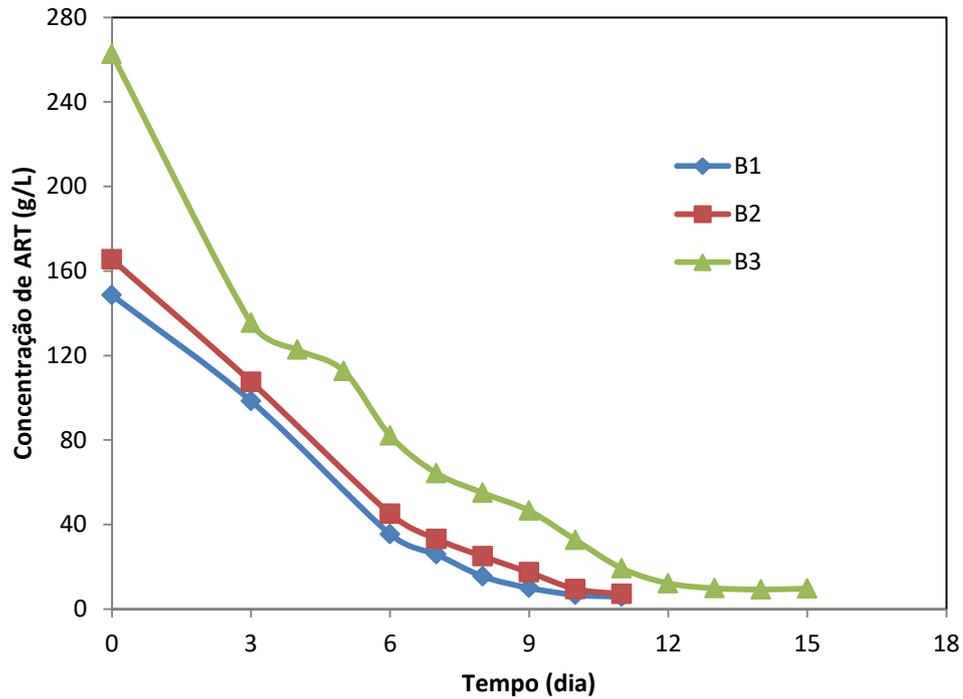
O comportamento cinético das formulações finais do mosto de sapoti está mostrado nas Figuras 5.5 a 5.10.

Figura 5.5 – Consumo de sólidos solúveis totais em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



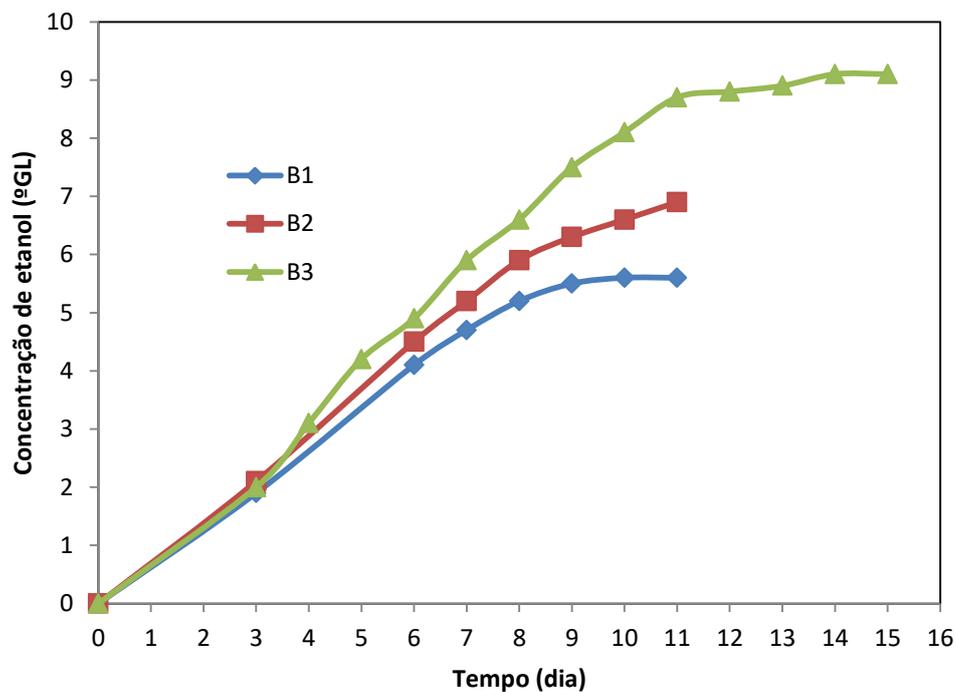
*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

Figura 5.6 – Consumo de substrato (ART) em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

Figura 5.7 – Formação de etanol em função do tempo de fermentação para os os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

Nas Figuras 5.5, 5.6 e 5.7 verificou-se a cinética de consumo do substrato (açúcares) e a formação de etanol em função do tempo de fermentação. Durante o processo houve um baixo consumo de substrato nos primeiros três dias, provavelmente, em decorrência da adaptação dos microrganismos ao meio. Dantas e Silva (2017), também observaram um pequeno consumo de substrato nos primeiros dias de fermentação enquanto produziam fermentado alcoólico de umbu. Silva et al. (2011) ao produzirem fermentado de manga sugeriram que esse pequeno consumo de substrato no início da fermentação poderia ser em decorrência da sulfitação do mosto. Outro fator que pode influenciar o período de adaptação das leveduras é o estresse osmótico causado pela elevada concentração de açúcares no mosto.

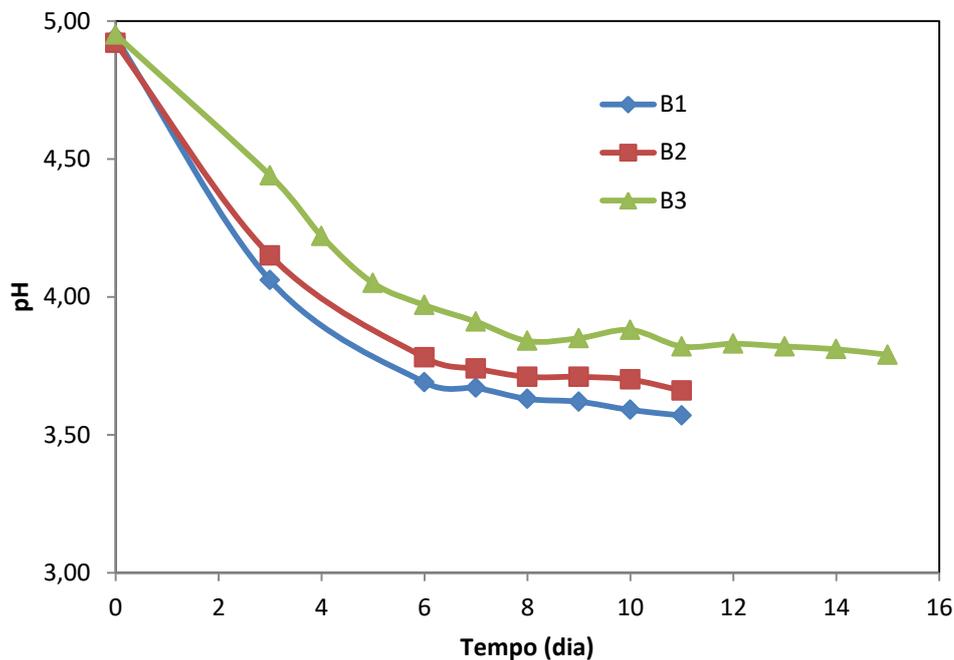
Na figura 5.5 observou-se que a taxa de consumo de substrato nos B2 e B3 foi bem parecida e superior à taxa de consumo de substrato para o B1, nos primeiros três dias de fermentação. Do terceiro ao sexto dia de fermentação o comportamento entre os biorreatores mudou e a taxa de consumo de substrato do B1 foi maior do que a taxa de consumo para os B2 e B3. O consumo de substrato mais acentuado acontece devido ao aumento na atividade das leveduras, correspondendo à fase tumultuosa da fermentação, pois as leveduras já haviam se adaptado ao meio e havia açúcar suficiente para ser consumido.

A partir do oitavo dia de fermentação para os B1 e B2 o consumo de substrato começou a diminuir gradualmente, já para o B3 a diminuição gradual do consumo de substrato aconteceu a partir do décimo segundo dia de fermentação. Isto se deve, entre outros fatores, à intoxicação (inibição pelo produto) da levedura pelo álcool produzido durante a fermentação. A concentração de SST se estabilizou em 1,5 °Brix para os B1 e B3, e para o B2 o teor de SST estabilizou em 2,0 °Brix, indicando o fim da fermentação.

Com relação ao teor alcoólico, a produção de etanol foi lenta nos três primeiros dias para os três biorreatores, não havendo expressiva produção de etanol. Do quarto ao oitavo dia de fermentação, a produção de etanol foi mais relevante para os B1 e B2, e do quarto ao décimo primeiro dia para o B3, haja vista que as leveduras já estavam adaptadas ao meio, passando a consumir regularmente o açúcar, e conseqüentemente convertendo-o a etanol. Observou-se também que o B3 atingiu 4,2 °GL em 5 dias de fermentação ao tempo que o B1 atingiu 4,1 °GL em um tempo de fermentação um pouco maior (6 dias). Outra comparação verificada foi no B3 que atingiu concentrações de etanol de 5,9 e 6,6 °GL no sétimo e oitavo dias de fermentação, respectivamente, enquanto o B2 atingiu as mesmas concentrações de etanol em tempos superiores, oitavo e décimo dias de fermentação, respectivamente, isso pode ter acontecido devido à influência da maior concentração inicial de substrato no B3 (20 °Brix).

Albuquerque et al. (2017) ao acompanharem o processo fermentativo de três formulações de suco de sapoti, verificaram que o biorreator que partiu de uma menor concentração inicial de substrato (15 °Brix), atingiu 5,9 °GL em um tempo inferior aos outros dois biorreatores e estabilizou nessa concentração de etanol, por outro lado os outros dois biorreatores atingiram concentrações de etanol superiores, 7,35 e 7,5 °GL ao final da fermentação, partindo de concentrações iniciais de substrato de 17 e 19 °Brix, respectivamente.

Figura 5.8 – Variação do pH em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



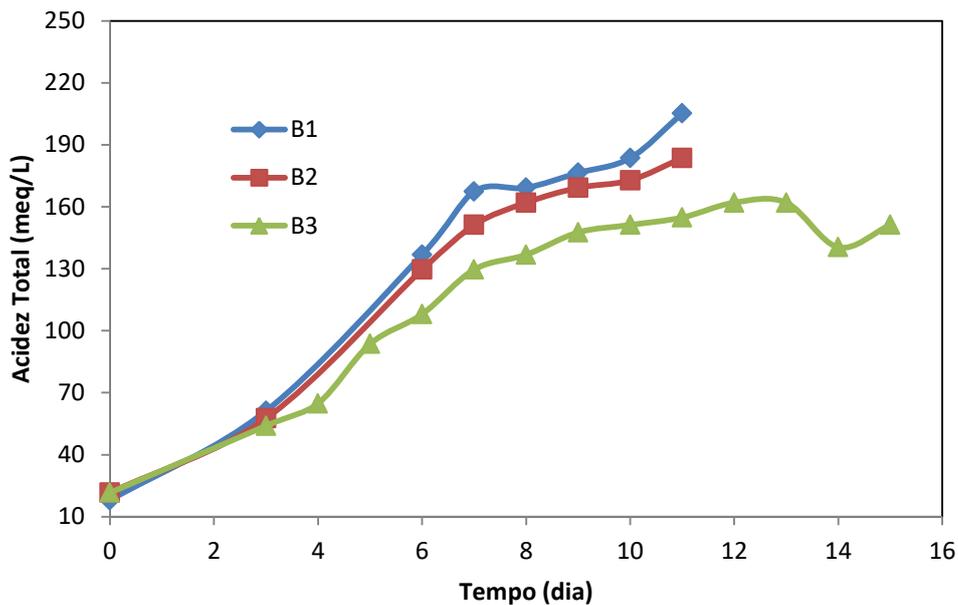
*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

O pH dos mostos de sapoti para as três formulações tiveram comportamento semelhante, diminuíram ao longo do período de fermentação, passando de 4,94 para 3,57 no B1; de 4,92 para 3,66 no B2 e de 4,95 para 3,79 no B3, ao final do processo. Este comportamento foi similar ao encontrado por Albuquerque et al. (2017), que observaram uma diminuição gradativa deste parâmetro durante a fermentação do suco de sapoti. Porém, diferente dos resultados obtidos por Pereira et al. (2014), para o fermentado misto de açaí e cupuaçu, onde houve elevação acentuada nos primeiros 4 dias de avaliação, havendo, após este tempo, a estabilização. Estudos com mosto de maracujá da caatinga, umbu e jabuticaba apresentaram, ao final da fermentação, pH abaixo do valor médio encontrado nesse estudo, de

3,21 (SANTOS et al., 2021); 3,43 (DANTAS e SILVA, 2017) e 3,20 (PIRES et al., 2018), respectivamente.

A manutenção de valores baixos de pH é considerada um fator muito importante para a estabilidade dos vinhos (MUNIZ et al., 2002), influenciando na qualidade do fermentado por ter ação bactericida e bacteriostática (TORRES NETO et al., 2006).

Figura 5.9 – Variação da acidez total titulável em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



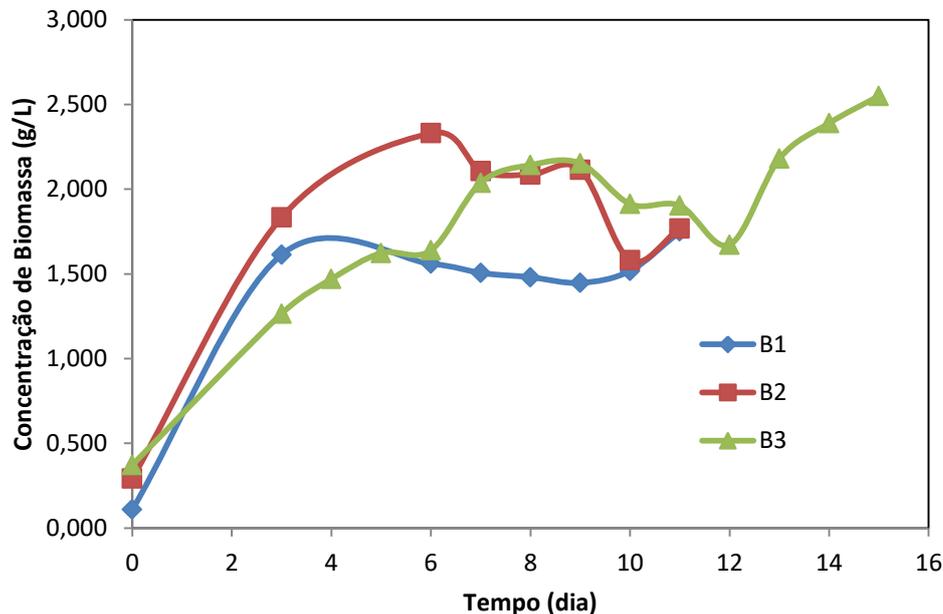
*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

Na Figura 5.9 é mostrada a variação da acidez total titulável para os biorreatores 1, 2 e 3. Foi observado que para os B1 e B2 a acidez total foi crescente do início ao fim da fermentação, passando de 18 para 205,2 meq/L para o B1 e de 21,6 para 183,6 meq/L para B2. Houve um grande aumento nos valores de acidez total devido ao fato de que, mesmo o produto final da fermentação sendo o etanol pode ocorrer desvios metabólicos e, durante esses desvios, há a produção de ácidos, principalmente ácidos orgânicos como o ácido acético, produto da fermentação acética (ALMEIDA et al., 2020). Para o B3 houve uma pequena variação da acidez que vinha crescente do início até o décimo segundo dia de fermentação, quando houve uma pequena queda da acidez no décimo quarto dia e um pequeno aumento logo em seguida, chegando ao fim do processo fermentativo com acidez total igual a 151,2 meq/L, essa pequena variação pode ter sido ocasionada pela quebra de algumas das moléculas de ácidos orgânicos formadas durante o processo fermentativo.

Em processos de fermentação alcoólica, como no de produção do fermentado de mangaba (ALMEIDA et al., 2020) e de fermentado de sapoti (ALBUQUERQUE et al., 2017) também houve aumento da acidez total do início ao fim do processo, variando de 0,50 a 0,70 % e 0,1 a 1,5 g/100 mL de ácido acético, respectivamente.

Na Figura 5.10 são apresentadas as curvas de crescimento celular para os três biorreatores.

Figura 5.10 – Concentração de biomassa em função do tempo de fermentação para os biorreatores 1, 2 e 3 (B1, B2 e B3)



*B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

Na Figura 5.10 foi observado que as três formulações partiram de uma baixa concentração de biomassa no início da fermentação e após três dias de fermentação atingiram valores muito acima do inicial, ao longo da fermentação a concentração de biomassa passou por variações, o B1 atingiu a concentração de 1,614 g/L no terceiro dia de fermentação e a partir do sexto dia de fermentação observou-se um declínio dessa concentração celular onde os valores vão caindo até o décimo dia de fermentação, no último dia de fermentação a concentração de biomassa aumenta, chegando a 1,750 g/L onde há estabilização do processo. Para o B2 percebeu-se uma curva ascendente de concentração celular até o sexto dia de fermentação onde nesse momento registra-se o pico máximo de concentração celular no valor de 2,33 g/L, após isso há um declínio da curva até o décimo dia de fermentação, no último dia a concentração de biomassa aumenta, chegando a 1,767 g/L momento em que o mosto se

estabiliza. Já para o B3 a curva ascendente de crescimento celular se dá até o nono dia de fermentação com 2,152 g/L, do nono ao décimo segundo dia de fermentação notou-se um declínio dessa curva que chega a atingir 1,672 g/L de biomassa, nos últimos três dias de fermentação, do décimo terceiro ao décimo quinto dia, a concentração de biomassa volta a aumentar e a fermentação se encerra com 2,550 g/L de células.

As células sofrem multiplicação, ocasionando o aumento populacional celular, indicando a viabilidade de células. Esse processo ocorre em 4 etapas onde a primeira é chamada de fase de adaptação do inóculo, passa por um tempo de ajuste às condições físicas, aos nutrientes, ocorre um período de latência e intensa atividade metabólica. Após adaptação das células é iniciado a multiplicação das células e a metabolização dos nutrientes (SILVA, 2009).

De acordo com Aquarone et al. (2001) a duração da fase de latência, onde não há reprodução celular, ou seja $X=X_0$ =constante, varia principalmente com a concentração do inóculo, com a idade do microrganismo (tempo de pré cultivo) e com o seu estado fisiológico.

A segunda etapa, chamada de exponencial, a multiplicação celular ocorre de forma intensa até a limitação nutritiva (açúcares). As próximas etapas chamadas de estacionária e de declínio, a velocidade de crescimento celular diminui ocorrendo equilíbrio de multiplicação e morte celular até que ocorra o declínio da concentração celular (SILVA, 2009).

5.4.2 Parâmetros Cinéticos da Fermentação para as Formulações Finais

Os dados obtidos nas análises de acompanhamento de processo (Tabela 5.6) foram utilizados para o cálculo dos parâmetros cinéticos da fermentação (Tabela 5.7).

Tabela 5.6 - Valores utilizados no cálculo dos parâmetros cinéticos para as formulações finais

| Parâmetros | B1 | B2 | B3 |
|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| S_0 (g/L) | 148,49 ^a ± 8,04 | 165,42 ^b ± 1,47 | 262,60 ^c ± 1,87 |
| S_F (g/L) | 5,78 ^a ± 0,33 | 7,11 ^b ± 0,18 | 9,71 ^c ± 0,25 |
| P_0 (g/L) | 0 | 0 | 0 |
| P_F (g/L) | 44,18 | 54,44 | 71,80 |
| X_0 (g/L) | 0,11 ^a ± 0,04 | 0,29 ^b ± 0,03 | 0,37 ^b ± 0,02 |
| X_F (g/L) | 1,75 ^a ± 0,13 | 1,77 ^a ± 0,13 | 2,55 ^b ± 0,18 |
| T_F (h) | 264 | 264 | 360 |

*Letras diferentes (a, b, c) indicam que há diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

*** S_0 = concentração de substrato inicial, S_F = concentração de substrato final, P_0 = concentração de etanol inicial, P_F = concentração de etanol final, X_0 = concentração de célula inicial, X_F = concentração de célula final e T_F = tempo final da fermentação.

Tabela 5.7 - Resultado dos cálculos dos parâmetros cinéticos para as formulações finais

| Parâmetros | B1 | B2 | B3 |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| $Y_{p/s}$ | 0,31 ^a ± 0,02 | 0,34 ^b ± 0,00 | 0,28 ^c ± 0,00 |
| $Y_{x/s}$ | 0,012 ^a ± 0,00 | 0,009 ^a ± 0,00 | 0,009 ^a ± 0,00 |
| P_p (g/L.h) | 0,17 | 0,21 | 0,20 |
| Ef (%) | 60,71 ^a ± 3,43 | 67,30 ^b ± 0,60 | 55,56 ^c ± 0,41 |

*Letras diferentes (a, b, c) indicam que há diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

*** $Y_{p/s}$ = fator de conversão de substrato em produto, $Y_{x/s}$ = fator de conversão de substrato em célula, P_p = produtividade em produto e Ef = eficiência da fermentação.

Os dados de $Y_{p/s}$ apresentados na Tabela 5.7 (0,31 para o B1 e 0,34 para o B2 e 0,28 para o B3) calculados para cada formulação são inferiores ao valor máximo teórico de conversão que é de 0,511 g/g e inferiores também a valores citados por Bessa et al. (2018) que obtiveram variação de 0,42 a 0,49 ao fermentarem suco de melão de duas espécies, por Alcântara e Menezes (2017) que reportaram 0,41 e 0,48 ao fermentarem suco de laranja com duas linhagens diferentes de *Saccharomyces cerevisiae* e por Muniz et al. (2002) que apresentaram rendimento em produto igual a 0,43 ao fermentarem suco de caju utilizando a mesma levedura utilizada nesse estudo. Entretanto, os valores obtidos nesse estudo foram semelhantes aos valores citados por Ponce et al. (2016) que ao fermentarem melão de cana-de-açúcar encontraram valores entre 0,33 – 0,29 e por Fonseca et al. (2020) que obtiveram um rendimento em produto de 0,35 no fermentado de manga “carlota”.

Para o $Y_{x/s}$ Putra e Abaseed (2018) (fermentação do xarope de tâmara); Riviera et al. (2017) (fermentação da cana-de-açúcar) e Ponce et al. (2016) (fermentação do melão de cana-de-açúcar), encontraram valores iguais a 0,22, 0,45 e 0,03, respectivamente. Os resultados obtidos nesse estudo para os três biorreatores foram de aproximadamente 0,01 demonstrando que o processo de fermentação para os mostos de sapoti resultou em uma baixa conversão de substrato em células.

Os rendimentos em produto e em células são funções da concentração de açúcares e da quantidade de inóculo. Existe uma relação entre oxigênio disponível, concentração de açúcares e produção de etanol com leveduras do gênero *Sacharomyces*. Quando o oxigênio está presente e há baixa concentração de açúcar (até 9 g/L) há um favorecimento pela cadeia respiratória em *Sacharomyces cerevisiae* (ciclo de krebs e fosforilação oxidativa), a qual é capaz de produzir mais energia celular através da síntese de ATP, que pode ser usada para outras finalidades dentro das células, como por exemplo, crescimento celular (AGGELIS e SHIOTANE, 2007).

No entanto, a fermentação desse estudo foi realizada em condição quase anaeróbica, mesmo que exista uma pequena quantidade de oxigênio dissolvido no meio não aerado no início da fermentação, ele é rapidamente consumido com produção de CO₂ e a condição semi-anaeróbica favorece a fermentação em etanol. Por outro lado, a concentração de açúcar também pode favorecer fermentação alcoólica. Altas concentrações de açúcares, mesmo em aerobiose, causam a degradação da mitocôndria, diminuição de ácidos graxos e esteróis, assim como enzimas do metabolismo oxidativo levando a repressão catabólica e estímulo da fermentação etanólica (PRONK, STEENSMA e DIJKEN, 1996; AGGELIS e SHIOTANE, 2007; SARRIS e PAPANIKOLAOU, 2016).

Com isso, é possível verificar a coerência com os resultados expressos na Tabela 5.7 para os rendimentos em produto e células, mostrando que em mostos com alta concentração de açúcares há uma maior conversão de açúcares em etanol e menores conversões de substrato em células.

Em relação a P_p , Almeida et al. (2020) encontraram um valor médio de 4,38 g/L.h enquanto Bessa et al. (2018) obtiveram valores iguais a 1,32 e 2,24 g/L.h, valores esses superiores aos encontrados nesse estudo que foram de 0,17 g/L.h para o B1, 0,21 g/L.h para o B2 e 0,20 g/L.h para o B3. Os valores baixos de P_p obtidos no presente trabalho se devem ao longo período de fermentação no desenvolvimento dos fermentados de sapoti, que tiveram duração de 264 horas para os B1 e B2 e 360 horas para o B3, contra 14 horas de fermentação no desenvolvimento do fermentado de mangaba por Almeida et al. (2020) e 24 horas e 30 horas para os fermentados de melão, elaborados por Bessa et al. (2018). O tempo de fermentação está diretamente ligado à temperatura do processo, neste estudo foi utilizada uma temperatura de 20°C o que proporcionou um processo fermentativo lento. Fonseca et al. (2020) na produção de fermentado de manga, reportaram produtividade igual a obtida no B1 desse estudo (0,17 g/L.h) onde o tempo de fermentação para o fermentado de manga foi de 288 h, semelhante ao tempo de fermentação para o B1 desse estudo que foi de 264 h.

Fazendo uma comparação entre as P_p resultantes dos B1, B2 e B3 observou-se que os B1 e B2 atingiram o fim da fermentação no mesmo tempo, porém a produtividade do B2 foi maior que a do B1 devido a maior concentração de etanol obtida ao fim do processo fermentativo, já entre o B2 e B3 os resultados foram muito próximos, apesar do B3 apresentar uma maior concentração final de etanol o resultado da P_p foi menor, devido ao tempo de fermentação para este biorreator que foi bem superior ao tempo total de fermentação do B2.

A eficiência da fermentação varia entre 0-100 % pois leva em conta o rendimento bioquímico. O valor da eficiência de fermentação para esse estudo foi de 60,71 % para o B1,

67,30 % para o B2 e 55,56 % para o B3, todos esses resultados ficaram abaixo dos valores encontrados na literatura, como na fermentação com caldo de cana-de-açúcar em que Riviera et al. (2017) obtiveram uma eficiência de 92,2 %, Fernandes (2016) demonstra valores de 95,97 % e 98,95 % para fermentados alcoólicos de físalis e pitaiá, Bessa et al. (2018) obtiveram uma eficiência de 82,67 % para o fermentado de melão cantaloupe e Alcântara e Menezes (2017) ao obterem fermentado de laranja utilizando o fermento FFERMIX, obtiveram uma eficiência de fermentação de 73,0 %.

5.4.3 Caracterização das Bebidas Oriundas das Formulações Finais

Os resultados das caracterizações dos produtos finalizados provenientes das formulações finais estão mostrados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 – Caracterização físico-química das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti proveniente das formulações finais

| Parâmetros | B1 | B2 | B3 | Legislação |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------|
| pH | 3,41 ^a ± 0,01 | 3,50 ^b ± 0,00 | 3,71 ^c ± 0,01 | - |
| SST (°Brix) | 1,50 ^a ± 0,00 | 2,00 ^b ± 0,00 | 3,00 ^c ± 0,00 | - |
| TA (% v/v) | 5,90 | 7,00 | 9,20 | 4 – 14 |
| AT (meq/L) | 165,60 ^a ± 6,24 | 147,60 ^b ± 6,24 | 122,40 ^c ± 6,24 | 50 – 130 |
| AV (meq/L) | 19,08 ^a ± 0,62 | 13,32 ^b ± 0,62 | 8,64 ^c ± 0,00 | Máx. 20 |
| AF (meq/L) | 146,52 ^a ± 5,95 | 134,28 ^a ± 5,95 | 113,76 ^b ± 6,24 | Mín. 30 |
| Cinzas (%) | 0,38 ^a ± 0,23 | 0,30 ^a ± 0,03 | 0,38 ^a ± 0,02 | - |
| EST (g/L) | 34,91 ^a ± 0,39 | 37,46 ^b ± 0,25 | 44,79 ^c ± 0,09 | - |
| Pressão (Atm) | - | 2,25 | - | 2-3 |
| AR (g/L) | 4,50 ^a ± 0,13 | 4,99 ^b ± 0,15 | 6,75 ^c ± 0,11 | - |
| ART (g/L) | 6,37 ^a ± 0,26 | 7,52 ^b ± 0,09 | 9,45 ^c ± 0,16 | - |
| ANR (g/L) | 1,86 ^a ± 0,16 | 2,53 ^b ± 0,10 | 2,70 ^b ± 0,26 | - |
| Teor de Açúcar (g/L) | 6,37 ^a ± 0,26 | 7,52 ^b ± 0,09 | 9,45 ^c ± 0,16 | >3 (doce ou suave) |
| CFT (mg EAG/100 mL) | 8,01 ^a ± 0,00 | 8,51 ^b ± 0,00 | 7,86 ^a ± 0,00 | - |

* Letras diferentes na linha (a, b, c) indicam que há diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

*** SST = sólidos solúveis totais. TA = teor alcoólico. AT = acidez total. AV = acidez volátil. AF = acidez fixa. EST = extrato seco total. AR = açúcar redutor. ART = açúcar redutor total. ANR = açúcar não redutor. CFT = compostos fenólicos totais.

Na Tabela 5.8 foi observado que o único biorreator que obteve todos os resultados dentro dos padrões especificados pela legislação Brasileira para fermentado de fruta gaseificado foi o produto do B3.

No que se refere o pH das bebidas finalizadas, houve diferença estatisticamente significativa entre os B1, B2 e B3, os valores de pH para os três produtos finais variaram entre 3,41 e 3,71. Estudos de outros fermentados de frutas apresentaram valores de pH semelhantes,

como: vinho da casca do abacaxi (3,35), fermentado de manga (3,49), fermentado alcoólico de maracujá da caatinga (2,99 e 3,21) (DINIZ, 2017; FONSECA et al., 2020; SANTOS et al., 2021).

O baixo pH da bebida atua diretamente sobre a estabilidade do vinho, visto que reduz a susceptibilidade ao ataque microbiano (SILVA et al., 2008). De acordo com Silva et al. (2006) quanto maior o pH do fermentado, maior a acidez volátil, a qual está relacionada com a contaminação do fermentado por bactérias acéticas. Esses autores também reportaram que uma maior acidez volátil está relacionada a um menor teor alcoólico.

O teor de SST encontrado nos produtos finalizados foram 1,5 °Brix para o B1, 2,0 °Brix para o B2 e 3,0 °Brix para o B3, para os B1 e B2 esses valores foram os mesmos encontrados ao fim da primeira fermentação, evidenciando que após a adição do *primer* as leveduras consumiram apenas o açúcar adicionado no mesmo, isso pode ser comprovado pelos valores de ART que após a caracterização das bebidas resultaram em valores semelhantes aos valores obtidos ao fim da primeira fermentação alcoólica, apresentados na Figura 5.6. Para esse parâmetro, houve diferença estatisticamente significativa entre todos os biorreatores.

Os valores de SST encontrado nesse estudo foram inferiores aos valores reportados por Bessa et al. (2018) que ao fermentarem suco de melão de duas espécies diferentes obtiveram bebidas com teor de SST de 3,0 e 5,0 °Brix, e ao valor reportado por Almeida et al. (2020) que foi de 7,5 °Brix ao desenvolver fermentado de mangaba.

O teor alcoólico após a carbonatação natural dos fermentados de sapoti teve uma pequena elevação em sua concentração, devido à ação das leveduras em consumirem o açúcar do *primer* para formação do CO₂ aprisionado na garrafa e etanol. Esse aumento no B1 foi de 5,6 no final da primeira fermentação para 5,9 % no produto finalizado, no B2 de 6,9 para 7,0 % e no B3 de 9,1 para 9,2 %. Outros autores ao produzirem fermentados de fruta encontraram teores de etanol no produto finalizado de 6,99 e 8,12 % para fermentado de maracujá da caatinga, 5,03 e 6,80 % para fermentados de melão e 6,30 % para fermentado de manga (SANTOS et al., 2021; BESSA et al., 2018; FONSECA et al., 2020).

Apesar da variação, todos os resultados encontram-se dentro do estabelecido pela legislação para fermentados de fruta, a qual regula valores entre 4 e 14 % v/v (BRASIL, 2012). As diferenças encontradas são devido às quantidades inicial e final de açúcar de cada processo de fermentação.

Para a acidez total titulável, o teste de tukey apresentou diferença estatisticamente significativa para todos os produtos, sendo o único produto com valor dentro do estabelecido

pela legislação Brasileira (50 a 130 meq/L), o B3 que apresentou acidez média de 122,4 meq/L. Os B1 e B2 apresentaram acidez média de 165,6 e 147,6 meq/L, respectivamente.

Dantas e Silva (2017), em um fermentado alcoólico de umbu, obtiveram 45,50 meq/L de acidez total, valor abaixo do mínimo especificado pela legislação, enquanto Fonseca et al. (2020), Barbosa et al. (2017) e Santos et al. (2021) relataram resultados acima do permitido em fermentados de manga (143,00 meq/L), jaboticaba (187,00 meq/L) e maracujá da Caatinga (429,86 a 527,50 meq/L), respectivamente.

Os resultados de acidez total titulável obtidos nesse estudo podem ter sido afetados pelo tempo de fermentação. Tal suposição também foi mencionada por Bessa et al. (2018) que, na produção de fermentados alcoólicos de melão das variedades amarelo (F1) e “cantaloupe” (F2), obtiveram acidez total em F1 (23,9 meq/L) inferior a F2 (53,10 meq/L), cuja fermentação durou 6h a mais e pode ter proporcionado aumento da concentração de ácidos orgânicos. Além disso, outra possível explicação para o alto valor encontrado foi a não realização da sulfitagem, o que neutralizaria uma fração dos ácidos orgânicos oriundos do próprio sapoti e dificultaria a contaminação por outros microrganismos competidores, caso fosse realizada (OLIVEIRA et al., 2012).

A acidez volátil do vinho é formada pelos ácidos voláteis. Além do ácido acético estão presentes outros ácidos graxos como: fórmico, butírico, propiônico, e outros. Estes são responsáveis pela desnaturação e modificação do sabor e aroma dos vinhos e o conhecimento dessa quantidade de ácidos é de vital importância, pois indica uma medida de deterioração microbiana, principalmente de microrganismos do gênero *Acetobacter* que pode transformar o vinho em vinagre, o baixo teor da acidez volátil indica a boa sanidade do vinho (AMERINE e OUGH, 1976; VOGT, 1972). Os resultados médios obtidos nesta pesquisa foram de 19,08 meq/L para o B1, 13,32 meq/L para o B2 e 8,64 meq/L para o B3, havendo diferença estatisticamente significativa entre todos os biorreatores, os valores de acidez volátil obtidos nesse estudo foram maiores que os encontrados por Dantas e Silva (2017) 5,51 meq/L em Fermentado de Umbu, Bessa et al. (2018) 4,59 meq/L em Fermentado de Melão amarelo e Santos et al. (2021) 5,53 a 6,67 meq/L em Fermentados de Maracujá da Caatinga, e menores que o encontrado por Fonseca et al. (2020) 19,24 meq/L em Fermentado de Manga, mas dentro do permitido pela legislação, ao qual permite um máximo de 20 meq/L (BRASIL, 2012).

A acidez fixa é a diferença entre a acidez total e a acidez volátil, ou seja, é o conjunto de ácidos não voláteis presentes no fermentado, como os ácidos málico, tartárico, cítrico, láctico, succínico entre outros os ácidos orgânicos. A acidez fixa dos fermentados de sapoti

gaseificados foram iguais a 146,52, 134,28 e 113,76 meq/L para os B1, B2 e B3, respectivamente, o B3 diferiu estatisticamente dos B1 e B2, os valores de acidez fixa foram menores que o fermentado de Maracujá-do-mato, 186,9 meq/L (FERREIRA et al., 2020), muito abaixo quando comparado aos Fermentados de Maracujá da Caatinga em dois tratamentos, 527,75 e 527,53 meq/L (SANTOS et al., 2019) e próximo ao valor reportado por Fonseca et al. (2020) que foi de 123,76 meq/L ao obter Fermentado de Manga.

As Concentrações de cinzas encontradas nos fermentados de sapoti foram 0,38 % ou 3,82 g/L, 0,30 % ou 3,02 g/L e 0,38 % ou 3,84 g/L, para os B1, B2 e B3, respectivamente, valores próximos aos 3,65 g/L encontrado por Dantas e Silva (2017) no fermentado de umbu e 0,44% encontrado por Pires et al. (2018) no fermentado de jabuticaba, e superiores ao valor de 1,71 g/L no fermentado da casca de abacaxi encontrado por Diniz (2017). Para os resultados de cinzas obtidos neste estudo, não houve diferenças estatisticamente significativas.

O extrato seco total do vinho corresponde ao peso do resíduo seco obtido após a evaporação dos compostos voláteis. Representa, portanto, a soma das substâncias que em determinadas condições físicas não se volatilizam. Essas condições devem ser estabelecidas de modo que esses compostos tenham uma alteração mínima. Entre os principais grupos que compõem o extrato seco total encontram-se os ácidos fixos, sais orgânicos e minerais, polialcoois, compostos fenólicos, compostos nitrogenados, açúcares e polissacarídeos (RIZZON e MIELE, 2002). Segundo Acquarone et al. (2001), vinhos que contêm menos de 20,00 g/L de extrato seco são considerados leves ao paladar. Para tal parâmetro, os fermentados de sapoti apresentaram valores médios iguais a 34,91 g/L, 37,46 g/L e 44,79 g/L para os B1, B2 e B3, respectivamente, sendo assim considerados encorpados. Para todos os biorreatores houve diferença estatisticamente significativa.

Silva et al. (1999) pesquisaram vinho de uva e relataram que o valor elevado de extrato seco está relacionado com a quantidade de partes sólidas da fruta obtida por maceração prolongada. O que pode explicar o fato de os valores de extrato seco diminuírem conforme a redução da concentração de sapoti nos fermentados.

A legislação brasileira não estabelece limites de extrato seco total nem para vinhos nem para fermentados de fruta. Comparando-se os resultados obtidos nesse estudo com os valores encontrados na literatura, estes foram superiores ao encontrado por Dantas e Silva (2017) em fermentado de umbu (22,59 g/L) e próximos ao encontrado por Diniz (2017) em fermentado da casca de abacaxi (44,02 g/L).

A pressão em Atm à 20 °C para estes fermentados de sapoti gaseificados foram de 2,25, estando dentro da faixa estabelecida pela legislação para fermentados de fruta gaseificados que especifica um limite de 1 a 3 Atm à 20 °C.

O teor de açúcar dos fermentados além de relacionar-se com a graduação alcoólica, permite a classificação dos vinhos gaseificados em seco (máx. 20 g/L), meio-seco ou meio doce (mín. 20,1 g/L e máx. 60 g/L) e doce (mín. 60,1 g/L). Já para fermentados de frutas, a legislação estabelece apenas seco (máx. 3,0 g/L) e doce ou suave (mín. 3,1 g/L) (BRASIL, 2019).

Os valores de açúcares obtidos para os fermentados de sapoti gaseificados encontram-se na Tabela 5.8 e mostram que de acordo com o valor de ART: 6,37; 7,52 e 9,45 g/L para os B1, B2 e B3, respectivamente, se comparados as especificações de vinhos gaseificados, os mesmos se enquadrariam em seco. Porém, comparando-os com as especificações para fermentados de fruta, são classificados como doce ou suave.

Nesse estudo, foram obtidos fermentados com conteúdo de açúcares redutores totais variando de 6,37 a 9,45 g/L, resultados superiores aos encontrados para o fermentado de umbu, com 1,76 g/L de açúcares totais (DANTAS e SILVA, 2017). Neves et al. (2020) encontraram 1,64 g/L no fermentado de caju, já Santos et al. (2019) encontraram valores bem superiores aos já mencionados (212,27 g/L para o Tratamento 1, usando a polpa de maracujá da caatinga em estágio de maturação intermediário) e (212,77 g/L para o tratamento 2, usando a polpa de maracujá da caatinga em estágio de maturação maduro), devido a adição intencional de sacarose às bebidas para obtenção de um fermentado doce ou suave de acordo com a legislação.

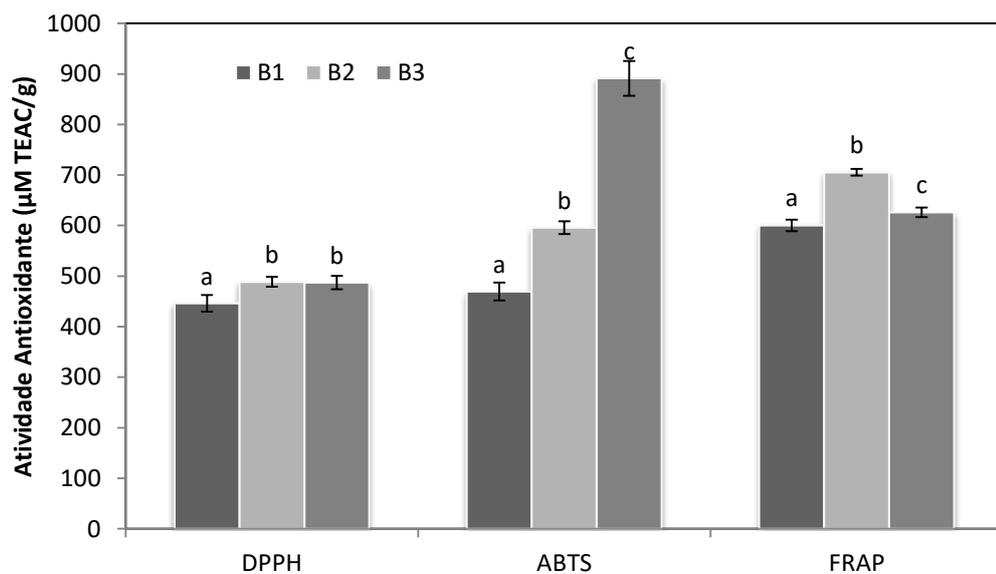
Para os açúcares redutores, os valores encontrados nesse estudo foram de 4,5 g/L para o B1, 4,99 g/L para o B2 e 6,75 g/L para o B3, valores superiores ao reportado por Dantas e Silva (2017) de 1,07 g/L. As diferenças existentes entre o teor de açúcares redutores dos fermentados relacionam-se ao fato de que fazem parte desse grupo, os açúcares fermentescíveis, glicose e frutose, que são originados pelo metabolismo do fruto, mais especificamente pela hidrólise enzimática da sacarose, formada no decorrer da assimilação de clorofila (OLIVEIRA, 2015). A fermentação destes açúcares origina a transformação do fruto em seu respectivo fermentado alcoólico. A fermentação alcoólica, pela ação das leveduras, transforma estes açúcares em etanol e CO₂.

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos presentes em diversos tipos de bebidas fermentadas e desejáveis, devido às diversas alegações de seus benefícios à saúde (ARRANZ et al., 2012).

Para os compostos fenólicos totais B1 e B3 não apresentaram diferença estatisticamente significativa, porém B2 diferiu das demais formulações. Os valores de fenólicos totais para os fermentados de sapoti gaseificados obtidos nesse estudo variaram de 7,86 a 8,51 mg EAG/100 mL, valores inferiores ao reportado por Ranjitha et al. (2015) que encontraram 30,0 e 40,2 mg/100 mL em fermentados de sapoti de duas espécies diferentes, além de Santos et al. (2021) que encontraram valores que variaram de 73,59 a 81,95 mg EAG/100 mL ao fermentarem maracujá da caatinga e Neves et al. (2021) que obtiveram 86,16 mg/100 mL no fermentado alcoólico de jabuticaba.

Os resultados das avaliações antioxidantes dos produtos finalizados provenientes das formulações finais estão mostrados na Figura 5.11.

Figura 5.11 - Potencial antioxidante das bebidas alcoólicas fermentadas gaseificadas de sapoti



* Letras diferentes na linha (a, b, c) indicam que há diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**B1 = mosto com concentração inicial de SST igual a 14 °Brix, B2 = mosto com concentração inicial de SST igual a 16 °Brix, B3 = mosto com concentração inicial de SST igual a 20 °Brix.

A capacidade antioxidante para os fermentados de sapoti gaseificados foi avaliada em três metodologias distintas, onde, para o método DPPH o B1 resultou em 445,91 µM TEAC/g ou 42,24 % de inibição do radical, para o B2 resultou em 488,75 µM TEAC/g ou 44,89 % e para o B3 resultou em 486,91 µM TEAC/g ou 44,94 %, os biorreatores 2 e 3 não apresentaram diferença estatisticamente significativa, porém o B1 diferiu estatisticamente dos B2 e B3 e observou-se que para este método o B2 apresentou maior capacidade antioxidante em relação aos demais.

Para o método FRAP o B1 resultou em 600,33 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 52,58 % de poder redutor, para o B2 resultou em 705,24 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 60,69 % e para o B3 resultou em 625,98 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 54,50 %, houve diferença estatisticamente significativa entre todos os biorreatores e observou-se que para este método o B2 novamente apresentou maior capacidade antioxidante em relação aos demais biorreatores.

Para o método ABTS o B1 resultou em 469,42 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 21,47 % de inibição do radical ABTS, para o B2 resultou em 596,04 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 25,18 % e para o B3 resultou em 891,21 $\mu\text{M TEAC/g}$ ou 34,25 %, houve diferença estatisticamente significativa entre todos os biorreatores e observou-se que no método ABTS o B3 apresentou maior capacidade antioxidante em relação às demais formulações.

É possível fazer uma comparação entre os resultados obtidos pelos métodos DPPH e ABTS, pois os dois se baseiam no mesmo princípio de inibição de radicais livres, com isso, observou-se que todos os fermentados, B1, B2 e B3, pelo método ABTS, apresentaram maior potencial antioxidante.

Para a metodologia DPPH, na literatura foram estudados fermentados de frutas, como o fermentado de jabuticaba que possui capacidade antioxidante de 6,854 $\mu\text{mol TEAC/L}$ (NEVES et al., 2021), inferior ao valor obtido nesse estudo, assim como os fermentados de caju oriundos das cultivares E 51 e CCP 1001 que apresentaram atividade antioxidante máxima de 7,13 e 10,66 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (SILVA e NERY, 2020). Osto e Leitão (2018) ao desenvolverem um melomel de jambolão, encontraram 47,26 % de inibição do radical DPPH, valor superior à capacidade antioxidante obtida para os biorreatores 1, 2 e 3. Adamenko et al. (2019) obtiveram valores que variaram de 2,78 a 8,42 $\mu\text{mol TEAC/mL}$ ao desenvolverem fermentado de maçã e cereja.

Para a metodologia FRAP, Santos et al. (2021) obtiveram fermentado de maracujá da caatinga oriundo do tratamento 2 (bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutos maduros sem diluição) com capacidade antioxidante de 7,61 $\mu\text{mol TEAC/mL}$ e Adamenko et al. (2019) ao desenvolverem fermentado de maçã e cereja observaram que a capacidade antioxidante variou de 7,20 a 13,5 $\mu\text{mol TEAC/mL}$, sendo inferiores aos resultados encontrados nesse estudo.

Na literatura científica foram encontrados fermentados alcoólicos de fruta, os quais foram analisados a sua capacidade de sequestrar o radical livre ABTS, por exemplo: Dangui et al. (2019) ao produzirem fermentado alcoólico de melancia com e sem a adição de própolis encontraram valores inferiores ao obtido nesse estudo, 36,61 $\mu\text{mol TEAC/100 mL}$ e 34,14 $\mu\text{mol TEAC/100 mL}$, respectivamente, já Adamenko et al. (2019) encontraram valores que

variaram de 4,93 a 12,2 $\mu\text{mol TEAC/mL}$ ao desenvolverem fermentado de maçã e cereja. Patra, Singdevsachan e Swain (2016) ao fermentarem o suco de sapoti encontraram de 21,00 a 30,00 % de inibição do radical ABTS, sendo um potencial antioxidante próximo aos valores obtidos nesse estudo (21,47 a 34,25 %).

A capacidade antioxidante está diretamente relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos de um produto. Dessa forma, espera-se que esta característica seja diretamente proporcional à concentração de compostos fenólicos. Mas isso nem sempre é observado na prática, pois além da concentração, o tipo de composto fenólico é decisivo para definir a capacidade antioxidante de um produto (ZHANG e TSAO, 2016), o que justifica o potencial antioxidante ter sido maior nos fermentados gaseificados de sapoti quando comparado ao caldo do fruto, que mesmo apresentando um teor de compostos fenólicos totais mais elevado possui menor potencial antioxidante.

6 CONCLUSÃO

- Neste trabalho foi possível desenvolver uma bebida alcoólica fermentada com gaseificação natural, a partir de uma segunda fermentação que ocorreu dentro da própria garrafa do fruto do sapotizeiro, com teor de etanol dentro do estabelecido pela legislação brasileira para fermentados de fruta.
- De acordo com os resultados obtidos na caracterização do caldo de sapoti, concluiu-se que o fruto possui boas características fermentescíveis, como alto teor de SST, pH dentro da faixa ótima de fermentação e baixa acidez total. O que o torna promissor na indústria de biotecnologia.
- A partir da análise dos resultados dos parâmetros cinéticos da fermentação observou-se que dentre todas as formulações, incluindo o teste preliminar, o biorreator 2 (B2) apresentou melhor desempenho, por apresentar maior rendimento em produto e menor tempo de fermentação.
- As bebidas fermentadas gaseificadas de sapoti, assim como o fruto do sapotizeiro mostraram ser uma fonte importante de compostos fenólicos totais e possuem bom potencial antioxidante.
- Dentre todas as bebidas produzidas, a formulação do biorreator 3 (B3) apresentou resultados da caracterização físico-química dentro dos limites estabelecidos pela legislação Brasileira vigente para fermentados de fruta.
- Todas as formulações, incluindo o teste preliminar resultaram em fermentados de sapoti gaseificados com concentração de açúcar redutor total acima de 3 g/L, o que classifica essas bebidas como fermentados de sapoti gaseificados suaves, segundo a Instrução Normativa nº 34, de 29/11/2012.

REFERÊNCIAS

- ACSELRAD, G.; KARAM, M. L.; DAVID, H. L.; ALARCON, S. **Consumo do álcool no Brasil**. Gilberta Acselrad (Org.). Série Cadernos FLACSO, n. 12, FLACSO Brasil. Rio de Janeiro, 2014.
- ADAMENKO, K.; KAWA-RYGIELSKA, J.; KUCHARSKA, A. Z.; PIÓRECKI, N. Fruit Low-Alcoholic Beverages with High Contents of Iridoids and Phenolics from Apple and Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) Fermented with *Saccharomyces bayanus*. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 69, n. 3, p. 307–317, 2019.
- AGGELIS, C. D.; SHIOTANE, T. Repair evaluation of concrete cracks using surface and through-transmission wave measurements. **Cement and concrete composites**, v. 29, n. 9, p. 700-711, 2007.
- ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, A. G. **Agricultura Tropical: Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**. *Agrícola*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), v.1, Brasília-DF, 2008.
- ALBUQUERQUE, M. D. B.; RODRIGUES, R. B.; SILVA, C. G.; LOPES, J. D. **Kinetics of alcoholic fermentation of sapodilla juice**. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, 21. Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, 12. Aracaju, 2017.
- ALCÂNTARA, V. C.; MENEZES, E. G. T. Vinho de Laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of Engineering and Exact Sciences – JCEC**, v. 3, n. 6, 2017.
- ALMEIDA, F. L. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; ALMEIDA, E. C.; SILVA, M. O.; ARAUJO, L. F. S.; SILVA, L. N.; DANTAS, R. V. C.; POLARI, I. L. B. Estudo do Processo Fermentativo de Bebidas Alcoólicas de Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Holos**, ano 36, v. 3, 2020.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidante activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 14, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; MOURA, C.F.H. **Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Série Frutas Nativas, 9. Jaboticabal: Funep, 2000. p. 55-58.
- AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Analisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1976. 158 p.
- AMORIM NETO, H. B.; LORENZI, M. S.; PAULILLO, S. C. L.; LOPES, M. L.; GIOMETTI, F. H.; FERREIRA, G. **Revista opiniões: Novos paradigmas na produção de etanol**, 2013. Disponível em: <https://sucroenergetico.revistaopinioes.com.br/revista/detalhes/6-novos-paradigmas-na-producao-de-etanol/>. Acesso em: 13 de Junho de 2021.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial**. Vol 4. São Paulo: Blucher, 2001.

- ARNOSO, B. J. M.; COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Revisão Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n.1, p.39-48, 2019.
- ARRANZ, S.; CHIVA-BLANCH, G.; VALDERAS-MARTÍNEZ, P.; MEDINA-REMÓN, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; ESTRUCH, R. Wine, Beer, Alcohol and Polyphenols on Cardiovascular Disease and Cancer. **Nutrients**, v.4, n. 12, p. 759–781, 2012.
- 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. **Revista ciência agrônômica**, v. 38, n. 4 , p. 377-384, 2007.
- ATALA D. I. P.; COSTA A. C.; MACIEL R. Kinetics of ethanol fermentation with high biomass concentration considering the effect of temperature. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 353-365, 2001.
- BALA. S; KUMAR, J. Studies on biochemical constituents of sapota (*Manilkara zapota* L.) at different stages of ripening during storage. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 9, n. 4. p. 2255-2260, 2017.
- BANDEIRA, C. T.; MESQUITA, A. L. M.; AQUINO, A. R. L.; CAVALCANTI JUNIOR, A. T.; SANTOS, F. J. S.; OLIVEIRA, F. N. S.; SOUSA NETO, J.; BARROS, L. M.; BRAGA SOBRINHO, R.; LIMA, R. N.; OLIVEIRA, V. H. Circular Técnica: O Cultivo do Sapoteiro. Fortaleza. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2003.
- BARBOSA, P. S.; ANDRADE, E. S.; JESUS, J. H.; BRONDANI, F. M. M.; VIEIRA, R. Análise e quantificação do teor alcoólico do fermentado artesanal de jabuticaba. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 16-32, 2017.
- BARRETT, D. M.; SOMOGYI, L. P.; RAMASWAMY, H. S. **Processing fruits: science and technology**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 2005.
- BARROS, M. F. **Estudo cinético da fermentação de bebida alcoólica de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. Maceió, 56 p. Trabalho de colusão de curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.
- BARTOWSKY, E. J.; XIA, D.; GIBSON, R. L.; FLEET, G. H.; HENSCHKE, P. A. Spoilage of bottled red wine by acetic acid bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, n. 5, p. 307-314, 2003.
- BERTAGNOLLI, S. M. M.; BERNARDI, G.; DONADEL, J. Z.; FOGAÇA, A. O.; WAGNE, R.; PENNA, N. G. Natural sparkling guava wine: volatile and physicochemical characterization. **Ciência Rural**, v. 47, n. 9, 2017.
- BESSA, M. A. D.; OLIVEIRA, E. N. A.; FEITOSA, B. F.; FEITOSA, R. M.; ALMEIDA, F. L. C.; OLIVEIRA NETO, J. O. Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.
- BIOTEC SUL Inologia Aplicada e Inovação. *Biolievito Bayanus Saccharomyces Bayanus*. **Bioteconsul Tecnologia em Alimentos**, 2021. Disponível em: <https://www.bioteconsul.com.br/produtos/leveduras> Acesso em: 12 Agosto de 2021.

BONIFÁCIO, K. F. **Produção de cerveja artesanal com polpa de sapoti (*Manilkara sapota* L.)**. Brasília, 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

BOTELHO, S. C. C.; HAUTH, M. R.; BOTELHO, F. M.; RONCATTO, G.; WOBERTO, C.; OLIVEIRA, S. S. Post-harvest quality of yellow passion fruit harvested at different maturation stages. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 62, 2019.

BRAMONT, W. B.; LEAL, I. L.; UMSZA-GUEZ, M. A.; GUEDES, A. S.; ALVES, S. C. O.; REIS, J. H. O.; BARBOSA, J. D. V.; MACHADO, B. A. S. Comparação da Composição Centesimal, Mineral e Fitoquímica de Polpas e Cascas de Dez Diferentes Frutas. **Revista Virtual Química**, v. 10, n. 4, 2018.

BRASIL. Decreto n. 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, D.F., 04 de junho de 2009.

BRASIL. Instrução normativa Nº 34, de 29 de Novembro de 2012. O ministro de estado da agricultura, pecuária e abastecimento, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Anexo do Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano nacional de desenvolvimento da fruticultura (PNDF)**. Brasília, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº 14, de 8 de Fevereiro de 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário oficial da união (DOU). Brasília, 2018.

BRASIL. Norma Interna DIPOV/SDA Nº 01, de 24 de Janeiro de 2019. **Consolidação das Normas de Bebidas, Fermentado Acético, Vinho e Derivados da Uva e do Vinho**. Brasília, 2019.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. rev. e aum. Lavras: UFLA, 2005.

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**, v. 28, n. 3, p. 577-584, 2004.

COIMBRA, L. M. P. L.; ARRUDA, H. A. S.; MACHADO, E. C. L.; SALGADO S. M.; ALBUQUERQUE, S. S. M. C.; ANDRADE, S. A. C. Sucrose diffusion coefficients during osmotic dehydration of sapodilla (*Achras zapota* L.). **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 449-452, 2001.

COSTA, L. N.; MORAIS, P. L. D.; LEITE, G. A.; ALMEIDA, M. L. B.; MIRANDA, M. R. A.; FERNANDES, P. L. O. Influência da adubação potássica na qualidade e no potencial antioxidante do sapoti em diferentes estádios de desenvolvimento. **Revista Ceres**, v. 64, n.4, p. 419-425, 2017.

- CÔTÉ, J.; CAILLET, S.; DOYON, G. Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 50, n. 7, p. 666-79, 2010.
- CURRY, A. **História do consumo do álcool ao longo dos tempos**. National geographic, 2020. Disponível em: <https://nationalgeographic.pt/historia/grandes-reportagens/1180-a-historia-do-consumo-do-alcool-ao-longo-dos-tempos>. Acesso em: 02 Julho de 2021.
- DANGUI, A. Z.; SILVA, A. M.; RANCHEL, B. V.; KWIATKOWSKI, N.; MULLER, S. B.; LIMA, K. P. Elaboração de Fermentado Alcoólico de Melancia (*Citrullus lanatus*) com Própolis e Verificação dos Compostos Fenólicos e Antioxidantes. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, v. 4, n. 2, 2019.
- DANTAS, C. E. A.; SILVA, J. L. A. Fermentado Alcoólico de Umbu: Produção, Cinética de Fermentação e Caracterização Físico-Química. **Holos**, ano 32, v. 02, 2017.
- 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**, v. 23, n. 3, p. 342, 2003.
- DINIZ, M. P. F.; PINHEIRO, A. S. **Produção e Caracterização Físico-Química de Fermentado de Abacaxi**. In: Encontro Nacional de Tecnologia Química, 6, Maceió, 2013.
- DINIZ, M. P. F. **Aproveitamento da casca de abacaxi no preparo de fermentado alcoólico**. São Cristóvão, 27 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia Agroecológica) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Sergipe – São Cristóvão, 2017.
- DORTA, C. **Sinergismo entre sulfito, ácido láctico, pH e etanol na fermentação alcoólica de *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 e M-26**. Rio Claro, 144 p. Tese (Doutorado em ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.
- EGLINTON, J. M.; MCWILLIAN, S. J.; FOGARTY, M. W.; FRANCIS, I. L.; KWIATKOWSKI, M. J.; HOJ, P. B.; HENSCHKE, P. A. The effect of *Saccharomyces bayanus*-mediated fermentation on the chemical composition and aroma profile of Chardonnay wine. **Journal of Grape and Wine**, v. 6, n. 3, p. 190–196, 2000.
- EMBRAPA. **Ciência que transforma: Resultados e impactos positivos da pesquisa agropecuária na economia, no meio ambiente e na mesa do brasileiro**. Embrapa em números / Embrapa, Secretaria Geral, Gerência de Comunicação e Informação. p. 140. Brasília, DF, 2020.
- ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. **Analytica chimica acta**, v. 427, n. 1, p. 119–127, 2001.
- FAGUNDES, D. T. O.; SILVEIRA, M. L. R.; SANTOS, C. O.; SAUTTER, C. K.; PENNA, N. G. **Fermentado Alcoólico de Fruta: Uma Revisão**. In: 5º Simpósio de Segurança Alimentar, Alimentação e Saúde, Bento Gonçalves, 2015.
- FAO. **Organização das nações unidas para a agricultura e alimentação**. Divisão de estatística. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 08/11/2021.

- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2^a. ed. Artmed, 2006.
- FELLOWS, P. J. **Fermentação**. In: Tecnologia do Processamento de Alimentos. 2^a. ed. Artmed, 2008.
- FERNANDES, A. C. F. **Produção e caracterização de fermentado alcoólico e vinagre de fisalis e pitaia como estratégia de aproveitamento tecnológico**. Lavras, 109 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- FERREIRA, L. G.; FONSECA, A. A. O.; NOVAIS JÚNIOR, M. M.; LIMA, J. G. F.; JESUS, R. S.; HANSEN, D. S. Desenvolvimento, avaliação sensorial e da estabilidade físico-química de um fermentado alcoólico de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata Mast.*) durante o armazenamento. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 58064-58078, 2020.
- FONSECA, A. A. O.; LIMA, J. G. F.; SILVA, S. M. P. C.; COSTA, M. A. P. C.; HANSEN, D. S.; BARBOSA, G. V. V.; JESUS, R. S. Produção, caracterização e avaliação sensorial de fermentado alcoólico de manga (*Mangifera indica L.*) variedade “Carlota”. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 46176-46192, 2020.
- FREIRE, B. R.; LEMES, D. S.; MORAES, A. S. S.; GRIS, E. F.; CHAKER, J. A.; ORSI, D. C. Caracterização físico-química de cervejas artesanais de atemoia (*Annona cherimoia Mill.* x *Annona squamosa L.*) e de sapoti (*Manilkara sapota L.*). **Revista Agrarian**, v. 13, n. 48, p. 280-287, 2020.
- GARRUTI, D. S.; CASIMIRO, A. R. S.; ABREU, F. A. P. **Processo Agroindustrial: Elaboração de Fermentado de Caju**. Comunicado Técnico 82. Fortaleza – CE: Embrapa, 2003.
- GERUM, A. F. A. A.; SANTOS, G. S.; SANTANA, M. A.; SOUZA, J. S.; CARSOLO, C. E. L. **Fruticultura Tropical: potenciais riscos e seus impactos**. Documento 232. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2019.
- GORAYEB, T. C. C.; MARTINS, F. H.; COSTA, M. V. C. G.; COSTA JUNIOR, J. G.; BERTOLIN, D. C., DEZANI, A. A. **Estudo das perdas e desperdício de frutas no Brasil**. In: XI Simpósio Nacional de Tecnologia em Agroindústria, (Sintagro), v. 11, n. 1, p. 214-222. Ourinhos-SP, 2019.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure - activity relationships. **The journal of nutrition and biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572-584, 2002.
- HORNSEY, I. S. **The chemistry and biology of winemaking**. Royal Society of Chemistry, 2007.
- IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4^a ed. [1^a. ed. Digital]. São Paulo(SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de Dados Agregados. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**, Rio de Janeiro: IBGE, 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares**, Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

- LAGO, R. C. A.; MAIA, M. L. L.; MATTA, V. M. **O sabor das frutas tropicais no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 49 p.
- LAPORTA, T. **Brasil é o 10º maior mercado de vodca, a bebida ‘anfitriã’ da copa. G1**. 2018. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/noticia/brasil-e-o-10-maior-mercado-de-vodca-a-bebida-anfitriã-da-copa.ghtml>. Acesso em: 04/09/2020.
- LEÃO, R. M.; AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005.
- LEE, P. R.; TAN, R. M.; YU, B.; CURRAN, P.; LIU, S. Q. Sugars, organic acids, and phenolic acids of exotic seasonable tropical fruits. **Nutrition and Food Science**, v. 43, n. 3, p. 267–276, 2013.
- LI, H.; WANG, X.; LI, Y.; LI, P. WANG, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, v. 112, n. 12, p. 454–460, 2009.
- LIGER-BELAIR, G.; MARCHAL, R.; ROBILLARD, B.; VIGNES-ADLER, M.; MAUJEAN, A.; JEANDET, P. Study of effervescence in a glass of champagne: frequencies of bubble formation, growth rates, and velocities of rising bubbles. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 50, n. 3, p.317-323, 1999.
- LIGER-BELAIR, G.; LEMARESQUIER, H.; ROBILLARD, B.; DUTEURTRE, B.; JEANDET, P. The secrets of fizz in champagne wines: a phenomenological study. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, p.88-92, 2001.
- LIM, W. S.; RABETA, M. S.; UTHUMPORN, U. Development of functional beverage from Sapodilla (*Manilkara Zapota* L.) fruit. **Food Research**, v. 2, n. 2, p. 163-170, 2018.
- LIMA, U. A., BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. **In: Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.
- LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas Brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.
- LUZ, S. R. S.; ALVES, M. S.; ARAÚJO, M. C.; JORGE, M. B.; SOUSA, N. L.; COIMBRA, L. M. P. L. Elaboração e análise sensorial de iogurte sabor sapoti (*Manilkara zapota* L.). **Caderno de ciências Agrárias**, v. 7, p. 01-07, 2019.
- MARTINS, C. A. P. **Avaliação do efeito do inóculo e do perfil de alimentação do mosto na produção em escala piloto e industrial de etanol**. São Carlos, 86 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
- MENDONÇA, V. Z.; VIEITES, R. L. Physical-chemical properties of exotic and native Brazilian fruits. **Acta Agronômica**, v. 68, n. 3, p. 175-181, 2019.
- MESQUITA, F. **Sapoti: o que é, para que serve e como consumir**. Diário do Nordeste, 2021. Disponível em: <https://diariodonordeste.verdesmares.com.br/ser-saude/sapoti-o-que-e-para-que-serve-e-como-consumir-1.3162010>. Acesso em: 02/03/2022.

MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MONTEIRO, G. S.; PEREIRA, T. S.; SILVA, V. M. A.; RIBEIRO, V. H. A.; CABRAL, M. B.; LUIZ, M. R.; ALMEIDA, R. L. J. SANTOS, N. C.; MONTEIRO, Y. G.; LIMA, S. E. R. Caracterização físico-Química e Perfil de Açúcares da Polpa de Sapoti (*Manilkara zapota* L.). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, 2020.

MORAIS, M. R. **Estudo sobre interações entre leveduras *Saccharomyces cerevisiae* nas fermentações em batelada alimentada em altas temperaturas**. Araraquara, 134 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

MORAIS, A. R. S. **Avaliação do potencial antioxidante do sapoti (*Manilkara zapota* L.)**. João Pessoa, 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine chemistry and biochemistry**. New York (USA): Springer, 2009.

MURNISYAZWANI, J.; RABETA, M. S. Antioxidant and antimicrobial activity of sapodilla (*Manilkara zapota* L.) fresh, juice and bar. **Food Research**, v. 3, n. 5, p. 400-406, 2019.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P.; NASSU, R. T.; FREITAS, C. A. S. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA)**, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.

NEVES, W. B. P.; HOLANDA JÚNIOR, L. M.; MELO, R. P. F.; OLIVEIRA, M. N. M.; CARMO, S. K. S. Produção e Caracterização Físico-Química do Fermentado de Caju. **Brazilian Journal Development**, v. 6, n. 9, p. 68106-68120, 2020.

NEVES, N. A.; STRINGHETA, P. C.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S. Elaboração e Caracterização de Fermentado Alcoólico de Jaboticaba (*Plinia Jaboticaba*) produzido artesanalmente. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, 2021.

OLIVEIRA, E. R. **Desenvolvimento de Bebida Alcoólica Fermentada à Base de Jambolão e Caldo de Cana-de-açúcar**. Goiânia, 149 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

OLIVEIRA, L. P. **Seleção e aproveitamento biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para a elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada**. Manaus. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.

OLIVEIRA, L. A.; LORDELO, F. S.; TAVARES, J. T. Q.; CAZETTA, M. L. Elaboração de bebida fermentada utilizando calda residual da desidratação osmótica de abacaxi (*Ananas comosus* L.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, n. 1, p. 702-712, 2012.

OLIVEIRA, L. S.; RODRIGUES, D. C.; LOPES, M. M. A.; MOURA, C. F. H.; OLIVEIRA, A. B.; MIRANDA, M. R. A. Changes in postharvest quality and antioxidant metabolism during development and ripening of sapodilla (*Manilkara zapota* L.). **International Food Research Journal**, v. 24, n. 6, p. 2427-2434, 2017.

- OSTO, S. S. M. D.; LEITÃO, A. M. **Bebida fermentada a base de mel: melomel de jambolão**. 2018. Anais do 10º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão – SIEPE. Disponível em: https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arg_trabalhos/18218/seer_18218.pdf Acessado em: 01/11/2021.
- PANESAR, P. S.; JOSHI, V. K.; BALI, V.; PANESAR, R. Technology for production of fortified and sparkling fruit wines. **Science and Technology of Fruit Wine Production**. Elsevier. Cap. 12, p. 487-530, 2017.
- PARENTE, G. D. L.; ALMEIDA, M. M.; SILVA, J. L.; SILVA, C. G.; ALVES, M. F. Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi ‘pérola’ e caracterização da bebida. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 2, p. 230-247, 2014.
- PATRA, J. K.; SINGDEVSACHAN, S. K.; SWAIN, M. R.; Biochemical composition and antioxidant potential of fermented tropical fruits juices. **Agro Food Industry Hi Tech**, v. 27, n. 4, p. 29-33, 2016.
- PEREIRA, A. S.; COSTA, R. A. S.; LANDIM, L. B.; SILVA, N. M. C.; REIS, M. F. T. Production of alcoholic fermented mixed pulp and açaí cupuaçu: kinetic aspects, physicochemical and sensory. **Revista brasileira de tecnologia agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1216-1226, 2014.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.
- PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 6, p. 59, Rio de Janeiro: IBDF. 1969.
- PIRES, J. A.; ARTHUR, V.; GUTIERREZ, E. M. R.; HARDER, M. N. C. Avaliação dos parâmetros físico-químicos de fermentado de jabuticaba caseiro. **Bioenergia em revista: diálogos**, ano 8, n. 1, p.19- 27, 2018.
- PONCE, G. H. S. F.; NETO, J. M.; JESUS, S. S.; MIRANDA, J. C. C.; FILHO, R. M.; ANDRADE, R. R.; MACIEL, M. R. W. Sugarcane Molasses Fermentation with in situ gas stripping using low and moderate sugar concentrations for ethanol production: Experimental data and modeling. **Biochemical Engineering Journal**, n. 110, p. 152-161, 2016.
- PRONK, J. T.; STEENSMA, H. Y.; DIJKEN, J. P. V. Pyruvate Metabolism in *Sacharomyces cerevisiae*. **Yesat**, v. 12, n. 16, 1996.
- PUTRA, M. D.; ABASAEED, A. E. A More Generalized Kinetic model for binary sbstrates fermentations. **Process Biochemistry**, v. 75, p. 31-38, 2018.
- RAMOS, A. R. P.; AMARO, A. C. E.; MACEDO, A. C.; SUGAWARA, G. S. A.; EVANGELISTA, R. M.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Qualidade de frutos de tomate ‘giuliana’ tratados com produtos de efeitos fisiológicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3543-3552, 2013.

RANJITHA, K.; NARAYANA, C. K.; ROY, T. K.; JOHN, A. P. Production, quality and aroma analysis of sapodilla (*Manilkara achras* (Mill) Fosb.) wine. **Journal of Applied Horticulture**, v. 17, n. 2, p. 145-150, 2015.

REZENDE, L. C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia**. Salvador, 118 p. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

RIVIERA, E. C.; YAMAKAWA, C. K.; SAAD, M. B. W.; ATALA, D. I. P.; AMBROSIO, W. B.; BONOMI, A.; JUNIOR, J. N.; ROSSELL, C. E. V. Effect of Temperature on Sugarcane Ethanol Fermentation: Kinetic Modeling and Validation Under Very-high-gravity Fermentation Conditions. **Biochemical Engineering Journal**, n. 119, p. 42-51, 2017.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Cabernet Franc para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 249-255, 2001.

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.

ROCHA, N. G. **Elaboração de fermentado alcoólico misto de Maracujá (*Passiflora edulis*) e Beterraba (*Beta vulgaris* L.)**. Teresina, 46 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Teresina, 2018.

ROESLER, R.; MALTA, L. M.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, M. G. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Comunicado técnico 125, ISSN 1679-6535, Fortaleza-CE, 2006.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. Comunicado técnico 127, ISSN 1679-6535, Fortaleza-CE, 2007a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}**. Comunicado técnico 128, ISSN 1679-6535, Fortaleza-CE, 2007b.

SALES, E. Aspectos da história do álcool e do alcoolismo no Século XIX. **Periódicos UFPE**. Ano VII, n. 7, 2010.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the anti-radical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANJAD, N. Os jardins botânicos luso-brasileiros. **Ciência e Cultura**, v. 62, n. 1, p. 20-22, 2010.

- SANTOS, S. C.; ALMEIDA, S. S.; TOLEDO, A. L.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. Elaboração e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). **Brazilian journal of food technology**, 5º SIPAL, p. 47-50, 2005.
- SANTOS, S. K. B. **Identificação de leveduras dentro do complexo *Saccharomyces* “sensu stricto” por PCR-fingerprinting**. Recife, 72 p. Dissertação (Mestrado de Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- SANTOS, R. T. S.; RYBKA, A. C. P.; CASTRO, C. D. P. C.; AIDAR, S. T.; BIASOTO, A. C. T.; SILVA, F. L. H. Desenvolvimento de fermentado alcoólico de maracujá da Caatinga a partir de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação. **In: ENCONTRO NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA**, 5, Bananeiras, PB. Anais eletrônico. Campinas: GALOA, 2019.
- SANTOS, E. A. S.; MOREIRA, T. L.; ROSA, R. D. A.; SOUZA, D. S.; PEREIRA, E. S.; MÓES, R. S.; FONTES, R. F.; REIS, M. F. T. Bebida Alcoólica de goiaba (*Psidium guajava* L.): Processamento e Caracterização. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 31785-31798, 2020a.
- SANTOS, E. F.; RAMOS, R. S.; OLIVEIRA, S. C. P.; FERREIRA, T. O.; CARVALHO, V. M. T.; SILVA, A. E. Caracterização Física e Físico-química do Fruto Sapoti oriundo de Santa Isabel do Pará. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 35181-35192, 2020b.
- SANTOS, E. R.; SOUZA, F. T. C. Desenvolvimento de bebida fermentada utilizando a polpa de pinha (*Annona squamosa* L.) como alternativa para excedentes de colheita. **Revista brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 14, n. 1, p. 3191-3211, 2020.
- SANTOS, R. T. S.; BIASOTO, A. C. T.; RYBKA, A. C. P.; CASTRO, C. D. P. C.; AIDAR, S. T.; BORGES, G. S. C.; SILVA, F. L. H. Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). **LWT – Food Science and Technology**, v. 148, 2021.
- SANTOS, V. S. Sapoti. **Mundo Educação**. 2021. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/sapoti>. Acesso em: 23 Julho de 2021.
- SARRIS, D.; PAPANIKOLAOU, S. Biotechnological production of etanol: Biochemistry, processes and Technologies. **Engineering in Life Sciences**, v. 16, n. 4, 2016.
- SATIM, M.; SANTOS, R. A. M. Estudo das características nutricionais das polpas de mangas (*mangifera indica* L.) variedade tommy Atkins. VI EPCC. **Encontro Internacional de Produção Científica**, Cesumar, 2009.
- SCHAFRANSKI, K. **Extração e caracterização de compostos fenólicos de folhas de amoreira preta (*Morus Nigra* L.) e encapsulamento em esferas de alginato**. Ponta Grossa, 102 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2019.
- SILVA, T. G.; REGINA, M. A.; ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A.; CHALFUN, N. N. J. Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais. I. Caracterização analítica e fatores tecnológicos dos vinhos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 3, p. 632-637, 1999.
- SILVA, P. H. A.; FÁRIA, F. C.; TONON, B.; MOTA, S. J. D.; PINTO, V. T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria Jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 595-600, 2008.

- SILVA, C. G. **Otimização do processo de produção da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares**. Campina Grande, 237 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.
- SILVA, N. S.; SILVA, B. A.; SOUZA, J. H. P.; DANTAS, V. V.; REIS, K. B.; SILVA, E. V. C. Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir do suco de manga rosa (*Mangifera indica* L.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, p. 367-378, 2011.
- SILVA JÚNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; MOURA, R. J. M. O sapatizeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 86-99, 2014.
- SILVA, L. R. I.; PEREIRA, T. S.; SILVA, V. M. A.; SILVA, G. M.; LUIZ, M. R.; SANTOS, N. C.; ALMEIDA, R. L. J.; RIBEIRO, V. H. A.; MUNIZ, C. E. S.; EDUARDO, R. S.; SILVA, R. A. Propriedades termofísicas da polpa de seriguela em diferentes estádios de maturação. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, 2020.
- SILVA, J. C.; NERY, I. A. Produção e avaliação comparativa da atividade antioxidante de bebidas fermentadas de caju sob diferentes condições de pH e temperatura. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 12, p. 91-102, 2020.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SOARES, G. G. G. **Caracterização físico-química das polpas do fruto do sapatizeiro (*Manilkara sapota*, L.)**. João Pessoa, 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.
- SOUZA, R. L. **Cachaça, vinho, cerveja: da Colônia ao século XX**. CPDOC/FGV Estudos Históricos, Rio de Janeiro, nº 33, 2004.
- SOUSA, E. P.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.; SILVA, L. M. M.; SOUSA, F. C. Caracterização físico-química da polpa de sapatite oriunda do estado do Ceará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1. p. 45-48, 2012.
- SRIMACHAI, T.; NUTHITIKUL, K.; O-THINK, S.; KONGJAN, P.; PANPONG, K. Optimization and Kinetic Modeling of Ethanol Production from Oil Palm Frond Juice in Batch Fermentation. **Energy procedia**, n. 79, p. 111-118, 2015.
- TEIXEIRA, J. F. **A levedura *Saccharomyces cerevisiae*: caracterização do gênero, domesticação e importância na composição de vinhos**. Belo Horizonte, 55 p. Monografia (Especialização em Microbiologia Aplicada) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- THATIPAMALA, R.; ROHAI, S.; HILL, G. A. Effects of high product and substrate inhibition on the kinetics in biomass and products yields during ethanol batch fermentation. **Biotechnology Bioengineering**, v.40, n.2, p. 289-297, 1992.
- TORIJA, M. J.; ROZÈS, N.; POBLET, M.; GUILLAMÓN, J. M.; MAS, A. Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: comparison between two different wineproducing areas over a period of three years. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 79, p. 345-352, 2001.

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**, v. 29, n. 3, p 489-492, 2006.

TURECK , C.; LOCATELI, G.; CORRÊA, V. G.; KOEHNLEIN, E. A. Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n.1, p. 30-42, 2017.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico: Histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. Fortaleza. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2013.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. Vol. 1, 2ª. ed. São Paulo: Blucher. 2016.

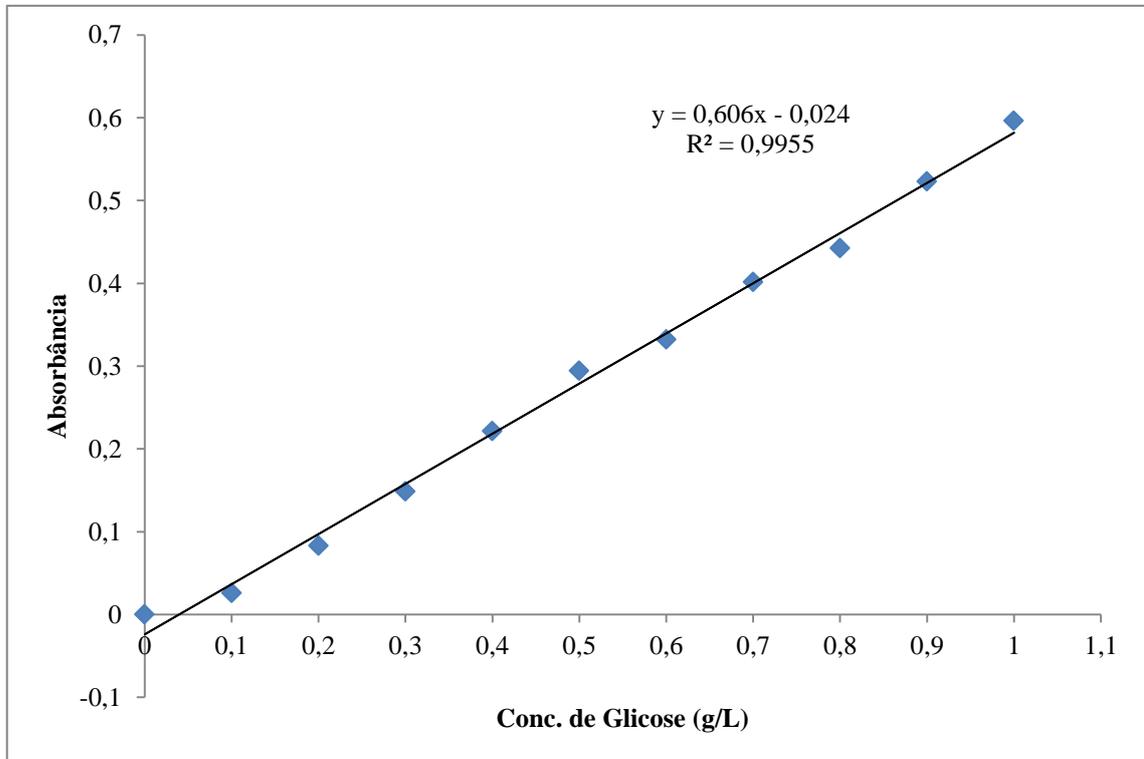
VOGT, E. **La fabricacion de vinos**. Zaragoza: Acribia, 1972.

WALKER, G. M. The roles of magnesium in biotechnology. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 311-354, 1994.

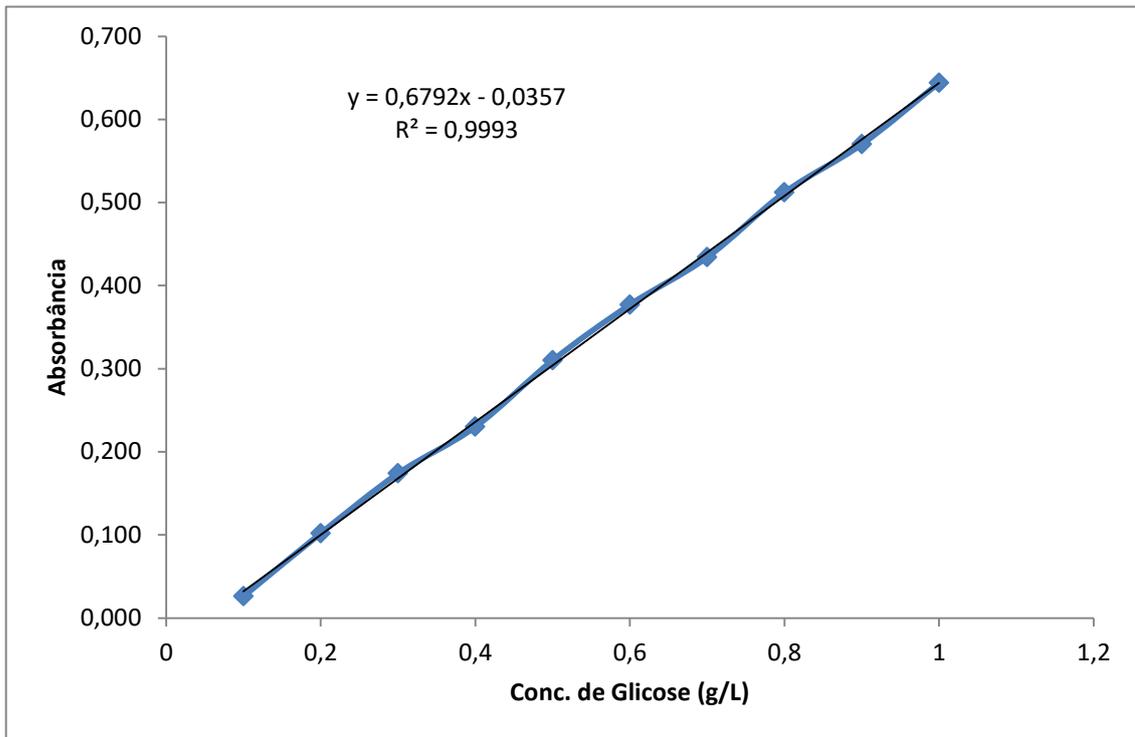
WARD, O. P. **Biología de La fermentación: principios, procesos y productos**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1991.

ZAMBONELLI, C. **Microbiologia e biotecnologia dei vini**. 3ª. ed. Itália: EdagricoleNew Business Media Editora, 2003.

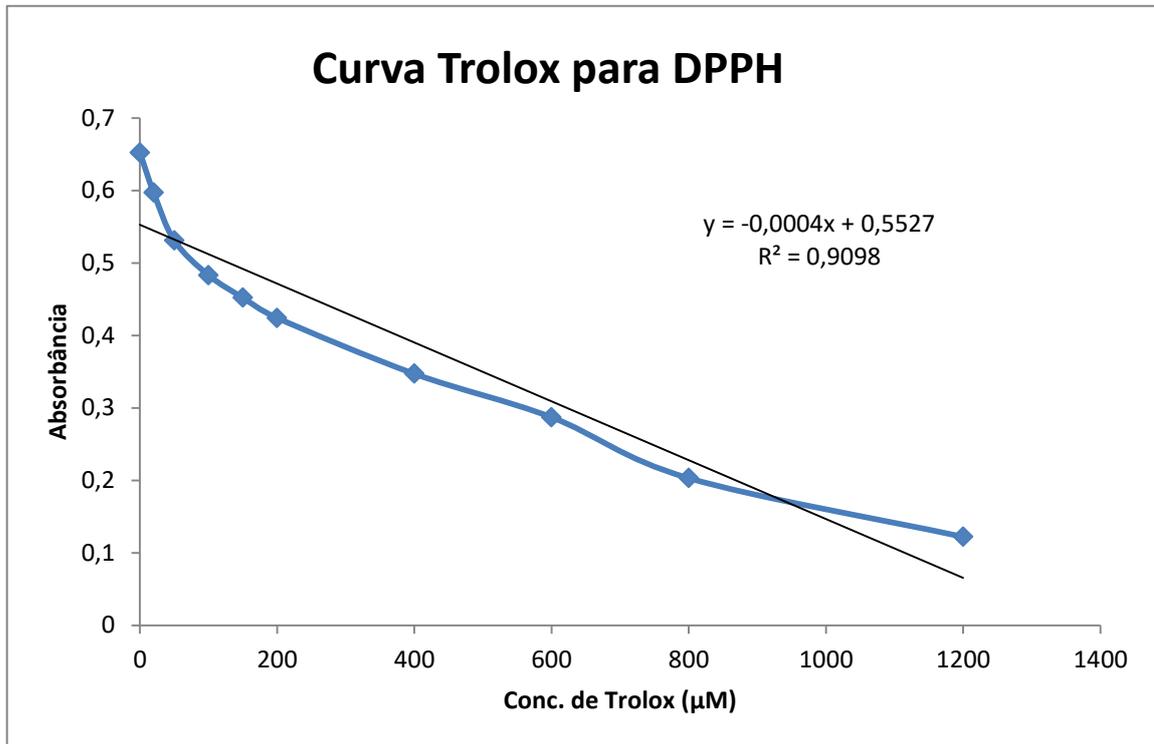
ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33-42, 2016.

APÊNDICES**APÊNDICE A** – Curva-padrão de glicose utilizada na análise de AR, ART e ANR do acompanhamento cinético do teste preliminar

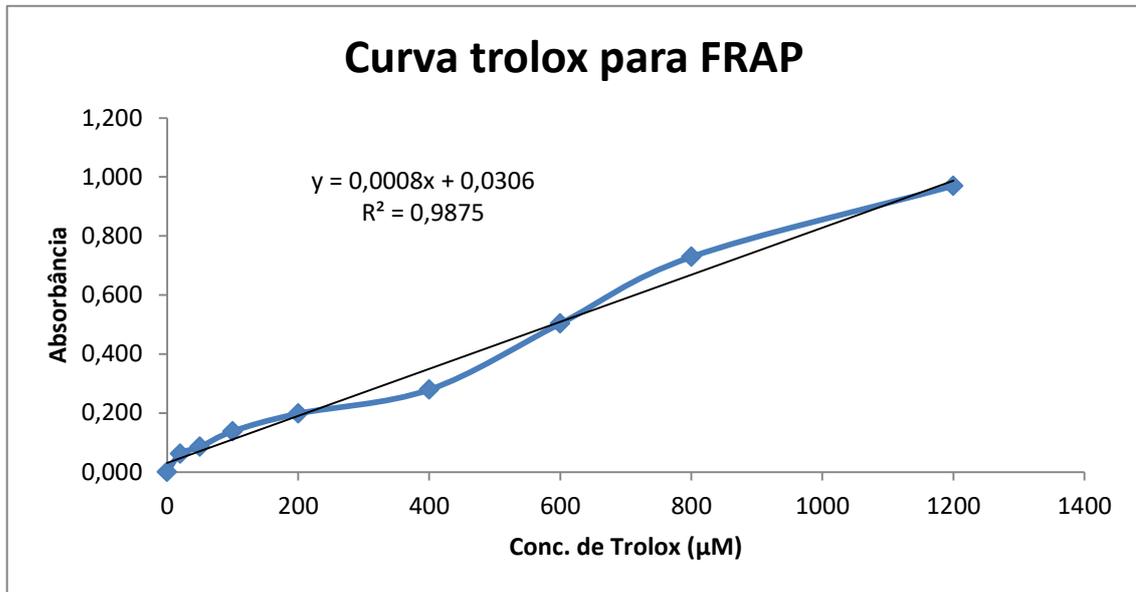
APÊNDICE B – Curva-padrão de glicose utilizada na análise de AR, ART e ANR do acompanhamento cinético das formulações finais, da caracterização do caldo de sapoti e caracterização dos produtos finalizados



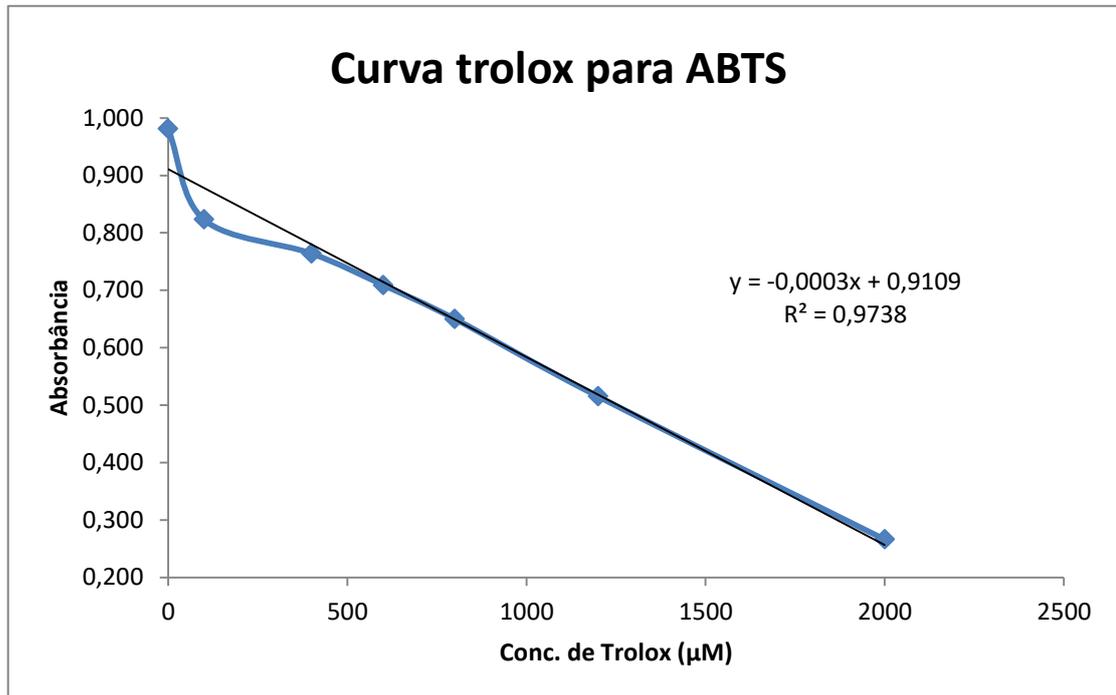
APÊNDICE C – Curva-padrão de Trolox utilizada na análise de atividade antioxidante pelo método DPPH, da caracterização do caldo de sapoti e produtos finalizados



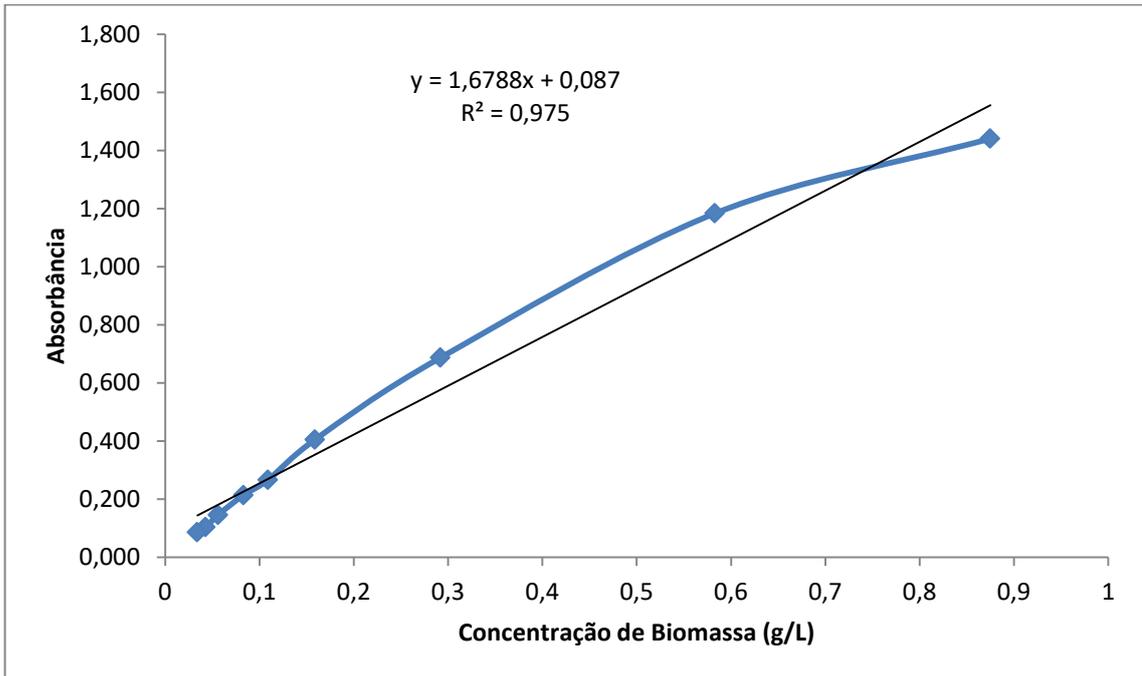
APÊNDICE D – Curva-padrão de Trolox utilizada na análise de atividade antioxidante pelo método FRAP, da caracterização do caldo de sapoti e produtos finalizados



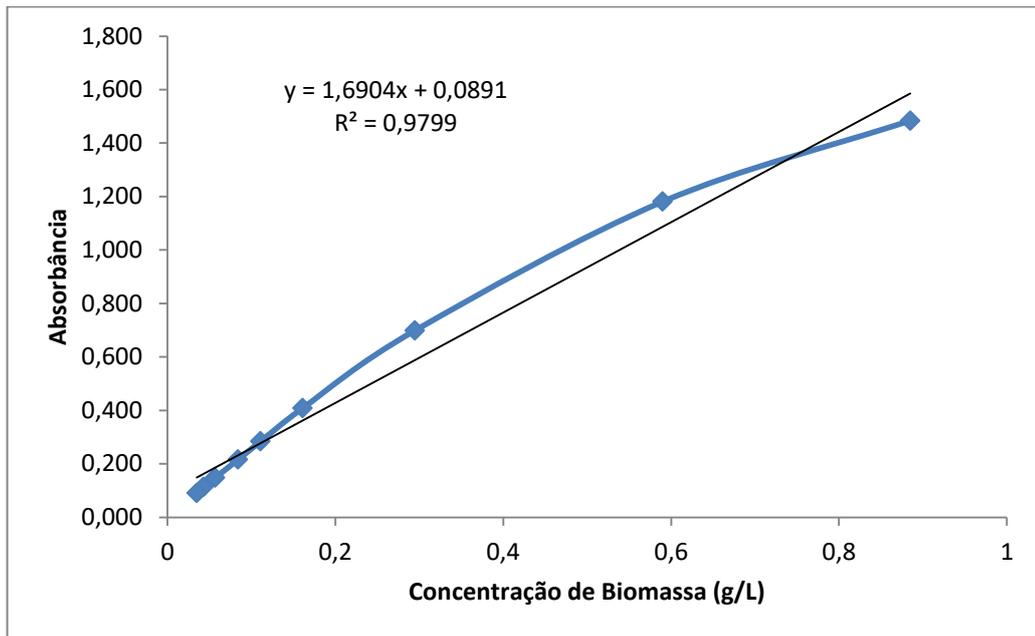
APÊNDICE E – Curva-padrão de Trolox utilizada na análise de atividade antioxidante pelo método ABTS, da caracterização do caldo de sapoti e produtos finalizados



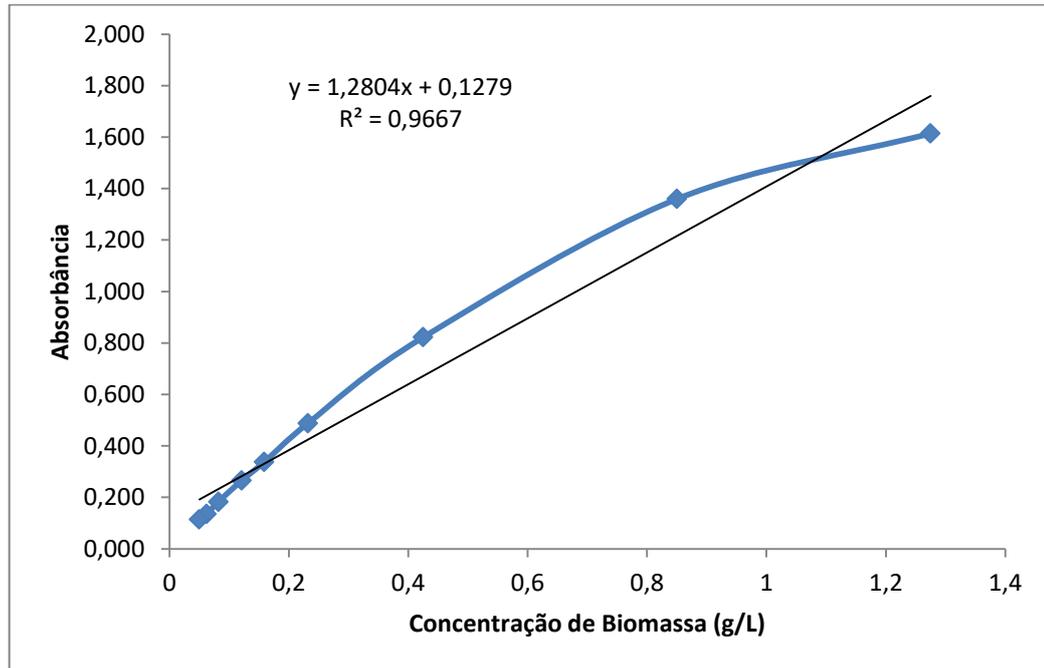
APÊNDICE F – Curva-padrão de biomassa utilizada na análise de concentração celular do acompanhamento cinético das formulações finais para o B1



APÊNDICE G – Curva-padrão de biomassa utilizada na análise de concentração celular do acompanhamento cinético das formulações finais para o B2



APÊNDICE H – Curva-padrão de biomassa utilizada na análise de concentração celular do acompanhamento cinético das formulações finais para o B3



APÊNDICE I – Curva-padrão de ácido gálico utilizada na análise de concentração de compostos fenólicos totais, da caracterização do caldo de sapoti e produtos finalizados

