



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

RENATA TORRES DOS SANTOS E SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO MARACUJÁ DA CAATINGA
(*Passiflora cincinnata* Mast.) NA ELABORAÇÃO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS
FERMENTADAS

João Pessoa - PB

2023

RENATA TORRES DOS SANTOS E SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO MARACUJÁ DA CAATINGA
(*Passiflora cincinnata* Mast.) NA ELABORAÇÃO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS
FERMENTADAS**

João Pessoa - PB

2023

RENATA TORRES DOS SANTOS E SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO MARACUJÁ DA CAATINGA
(*Passiflora cincinnata* Mast.) NA ELABORAÇÃO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS
FERMENTADAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profº Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Coorientadora: Dra Aline Telles Biasoto Marques

João Pessoa - PB

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237a Santos, Renata Torres dos Santos e.

Avaliação do potencial do maracujá da Caatinga (passiflora cincinnata mast.) na elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas / Renata Torres dos Santos e Santos. - João Pessoa, 2023.

168 f.

Orientação: Flávio Luiz Honorato da Silva.

Coorientação: Aline Telles Biasoto Marques.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Vinhos. 2. Frutos da Caatinga. 3. Agroindústria.
4. Passiflora cincinnata Mast. I. Silva, Flávio Luiz Honorato da. II. Marques, Aline Telles Biasoto. III. Título.

UFPB/BC

CDU 663.2(043)

RENATA TORRES DOS SANTOS E SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO MARACUJÁ DA CAATINGA
(*Passiflora cincinnata* Mast.) NA ELABORAÇÃO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS
FERMENTADAS

Tese APROVADA em: 28/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 FLAVIO LUIZ HONORATO DA SILVA
Data: 02/03/2023 09:39:39-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva – DEQ/CT/UFPB
Orientador

Documento assinado digitalmente
 ALINE TELLES BIASOTO MARQUES
Data: 02/03/2023 10:16:27-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Profa. Dra. Aline Telles Biasoto Marques – EMBRAPA
Co-orientador

Documento assinado digitalmente
 JOSEVAN DA SILVA
Data: 10/03/2023 14:34:48-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. Josevan da Silva – UFPB
Examinador Externo

 Documento assinado digitalmente
Renata Dias de Melo Castanho Amboni
Data: 08/03/2023 10:04:58-0300
CPF: ***.703.489-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Renata Dias de Melo Castanho Amboni – DCTA/UFSC
Examinador Externo

Documento assinado digitalmente
 HAISSA ROBERTA CARDARELLI
Data: 10/03/2023 16:59:52-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Profa. Dra. Haissa Roberta Cardarelli – DTA/CTDR/UFPB
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 SHARLINE FLORENTINO DE MELO SANTOS
Data: 10/03/2023 10:05:00-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dra. Sharlinne Florentino de Melo Santos – DEQ/CT/UFPB
Examinador Interno

“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

Dedico aos meus Pais e a meu Padrinho (*in memoriam*) por todo o amor incondicional e apoio educacional. E por compreenderem minha ausência, quando se fez necessário em muitos momentos de estudos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Gratidão infinita a Deus, Senhor de toda a existência, pelo dom da vida e por me dar forças e guiar-me com a sua luz e sabedoria quando o fardo pesou e tudo pareceu difícil e impossível de ser realizado.

Aos meu Pais, pelo amor incondicional e por todo sacrifício vivido para investir na educação dos filhos. Aos meus Irmãos, Meu Padrinho (*in memoriam*) e demais Familiares e Amigos que me acompanharam e apoiaram nessa trajetória, com orações e palavras de carinho e otimismo, me impulsionaram pela vibração da torcida e da energia.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB, pela oportunidade concedida. Em especial ao meu orientador, Professor Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, por toda orientação e atenção à mim concedida; no universo do desconhecido e à distância, aceitou me orientar apenas por trocas de e-mails; me acolheu como uma filha e com sua sabedoria, por muitas vezes, foi um pai e me acalmou quando pensei em desistir no primeiro ano do estudo. És um grande exemplo de humano, profissionalismo e ética a ser seguido.

À Embrapa Semiárido pelo acolhimento e oportunidade concedida durante esta jornada. Em especial a minha co-orientadora Dra Aline Telles Biasoto Marques, gratidão por todos os ensinamentos, conhecimentos compartilhados, oportunidades, e, por acima de tudo, sempre me conduzir com sua orientação. Agradeço, ainda, pela confiança em mim depositada e pela compreensão e paciência nos momentos difíceis. Gratidão por tanto comigo, sempre acreditou em meu potencial me impulsionando a seguir na pesquisa.

Aos amigos e colaboradores do laboratório de Enologia e demais laboratórios da Embrapa Semiárido, pela disponibilidade e serviço, sempre dispostos a me ajudarem, principalmente nos momentos de correria, todos foram essenciais durante esta caminhada.

Aos consumidores participantes dos testes sensoriais realizados.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos membros da banca examinadora pela participação e contribuição.

A vocês, com carinho, gratidão por tudo!

Gratidão é saber reconhecer que todas as pessoas que cruzam nosso caminho são necessárias para a nossa evolução. (Autor desconhecido.)

RESUMO

A elevada produção brasileira de diferentes variedades de frutos tropicais responde pelo terceiro lugar no ranking mundial. No entanto, ainda há inúmeros frutos nativos e exóticos pouco explorados economicamente. Neste cenário, o maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.), que é um fruto nativo da região semiárida do Nordeste brasileiro, é considerado de grande importância econômica para o fortalecimento da agricultura familiar e no desenvolvimento regional da população semiárida nordestina, que realiza a colheita dos frutos e os vende para o consumo *in natura*, ou sob a forma de polpas, geleias, doces, sorvetes e licor. É um fruto climático e quando maduro, possui casca de coloração amarelo-esverdeada da casca, polpa de coloração amarelo-branca a esbranquiçada, sabor exótico, teor de sólidos solúveis de 8 a 13%, pH na faixa de 2,0 a 3,0 e acidez titulável de aproximadamente 3,0%. Diante disso, considerando que o fruto apresenta propriedades adequadas para o beneficiamento de bebidas alcoólicas, este estudo avaliou o potencial do maracujá da Caatinga para a elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas, sobretudo na elaboração do fermentado alcoólico gaseificado seco e suave, avaliando a qualidade da bebida obtida e a aceitação sensorial por consumidores. Os fermentados foram elaborados a partir da fermentação do mosto de maracujá da Caatinga chaptalizado com sacarose, pela ação das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e apresentou uma eficiência aproximada de 89%, produtividade de $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, rendimento em produto ($Y_{P/S}$) de 0.453 e taxas de formação de produto e substrato, r_p e r_s , de 1.57 e $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Exceto para a acidez total, os resultados obtidos das análises básicas dos parâmetros físico-químicos estiveram de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira, e a qualidade da bebida obtida demonstrou a existência de uma grande variedade de compostos bioativos presentes, sendo identificados 22 compostos fenólicos (pertencentes aos grupos ácidos fenólicos, flavonóis, flavanóis e estilbenos) e uma relevante atividade antioxidante. A pontuação sensorial obtida foi considerada satisfatória. Conclui-se que o *Passiflora cincinnata* Mast. apresenta potencial promissor na elaboração do fermentado alcoólico gaseificado (vinho espumante).

Palavras-chave: frutos da Caatinga; *Passiflora cincinnata* Mast.; agroindústria; vinho.

ABSTRACT

The high Brazilian production of different tropical fruit varieties is the third largest in the world. However, there are still many native and exotic fruits that have not been economically exploited. In this scenario, the Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.), which is a native fruit of the semi-arid region of the Brazilian Northeast, is considered of great economic importance for the strengthening of family farming and the regional development of the semi-arid Northeastern population, which harvests the fruits and sells them for consumption in natura, or in the form of pulp, jellies, sweets, ice cream and liqueur. It is a climatic fruit and when ripe, it has a greenish-yellow color, whitish to sterile rind, ex-ripe flavor, soluble solids content of 8 to 13%, pH in the range of 2.0 to 3.0 and 3.0 and pH in the range of 2.0 to 3.0 and titratable acidity of approximately 3.0%. From this, considering what has properties for the processing of resulting beverages, this study to proposed evaluate the potential of passion fruit from the Caatinga for the production of fermented alcoholic beverages, especially in the elaboration of carbonated alcoholic fermented (sparkling) dry and sweet, evaluating the beverage quality and sensory quality by consumers. The fermented were made from the fermentation of passion fruit must from the Caatinga, chaptalized with sucrose, by the action of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts and showed approximate efficiency of 89%, production of $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, product yield ($Y_{P/S}$) of 0.453 and product and substrate formation rates, r_p and r_s , of 1.57 and $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively. With the exception of total acidity, the results obtained, for the quality standard, in accordance with the limits established by Brazilian legislation, and the quality of the beverage obtained showed the existence of a wide variety of bioactive compounds present. Twenty-two phenolic compounds were indentified (phenolic acids, flavonols, flavanols and stilbenes) and the relevant antioxidant activity was considered. The sensory score obtained was considered satisfactory. It is concluded that *Passiflora cincinnata* Mast. presents promising potential in the elaboration of gasified alcoholic fermented (sparkling wine).

Palavras-chave: fruits of the Caatinga; *Passiflora cincinnata* Mast.; agroindustry; wine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto da planta do maracujá da Caatinga (maracujazeiro).	21
Figura 2 - Foto da floração do maracujazeiro da Caatinga.	22
Figura 3 - Foto do maracujá da Caatinga em diferentes estádios de maturação	22
Figura 4 - Foto do maracujá da Caatinga no estádio maduro.....	22
Figura 5 - Foto do rótulo do primeiro fermentado de caju registrado no Brasil	26
Figura 6 - Opções de Fermentado de Fruta disponíveis no mercado brasileiro.	27
Figura 7 - Foto do Fermentado de Caju produzido por Tito Silva e Cia.....	27
Figura 8 - Fluxograma do processo de elaboração do fermentado alcoólico gaseificado.....	33

Artigo 1

Figura 1 - Atividade antioxidante in vitro da bebida alcoólica fermentada de maracujá determinada pelos ensaios DPPH, FRAP e ORAC. Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$).....	91
Figura 2 - Resultados do teste de consumo (n = 60): (A) Média da aceitabilidade global do fermentado alcoólico de maracujá utilizando a escala híbrida hedônica ancorada com os termos “1= desgostei extremamente” e “9 = gostei extremamente”	97
Figura 3 - Análise de Correspondência obtida da soma dos termos CATA citados para avaliação sensorial descritiva de fermentados alcoólicos obtidos da Caatinga maracujá.	99
Figura Suplementar S1 - Gráfico correspondente aos valores das coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) no sistema CIELab da bebida fermentada alcoólica de maracujá	113
Figura Suplementar S2 - A Análise de Componentes Principais (PCA) obtida a partir dos resultados de aceitação geral usando a escala hedônica de nove pontos (1 = “desgostei extremamente”; 9 = “gostei extremamente”), mostrando a configuração das amostras de (n = 4) e consumidores (n = 60)	114

Artigo 2

Figura 1 - Resultados da análise de pectina solúvel em mosto de maracujá da Caatinga. Legendas (da esquerda para a direita): 0 = branco, A = Ensaio 03, B = Ensaio 05, C = Ensaio 04, D = Ensaio 06, E = Ensaio 07.....	127
--	-----

Artigo 3

Figura 1 - Dados coletados durante o monitoramento da fermentação alcoólica do vinho de maracujá da Caatinga por um período de 161 horas.	150
Figura 2 - Cinética do processo de fermentação alcoólica para produção de vinho de maracujá da Caatinga durante 120 horas de fermentação.	151
Figura 3 - Composição físico-química da bebida fermentada alcoólica de maracujá durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses).	159
Figura 4 - Parâmetros colorimétricos do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses).....	160
Figura 5 - Atividade antioxidante do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses) determinada pelos ensaios in vitro de DPPH, ABTS e FRAP. ...	161
Figura 6 - Teor de fenólicos totais do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses).....	162

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites estabelecidos para a comercialização de fermentado de fruta.....	28
Tabela 2 - Níveis e valores das variáveis independentes utilizadas no planejamento experimental fatorial completo 2^3 + configuração estrela aplicado no estudo.	48
Tabela 3 - Matriz codificada do planejamento experimental fatorial completo 2^3 + configuração estrela aplicado no mosto de maracujá da Caatinga.	49

Artigo 1

Tabela 1 - Composição físico-química da polpa congelada de maracujá proveniente de frutas em dois estádios de maturação (intermediário e maduro).	78
Tabela 2 - Cor e composição físico-química da bebida alcoólica fermentada de maracujá...	80
Tabela 3 - HPLC-DAD-FD perfil de compostos fenólicos da bebida fermentada alcoólica de maracujá.....	87
Tabela 4 - Correlação de Spearman entre os compostos fenólicos e o ácido ascórbico com a atividade antioxidante in vitro da bebida alcoólica fermentada de maracujá medida pelos ensaios DPPH, FRAP e ORAC.....	95
Tabela Suplementar S1 - Parâmetros de validação de método para identificação e quantificação de compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD.	110
Tabela Suplementar S2 - Médias da aceitabilidade global do fermentado alcoólico obtido do maracujá da Caatinga e os percentuais de aceitação e rejeição atribuídos pelos consumidores (n = 60) para cada amostra.....	111
Tabela Suplementar S3 - Médias das notas obtidas na análise CATA (“Check-all-that-apply”) para descrever o perfil sensorial de fermentados alcoólicos obtidos do maracujá da Caatinga.....	112

Artigo 2

Tabela 1 - Níveis e valores das variáveis independentes usadas no Planejamento Composto Central Rotacional - DCCR.....	122
---	-----

Tabela 2 - Matriz codificada do planejamento experimental fatorial 2^3 completo mais pontos axiais aplicado ao mosto de vinho de maracujá da Caatinga.	122
Tabela 3 - Composição físico-química da polpa de maracujá da Caatinga.....	124
Tabela 4 - Matriz de planejamento experimental fatorial completo 2^3 mais pontos axiais aplicada ao mosto de maracujá da Caatinga mostrou a resposta de redução de pectina	126

Artigo 3

Tabela 1 - Parâmetros fermentativos do processo de fermentação alcoólica para produção de vinho de maracujá da Caatinga.....	152
Tabela 2 - Perfil de compostos fenólicos do vinho de maracujá da Caatinga por HPLC-DAD durante o tempo de prateleira (0, 6 and 12 meses).	163

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - Porcentagem.

% v/v - Porcentagem em volume.

°GL - °Gay Lussac.

μ - Velocidade específica de crescimento celular.

μ L - Microlitros.

AAPH - Dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano).

AEB - Associação Brasileira de Enologia.

ANOVA - Análise de Variância.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists.

ATP - Adenosina trifosfato.

°Brix - Escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis.

CA – Análise de Correspondência.

CAAE - Certificado de Apresentação de Apreciação Ética.

CATA - Check-all-that-apply method.

CCRD - Central Composite Rotatable Design (CCRD).

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência.

DCCR - Delineamento composto central rotacional.

DNS - 3,5-dinitro-salicílico.

DPPH - 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

ED - Experimental Design.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power.

g - Gramas.

GAE – Equivalente ácido gálico.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

MDPRF - Mapa de Preferência Interno.

mEq – Miliequivalentes.

mg - Miligrama.

OIV - Organização Internacional da Vinha e do Vinho.

ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity.

PCA – Análise de componente principal.

PLS - Regressão por mínimos quadrados parciais.

PPGCTA - Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos.

Ppm - Partes por milhão.

qP - Velocidade específica de formação de produto.

qS - Velocidade específica de consumo de substrato.

R² - Regression coefficients.

RATA - Rate-All-That-Apply .

rp - Velocidade de formação de produto.

rs - Velocidade de consumo de substrato.

rx - Velocidade de crescimento celular.

SAS - Statistical Analytical Systems.

SS – Sólidos solúveis.

SAS - Statistical Analytical Systems.

TA – Acidez titulável.

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido.

TPC - Total phenolic compounds content.

TPTZ - 2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine.

VA – Acidez volátil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1 Maracujá da Caatinga	20
2.2 Pectinas	23
2.3 Fermentado de Fruta no Brasil	25
2.3.1 Estudos sobre a elaboração de fermentado de fruta	29
2.3.2 Processo de elaboração do fermentado de fruta gaseificado	32
2.3.2.1 Fermentação Alcoólica	39
2.3.2.1.1 Cinética da Fermentação	41
3 ABORDAGEM METODOLOGICA	44
3.1 Obtenção da matéria-prima	45
3.2 Processamento da matéria-prima (extração da polpa)	45
3.3 Caracterização físico-química da polpa do fruto	45
3.4 Processo de elaboração do fermentado alcoólico	46
3.5 Caracterização físico-química do fermentado alcoólico	46
3.6 Análise sensorial do fermentado base.....	47
3.7 Delineamento Experimental Fatorial	48
3.8 Cinética Fermentativa.....	50
3.9 Processo de Elaboração do Fermentado Gaseificado	51
3.10 Caracterização Físico-Química do Fermentado Gaseificado	52

3.11 Análise Sensorial do Fermentado Gaseificado.....	52
3.12 Tratamento de Dados e Análise Estatística.....	52
Referências	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1 Artigo 1: Caracterização físico-química, compostos bioativos, atividade antioxidante in vitro, perfil sensorial e aceitabilidade do consumidor de bebida alcoólica fermentada obtida do maracujá da Caatinga (<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.)	64
4.2 Artigo 2: Otimização da hidrólise pectinolítica em mosto de vinho de maracujá da Caatinga com pectinase comercial, de acordo com a abordagem de planejamento composto central rotacional.....	115
4.3 Artigo 3: Vinho de maracujá da caatinga: investigação da cinética fermentativa e vida de prateleira da bebida	136
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	169

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas (FAO, 2020), com uma elevada produção de diferentes variedades de frutas nativas ou adaptadas, decorrente da extensão do seu território e sua inserção, em grande parte, nas zonas de clima tropical e temperado (ALMEIDA et al., 2011; LAGO et al., 2006).

Entretanto, a fruticultura brasileira ainda tem grande potencial de expansão, pois há inúmeras frutas nativas e exóticas pouco exploradas economicamente, devido à baixa disponibilidade ou desconhecimento sobre os sistemas de produção e conservação, bem como aspectos relacionados à qualidade destas frutas. Observa-se, ainda, que um grande número de frutas tropicais é comestível e que, paradoxalmente, poucas espécies estão disponíveis no mercado; a maioria das variedades é de cultivo sazonal ou seu consumo é restrito às regiões de produção (GADELHA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2014).

Além disso, Galvão et al. (2011) relatam que o sabor das frutas tropicais exóticas é de crescente interesse para os consumidores em todo o mundo, e que, por conseguinte, frutos de caráter regional e que são pouco conhecidos fora dos seus trópicos regionais estão ganhando o interesse dos consumidores e pesquisadores, devido aos seus atributos sensoriais incomuns e fortes.

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá e se destaca entre os maiores produtores de suco concentrado. O maracujá amarelo, cultivado em quase todo o território nacional, é responsável por mais de 90% da produção nacional (CEPLAC, 2019). Outras espécies de maracujá apresentam características sensoriais e nutricionais promissoras, podendo ser mais exploradas para o consumo; entre elas, destaca-se a espécie silvestre da Caatinga brasileira, como *Passiflora cincinnata* Mast. (BRAGA et al., 2006).

Fruto de uma planta nativa do nordeste brasileiro, o maracujá da Caatinga, do gênero *Passiflora cincinnata* Mast., é um fruto nativo de ocorrência frequente e espontânea na região semiárida do nordeste brasileiro (METTI et al., 2005), apresenta resistência à seca e a uma série de doenças e/ou pragas que atingem o maracujá comum (ARAÚJO, 2007). Quando maduro, sua casca é amarelo-esverdeada e sua polpa de coloração amarelo-branca a esbranquiçada é extremamente aromática, apresenta sabor exótico, acidez característica e doçura marcante;

caracteriza-se, ainda, como fonte de potássio, ferro, fósforo, cálcio e vitaminas A, B e C (ARAÚJO, 2002; SOUZA et al., 2013).

A comercialização do maracujá da Caatinga ainda ocorre em pequena escala pelos agricultores da Caatinga e do Cerrado; e, sua exploração é basicamente para a alimentação dos animais silvestres e no suprimento de vitamina C do sertanejo, sob o consumo *in natura* ou sob a forma de polpas, geleias, doces, sorvetes e licor (ARAÚJO, 2002; JÚNIOR et al., 2010; SOUZA et al., 2013; RYBKA & FREITAS, 2014).

Adicionalmente, dentre as diversas formas de consumo, o beneficiamento na elaboração de bebidas alcoólicas é uma alternativa promissora, considerando que este mercado nos últimos anos testemunhou um crescimento significativo, impulsionado por uma série de fatores favoráveis, entre eles, o lançamento de produtos com novos sabores (VIANA, 2018).

O mercado nacional de vinhos, especialmente de espumantes, também tem apresentado crescimento favorável a cada ano; tendo sua produção aumentada em aproximadamente 55% (VIANA, 2018). Neste contexto, a região do submédio São Francisco, localizada no Nordeste brasileiro responde por 15% da produção nacional de vinhos finos, devido à instalação de vinícolas entre os estados da Bahia e Pernambuco (CÂMARA, 2019).

A diversidade das frutas existentes com propriedades adequadas para o seu processamento demonstra que este é um mercado que tem potencial para crescer, além de representar uma forma alternativa para contornar os problemas das perdas pós-colheita e proporcionar maior agregação de valor ao fruto (ROSA et al., 2006).

Assim, embora muitas frutas sejam conhecidas no preparo de derivados fermentados, ainda há algumas variedades pouco exploradas neste campo. Neste contexto, o fruto tropical maracujá da Caatinga apresenta-se como matéria-prima acessível ao desenvolvimento de bebidas alcoólicas fermentadas.

Diante do exposto, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o potencial do maracujá da Caatinga no desenvolvimento de “fermentado base” (vinho base) e “fermentado gaseificado” (vinho espumante) seco e suave, avaliando a qualidade da bebida obtida, sua capacidade antioxidante e a aceitação sensorial por consumidores.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Maracujá da Caatinga

O maracujazeiro, gênero *Passiflora*, pertence à família *Passifloraceae*, possui aproximadamente 530 espécies tropicais e subtropicais; destas, 150 a 200 espécies nativas são encontradas no Brasil, das quais 70 produzem frutos comestíveis (CARVALHO et al., 2017). Dentre elas, destaca-se a espécie silvestre da Caatinga brasileira, *Passiflora cincinnata* Mast. (BRAGA et al. 2006).

O maracujá-cincinnata, também conhecido popularmente como maracujá-da-casca-verde, maracujá-mochila, maracujá-de-boi, maracujá-tubarão, maracujá-brabo, maracujá-domato ou maracujá-da-caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.) é uma espécie silvestre de maracujazeiro azedo nativa da região semiárida do nordeste brasileiro, de ocorrência frequente e espontânea nas regiões da Caatinga (Pernambuco e Bahia) e do Cerrado (Minas Gerais e Goiás) brasileiro, sendo principalmente encontrada no bioma Caatinga (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010; ARAÚJO et al., 2016; ARAÚJO et al., 2018).

Fruto de um cipó ou planta trepadeira lenhosa (Figura 1), de gavinhas axilares, que necessita de suporte, ramando sobre arbusto, apresenta resistência à seca, maior tolerância ao estresse hídrico, e também a uma série de doenças e/ou pragas que atingem o maracujá comum; além de tratar-se de uma espécie de natureza perene, com período de floração (Figura 2) na entressafra do maracujá comum (ARAÚJO, SANTOS & MELO 2004; ARAÚJO, 2007; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010; ARAÚJO et al., 2019a; ARAÚJO et al., 2019b).

Na região semiárida do Nordeste brasileiro é mais comum ser encontrada espontaneamente nas bordas da vegetação de Caatinga, utilizando as copas das árvores como suporte; e, nas áreas cultivadas com agricultura de sequeiro, o maracujazeiro estende suas ramas sobre o solo sempre em busca de suporte para o crescimento (ARAÚJO et al., 2018).

Seus frutos (Figura 3) caracterizam-se como climatéricos, apresentando longo período de avanço da maturidade após sua colheita, podendo chegar até 90 dias após retirado da planta mãe; e quando maduros (Figura 4), apresentam peso variando de 109 a 212 g e coloração da casca amarelo-esverdeada, e sua polpa de coloração amarelo-branca a esbranquiçada é extremamente aromática, apresenta sabor exótico, acidez característica, doçura marcante, boa

aceitabilidade para consumo e elevado valor nutricional (SOUZA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2019a; ARAÚJO et al., 2019b). Tem teor de sólidos solúveis de 8 a 13°Brix, cerca de 88% de umidade, pH na faixa de variação de 2 a 3,0 e elevada acidez (aproximadamente 3,0); caracteriza-se, ainda, como fonte de potássio, ferro, fósforo, cálcio e vitaminas A, C e do complexo B; sendo o teor de vitamina C encontrado próximo de 10mg/100g (SOUZA et al., 2013; AIDAR et al., 2016; ARAÚJO et al., 2019a).

Figura 1. Foto da planta do maracujá da Caatinga (maracujazeiro).



Fonte: arquivos da autora, 2022.

Figura 2. Foto da floração do maracujazeiro da Caatinga.



Fonte: arquivos da autora, 2021.

Figura 3. Foto do maracujá da Caatinga em diferentes estádios de maturação.



Fonte: arquivos da autora, 2021.

Figura 4. Foto do maracujá da Caatinga no estágio maduro.



Fonte: arquivos da autora, 2021.

Sua comercialização ainda ocorre em pequena escala e de forma restrita e extrativista pelos agricultores da Caatinga e do Cerrado, é realizada nas margens das rodovias e em feiras livres de cidades do interior; e, sua exploração ocorre para a alimentação dos animais e no suprimento de vitamina C do sertanejo sob o consumo *in natura* (JESUS & FALEIRO, 2016; ARAÚJO et al., 2018).

Agricultores familiares de cooperativas locais do sertão baiano (municípios de Canudos, Uauá e Curaçá) iniciaram o processamento do fruto sob a forma de polpas, geleias, doces, sorvetes e licor como forma de agregar valor ao maracujá-da-caatinga, e os resultados têm sido promissores, embora ainda não existam dados de produção disponíveis (RYBKA & FREITAS, 2014; ARAÚJO et al. 2018).

2.2 Pectinas

As pectinas ou também denominadas de substâncias pécticas são macromoléculas, hidrocolóides, presentes nas paredes das células vegetais, com importante função estrutural, pertencentes à família de oligossacarídeos e polissacarídeos, são heteropolissacarídeos encontrados em diferentes quantidades e composições, sendo constituídas majoritariamente de ácido galacturônico (GalA), em torno de 65%, e de açúcares neutros (MAY, 2000; YAPO et al., 2006; PAIVA et al., 2009; CANTERI et al., 2012).

A pectina pode ser formada por até dezessete diferentes monossacarídeos, organizados em polissacarídeos distintos, a partir de mais de vinte diferentes ligações para formação de uma rede que, quando unidos, agrupam-se em diferentes tipos de cadeia, constituindo-se de ácido galacturônico, ácido urônico, ramnose, galactose, arabinose, xilose, hexoses, pentoses e metilpentoses (VINCKEN et al., 2003; VORAGEN et al., 2009; CANTERI et al., 2012).

O esqueleto péctico é constituído de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido galacturônico ligados covalentemente por ligações α (1 \rightarrow 4), com grau variável de grupos carboxílicos metil esterificados (BRANDÃO & ANDRADE, 1999). O grau de esterificação afeta significativamente suas características de solubilidade e propriedades reológicas, classificando em HMP (alto grau de metoxilação >50%) e LMP (baixo grau de metoxilação <50%), e de acordo com a sua diferença estrutural, em: protopectina, ácido pectínico, ácido péctico e pectina, sendo estes três últimos total ou parcialmente solúveis em água (ALKORTA et al., 1998; BRANDÃO & ANDRADE, 1999; KASHYAP et al., 2000).

A protopectina é a forma natural da pectina, quando associada à celulose, hemicelulose e lignina; o ácido péctico é formado de cadeias de ácidos galacturônicos totalmente livres de metoxilas e pouco solúveis em água; o ácido pectínico é formado de ácidos poligalacturônicos que contém uma proporção insignificante de grupos metil éster; e a pectina constitui-se de ácidos pectínicos solúveis em água, com diferentes graus de esterificação por grupos metil éster (LOCATELLI, 2012).

Na natureza, além de desempenhar importante papel na função estrutural dos vegetais, as pectinas também atuam na regulação do transporte de íons, no controle da permeabilidade das paredes às enzimas e na capacidade de retenção de água (VORAGEN et al., 2009).

Os polissacarídeos pécticos promovem aumento de viscosidade, principalmente na elaboração de bebidas a partir de suco de frutas. Neste sentido, a presença de matérias insolúveis no processamento industrial, como as pectinas, torna-se indesejável, uma vez que esta substância forma um coloide que retarda ou evita a sedimentação de partículas sólidas que conferem, sobretudo, turbidez à bebida, influenciando desta maneira, na eficiência do processo de clarificação e no tempo de filtração (UENOJO & PASTORE, 2007; MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009).

Além disso, a pectina influencia ainda na qualidade das bebidas alcoólicas, uma vez que sua presença pode promover a liberação de metanol (álcool metílico) dos ácidos poligalacturônicos metilados, durante o processamento da bebida (REIS et al., 2020; CANTERI et al., 2012). A atividade da pectinase em meio ácido promove a degradação da pectina em moléculas de ácido galacturônico e metanol (CANTERI et al., 2012; SEYFRIEND et al., 2016). O metanol é um composto secundário considerado indesejável em bebidas alcoólicas, pode causar alterações indesejáveis no gosto da bebida e causar prejuízos à saúde do consumidor, devido às suas propriedades tóxicas (REIS et al., 2020; GOMES et al., 2020). Sua produção é indesejável em vinhos, e caso ocorra, não deve ultrapassar o limite de 300 mg L⁻¹ para vinhos branco e espumante (BRASIL, 2018). Por isso, enzimas pectinolíticas são amplamente utilizadas pelas indústrias alimentícias com o propósito da redução desses efeitos.

As enzimas pectinolíticas, também denominadas de pectinases, são produzidas em diferentes combinações pelas plantas e por micro-organismos como fungos, leveduras e bactérias, trata-se do grupo de enzimas que agem sobre as substâncias pécticas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica (UENOJO & PASTORE, 2007).

Enzimas pectinolíticas são classificadas de acordo com o substrato preferencial, mecanismos de ação e sítios de clivagem, e podem ser basicamente de três tipos: a pectina esterase (desesterificante ou desmetoxilante) que remove os grupos metil éster; as despolimerizantes (incluem as enzimas hidrolases e liases) que catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécticas; e, as protopectinases que hidrolisam protopectina para formar ácido péctico e pectina (SAKAI et al, 1993; JAYANI et al., 2005).

Preparações comerciais de pectinases com alta atividade de pectina liase e baixa atividade de pectina metil esterase são preferidas para a elaboração de vinhos, por minimizarem a liberação de metanol dos ácidos poligalacturônicos metilados (BHAT, 2000; JAYANI et al., 2005).

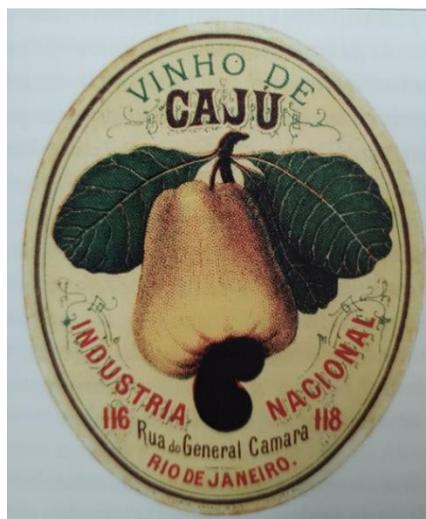
2.3 Fermentado de Fruta no Brasil

No Brasil, a presença do fermentado de fruta iniciou a partir dos anos de 1500 com a chegada das grandes navegações portuguesas que trouxeram o vinho de uva (elaborado em Portugal) juntamente com as técnicas de elaboração da bebida, que foram disseminadas no território brasileiro e aplicada às frutas tropicais brasileiras (MELLO, 2007).

Os registos datam de 1627, sendo o fermentado de caju o primeiro fermentado de fruta registrado no estado do Rio de Janeiro (Figura 5). Posteriormente foram registrados em outras regiões os fermentados de abacaxi (1774), laranja (1822) e os vinhos à base de coco (1839) (MELLO, 2007).

Adicionalmente, ainda sobre os primeiros registos da indústria brasileira, tem-se “o fermentado de caju” como também o primeiro fermentado de fruta registrado no Nordeste brasileiro, em 1822 na capital paraibana, produzido pela Fábrica de Vinho Tito Silva e Cia, que foi a mais antiga e por quase cem anos a maior produtora de vinho de caju do Nordeste, uma iguaria que foi muito popular na região e alcançou o paladar até de outros países, como EUA e Alemanha (OLIVEIRA, 2021). Além disso, sua qualidade foi reconhecida nacional e internacionalmente, como ficava estampado nos seus rótulos (Figura 6), com prêmios em Turim, Bruxelas e no Rio de Janeiro.

Figura 5. Foto do rótulo do primeiro fermentado de caju registrado no Brasil.



Fonte: Mello (2007).

A fábrica poderia hoje ter sido a pioneira na área de fermentado de fruta no Brasil, mas infelizmente encerrou suas atividades em 1984 devido à indisponibilidade da matéria-prima na época, e por conta do elevado aumento dos impostos tributários sobre a bebida (OLIVEIRA, 2021). Hoje os estados do Ceará e Piauí são principais produtores de fermentado de caju, sendo a bebida disponibilizada no mercado por uma variedade de marcas. Além do fermentado de caju, é possível verificar ainda a disponibilidade de outros fermentados de frutas no mercado brasileiro, conforme ilustração na Figura 7.

Figura 6. Foto do Fermentado de Caju produzido por Tito Silva e Cia.



Fonte: Oliveira (2021).

Figura 7. Opções de Fermentado de Fruta disponíveis no mercado brasileiro.



Fonte: Google imagens (2021).

Contudo, embora a produção e a comercialização de fermentado de fruta no território brasileiro seja uma prática existente desde os tempos mais antigos, sua regulamentação ainda é considerada recente e a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção, a fiscalização e a comercialização dessas bebidas é regulamentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O Decreto Nº6.871, de 4 de junho de 2009 do MAPA, define fermentado de fruta como a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento 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 e de açúcar (sacarose), durante o processo de fermentação, sendo denominado de fermentado alcoólico gaseificado, quando apresentar pressão mínima de 2 atm e máxima de 3 atm no interior da garrafa (BRASIL, 2009).

Os padrões de Identidade e Qualidade para o fermentado de fruta são regulamentados pela Instrução Normativa Nº 34 do MAPA, de 29 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012), que estabelece a composição química e a classificação do fermentado de fruta deverão a fim de atender aos limites fixados pelo órgão responsável, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Limites estabelecidos para a comercialização de fermentado de fruta.

Parâmetros	Limite Mínimo	Limite Máximo	Classificação
Acidez fixa, em meq L ⁻¹	30	----	----
Acidez total, em meq L ⁻¹	50	130	----
Acidez volátil, em meq L ⁻¹	----	20	----
Anidro Sulfuroso, em g L ⁻¹	----	0,35	----
Cloretos totais, em g L ⁻¹	----	0,5	----
Extrato seco reduzido, em g L ⁻¹	12	----	----
Graduação alcoólica, em %v/v a 20°C	4	14	----
Pressão, em atm	2	3	Gaseificado
Teor de açúcar, em g L ⁻¹	----	≤3	Seco
	>3	----	doce ou suave

Fonte: BRASIL, 2012.

Adicionalmente, a legislação brasileira estabelece que vinho é a bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura, e que espumante é o vinho

que apresenta anidrido carbônico que possui uma pressão mínima de quatro atmosferas (elaborados pelo método *Champenoise* e *Charmat.*); sendo a denominação “vinho” vetada para produtos obtidos de outras matérias-primas (BRASIL, 2004; BRASIL, 2014).

2.3.1 Estudos sobre a elaboração de fermentado de fruta

Qualquer fruta que contenha em sua composição água, açúcar e outros nutrientes, em níveis suficientes para que as leveduras realizem a reação de fermentação, pode ser utilizada como matéria-prima para produção de bebidas alcoólicas fermentadas (PRUDÊNCIO, 1969).

Neste contexto, é possível verificar na literatura que nos últimos anos vários estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando uma grande variedade de frutos tropicais na elaboração de fermentado alcoólico, como por exemplo: pinha, ciriguela, mangaba, cajá, jabuticaba, abacaxi, acerola, maracujá, graviola, pitanga, tamarindo, laranja, umbu, caju, cacau, graviola, gabioba, murici, fruto do mandacaru sem espinho e melão. Entretanto, embora a elaboração de vinho espumante a partir da uva apresente uma grande variedade, assim como a sidra a partir da maçã, a elaboração de fermentado alcoólico gaseificado utilizando frutas tropicais ainda é pouco explorada pela literatura, cita-se apenas a elaboração desta bebida utilizando água de coco, goiaba, caqui e abacaxi.

No trabalho de Muniz et al. (2002), bebidas alcoólicas fermentadas foram elaboradas das frutas tropicais pinha (*Annona squamosa* L.), ciriguela (*Spondias purpúrea* L.) e mangaba (*Harconia speciosa* Gom.), a partir de um mosto constituído de 30% de polpa e 60% água, com a correção do teor de sólidos solúveis para 16°Brix com adição de sacarose. O resultado obtido a partir do teste de aceitação sensorial realizado demonstrou boa aceitação das bebidas de pinha e mangaba pelos consumidores.

Dias et al. (2003) elaboraram um fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.) a partir do mosto chaptalizado para 24°Brix com solução de sacarose a 10%. O produto obtido apresentou teor alcoólico de 12°GL, acidez total de 29 meq L⁻¹, acidez volátil de 5,5 meq L⁻¹ e pH 3,5; e, a análise sensorial da bebida revelou boa aceitação dos consumidores nos atributos avaliados (aparência, aroma, sabor, aspectos gerais).

Silva et al. (2008) avaliaram a composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*), branco e tinto, seco e suave, produzidos de maneira artesanal em Minas Gerais nas safras de 2002 a 2006. Os resultados obtidos revelaram que a maior parte

das amostras, nas safras de 2002 a 2005 não se enquadraram nos limites exigidos pela legislação brasileira. Após ter sido iniciada a implementação de programas de qualidade e de algumas técnicas enológicas, na safra de 2006 as amostras apresentaram teor alcoólico dentro dos limites estabelecidos na classificação das bebidas.

Oliveira et al. (2012) produziram uma bebida alcoólica a partir da clarificação (gelatina a 10%), filtração, sulfitação e adição de nutrientes no suco da polpa do fruto de mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru*), sem chaptalização, buscando avaliarem e estudarem a cinética da fermentação alcoólica. O produto obtido apresentou pH 3,79, sólidos solúveis de 3,00°Brix, acidez total de 0,48% e teor alcoólico de 5,2°GL. E, quanto aos parâmetros cinéticos avaliados, os resultados encontrados foram satisfatórios, sendo o Y_p/s correspondente a 0,413, e a eficiência igual a 80,79% e produtividade de 1,9 g L⁻¹ h.

Diniz e Pinheiro (2013) produziram e caracterizaram um fermentado de abacaxi a partir do mosto ajustado para 24°Brix de sólidos solúveis com adição de sacarose, obtendo uma bebida com aparência límpida e coloração amarelo clara.

Segtowick et al. (2013) elaboraram e avaliaram sensorialmente o fermentado de acerola, caracterizado como seco, semi-seco e suave. A fermentação ocorreu a partir da polpa da fruta diluída em água na proporção 1:1, com correção do teor de sólidos solúveis para 20°Brix, utilizando xarope de açúcar. Os produtos obtidos apresentavam média de teor alcoólico em 10°GL e pH de 3,56 a 3,61. A análise sensorial revelou que os consumidores, não treinados, preferem os fermentados suaves aos secos.

Teixeira et al. (2014) propuseram a elaboração e a avaliação da estabilidade do fermentado alcoólico de maracujá amarelo, obtido a partir da fermentação da polpa do fruto diluído em 3 partes de água, chaptalizado para 20°Brix com sacarose. A bebida obtida foi caracterizada como suave e com teor alcoólico de 10°GL, e avaliada durante 120 dias de armazenamento. Os autores reportam que a acidez fixa e total durante todo período de armazenamento ficou acima do estabelecido pelos padrões da legislação brasileira.

Adicionalmente, Nzabuheraheza e Nyiramugwera (2014) produziram vinho a partir da mistura dos frutos maracujá, manga e abacaxi na proporção de 33,3% da polpa de cada fruta. A avaliação sensorial, usando escala hedônica de 9 pontos com provadores treinados indicou boa aceitação da bebida destacando-se sabor agradável e cor dourada.

Pinto et al. (2015) estudaram a fermentação alcoólica das frutas tropicais graviola, pitanga e tamarindo a partir do ajuste da concentração de sólidos solúveis dos mostos para

25°Brix e do pH inicial para 4,5. A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente, sem agitação, durante sete dias. Os produtos obtidos demonstraram que as frutas apresentam potencial de utilização, gerando bebidas com teores alcoólicos de 7,5°GL (pitanga), 7,9°GL (graviola) e 8,9°GL (tamarindo).

Piaia et al. (2016) desenvolveram um vinho espumante de água de coco a partir da adição de frutose e levedura *S. cerevisiae*. A combinação resultou em um produto límpido, de cor amarela-palha claro, brilhante, sem sabor ou aroma atípicos e com boa capacidade nutricional. Além disso, o vinho espumante de água de coco apresentou propriedades organolépticas similares a de um vinho Moscatel espumante de uva.

Alcântara et al. (2017) estudaram diferentes linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de um fermentado de laranja. Foram utilizadas três estirpes de leveduras, sendo elas: *S. cerevisiae* CA 11, *S. cerevisiae* PE 2 e fermento FERMIX®. Os resultados concluíram que a cepa PE 2 foi a linhagem que apresentou maior rendimento e eficiência no processo fermentativo e a linhagem CA 11 demonstrou menor tempo para estabilização da fermentação e menor teor de açúcares residual, enquanto o fermento comercial utilizado na fabricação de pães, FERMIX®, demonstrou resultados inferiores na cinética da fermentação.

Dantas & Silva (2017) estudaram a produção, cinética de fermentação e caracterização do fermentado alcoólico de umbu, a partir da diluição da polpa de umbu em água na proporção 1:1,5, correção do pH para 4,0, sulfitação, chaptalização até 20°Brix, fermentação, trasfega, filtração e envase. A bebida obtida apresentou teor alcoólico de 12,57 °GL.

Bertagnolli et al. (2017) desenvolveu e caracterizou o espumante natural de goiaba produzido pelo método *champenoise*, método tradicionalmente aplicado em uvas. O experimento resultou numa bebida com características físico-químicas equivalentes aos espumantes elaborados a partir do vinho.

Cho et al. (2017) determinaram as características de qualidade e potencial antioxidante do vinho espumante produzido a partir de caqui maduro utilizando três cepas de *Saccharomyces*; e obtiveram uma bebida com qualidade satisfatória na proporção 4:1 de caqui e água durante a primeira fermentação; apresentando teor de compostos antioxidantes significativamente alto.

Bessa et al. (2018) avaliaram a potencialidade do melão (*Cucumis melo* L.) das variedades amarelo e cantaloupe na elaboração e caracterização do fermentado alcoólico, a

partir da polpa diluída com água (proporção 4:1) e ajustada para pH 4.5 e 15°Brix de sólidos solúveis; e realizaram ainda o acompanhamento da cinética fermentativa do processo. Os resultados obtidos demonstraram que o melão apresenta viabilidade de ser utilizado no processamento da bebida, sendo que a variedade amarela foi a que apresentou melhores resultados no estudo.

Medeiros et al. (2019) utilizaram resíduos agroindustriais de abacaxi e desenvolveram uma bebida fermentada gaseificada, saborizada com gengibre. A bebida produzida atendeu a legislação brasileira, apresentou pH em torno de 3,7, sólidos solúveis totais de 5 °Brix e teor alcoólico de 8,4%, e foi bem avaliada na caracterização sensorial realizada por 60 provadores, demonstrando ser comercialmente viável.

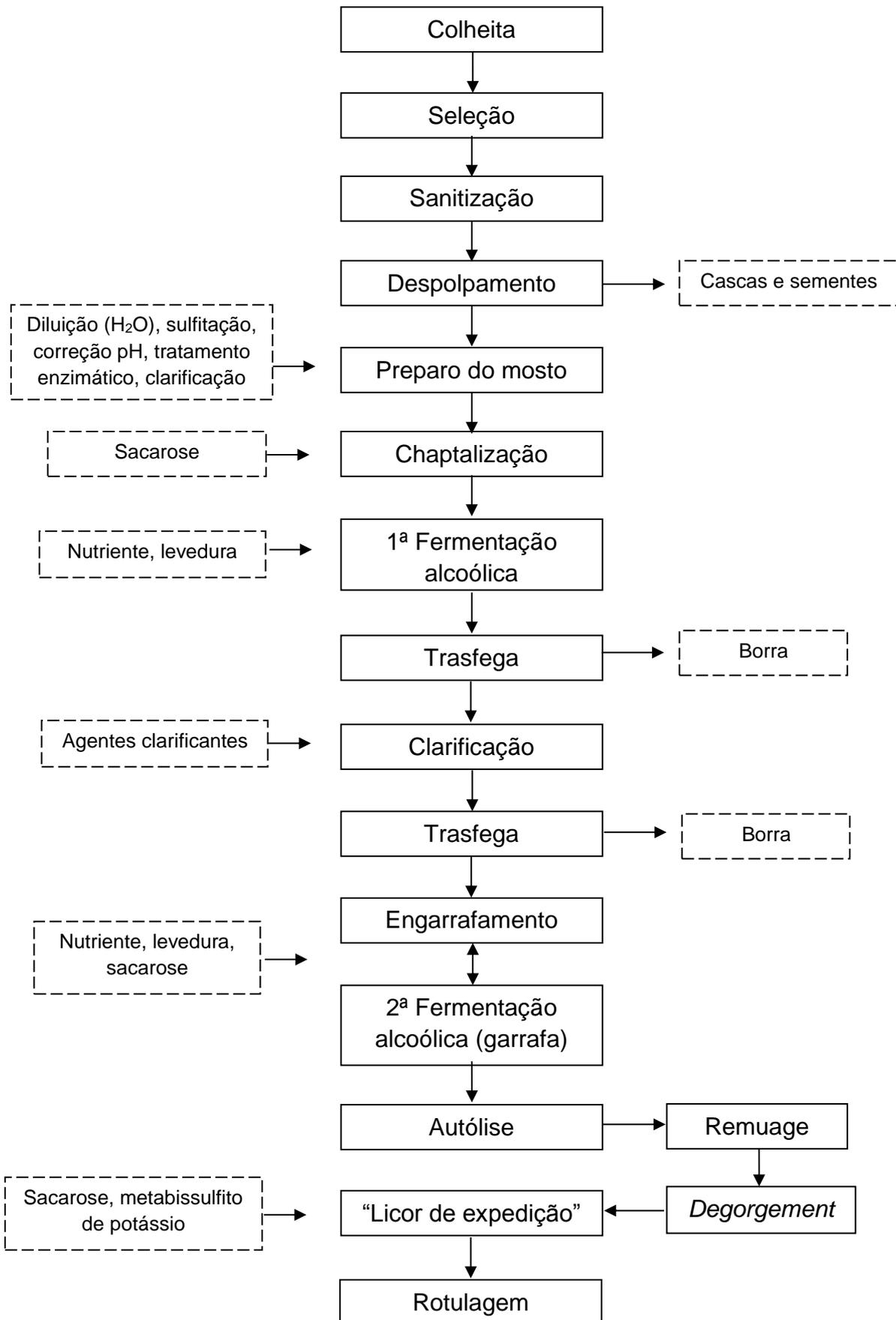
Santos & Souza (2020) utilizaram a pinha (*Annona squamosa* L.) no desenvolvimento de fermentado alcoólico, como alternativa de reduzir as perdas pós colheita do fruto, a partir de um mosto com teor de sólidos solúveis ajustado para 24°Brix. A fermentação ocorreu em temperatura ambiente (25-30°C) durante 15 dias. A bebida obtida, classificada como suave, foi filtrada, engarrafada e submetidas ao processo de pasteurização a 65°C durante 45 min.

Neves et al. (2020) avaliaram um fermentado de caju elaborado a partir da extração da polpa do pseudofruto, e obtiveram uma bebida clarificada e pasteurizada com teor alcoólico de 11% e 1,64 g L⁻¹ de açúcares residual, classificada como seca. Além disso, a aceitabilidade sensorial aplicada indicou média acima de 8,0 para a impressão global.

2.3.2 Processo de Elaboração do Fermentado de Fruta Gaseificado

Conforme a metodologia descrita por Rizzon, Meneguzzo e Abarzua (2000), Piaia et al. (2016), Bertagnolli et al. (2017) e Cho et al. (2017), as etapas básicas para a elaboração do fermentado alcoólico gaseificado estão apresentadas na Figura 8, seguindo o método tradicional (método *chapeñoise*) para a elaboração de vinho espumante, sendo descritas a seguir.

Figura 8. Fluxograma do processo de elaboração do fermentado alcoólico gaseificado.



A colheita compreende o processo de obtenção do fruto no campo através da colheita nas plantas conforme sua maturidade e integridade física. Em seguida, os frutos devem ser selecionados visualmente, utilizando-se apenas aqueles frutos sadios, considerando a coloração intermediária do verde ao amarelo, a firmeza da casca (frutos sem amassamento e rompimento da casca) e com ausência de injúrias microbianas (contaminações aparentes) (MATTA & FREIRE JUNIOR, 1995; TORREZAN, 2015).

A sanitização compreende as etapas de lavagem e higienização da matéria-prima. A lavagem, por imersão, é realizada utilizando água corrente para a remoção dos resíduos aderidos à casca do fruto, como folhas e terra. Em seguida, a sanitização visa reduzir a carga microbiana presente na parte externa do fruto e consiste na imersão da matéria-prima em solução de hipoclorito de sódio na concentração de 50 a 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de cloro ativo entre 10 e 30 minutos (TORREZAN, 2015; SOLIVA-FORTUNY & MARTÍN-BELLOSO, 2003). Ao fim da higienização, os frutos seguem para a lavagem com água, por imersão, para remoção das impurezas remanescentes, além da retirada do excesso de cloro (MORAES, 2006).

O despulpamento é o processo utilizado para separar da polpa da fruta a semente, a casca e o material fibroso; devendo ser realizado de forma manual com o auxílio de utensílios cortantes (como a faca) e/ou de forma mecânica em equipamentos específicos, denominados de despulpadoras ou desintegradores (MATTA & FREIRE JUNIOR, 1995).

O processo de preparo do mosto, também caracterizado pelas etapas de pré-fermentação, é caracterizado pela diluição da polpa, sulfitação, correção do pH, tratamento enzimático e a *débourbage* (1ª clarificação). As etapas de diluição e correção do pH depende das características da matéria-prima utilizada.

A diluição da polpa ocorre a partir da adição de água potável (mineral ou destilada) à polpa do fruto na proporção estabelecida. Nesta etapa é necessário a utilização de uma balança digital ou medidor de volume, porque é importante que a polpa e a água adicionada estejam na proporção correta, além do que se deve ter o conhecimento da quantidade inicial do mosto para a pesagem dos aditivos e coadjuvantes a serem adicionados nas etapas posteriores.

A sulfitação, também denominada de sulfitação, compreende a adição do aditivo dióxido de enxofre (SO_2), na forma de metabissulfito de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$), com o objetivo de evitar a ocorrência de reações oxidativas e proliferação de microorganismos deteriorantes, dentre eles as leveduras selvagens indesejáveis. No entanto, se presente em excesso, este aditivo retarda a fermentação alcoólica e promove modificações sensoriais indesejáveis, como a perda

de cor e o aparecimento de sabores desagradáveis oriundos do sulfeto de hidrogênio e da mercaptana (OUGH & AMERINE, 1988; HASHIZUME, 1983; GUERRA & BARNABÉ, 2005). Este processo deve ocorrer durante o preparo do mosto, ao fim da fermentação lenta (antes de dar início à clarificação) e após a clarificação, antes do envase. A concentração deste antioxidante não deve ultrapassar o limite máximo de $0,35 \text{ g L}^{-1}$ de anidro sulfuroso (SO_2) no meio (mosto e fermentado), conforme estabelecido pela legislação (BRASIL, 2012).

Após a sulfitação, a correção do pH é realizada. Não é uma etapa obrigatoriamente realizada, mas necessária quando o mosto apresenta pH abaixo ou acima da faixa desejada, sendo reflexo de acidez fora da faixa estabelecida pela legislação, que é de no min. 50 mEq L^{-1} e no máximo 130 mEq L^{-1} (BRASIL, 2012). Esta correção é realizada a partir da adição de sais ou ácidos no mosto sulfitado. Quando se deseja um aumento no pH, utiliza-se um desacidificador (caracterizado por sais), enquanto quando se deseja uma redução no valor do pH, é necessário utilizar um acidificador (caracterizado por ácidos) (CARMO et al., 2012; PAULA et al., 2012).

O tratamento enzimático promove a redução da viscosidade e melhora e aumenta a eficiência de filtração e clarificação do mosto através da degradação (hidrólise) das moléculas estruturais da pectina, do amido e da celulose, com adição de enzimas específicas; para a degradação das moléculas estruturais de pectinas aplica-se uma pectinase (UENOJO & PASTORE, 2007; NINGA et al., 2021). Conforme relata Mahler (1997), a pectina presente nas frutas promove um aumento na viscosidade, o que dificulta a filtração e diminui o rendimento, principalmente na clarificação.

A *débourbage* (1ª clarificação) consiste na remoção de substâncias que causam a turbidez no mosto através da adição de um agente clarificante (orgânico ou mineral), que, por adsorção, promove a coagulação e floculação e arrasta as partículas em suspensão, tais como a pectina, a celulose, o amido e as proteínas; sendo o agente clarificante também removido juntamente com as partículas adsorvidas. Este processo é realizado sob baixas temperaturas, em repouso por um período suficiente para que o mosto esteja límpido e estável, assim visivelmente a borra estará mais límpida e decantada (GUERRA & BARNABÉ, 2005; PAULA, 2011).

Finalizado o período de *débourbage*, antes de dar seguimento para a fermentação, é necessário realizar a trasfega do mosto; que se trata do processo de transferência do mosto clarificado de um recipiente para outro recipiente, com o objetivo de separar o líquido dos

sólidos depositados, que se sedimentam no fundo do recipiente (seja o tanque ou garrafão). Este sedimento recebe o nome de borra, e é um depósito indesejável constituindo-se de vestígios de cascas e fibras da matéria-prima, leveduras, pectinas, mucilagens, terra e ácidos, que podem originar produtos de odor desagradável, como o sulfito (H_2S) e a mercaptana, resultado de diversas reações químicas, além de microorganismos que podem alterar a qualidade da bebida (HASHIZUME, 1983; GUERRA & BARNABÉ, 2005). As trasfegas podem ser realizadas por ação da gravidade, com o uso de mangueiras, ou por meio de bombas, e devem ocorrer após a finalização da fermentação e após o processo de clarificação, antes do engarrafamento (GUERRA & BARNABÉ, 2005).

A etapa seguinte é a fermentação alcoólica, que é o processo de transformação de açúcares em álcool etílico e gás carbônico pela ação de leveduras, sendo as do gênero *Saccharomyces* as mais importantes e usadas na produção do etanol para a elaboração de fermentado de fruta.

É necessário que o mosto apresente quantidade suficiente de açúcares para a produção do etanol para que a fermentação alcoólica possa ocorrer. Quando há deficiência de açúcar na matéria-prima (ou mosto), faz-se a correção necessária com a adição da sacarose ao mosto, através do processo de chaptalização. A Chaptalização consiste na correção do teor de sólidos solúveis do mosto, causado pela deficiência de açúcar da matéria-prima, com adição da sacarose. É empregada para produzir a quantidade de álcool desejada, uma vez que a adição de 18 g L^{-1} de açúcar eleva o teor alcoólico do vinho em 1°GL (GUERRA & BARNABÉ, 2005). O excesso de chaptalização pode resultar no desequilíbrio da qualidade sensorial da bebida (HASHIZUME, 1983).

Após a realização da chaptalização, é adicionado, ainda, um composto de nutrientes ao mosto. O enriquecimento do mosto com nutrientes é realizado pela adição de fósforo e nitrogênio, visando suplementar, satisfatoriamente, as necessidades das leveduras, para a promoção de uma maior eficiência de trabalho (CARMO et al., 2012). Guerra & Barnabé (2005) citam que concentrações elevadas de nitrogênio promovem uma excessiva multiplicação celular, favorecendo, conseqüentemente, a redução da conversão de açúcar à etanol, o que é indesejável. Já Amerine & Singleton (1976) ressaltam que baixas concentrações de nitrogênio favorecem a liberação de álcoois superiores indesejáveis.

Após o mosto ser chaptalizado e suplementado com nutrientes, adiciona-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* ou outras espécies do gênero *Saccharomyces* principalmente (SILVA

et al., [s.a.]), e o processo fermentativo é iniciado, através da fermentação alcoólica, que é o processo de transformação de açúcares em álcool etílico (etanol) e gás carbônico (CO₂).

Ressalta-se que durante a primeira fermentação é realizado um processo denominado de remontagem ou aeração, que consiste em oxigenar o mosto que está sendo fermentado, sendo o volume total diário remontado de duas a três vezes o volume total do recipiente (GUERRA & BARNABÉ, 2005). Este processo além de promover a oxigenação do mosto, homogeneiza o mosto no interior do recipiente, uniformiza a temperatura do meio, a concentração de açúcares e das leveduras, e evita a formação de aromas indesejáveis (DAY et al., 2015; RIBEREAU-GAYON et al., 2006). A remontagem pode ser aberta ou fechada. Na remontagem aberta a homogeneização ocorre no exterior do tanque ou garrafão, utilizando auxílio de utensílios como baldes. E na remontagem fechada, a homogeneização ocorre no interior do tanque ou garrafão, com o auxílio de utensílios como uma espátula de cabo longo. Recomenda-se intercalar entre remontagens abertas e fechadas.

Outro fator importante para o sucesso do processo fermentativo é a manutenção do controle da temperatura ambiente, pois temperaturas inadequadas causam reações indesejáveis e alteram o rendimento e a qualidade do produto final (SILVA et al., [s.d.]). Adicionalmente, ao decorrer da fermentação, análises de rotina como a verificação da densidade e da quantidade de açúcares redutores são necessárias na confirmação do fim do processo fermentativo.

Ao fim da primeira fermentação, deve-se realizar a trasfega, processo anteriormente citado e que corresponde a transferência do mosto fermentado (RIZZON; MENEGUZZO; ABARZUA, 2000).

Na sequência, ao fim da trasfega, o mosto é submetido a mais uma etapa de clarificação para a remoção de substâncias que causam a turbidez na bebida fermentada. Adiciona-se agentes clarificantes (orgânico ou mineral) que por adsorção promovem a coagulação e floculação e arrastam as partículas em suspensão que causam a turbidez. Esta clarificação é realizada por longos períodos (podendo variar entre 30 e 45 dias), sob temperaturas mais baixas (próximas a zero grau) e torna a bebida mais límpida, estável e brilhante (RIZZON; MENEGUZZO; ABARZUA, 2000).

Ao final do processo de clarificação, uma nova trasfega é realizada. Posteriormente à trasfega, o fermentado deve ser sulfitado novamente com adição de metabissulfito de potássio, concentração não excedendo limite de 0,35 g L⁻¹. Na sequência, o fermentado base obtido é submetido à segunda fermentação.

A segunda fermentação alcoólica ocorrerá na garrafa com a adição do licor de tiragem, que é uma solução feita com o mesmo vinho-base, ao qual se adiciona açúcar, levedura e nutrientes. Ela ocorre dentro da própria garrafa e é responsável por uma das características principais do espumante, que é a formação do dióxido de carbono. É na segunda etapa de fermentação que o vinho espumante desenvolve, ainda, os compostos aromatizantes característicos (TORRESI et al., 2011). A quantidade de açúcar recomendada a ser adicionada em vinho espumante é 24 gramas por litro, visto que quatro gramas de sacarose geram uma atmosfera de pressão (RIZZON; MENEGUZZO; ABARZUA, 2000). A legislação brasileira determina pressão mínima de dois e três atmosferas a 20°C para fermentado alcoólico de frutas (BRASIL, 2012).

Para melhor homogeneização, o licor de tiragem não deve ser adicionado diretamente na garrafa, mas sim quando o vinho base ainda estiver armazenado no tanque. Depois de misturados, o líquido é engarrafado e, para tampar a garrafa é utilizada tampa corona com bidule, semelhante à utilizada na cerveja (SOUSA, 2005).

No engarrafamento, o acondicionamento da bebida ocorre, preferencialmente, em garrafas de capacidade 750mL, em vidro âmbar, cor verde oliva (verde-escuro), de bojo gordo, ombros caídos, paredes grossas e uma pronunciada reentrância côncava no fundo da garrafa (SOUSA, 2005). Neste processo, antes do envase, deve-se injetar no interior da garrafa gás nitrogênio ou dióxido de carbono em substituição ao ar atmosférico. E, adicionalmente, durante o envase, o espaço livre dentro das garrafas deve ser de, no máximo, 13 a 15 mm, para evitar perdas de qualidade em função de reações oxidativas ocorridas após o engarrafamento (CHRISTAKI & TZIA, 2002; GUERRA & BARNABÉ, 2005).

Após finalização do período fermentativo, as garrafas seguem para o envelhecimento ou autólise, onde permanecem em repouso na posição horizontal por um determinado período, em que há o contato do vinho espumante com a levedura, sendo determinado pela vinícola, e geralmente leva de 9 a 12 meses (SIMONAGGIO & LEHN, 2014). É na autólise de leveduras que ocorre a liberação de compostos intracelulares, tais como aminoácidos, peptídeos, proteínas, polissacarídeos, derivados de ácidos nucleicos e lipídios; que são precursores de muitos compostos voláteis e contribuem positivamente para a qualidade de vinhos espumantes (BOSCH-FRUTE et al., 2007).

A limpeza do espumante é executada colocando as garrafas inclinadas em pupitres. Trata-se de um processo manual, no qual, por três vezes ao dia, é realizado um quarto (1/4) de giro na garrafa. Esse movimento faz a sujidade migrarem para o gargalo (pescoço da garrafa). Normalmente o espumante fica limpo em 20 dias (CAVAZZANI, 1994).

Após as borras decantarem no gargalo, a garrafa é mantida na vertical sendo transportada para uma câmara fria para diminuir a pressão interna, com o intuito de realizar o *dégorgemant* sem perda de espumante. O *dégorgemant* consiste em limpar o vinho espumante congelando a sujidade no interior da garrafa. Congela-se o pescoço da garrafa em temperatura de -24°C. Dessa forma, em função da pressão interna da garrafa, a parte congelada, contendo as impurezas, é expulsa da garrafa, deixando o espumante limpo (RIZZON; MENEGUZZO; ABARZUA, 2000). Na eliminação do batoque de borra perde-se parte da pressão interna, como também do vinho, por isso para compensar, cada garrafa tem seu nível interno completado através da adição do licor de expedição, que é uma solução preparada com o próprio vinho espumante com quantidade específica de sacarose para determinar o tipo de produto (seco ou suave) (SOUSA, 2005).

Por fim, as garrafas são fechadas com rolhas de cortiça reforçadas e presas com uma gaiola de segurança, feita de arame reforçado (SOUSA, 2005). Na sequência, deve ser rotulado. Recomenda-se deixar o espumante cerca de um mês em descanso antes da comercialização.

2.3.2.1 Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo biológico em que ocorre a transformação de açúcares solúveis da matéria-prima como a glicose em álcool etílico ou etanol (C₂H₅OH) e gás carbônico (CO₂), por meio da atividade metabólica das leveduras do gênero *Saccharomyces*, conforme a equação global (1) (HASHIZUME, 1983; AMERINE & SINGLETON, 1976):



As leveduras do gênero *Saccharomyces*, em especial a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, são as mais utilizadas por apresentarem características de promover uma rápida e homogênea fermentação, utilização completa dos açúcares fermentáveis (formando uma elevada quantidade de álcool etílico (2 moles) por grama de açúcar consumido), maior resistência ao álcool e

habilidade de fermentar a altas temperaturas. Também apresentam efeitos específicos na formação do aroma e sabor do vinho, com menor formação de ácido acético, acetaldeído e piruvato, diminuição da capacidade do mosto em formar espuma e clarificação do mosto por floculação (HASHIZUME, 1983; AMERINE & SINGLETON, 1976; GUERRA & BARNABÉ, 2005; ZOECKLEIN et al., 2001).

O processo fermentativo é derivado de uma reação exotérmica, tem início assim que a levedura entra em contato com o mosto e é caracterizado pela ocorrência de três etapas, denominadas de pré-fermentação, fermentação tumultuosa e fermentação lenta (AMORIM & LEÃO, 2005).

A pré-fermentação, também denominada de fase preliminar, é caracterizada pela adaptação das leveduras e multiplicação celular. Nesta fase, o mosto, mesmo sem ter sido oxigenado, contém, ainda, uma determinada quantidade de oxigênio para facilitar o início do desenvolvimento das leveduras. O aumento de temperatura nesta fase é insignificante e não se nota formação de bolhas (CLETON & MUTTON, 2004; AMORIM & LEÃO, 2005).

A fermentação alcoólica principal ou tumultuosa é determinada pela alta atividade das leveduras, é a fase em que ocorre a sua rápida reprodução e o número de organismos aumenta exponencialmente. Esta fase é caracterizada pela elevação da temperatura, da produção de etanol e de grande liberação de gás CO₂, além da ocorrência da presença de espumas e borbulhamento intenso, causando desprendimento das partículas sólidas presente no mosto (bagaço e leveduras) da parte inferior para a parte superior do recipiente. Nota-se um aroma agradável e característico com o prosseguimento da fermentação (CLETON & MUTTON, 2004; AMORIM & LEÃO, 2005).

A fermentação alcoólica lenta ou pós-fermentação é a fase estacionária que pode variar de 07 a 30 dias e é determinada pela redução gradual da taxa de crescimento das leveduras, decorrente da diminuição da concentração de açúcar e do acréscimo dos teores de etanol, que limitam o desenvolvimento das leveduras (ROSIER, 1995; GUERRA & BARNABÉ, 2005). Caracteriza-se, ainda, pela diminuição da produção de gás carbônico, igualdade das temperaturas de fermentação e ambiente, e pela precipitação das leveduras (CLETON & MUTTON, 2004; AMORIM & LEÃO, 2005).

A produção de álcool etílico, principal metabólito formado na fermentação, ocorre quando o mosto (composto de água e substrato adicionado ou não de açúcar) apresenta componentes nutritivos suficientes para a levedura e uma concentração de açúcares, sólidos

solúveis, em quantidades suficientes para a obtenção desejável do teor alcoólico (CLETON & MUTTON, 2004; AMORIM & LEÃO, 2005).

2.3.2.1.1 Cinética da Fermentação

O estudo cinético de um bioprocessamento consiste na análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo em função do tempo de fermentação, considerando a fase de latência (lag), fase de crescimento exponencial (log), fase estacionária e fase de morte celular ou de declínio a uma determinada temperatura; regularidade fermentativa; duração total do processo; curva termodinâmica de cada cepa e resposta ao stress fermentativo (PAULA, 2011; NASCIMENTO et al., 2018).

Entende-se como componentes do sistema de cultivo, o micro-organismo (ou a biomassa), sendo sua concentração representada por X, os produtos do metabolismo (ou metabólitos – produtos de interesse econômico), representados por P, e os nutrientes ou substratos que compõem o meio de cultura, representados por S (NASCIMENTO et al., 2018).

Os objetivos do estudo da cinética de um processo fermentativo envolvem a medição das taxas de transformações dos componentes do sistema de cultivo, com geração de curvas de ajustes de S, X e P; o estudo da influência de fatores nestas taxas (pH, acidez, temperatura, dentre outros de interesse), correlacionando as taxas de transformação e os fatores que nela influenciam; e, a aplicação do modelo de otimização e controle do processo, visando aumentar rendimentos e produtividades (NASCIMENTO et al., 2018).

Conforme Nascimento et al. (2018), é caracterizada pela determinação do(a): consumo de substrato (sacarose, expresso em g L^{-1}), formação de produto (álcool, expresso em $^{\circ}\text{GL}$), concentração de células (biomassa formada, expressa em g L^{-1}), eficiência da fermentação alcoólica (Ef, expresso em %), produtividade da fermentação alcoólica (Pr, expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}$), produtividade volumétrica de biomassa (Q_x , expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), produtividade volumétrica do produto (Q_p , expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$), fator de conversão do substrato em biomassa ou rendimento de biomassa ($Y_{X/S}$), fator de conversão de produto em biomassa ($Y_{X/P}$), velocidade de crescimento celular (r_x , expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), velocidade de consumo de substrato (r_s , expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), velocidade de formação de produto (r_p , expresso em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$), velocidade específica de crescimento celular (μ , expresso em h^{-1}), velocidade específica de consumo de substrato (q_s , expresso em $\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$), velocidade

específica de formação de produto (q_p , expresso em $\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$) e eficiência da fermentação (E , expresso em %). E adicionalmente com o acompanhamento da viabilidade celular (%).

A concentração de sacarose do mosto, expressa em g L^{-1} , ao decorrer do processo fermentativo, é obtida através de análises diárias do teor de açúcares redutores, por métodos físico-químicos quantitativos.

A concentração de etanol, expressa em $^{\circ}\text{GL}$, no mosto pode ser determinada pela densidade relativa do fermentado, a 20°C , a partir da Equação 1 (OURA, 1977):

$$\text{álcool } (^{\circ}\text{GL}) = (D_i - D_x) \times 125 \quad (1)$$

Onde:

D_i - densidade relativa no momento em que a fermentação se inicia;

D_x - densidade relativa no momento em que se deseja obter o teor alcoólico.

A concentração celular, expressa em g de células por unidade de volume, pode ser determinada pela quantificação de massa seca após secagem em estufa a 105°C por 24h, utilizando a Equação 2 (SÁ, 2012; SANTOS et al., 2018):

$$X = (M_f - M_i) / V \quad (2)$$

Onde:

X = concentração de células de levedura seca [g cel mL^{-1}]

M_f = massa do tubo com células da levedura seca [g]

M_i = massa do tubo [g]

V = volume da alíquota (mL)

A eficiência (E_f) da fermentação alcoólica, expressa em %, é calculada a partir do valor de etanol produzido (%p/v) em relação aos açúcares consumidos (%p/v), de acordo com a equação 3 (NASCIMENTO et al., 2018).

$$E_f (\%) = \frac{\text{Etanol produzido}}{S_0 * 0,511} \times 100 \quad (3)$$

A produtividade (Pr) da fermentação alcoólica, corresponde à quantidade produzida de etanol experimental em relação ao tempo de fermentação, em horas, e é obtida pela Equação 4 (NASCIMENTO et al., 2018):

$$Pr \text{ (g/L. h)} = \frac{Q_{exp}}{t} \quad (4)$$

Onde:

Q_{exp} - concentração de etanol experimental:

$$Q_{exp} = 0,7895 \text{ (g/mL)} \times (\text{°GL}/100) \times 1000 \text{ (mL/L)}$$

Q_{teo} – concentração de etanol teórico:

$$Q_{teo} = \text{quantidade de açúcares consumido} \times 0,511$$

t – tempo de fermentação (h).

Para o cálculo dos parâmetros cinéticos, conforme Sá (2012) e Nascimento et al. (2018):

$$\frac{dX}{dt} = r_x \quad \therefore \quad \frac{dX}{X dt} = \mu \quad (5)$$

$$\frac{dS}{dt} = r_s \quad \therefore \quad \frac{dS}{X dt} = q_s \quad (6)$$

$$\frac{dP}{dt} = r_p \quad \therefore \quad \frac{dP}{X dt} = q_p \quad (7)$$

$$Y_{X/S} = \frac{\mu}{q_s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} \quad (8)$$

$$Y_{P/S} = \frac{q_p}{q_s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (9)$$

$$Y_{X/P} = \frac{\mu}{q_p} = \frac{\Delta X}{\Delta P} \quad (10)$$

$$Q_x = \frac{X}{t} \quad (11)$$

$$Q_p = \frac{P}{t} \quad (12)$$

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{Y_{p/s}}{0,511} \times 100 \quad (13)$$

Onde:

X = concentração de biomassa (g L⁻¹)

S = concentração de substrato (g L^{-1})
 P = concentração de produto (g L^{-1})
 r_X = velocidade de crescimento celular ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 r_S = velocidade de consumo de substrato ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 r_P = velocidade de formação de etanol ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 μ = velocidade específica de crescimento (h^{-1})
 q_S = velocidade específica de consumo de substrato ($\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 q_P = velocidade específica de formação de produto ($\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 $Y_{X/S}$ = rendimento de biomassa em substrato (g g^{-1})
 $Y_{P/S}$ = rendimento de produto em substrato (g g^{-1})
 $Y_{X/P}$ = rendimento de produto em biomassa (g g^{-1})
 Q_X = produtividade volumétrica de biomassa ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
 Q_P = produtividade volumétrica de produto ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$)

A determinação da viabilidade celular, expressa em %, efetuada em microscópio óptico comum é baseada no método desenvolvido por LEE et al. (1981) para a contagem e análise de viabilidade em leveduras, utilizando câmara de Neubauer e indicador corante azul de metileno. Para o cálculo da viabilidade, utiliza-se a Equação 14.

$$\text{Viabilidade (\%)} = \left(\frac{\text{n}^\circ \text{ de células vivas}}{\text{n}^\circ \text{ de células vivas} + \text{n}^\circ \text{ de células mortas}} \right) \times 100 \quad (14)$$

3 ABORDAGEM METODOLOGICA

O trabalho desenvolvido foi dividido em 4 etapas:

1ª etapa - desenvolveu o fermentado base de maracujá da Caatinga, a partir do fruto em dois estágios de maturação e testou a formulação na proporção 20:80 (polpa/água), caracterizando a composição físico-química, capacidade antioxidante e aceitação sensorial;

2ª etapa - avaliou as condições ótimas de trabalho da enzima pectinólítica a ser utilizada no mosto de maracujá da Caatinga, através da execução de um DCCR;

3ª etapa - desenvolveu o fermentado base na proporção 40:60 (polpa/água), acompanhou a sua cinética fermentativa e avaliou o comportamento da composição físico-química, capacidade antioxidante e perfil fenólico da bebida obtida durante a vida de prateleira de 12 meses;

4ª etapa: desenvolveu o fermentado gaseificado na proporção 40:60 (polpa/água) e avaliou as características da composição físico-química, capacidade antioxidante, perfil fenólico e aceitação sensorial da bebida obtida por dois tempos de autólise (0 e 9 meses).

3.1 Obtenção da matéria-prima

Os frutos do maracujá da Caatinga, no estágio de maturação aparente intermediário e maduro, foram obtidos do campo experimental da Embrapa Semiárido e com agricultores no comércio local da região de Petrolina (PE, Brasil), sendo selecionados conforme a coloração da casca (amarelo-esverdeada), firmeza da casca (sem amassamento e rompimento da casca) e com ausência de injúrias microbiana (contaminações aparentes).

3.2 Processamento da matéria-prima (extração da polpa)

No laboratório de processamento de alimentos na Embrapa (Petrolina, PE), os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, por 15 min., enxaguados em água corrente e despulpados em despulpadeira elétrica, para a separação da polpa e sementes, utilizando peneira mesh 10.

Após o despulpamento, a polpa foi filtrada em tecido 'voil' para retirada dos resíduos fibrosos presentes, sendo em seguida, acondicionada em sacos de polietileno, seladas à vácuo e armazenadas sob refrigeração a -18°C até o processamento inicial do fermentado alcoólico.

3.3 Caracterização físico-química da polpa do fruto

Antes de dar início ao processamento do fermentado alcoólico, a polpa do fruto foi caracterizada, em triplicata, quanto a: densidade (g cm^{-3}), por leitura direta em balança hidrostática; pH, por leitura direta em potenciômetro; sólidos solúveis (°Brix), por leitura direta

em refratômetro; acidez total, expressa em ácido cítrico ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), por titulometria com solução de NaOH 0,1M; e, açúcares redutores (g L^{-1} de glicose), quantificados por titulação utilizando os reagentes Fehling A e B (AOAC, 2012).

3.4 Processo de elaboração do fermentado alcoólico base

Para o processamento do fermentado base, a polpa extraída anteriormente dos frutos foi descongelada sob refrigeração ($5\pm 2^\circ\text{C}$) e a elaboração seguiu a partir da diluição da polpa na proporção 80:20 polpa/água. Antes da fermentação, sulfitação foi realizada a partir da adição do conservante metabissulfito de potássio (100 mg L^{-1}) ao mosto; sendo o mosto distribuído, em triplicata, em garrações enológicas, capacidade 10L. Em seguida, enzima pectinolítica ($150\text{-}250 \text{ mg L}^{-1}$) foi adicionada para que a pectina fosse degradada, sendo os garrações mantidos em temperatura de $16\pm 2^\circ\text{C}$ durante 24h. Na sequência, o mosto foi trasfegado e a obtenção do fermentado base, foi realizada a $16\pm 2^\circ\text{C}$ após a adição de levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* ($200\text{-}400 \text{ mg L}^{-1}$), do nutriente fosfato de amônio ($200\text{-}300 \text{ mg L}^{-1}$) e da chaptalização com sacarose comercial. Ao final da fermentação, o mosto foi trasfegado e seguiu para a etapa de clarificação e estabilização proteica, em temperatura de $5\pm 2^\circ\text{C}$ durante 25 dias, após a adição dos agentes clarificantes bentonita ($1000\text{-}1400 \text{ mg L}^{-1}$) no primeiro dia, de sílica (500 mg L^{-1}) no vigésimo primeiro dia e de gelatina no vigésimo terceiro dia (100 mg L^{-1} de gelatina). Finalmente, o fermentado alcoólico foi trasfegado e seguiu para o engarrafamento em garrafas âmbar cor verde oliva.

3.5 Caracterização físico-química do fermentado base

Após a elaboração, os fermentados base foram caracterizados, em triplicata, quanto as metodologias propostas por AOAC (2012) e OIV (2019) para: pH, por leitura direta em potenciômetro; densidade (g cm^{-3}), por leitura direta em balança hidrostática; acidez total (meq L^{-1} de ácido cítrico), por titulometria com solução de NaOH 0,1M; acidez volátil e fixa (meq L^{-1}), por titulometria com solução de NaOH 0,1M após destilação da amostra em destilador; anidro sulfuroso (SO_2) livre e total (g L^{-1}), por titulometria com solução de iodo e indicador amido; cloretos totais (g L^{-1}), por titulação com nitrato de prata 0,1 N e tiocianato de potássio 0,1 N em presença de íons férricos; teor alcoólico (% v/v), por densimetria após destilação simples da bebida em destilador enológico; extrato seco reduzido (g L^{-1}), por densimetria após

destilação simples da bebida em destilador enológico; cor, por leitura direta em colorímetro digital através do sistema de cor CIELab (L^* , a^* , b^* , C e H). Adicionalmente: vitamina C (mg L^{-1}), por titulometria do extrato da amostra (em solução de ácido oxálico) com solução de Tilman (2,6-dicloro-fenol indofenol) (STROHECKER & HENNING, 1967); compostos fenólicos totais, por colorimetria em espectrofotometria (760nm) utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (FOLIN & CIOCALTEU, 1927); perfil de compostos fenólicos (mg L^{-1}), pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (NATIVIDADE et al., 2013) e atividade antioxidante, pelos métodos FRAP (RUFINO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2020), DPPH (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER & BERSET, 1995; RUFINO et al., 2009) e ORAC (DAVALOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2020) também foram determinadas.

3.6 Análise sensorial do fermentado base

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para realização da análise sensorial foi aprovado pelo Comitê de Ética da Autarquia Educacional de Belo Jardim na Plataforma Brasil, sob número CAAE 4417021.5.0000.5189.

Sessenta e oitenta indivíduos, não treinados, acima de 21 anos, foram convidados a participar da avaliação sensorial das bebidas alcoólicas elaboradas. As amostras, sob temperatura de $8\pm 2^\circ\text{C}$, foram apresentadas de forma monódica, codificadas com três dígitos em taças enológicas, contendo volume igual a 30 mL. As amostras foram avaliadas de acordo com Meilgaard et. al. (2006) quanto à sua aceitação da aparência, sabor, corpo e impressão global utilizando a escala hedônica tradicional de nove pontos, na qual os extremos representavam “desgostei moderadamente” (1) e “gostei extremamente” (9) e o centro “nem gostei/nem desgostei” (5); e, da escala linear não estruturada de 9cm ancorada em suas extremidades com “pouco intensa” e “muito intensa”. A ordem de apresentação das amostras entre os participantes seguiu o bloco completo balanceado proposto por MacFie et al. (1989). Teste CATA (check-all-that-apply) foi aplicado (Ares et al., 2014) utilizando 16 descritores sensoriais relacionados à aparência, aroma, sabor e sensações bucais, como: aroma floral, aroma verde, aroma de maracujá, aroma doce, aroma cítrico, aroma refrescante, pouco aromático, aroma intenso, cor atrativa, amarelo dourado, adstringente, ácido, doce, equilibrado, sabor de maracujá e encorpado.

Adicionalmente, na mesma sessão de teste, os consumidores foram orientados a responder se comprariam ou não o produto caso estivesse à venda, utilizando o Teste de Intenção de Compra (MEILGAARD et al., 2006). O teste sensorial foi conduzido em cabines individuais, sob luz branca, no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa (Petrolina, PE) com controle de temperatura ambiente de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.7 Delineamento Experimental Fatorial

Para verificar a eficiência da hidrólise pectinolítica da enzima comercial Endozym Pectofruit (AEB, Paraná, Brasil) no mosto de maracujá da Caatinga, realizou-se a metodologia de planejamento experimental fatorial e otimização de processos proposta por Rodrigues & Iemma (2014). DCCR fatorial 2^3 + configuração estrela, com seis ensaios axiais e três repetições no ponto central foi utilizado, totalizando desta maneira, dezessete ensaios (E1 a E17). Temperatura de trabalho ($^{\circ}\text{C}$), tempo de ação (min.) e concentração da pectinase (g hL^{-1}) foram as variáveis independentes no planejamento; e o teor de pectina solúvel ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), correspondeu à variável dependente (variável resposta). A determinação dos níveis estudados para as variáveis ocorreu baseada nas condições citadas na ficha técnica da enzima comercial (Endozym Pectofruit) e encontra-se apresentada na Tabela 2. A matriz de planejamento encontra-se apresentada na Tabela 3.

Tabela 2. Níveis e valores das variáveis independentes utilizadas no planejamento experimental fatorial completo 2^3 + configuração estrela aplicado no estudo.

	nível	Variáveis independentes		
		Tempo (min.)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Concentração (g hL^{-1})
Planejamento fatorial	-1	30	45	2
	+1	120	55	5.0
Pontos axiais (configuração estrela)	- α	12	43	1.4
	+ α	139	57	5.6
Ponto central	0	75	50	3.5

A resposta da redução da pectina, resultado da hidrólise enzimática aplicada, foi determinada a partir da quantificação da pectina solúvel ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), sendo determinada por leitura do extrato da amostra (extraída com álcool etílico 95% e 75%) com solução de tetraborato / ácido sulfúrico e m-hidroxifenil 0,15% em refratômetro (520 nm), seguindo a técnica utilizada por McReady & MacComb (1952). A Resposta da Redução da Pectina (RRP) foi obtida pela equação 1, ou seja:

$$RRP(\%) = ((PI - PF)/PI) * 100 \quad (1)$$

Onde:

PI – teor de pectina no mosto antes da hidrólise;

PF – teor de pectina no mosto hidrolisado.

Tabela 3. Matriz codificada do planejamento experimental fatorial completo 2^3 + configuração estrela aplicado no mosto de maracujá da Caatinga.

<i>Ensaio</i>	Matriz Codificada		
	Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Concentração (g hL⁻¹)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9 (axial)	-1.68	0	0
10 (axial)	+1.68	0	0
11 (axial)	0	-1.68	0
12 (axial)	0	+1.68	0
13 (axial)	0	0	-1.68
14 (axial)	0	0	+1.68
15 (C)	0	0	0
16 (C)	0	0	0
17 (C)	0	0	0

3.8 Cinética fermentativa

O monitoramento da cinética da fermentação ocorreu durante todo o período de fermentação alcoólica. Análises de densidade, pH, acidez, sólidos solúveis, açúcares redutores, biomassa e viabilidade celular das leveduras foram realizadas diariamente em intervalos regulares. Densidade, pH, acidez titulável (expressa em ácido cítrico) e sólidos solúveis foram determinados de acordo com a AOAC (2012). Os açúcares redutores foram determinados no espectrômetro UV a 540 nm (MILLER 1959). A biomassa foi quantificada por análise gravimétrica após secagem (105°C por 24h) até massa constante em estufa (SANTOS et al., 2018). A viabilidade celular foi determinada por contagem de células em câmara de Neubauer, usando azul de metileno como corante vital, em microscópio óptico (LEE 1981).

Os parâmetros cinéticos foram determinados a partir dos dados obtidos no acompanhamento da cinética fermentativa. A concentração experimental de etanol em °GL e em g L⁻¹ foi determinada pelas Eqs.1 e 2; a eficiência da fermentação (%) foi determinada pela Eq. 3; a produtividade da fermentação (g L⁻¹ h⁻¹) foi determinada pela Eq. 4, os fatores de conversão de substrato para produto (YP/S) foram determinados usando a Eq. 5, o consumo de substrato (rs, em g L⁻¹ h⁻¹) e a formação de produto (rp, em g L⁻¹ h⁻¹) foram determinados usando as Eqs. 6 e 7, respectivamente (NASCIMENTO 2018).

$$\text{Etanol (°GL)} = (D_i - D_x) \times 125 \quad (1)$$

$$\text{Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 0,7895 \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}}\right) \times \text{Etanol (°GL)} \times 1000 \left(\frac{\text{mL}}{\text{L}}\right) \quad (2)$$

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{Etanol produzido}}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Pr (g/L. h)} = \frac{\text{Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}{t \text{ (h)}} \quad (4)$$

$$YP/S = \frac{\text{Etanol}}{\Delta S} \quad (5)$$

$$rp = \frac{dP}{dt} \quad (6)$$

$$r_s = \frac{dS}{dt} \quad (7)$$

Onde:

D_i - densidade relativa no momento em que a fermentação inicia (g cm^{-3});

D_x - densidade relativa no momento em que se deseja obter o teor alcoólico (g cm^{-3});

t - tempo (h);

S – concentração de substrato (g L^{-1});

P – Concentração de produto (g L^{-1}).

3.9 Processo de elaboração do fermentado gaseificado

Após a obtenção do vinho base, a bebida prosseguiu à segunda fermentação, seguindo o método tradicional de elaboração de vinho espumante (método *Champenoise*), conforme a metodologia descrita na literatura por Rizzon et al (2000), Pitaia et al. (2016), Bertagnolli et al. (2017) e Cho et al. (2017). Foram adicionados no fermentado trasfegado, levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (250 mg L^{-1}), nutriente fosfato de amônio (250 mg L^{-1}), bentonita (100 mg L^{-1}) e correção do açúcar para 12 g L^{-1} , e após homogeneização, o fermentado foi distribuído em garrafas. A segunda fermentação alcoólica ocorreu na garrafa de espumante (750mL), cor verde oliva, com bidule e tampa de inox tipo corona, sendo finalizada em 45 dias, quando o a pressão atmosférica no interior da garrafa estava em 3,5 atm. Durante a segunda fermentação as garrafas foram mantidas em ambiente com temperatura controlada de $18 \pm 2^\circ\text{C}$. Ao final da fermentação, as garrafas do tempo 0 de autólise foram distribuídas na pupitre para a realização da *remoage*, $\frac{1}{4}$ de volta em cada garrafa foi realizada 2 vezes ao dia, até que toda a borra estivesse depositada no gargalo da garrafa. A *remoage* ocorreu no período de 60 dias em ambiente com temperatura controlada de $16 \pm 2^\circ\text{C}$. A borra depositada no gargalo da garrafa foi retirada pela técnica de imersão do gargalo da garrafa em solução hidroalcoólica (40%) em freezer a -22°C , durante 1 a 2 minutos, para posterior expulsão do bidule. Por fim, foi adicionado o “licor de expedição”, preparado a partir de uma alíquota do fermentado gaseificado natural adicionado de metabissulfito de potássio, para correção do teor de SO_2 livre para 50 mg L^{-1} , e então foram colocadas as rolhas próprias para espumante e gaiolas. Para as amostras de espumante suave foi adicionado, ainda no licor de expedição, sacarose comercial

para obtenção da concentração de 20 g L⁻¹. As garrafas do tempo de autólise de 9 meses permaneceram em repouso durante este período e na sequência, seguiram as etapas anteriormente citadas (*remoage*, degorgement, adição do licor de expedição e arrolhamento).

3.10 Caracterização físico-química do fermentado gaseificado

A caracterização do fermentado gaseificado seguiu as metodologias anteriormente citadas no tópico 3.5.

3.11 Análise sensorial do fermentado gaseificado

Noventa indivíduos, não treinados, acima de 21 anos, foram convidados a participar da avaliação sensorial das bebidas gaseificadas elaboradas. As amostras, sob temperatura de 6±2°C, foram apresentadas de forma monódica, codificadas com três dígitos em taças enológicas, contendo volume igual a 30 mL., e a análise sensorial realizada seguiu a metodologia anteriormente citada no tópico 3.6, com substituição do teste CATA pelo RATA - *Rate-All-That-Apply* (Ares et al., 2014), utilizando 17 descritores sensoriais relacionados à aparência, aroma, sabor e sensações bucais, como: cor amarela, limpidez, duração da espuma, intensidade aromática, verde (grama), doce (mel), cítrico, frutas tropicais amarelas, panificação (pão torrado), floral (flores brancas), percepção de gás na boca, frescor, ácido, doce, amargo, cremoso e encorpado.

3.12 Tratamento de dados e análise estatística

Os experimentos de elaboração das bebidas (fermentado base e fermentado gaseificado) de maracujá da Caatinga foi realizado em triplicatas e os dados obtidos das análises foram expressos como média ± desvio padrão. Os resultados foram submetidos à ANOVA, seguido do teste de média Tukey ou t de Student ($p \leq 0,05$) utilizando o software estatístico Statistical Analytical Systems – SAS.

Os dados do delineamento experimental foram tratados no software STATISTICA versão 10.0 para análise de variância e análise de coeficiente de regressão ao nível de 95% de

confiança ($p < 0,05$), para definir as melhores condições para tratamento de hidrólise pectinolítica no mosto de maracujá da Caatinga.

Os dados sensoriais foram tratados no software XLStart versão 2019 para a obtenção do Mapa de Preferência Interno – MDPREF (MACFIE & THOMSON, 1989) e Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), utilizados para correlacionar ($p \leq 0,05$) a aceitação global e a intensidade dos descritores sensoriais (BIASOTO et al., 2014).

Referências

AIDAR *et al.* Plantas frutíferas. In: PORTO, D. D.; SOUZA, F. de F. (Ed.). **Cadernos do semiárido: Biodiversidade da Caatinga para a Produção Agropecuária**. Recife, PE, UFPE, 2016. 56 p.

ALCANTARA, 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**, v. 3, n. 6, p. 780-785, 2017.

ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L. Industrial Applications of Pectic Enzymes: A Review. **Process Biochemistry**, v. 33, p. 21-28, 1998.

ALMEIDA *et al.* Bioactive compound and antioxidant activity of fresh exotic fruits from Northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

AMERINE, M.A.; SINGLETON, V.L. **Wine - an Introduction**. 2ed. Davis, CA: University of Califórnia Press, 1976. 356p.

AMORIM, H. V.; LEÃO R. M.; Fermentação Alcoólica: ciência e tecnologia. Piracicaba: Fermentec, 2005. 448 p.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (19th ed.). Gaithersburg, MD, USA: AOAC., 121-130, 2012.

ARAÚJO *et al.* Caracterização Físico-química e Perfil Lipídico da semente de Maracujá do Mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Caderno de Pesquisa, Ciência e Inovação**, v. 2, n. 3, p. 14-22, 2019a.

ARAÚJO *et al.* Cultivo de *Passiflora cincinnata* Mast. cv. BRS Sertão Forte. **Circular Técnica**, n. 119, p. 12, 2019b.

ARAÚJO, F. P. de. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semiárido brasileiro**. 2007. 94 f. Tese (Doutorado em

Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ARAÚJO *et al.* Alimentícias. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Ed). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial, plantas para o futuro: região Nordeste.** Brasília – DF, Ministério do Meio Ambiente, 2018.

ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F.; FALEIRO, F. G. **Cultivar de maracujá silvestre (*Passiflora cincinnata* Mast.) para a Caatinga e para o Cerrado BRS SF.** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2016. Np. 1 Folder.

ARAÚJO, F. P.; SANTOS, C. A. F.; MELO, N. F. **Propagação vegetativa do maracujá do mato: espécie resistente à seca, de potencial econômico para agricultura de sequeiro.** Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido, n. 61, 2004.

ARAÚJO *et al.* **Caracterização de frutos de maracujá do mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) cultivado em condições de sequeiro.** In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53.; REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 25., 2002, Recife. Resumos... Recife: SBB - Seção Regional Pernambuco/UFRPE/UFPE, 2002. p. 10. Resumo 6.

BERTAGNOLLI, *et al.* Natural sparkling guava wine: volatile and physicochemical characterization. **Food Production**, v.47, n. 9, 2017.

BESSA, MIZAEAL AUGUSTO DIÓGENES *et al.* Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology, **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 355-383., 2000.

BIASOTO, *et al.*, Motores de aceitabilidade e preferência de vinhos tintos produzidos a partir de uvas *Vitis labrusca* e híbridas. **Food Research International** , v. 62, p. 456-466, 2014.

BOSCH-FUSTÉ *et al.* Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography – mass spectrometry (GC–MS) analysis. **Food Chemistry**, v.105, p.428-435, 2007.

BRAGA *et al.* Maracujá-do-cerrado. In: VIEIRA RF, AGOSTINI-COSTA T. S., SILVA D. B., FERREIRA F. R., SANO S. M. (Ed.). **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006. p. 216–33.

BRANDÃO, E.M.; ANDRADE, C.T. Influência de Fatores Estruturais no Processo de Gelificação de Pectinas de Alto Grau de Metoxilação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p.38-44, 1999.

BRAND-WILLIAMS, WENDY; CUVELIER, MARIE-ELISABETH; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Decreto Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004. **Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de nov. 2004.

BRASIL. Decreto n.6871 de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a lei n.8918 de 14 de junho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a padronização e a fiscalização de bebidas.** Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2009.

BRASIL. Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014. **Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 de fev. 2014.

BRASIL. Instrução Normativa n.34 de 29 de novembro de 2012. **Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas fermentadas.** Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012.

BRASIL. Instrução Normativa nº 48 de 31 de agosto de 2018. **Resolve alterações na Instrução Normativa nº 14, de 08 de fevereiro de 2018, sobre a Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho e Derivados da Uva e do Vinho.** Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

CAMARA, R. S. Vinhos e frutas no sertão: enoturismo no Vale do São Francisco. **360 Meridiano**, 01 de mai. de 2019. Disponível em: <<https://www.360meridianos.com/dica/enoturismo-vale-sao-francisco>>. Acesso em: 01 de nov. de 2019.

CANTERI, M. H. G., WOSIACKI, L. M. G., SCHEER, A. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 149-157, 2012.

CARMO *et al.* Estudo de produção e caracterização de fermentado de umbu a partir de sua polpa comercial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 1, p. 15-20, 2012.

CARVALHO *et al.* Regeneração in vitro de *Passiflora miniata* Mast. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 88-95, 2017.

CAVAZZANI, N. **Come fare um ottimospumante.** Bologna: Edagricole, 1994.

CEPLAC. **Maracujá.** Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm>>. Acesso em 01 de nov. de 2019.

CHO *et al.* Influence of Ripe Persimmon on Quality Characteristics and Antioxidant Potential of Sparkling Wine. **Journal Of Pure and Applied Microbiology**, vol. 11, n. 4, p. 1647-1653, 2017.

CHRISTAKI, T; TZIA, C. Quality and safety assurance in winemaking. **Food Control**, v. 13, p. 503 -517, 2002.

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.

CORDONNIER, R. A bioquímica do vinho. **Scientific American Brasil**, v. 1, p. 22-35, 2007.

DANTAS, C.E.A.; SILVA, J.L.A. Fermentado alcoólico de umbu: produção, cinética de fermentação e caracterização físico-química. **Revista HOLOS**, v. 2, n. 32, 108-121, 2017.

DÁVALOS, ALBERTO; GÓMEZ-CORDOVÉS, CARMEN; BARTOLOMÉ, BEGOÑA. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC– fluorescein) assay. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48-54, 2004.

DAY, M. P. *et al.* use and impact of oxygen during winemaking. **Australian Journal of Grape and Wine research**, v. 21, p. 693-704, 2015.

DE LIMA OLIVEIRA, PRISCILA MAYARA *et al.* Juá fruit (*Ziziphus joazeiro*) from Caatinga: A source of dietary fiber and bioaccessible flavanols. **Food Research International**, v. 129, p. 108745, 2020.

DIAS, D. R.; SCHWAN, 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. 342-350, 2003.

DINIZ, M. P. F.; PINHEIRO, A. S. Produção e caracterização físico-química de fermentado de abacaxi. In: ENTEQUI, Maceió - AL, 2013.

FOLIN, OTTO; CIOCALTEU, VINTILA. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **J. biol. Chem**, v. 73, n. 2, p. 627-650, 1927

GADELHA, ANTÔNIO JOSÉ FERREIRA *et al.* Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de abacaxi, acerola, cajá e caju. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 1, p.115-118, mar. 2009.

GALVÃO *et al.* Volatile compounds and descriptive odor attributes in umbu (*Spondias tuberosa*) fruits during maturation. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1919-1926, 2011.

GOMES, W. P. C., YOSHINAGA, F.; BORTOLETO, G. G. Determinação de álcoois em bebidas comerciais por cromatografia gasosa e amostragem por headspace. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, v. 10, n. 1, p. 111-124. 2020.

GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF / APPCC, legislação e mercado**. 1° ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap. 17, p. 423-451.

HASHIZUME, T. Fundamentos da tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, V. (Ed.). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. cap. 2, p. 14-43.

JAYANI RS, SAXENA S, GUPTA R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

JESUS, O. N. DE; FALEIRO, F. G. Classificação Botânica e Biodiversidade. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. (Ed.). **Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 348.

KASHYAP, D. R.; CHANDRA, S.; KAUL, A.; TEWARI, R. Production, purification and characterization of pectinase from a Bacillus sp. DT7. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 16, p. 277-282, 2000.

LAGO, ELLEN SILVA; GOMES, ELENÍ; SILVA, ROBERTO DA. Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* L.): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p.847-852, dez. 2006.

LEE, S. S., ROBISON, F. M., WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. *Biotechnology Bioengineering Symposium*, v. 11, p.641-649, 1981.

LOCATELLI, G. O. **Estudo das condições de hidrólise da pectina para uso como substrato na produção de polihidroxialcanoatos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

MACFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. Preference mapping and multidimensional scaling. **Sensory analysis of foods/edited by JR Piggott**, 1988.

MACFIE, HALLIDAY J. *et al.* Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of sensory studies**, v. 4, n. 2, p. 129-148, 1989.

MAHLER, J. L. Enzyme characteristics and why they are used in juice production. **Fruit Processing**, v. 7, n. 10, 1997.

MATTA, V. M. DA; FREIRE JUNIOR, M. **Manual de Processamento de Polpas de frutas**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995. 20p.

- MAY, C. D. Pectins. Handbook of Hydrocolloids. Edited by: Phillips, G. O.; Williams, P. A. New York, 2000
- MCCREADY, R. M; MCCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. *Analytical Chemistry*, v. 24, n. 12, pág. 1986-1988, 1952.
- MEDEIROS, V. L. D., MEDEIROS, J. A. C., COELHO, R. M. D. desenvolvimento de bebida alcoólica fermentada e gaseificada a base de resíduos agroindustriais de abacaxi e gengibre: caracterização físico-química e sensorial. **In: VI Encontro Internacional de Jovens Investigadores**, Salvador, Bahia – Brasil. 2019.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 448 p, 2006.
- MELLO, C. E. C. de. **Presença do Vinho no Brasil; um pouco de história**. São Paulo: Editora de Cultura, 2ª ed. 224p, 2007
- METTI *et al.* Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V; BRAGA, M.F.(Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, Cap.3, p.55-78, 2005
- MORAES, I. V. M. Dossiê Técnico: Produção de Polpa de Fruta Congelada e Suco de Frutas. REDETEC: **Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro**, 2006. 26p.
- MORENO-ARRIBAS, M. V. & POLO, M. C. **Wine Chemistry and Biochemistry**. Springer Science, New York, USA, 2009.
- MUNIZ *et al.* Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.
- NASCIMENTO *et al.* **Microbiologia Industrial: bioprocessos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018. 674p.
- NATIVIDADE, MARIANA MIRELLE PEREIRA *et al.* Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 665-674, 2013.
- NELSON, D. L; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 4. ed., New York: W. H. Freeman and Company, 2000.
- NEVES, WALESKHA BENEVENUTO PINTO *et al.* Produção e caracterização físico-química do fermentado de caju. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 68106-68120, 2020.
- NINGA, K. A., DESOBGO, Z. S. C., DE, S., NOS, E. J. Pectinase hydrolysis of guava pulp: effect on the physicochemical characteristics of its juice. **Helyon**, v. 7, e08141, 2021.

NZABUHERAHEZA, F. D.; NYIRAMUGWERA, A. N. Golden wine produced from mixed juices of passion fruit (*Passiflora edulis*), mango (*Mangifera Indica*) and pineapple (*Ananas Comosus*). **African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development**, v. 14, n. 4, p. 9105-9116, 2014.

OIV. **Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis**, 2019.

OKAMURA-MATSUI *et al.* Discovery of alcohol dehydrogenase from mushrooms and application to alcoholic beverages. **Journal Molecular Catalysis B: enzymatic**, v. 23, p. 133-144, 2003.

OLIVEIRA JUNIOR *et al.* Superação de dormência de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 32, n. 2, p.584-590, 2010.

OLIVEIRA, E. N. A. de *et al.* Physicochemical Stability of Diet Umbu-Caja Jams Stored under Ambient Conditions. **Journal Of Food Processing and Preservation**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.70-79, 13 jan. 2014.

OLIVEIRA *et al.* 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, F. **VOCÊ JÁ PROVOU VINHO DE CAJU? Prédio no centro histórico de JP esconde história de ascensão e declínio da iguaria**. Polêmica Paraíba, 2021. Disponível em: <<https://www.polemicaparaiba.com.br/paraiba/voce-ja-provou-vinho-de-caju-predio-no-centro-historico-de-jp-esconde-historia-de-ascensao-e-declinio-da-iguaria/>>. Acesso em: 11.junho.2021.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. FAO. FAOSTAT. Divisão de estatística. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/es/#data>>. Acesso em: 05.fevereiro.2022.

OUGH, C. S.; AMERINE, M. A. **Methods for analysis of musts and wines**. 2^o ed. Davis: John Wiley & Sons, 1988. 377 p.

OURA, E. Reaction products of yeast fermentations. **Process Biochemistry**, v. 12, n. 3, p. 19-21, 35, 1977.

PAIVA, E.P.; LIMA, M.S.; PAIXÃO, J.A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v.10, n.4, p.196-211, 2009.

PAULA, B. DE. **Produção de Fermentado de Umbu *Spondias tuberosa* Arr. Cam.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

PAULA *et al.* Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. **Revista Ciência Rural**, v. 42, n. 9, p. 1688-1693, 2012.

PIAIA *et al.* **Elaboração e características de vinho espumante de água de coco.** In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Grande do Sul. 2016.

PINTO *et al.* Estudo da fermentação alcoólica de frutas tropicais. **In:** XX Simpósio Nacional de Bioprocessos e XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, Fortaleza, Ceará – Brasil. 2015.

PRUDÊNCIO, A. J. Vinhos de mesa. Ver. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Núcleo Regional de Santa Catarina. n. 09, junho, 1969.

REIS, Josiane Amorim *et al.* Determinação de metanol em bebidas alcoólicas utilizando colorimetria por imagens digitais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 16, p. 455-468, 2020.

RIBEREAU-GAYON *et al.* Phenolic Compounds. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments**, v. 2, p. 141-203, 2006.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.; ABARZUA, C. **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2000.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos-3ª. **Campinas/SP**, 2014.

ROSA, S.E.S.; COSENZA, J.P.; LEÃO, L.T.S. **Panorama do setor de bebidas no Brasil.** *BNDES Setorial*, n. 23, p. 101-150, 2006.

ROSIER, J. P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas.** 2º ed. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 72 p.

RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). 2006.

RUFINO, MARIA SM *et al.* Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693-695, 2009.

RYBKA, A. C. P.; FREITAS, S. T. F. Formulações de doces com banana ‘Pacovan’ e maracujá-do-mato. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2014, 15 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 116.)

SÁ, C. B. C. DE. **Caracterização de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* e *Zymomonas mobilis* para aplicação na produção de bioetanol.** 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SAKAI, T.; SAKAMOTO, T.; HALLAERT, J.; VANDAMME, E. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications. *Adv. Appl. Microbiol.*, v.39, p.213-294, 1993.

- 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, 3191-3211, 2020.
- SEGTOWICK, E. C. S.; BRUNELLI, L. T.; VENTURINI, W. G. F. Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 147-154, 2013.
- SEYFRIED, M. *et al.* Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 201-214, 2016.
- SILVA *et al.* Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 595-600, 2008.
- SIMONAGGIO, D; LEHN, D. N. Diferentes métodos para a elaboração de vinho espumante. **Caderno Pedagógico**, v.11, n.1, p. 78-90, 2014.
- SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Tecnology**, v. 14, p. 341-353, 2003.
- SOUSA, S. I. de. **Espumante: o prazer é todo seu**. São Paulo: Marco Zero, 2005. 165 p.
- SOUZA *et al.* **Elaboração, aceitabilidade e intenção de compra de iogurte saborizado com polpa de maracujá do mato**. In.: VIII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. Salvador, Bahia. 2013.
- STROHECKER, ROLF; HENNING, HEINZ M. **Análisis de vitaminas, métodos comprobados**. 1967.
- TEIXEIRA *et al.* Elaboração e avaliação da estabilidade de fermentado alcóolico de maracujá. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n.1, 2014.
- TORRESI, S., FRANGIPANE, M. T., ANELLI, G. Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: a review. **Food Chemistry**, v.129, p.1232-1241, 2011.
- TORREZAN, R. **Doce em massa**. In: Coleção Agricultura Familiar. Brasília – DF, Embrapa, 2015. 68p.
- UENOJO, M. & PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n° 2, p. 388-394, 2007.
- VIANA, F. L. E. Indústria de Bebidas Alcoólicas. **Caderno Setorial ETENE**, n. 32, 2018.
- ZOECKLEIN, W. C., FUGELSANG, K.C., GUMP, B. H, NURY, F.S. **Análisis y producción de vino**. Tradução de E. L. Macarrón. Zaragoza: Acribia, S. A., 2001. 613 p.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.-J.; VERHOEF, R. P. & SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*, **20**, p. 263-275, 2009.

VINCKEN, J. P., SCHOLS, H. A.; OOMEN, R. J. F. J.; MCCANN, M. C.; ULVSKOV, P., VORAGEN, A. G. J. & VISSER, R. G. S. If Homogalacturonan Were a Side Chain of Rhamnogalacturonan I. Implications for Cell Wall Architecture. *Plant Physiology*, v. 132, p.1781-1789. 2003.

YAPO, B. N., ROBERT, C., ETIENNE, I., WATHELET, B., PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, v. 100, n. 4, p. 1356-1364, 2006.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão produzidos durante o desenvolvimento da tese estão expostos em formato de artigo científico em atendimento a Norma Complementar n° 03/2011 do PPGCTA e conforme as etapas desenvolvidas do estudo.

Artigo 1: Caracterização físico-química, compostos bioativos, atividade antioxidante *in vitro*, perfil sensorial e aceitabilidade do consumidor de bebida alcoólica fermentada obtida do maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.). (Submetido e publicado, DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111714 - Periódico LWT – Food Science and Technology, Qualis: A1 em Ciência de Alimentos);

Artigo 2: Otimização da hidrólise pectinolítica em mosto de vinho de maracujá da Caatinga com pectinase comercial, de acordo com a abordagem do planejamento composto central rotacional. (Submetido e publicado, DOI: 10.33448/rsd-v11i5.28088 - Periódico RSD – Research, Society and Development, Qualis: C em Ciência de Alimentos);

Artigo 3: Vinho de maracujá da Caatinga: investigação da cinética fermentativa e vida de prateleira da bebida. (Artigo a ser submetido no Periódico Journal of Food Science and Technology, Qualis: A1 em Ciência de Alimentos).

4.1: Artigo Científico

Caracterização físico-química, compostos bioativos, atividade antioxidante in vitro, perfil sensorial e aceitabilidade do consumidor de bebida alcoólica fermentada obtida do maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.)

Artigo Aceito e Publicado, DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111714

Periódico LWT – Food Science and Technology

ISSN: 0023-6438

Qualis A1 em Ciência de Alimentos

Caracterização físico-química, compostos bioativos, atividade antioxidante in vitro, perfil sensorial e aceitabilidade do consumidor de bebida alcoólica fermentada obtida do maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.)

R. T. S. Santos^a, A. C. T. Biasoto^{b*}, A. C. P. Rybka^b, C. D. P. C. Castro^b, S. T. Aidar^b, G. S. C. Borges^c, F. L. H. Silva^d

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, Campus I – Centro de Tecnologia, CEP 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil.

^bEMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, BR 128, Km 152, CEP 56302-970, Petrolina, PE, Brasil.

^cDepartamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, CEP 58058-600, João Pessoa, PB, Brasil.

^dDepartamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus I - Centro Tecnológico, CEP 58051-900, João Pessoa, PB, Brazil.

*Autor de correspondência, E-mail: aline.biasoto@embrapa.br

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a qualidade da bebida alcoólica fermentada de maracujá produzida a partir de espécies de maracujá provenientes do bioma Caatinga brasileiro (*Passiflora cincinnata* Mast.). Foram elaborados quatro tratamentos com polpa de fruta em dois estádios de maturação (verde e maduro), com e sem diluição da polpa. Para caracterizar os vinhos de maracujá foram realizadas as seguintes análises: pH, densidade, sólidos solúveis,

acidez titulável e volátil, dióxido de enxofre, extrato seco, teor alcoólico, açúcares totais, parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C e h) e compostos bioativos (ácido ascórbico e compostos fenólicos). O potencial antioxidante determinado in vitro pelos ensaios DPPH, FRAP e ORAC. A aceitação geral e a intenção de compra das bebidas foram avaliadas por meio de um teste de consumo. As composições físico-químicas das amostras foram diferentes, exceto para acidez volátil e ácido ascórbico. O teor de compostos fenólicos totais foi considerado relevante, >700 mg GAE L⁻¹. Vinte e um compostos fenólicos, entre ácidos fenólicos, flavonóis, flavanóis e estilbenos foram identificados e quantificados por HPLC-DAD-FD. A pontuação sensorial obtida foi considerada satisfatória. Este estudo mostrou a viabilidade da utilização do maracujá da Caatinga para produção de bebida alcoólica fermentada, que pode ser inserida no mercado como um novo produto.

Palavras-chave: Bioma Caatinga, vinho de maracujá, CATA, ácido ascórbico, compostos fenólicos.

1 Introdução

O maracujá, gênero *Passiflora*, pertence à família *Passifloraceae*, e inclui aproximadamente 530 espécies tropicais e subtropicais, das quais 150 a 200 espécies nativas são encontradas no Brasil e 70 destas produzem frutos comestíveis (Carvalho et al., 2017).

O Brasil é o principal produtor e consumidor mundial de maracujá, destacando-se entre os maiores produtores do suco concentrado, o maracujá amarelo, cultivado em quase todo o território nacional, sendo responsável por mais de 90% da produção nacional (CEPLAC, 2019). No entanto, outras espécies apresentam características sensoriais e nutricionais promissoras, podendo ser mais exploradas para consumo, dentre as quais se destaca a espécie silvestre brasileira Caatinga, como *Passiflora cincinnata* Mast. (Braga et al., 2006).

O maracujá da Caatinga ocorre frequente e espontaneamente nos biomas brasileiros Caatinga (estados de Pernambuco e Bahia) e Cerrado (estados de Minas Gerais e Goiás), mas é mais frequente na Caatinga. O maracujá da Caatinga também pode ser encontrado em outros países da América do Sul, como Argentina, Bolívia, Paraguai, Colômbia e Venezuela. Representa uma espécie silvestre de maracujá, produzindo um fruto azedo e apresentando resistência à seca e a uma série de doenças e/ou pragas que atingem o maracujá-comum (Oliveira Junior et al., 2010; Araújo et al., 2016; Araújo et al., 2018).

Quando maduro, o maracujá da Caatinga apresenta casca amarelo-esverdeada, polpa amarelo-esbranquiçada a esbranquiçada, teores de sólidos solúveis na faixa de 8 a 13°Brix, teor de umidade em torno de 88%, valor de pH de aproximadamente 3,0 e acidez (de 2,0 a 3,0%). O fruto é extremamente aromático, apresentando aroma e sabor exóticos e bom valor nutricional, sendo fonte de potássio, ferro, fósforo e cálcio e das vitaminas A, C (aproximadamente 10mg 100g⁻¹) e do complexo B (Aidar et al., 2016; Araújo et al., 2019a).

Infelizmente, dados oficiais sobre a produção e comercialização do maracujá da Caatinga ainda são escassos no Brasil. Atualmente, a produção do maracujá da Caatinga é realizada por cooperativas de agricultores familiares e comunidades tradicionais, que atuam em diferentes segmentos da cadeia produtiva: aproveitamento da planta para fins ornamentais; produção de sementes e mudas; comercialização da fruta in natura; e processamento agroindustrial para uso gastronômico nas indústrias alimentícia e cosmética. Só na Bahia são aproximadamente 24 agroindústrias familiares que processam o maracujá da Caatinga produzindo polpas, geleias, doces, sorvetes e licores. A produtividade média do maracujá da Caatinga é de 17 toneladas por hectare/safra, podendo chegar a mais de 30 toneladas por hectare. Por outro lado, o rendimento médio da polpa do fruto é de 50% quando extraída em despoldadora rotativa, permitindo a produção de no mínimo 7,5 mil litros de fermentado

alcoólico por hectare/safra, mas esse tipo de bebida pode ser ainda diluído com água, proporcionando um rendimento ainda maior do produto (Jesus & Faleiro, 2016; Araújo et al., 2018; Araújo, Melo & Faleiro, 2016). Entretanto, sua utilização para a produção de outras bebidas alcoólicas de maior valor como o fermentado de maracujá ainda é desconhecida comercialmente.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a viabilidade da elaboração de bebida alcoólica fermentada de maracujá da Caatinga, determinando sua qualidade físico-química, composição em relação a compostos bioativos e atividade antioxidante e sua aceitação pelo consumidor como bebida.

2 Material e métodos

2.1 Matéria-prima

Maracujás da Caatinga (180 kg) em estágio intermediário de maturação foram adquiridos de agricultor local no Submédio Vale do São Francisco (Petrolina, Pernambuco, Brasil), sendo selecionados considerando a casca esverdeada, firme, sem áreas amassadas ou cortes na casca e aparente ausência de contaminação microbiana. Parte dos frutos foi sanitizada e despulpada no estágio intermediário de maturação e o restante foi mantido a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ até a completa maturação (cor da casca amarelo-esverdeada). Os frutos foram preparados primeiramente com lavagem em água corrente e, a seguir, imersão em solução de hipoclorito de sódio 200 mg L^{-1} por 15 minutos, antes do enxágue em água corrente. Em seguida, a polpa e as sementes foram retiradas e os frutos despolpados em despulpadeira elétrica com peneira malha 10 (Macanuda, modelo DMJI-05, Brasil). O rendimento em polpa do maracujá da

Caatinga foi de cerca de 40% (para frutos no estágio de maturação intermediário) e 56% (para frutos no estágio de maturação maduro).

2.2 Caracterização físico-química da polpa da fruta

A polpa da fruta foi caracterizada em triplicata, conforme: densidade - leitura direta das amostras em balança hidrostática eletrônica (Gibertini, modelo Super Alcomat); pH - leitura direta das amostras utilizando um medidor de pH (Hanna Instruments, modelo HI 2221); sólidos solúveis - leitura direta em refratômetro portátil (Atago, Pocket Refractometer modelo PAL-3); acidez titulável - titulação com NaOH 0,1M em titulador automático (Metrohm, modelo Tritino Plus 848, Suíça); açúcares redutores - por titulação com os reagentes A e B de Fehling (AOAC, 2012).

2.3 Elaboração da bebida alcoólica fermentada de maracujá

Foram considerados quatro tratamentos a partir de polpa in natura e polpa in natura diluída em 20% de água com base no peso da polpa e dois estádios de maturação (verde e maduro): T1 = polpa in natura, fruto verde; T2 = polpa in natura, fruto maduro; T3 = polpa de fruta diluída, fruta verde; T4 = polpa de fruta diluída, fruta madura. A elaboração dos quatro tratamentos foi realizada em três repetições.

O mosto (polpa de maracujá da Caatinga com ou sem diluição – 8kg) foi preparado em garrafão de vidro de microvinificação (10L) com válvula airlock em forma de S. Metabissulfito de potássio (0,1 g L⁻¹) (AMAZON, Brasil) e uma enzima pectinolítica (2 mL 100L⁻¹) (AEB, Espanha) foram adicionados e os frascos mantidos a 16±2°C por 24h. Bentonita (0,5 g L⁻¹) (AMAZON, Brasil) foi então adicionada para promover a clarificação enquanto incubada a 5±2°C por 24h. No final da etapa de debourbage (clarificação), os mostos foram trasfegados antes de iniciar a fermentação alcoólica. A chaptalização, visando um teor alcoólico final de

8% v/v, foi realizada pela adição de sacarose na forma de açúcar cristal (104,50 g L⁻¹ foi adicionado em T1, 99,70 g L⁻¹ em T2, 104,70 g L⁻¹ em T3 e 100 g L⁻¹ em T4). A fermentação alcoólica ocorreu a 24±2°C após adição da levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. bayanus Maurivin PDM (400 mg L⁻¹) (MAURIVIN, Austrália) e fosfato de amônio (200 mg L⁻¹) (Gesferm®, AMAZON, Brasil) como ativador.

O processo fermentativo levou seis dias (144 h) para os tratamentos elaborados com polpa de fruta processada em estado intermediário de maturação (T1 e T3) e quatro dias (96 h) para os tratamentos elaborados com polpa de fruta processada em estado totalmente maduro (T2 e T4). A válvula airlock em forma de S foi utilizada durante todo o período fermentativo, sendo a remontagem aberta realizada duas vezes ao dia (retirando a válvula e substituindo 40% do volume da jarra 5 vezes).

Durante todo o período fermentativo mediu-se diariamente a densidade em balança eletrônica hidrostática (Gilbertini, modelo Super Alcomat), assim como o teor de sólidos solúveis por leitura direta em refratômetro portátil (Atago, refratômetro de bolso modelo PAL-3), e a fermentação foi considerada encerrada quando as leituras desses parâmetros permaneceram constantes por três dias consecutivos. Verificado o fim da fermentação, determinou-se o teor alcoólico por densitometria e leitura direta das amostras em balança hidrostática eletrônica (Gibertini, modelo Super Alcomat) após destilação da amostra em destilador enológico (Gibertini, modelo Super DEE).

Terminada a fermentação, o líquido foi transferido para outro garrafão de vidro (primeira trasfega) e o teor de SO₂ livre corrigido para 50 mg L⁻¹ usando metabissulfito de potássio (AMAZON, Brasil) antes da clarificação e estabilização da proteína a 2±1°C por 25 dias. Os agentes de colagem foram adicionados da seguinte forma: primeiro dia – bentonita (1400 mg L⁻¹) (AMAZÔNIA, Brasil); vigésimo primeiro dia – sílica (500 mg L⁻¹) (EVER,

Brasil); e vigésimo segundo dia – gelatina (100 mg L⁻¹) (EVER, Brasil). Após esta etapa, foi realizada a segunda trasfega, seguida da correção do teor de SO₂ livre para 50 mg L⁻¹, adição de sacarose para um teor final de 90 g L⁻¹ no fermentado e adição do conservante sorbato de potássio (200 mg L⁻¹) (ALPHATEC, Brasil). A bebida alcoólica fermentada foi então transferida para garrafas de vidro verde-azeitona de 750 mL, um fluxo de gás nitrogênio usado para preencher o headspace, as garrafas fechadas com rolhas de cortiça e armazenadas na posição horizontal em uma adega climatizada (16±2°C).

2.4 Caracterização físico-química da bebida alcoólica fermentada de maracujá

A caracterização físico-química das bebidas alcoólicas foi realizada em triplicata de acordo com as metodologias propostas pela AOAC (2012) e OIV (2019), determinando os seguintes parâmetros: pH, a partir da leitura direta das amostras utilizando um medidor de pH (Hanna Instruments, modelo HI 2221); densidade, a partir da leitura direta das amostras em balança eletrônica hidrostática (Gibertini, modelo Super Alcomat); acidez titulável, por titulação com NaOH 0,1M em titulador automático (Metrohm, modelo Tritino Plus 848, Suíça); acidez volátil, por titulação com NaOH 0,1M e indicador de fenolftaleína após destilação da amostra em destilador enológico (Gibertini, modelo Super DEE); dióxido de enxofre livre e total (SO₂) usando o método titrométrico Ripper com solução de iodo 0,02 N e um indicador de amido; e extrato seco e teor alcoólico, por densimetria e leitura direta das amostras em balança eletrônica hidrostática (Gibertine, modelo Super Alcomat) após destilação da amostra em destilador enológico (Gibertini, modelo Super DEE).

2.5 Avaliação colorimétrica

Os parâmetros colorimétricos (L*: luminosidade [branco (0) a preto (100)], a*: coordenada vermelho/verde [vermelho (+) a verde (-)], b*: coordenada amarelo/azul [amarelo

(+) a azul (-)], C*: cromaticidade ou saturação e ângulo h: matiz) foram determinados pelos sistemas CIELAB e CIEL*C*h, medidos pelo espectrofotômetro portátil Delta Vista (Delta Color, modelo Delta Vista 450G).

2.6 Determinação do teor de ácido ascórbico (vitamina C)

O teor de ácido ascórbico foi determinado pela titulação de um extrato de amostra (em uma solução de ácido oxálico) usando a solução de Tilman (2,6-dicloro-fenol-indofenol) (Strohecker & Henning, 1967).

2.7 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado por análise colorimétrica com solução saturada de carbonato de sódio e reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), conforme descrito por Singleton & Rossi (1965), com modificações. A absorbância (760 nm) foi medida usando um espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), e a leitura comparada com uma curva de calibração ($R^2 = 0,994$) de ácido gálico – GAE (pureza > 97%, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

2.8 Determinação de compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD

As metodologias propostas por Natividade et al. (2013) e Costa et al (2020) validados nas mesmas condições analíticas, foram utilizados da seguinte forma: vinte e dois compostos fenólicos foram quantificados um a um por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC – usando um cromatógrafo Waters modelo Alliance e2695 equipado com uma coluna Gemini-NX C18 (150mm x 4,60mm x 3 μ m) com uma pré-coluna Gemini-NX C18 (4,0mm x 3,0mm). 0mm), ambos da Phenomenex® (EUA), e acoplados simultaneamente a detectores de arranjo de diodos – DAD (280, 320 e 360 nm) e fluorescência - FD (excitação em 280 nm e emissão em 360 nm). Usando eluição por gradiente, a fase móvel foi constituída de ácido ortofosfórico

a 0,85% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como fase A e acetonitrila (grau HPLC, J. T. Backer, Madrid, Espanha) como fase B. O processo de gradiente foi iniciado no tempo 0 min com 100% do solvente A e ajustado para 93% do solvente A e 7% do solvente B em 10 min; 90% do solvente A e 10% do solvente B em 20 min; 88% do solvente A e 12% do solvente B em 30 min; 77% do solvente A e 33% do solvente B em 40 min; 65% do solvente A e 35% do solvente B em 45 min; e 100% de solvente B em 55 min com um tempo total de corrida de 60 minutos. A temperatura do forno foi mantida em 40°C e a vazão em 0,5 mL min⁻¹. Vinte microlitros de cada amostra foram injetados automaticamente pelo equipamento. As amostras foram injetadas após filtração através de uma membrana de náilon de 13 mm de diâmetro com tamanho de poro de 0,45 µm (Analítica, SP, Brasil), sem preparo prévio. Os resultados dos parâmetros de validação são apresentados na Tabela S1.

Os padrões de ácido gálico e caféico foram adquiridos da Chem Service (West Chester, EUA), ácidos cáftárico, clorogênico e β -cumárico e cis-resveratrol da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), e os demais compostos fenólicos (ácido ferúlico, kaempferol-3-O-glicosídeo, quercetina-3- β -D-glicosídeo, isorhamnetin-3-O-glicosídeo, meu ricetina, rutina, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epicatequina galato, (-) epigallocatequina galato, procianidina A2, B1 e B2, trans-resveratrol, piceatannol e viniferina) da Extrasintese (Geney, França). Foi utilizada água ultrapura, purificada em ultrapurificador de água PURELAB Option Analítica (São Paulo, SP).

2.9 Atividade antioxidante

Diferentes métodos foram utilizados para avaliar a atividade antioxidante das amostras.

O ensaio FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) foi realizado pelo método descrito por Rufino et al. (2006), com modificações descritas por Oliveira et al. (2020). O reagente FRAP foi preparado a partir de tampão acetato 0,3M (pH 3,6) em TPTZ [2,4,6-tris (2-piridil)-

s-triazina] 10mM (Sigma-Aldrich, Milão, Itália) diluído em HCl 40mM (ALPHATEC, Brasil) e solução de cloreto férrico 20mM (Anidrol, Brasil). Uma alíquota de 20µL da amostra foi adicionada ao frasco seguido de 180µL do reagente FRAP, a mistura agitada, incubada a 37±2°C por 30 min, e a absorbância (620nm) obtida usando um leitor de microplacas (Fluor star Omega model, BMG LABTEC, Germany).

O ensaio de captura do radical DPPH (2,2'-difeníl-1-picrilhidrazil) foi realizado pelo método descrito por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995), com as modificações descritas por Rufino et al. (2009). Uma alíquota de 180µL de uma solução de 80µM DPPH (Sigma-Aldrich, Hamburgo, Alemanha) foi adicionada a 20µL de amostra e a absorbância lida a 515nm após 30 min usando um leitor de microplacas (modelo Fluor star Omega, BMG LABTEC, Alemanha).

O ensaio antioxidante ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) foi realizado de acordo com o método descrito por Davalos et al. (2004), com modificações descritas por Oliveira et al. (2020). Uma alíquota de 20µL da amostra foi adicionada a 120µL de solução de fluoresceína (Synth, Brasil), à qual foram adicionados 60µL de solução 178 nM AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)] (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para iniciar a reação. A intensidade da fluorescência foi medida cineticamente a cada 1 min (excitação: 285nm, emissão: 520nm) usando um leitor de microplacas (modelo Fluor star Omega, BMG LABTEC, Alemanha). Pelos três ensaios, as curvas de calibração foram preparadas com Trolox (ácido hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, Hamburgo, Alemanha) e os resultados expressos como µmol TE L⁻¹.

2.10 Análise sensorial

A pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Vale do São Francisco - Brasil (CAAE 4417021.5.0000.5189). Antes do teste, os consumidores

assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Sessenta voluntários (33 mulheres e 27 homens, com idade variando de 21 a 62 anos), não treinados, foram recrutados, e o teste de aceitação realizado em cabines individuais sob luz branca, com temperatura controlada de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa (Petrolina, PE, Brasil). As amostras de bebida alcoólica fermentada de maracujá foram apresentadas de forma monádica em sessão única à temperatura de $10\pm 2^{\circ}\text{C}$, em taças de vinho ISO contendo 30mL de amostra, codificadas com três dígitos. A fim de evitar cansaço e fadiga sensorial, foram servidos biscoitos água e sem sal aos consumidores entre as amostras avaliadas. As amostras foram servidas aos participantes em ordem de apresentação balanceada, seguindo o desenho de bloco balanceado completo sugerido por MacFie et al. (1989) para quatro produtos. Todos os consumidores avaliaram a aceitabilidade geral da bebida alcoólica fermentada de maracujá por meio da escala híbrida hedônica (Villanueva & Da Silva, 2009), ancorada nos termos “1= desgostei extremamente” e “9 = gostei extremamente” nas extremidades esquerda e direita, respectivamente, e também afirmaram se comprariam ou não o produto se fosse colocado à venda por meio do Teste de Intenção de Compra, com escala categórica de cinco pontos (1=certamente não compraria, 2=possivelmente não compraria, 3=tem dúvidas se compraria, 4=possivelmente compraria e 5=com certeza compraria), conforme proposto por Meilgaard et al. (2006).

Na mesma sessão de avaliação, foi utilizado o método CATA - Check-all-that-apply (Ares et al., 2014) para descrever o perfil sensorial do produto pelos consumidores, a partir de um questionário contendo 16 termos previamente selecionados por um grupo focal. Os consumidores foram instruídos a assinalar com um ‘x’ os termos do questionário que julgavam caracterizar cada amostra. Os termos CATA incluíram características relacionadas à aparência, aroma, sabor e sensações de textura bucal, tais como: aroma floral, aroma verde, aroma

maracujá, aroma doce, aroma cítrico, aroma refrescante, pouco aromático, aroma intenso, cor atrativa, cor amarelo dourado, adstringente, ácido, adocicado, equilibrado, sabor maracujá e bem encorpado.

2.11 Análise estatística

Foram utilizados três frascos de cada tratamento para realização das análises físico-químicas, quantificação dos compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante em triplicata, um frasco para cada réplica da elaboração. O número de fontes de variação utilizadas no One-way ANOVA obtido das análises físico-químicas, quantificação dos compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante, foram dois: tratamentos (graus de liberdade = 3) e bateladas elaboradas (graus de liberdade = 2). Porém, para a análise sensorial as fontes de variação foram os tratamentos (graus de liberdade = 3) e os consumidores (graus de liberdade = 59). Os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$) por meio do software estatístico Statistical Analytical Systems - SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA, University Edition, 2017). Para o teste do consumidor, as triplicatas de elaboração para cada tratamento foram misturadas em proporções iguais. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste de médias LSD de Fisher ($p \leq 0,05$) utilizando o mesmo software estatístico e como fontes de variação os tratamentos (graus de liberdade = 3) e consumidores (graus de liberdade = 59). A análise de componentes principais (PCA) com os dados de aceitação geral do consumidor (material suplementar) foi realizada com o XLStat (Addinsoft Inc., Anglesey, Reino Unido, 2015). Usando o mesmo software, os resultados do CATA foram analisados. Como as respostas para cada termo são binárias (1 = termo marcado pelo consumidor; 0 = termo não marcado pelo consumidor), foi utilizado o Teste Q de Cochran não paramétrico ($p \leq 0,05$) e as comparações baseadas na abordagem de Marascuilo. A Análise de Correspondência (AC) foi realizada para identificar diferenças e semelhanças entre os tratamentos utilizados na elaboração do

fermentado alcoólico de maracujá da Caatinga. Adicionalmente, os gráficos foram obtidos com o Sigma Plot versão 14.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, EUA). A correlação entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante foi realizada por correlação de Spearman e XLStat.

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização físico-química da polpa da fruta

Pode-se observar que os parâmetros de composição físico-química avaliados para a polpa de maracujá in natura apresentaram diferenças significativas entre os estádios de maturação (Tabela 1). Os aumentos do pH e dos teores de sólidos solúveis - SS e açúcares redutores - RS com o aumento da maturação dos frutos foram atribuídos à hidrólise do amido e da pectina, à síntese de compostos secundários (como compostos fenólicos) e à redução dos ácidos orgânicos (Vilas-Boas, 1999; Chitarra & Chitarra, 2005). Concomitantemente, para a relação SS/AT, os valores da Tabela 1 confirmam que os frutos no estágio maduro de maturação apresentaram maior doçura, característica justificada pela diminuição da acidez e aumento dos teores de sólidos solúveis quando os frutos amadureceram.

Tabela 1. Composição físico-química da polpa congelada de maracujá da Caatinga proveniente de frutas em dois estádios de maturação (intermediário e maduro).

Variáveis ²	Polpas de maracujá congeladas ¹	
	Intermediário	Maduro
Densidade (g cm ³)	1.04±0.00b	1.05±0.00a
pH	3.06±0.01b	3.27±0.01a
SS (°Brix)	10.77±0.06b	11.60±0.00a
AT (% citric acid)	4.32±0.23 ^a	3.43±0.01b
SS/AT ratio	2.50±0.12b	3.38±0.01a
AR (g L ⁻¹)	39.17±0.84b	44.26±0.12a

⁽¹⁾As médias ± desvio padrão seguidas de letras diferentes, na mesma linha, representam diferenças estatisticamente significativas entre as polpas na composição físico-química de acordo com o teste de médias de Student ($p \leq 0,05$). SS = sólidos solúveis. AT = acidez titulável. AR = açúcares redutores.

3.2 Composição físico-química da bebida alcoólica fermentada de maracujá

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos avaliados.

O valor do pH das amostras variou de 2,99 a 3,21 (Tabela 2), estando assim de acordo com o valor recomendado para vinhos brancos. Os níveis de pH satisfatórios para vinhos estão entre 3,1 e 3,6 (Lins & Sartori, 2014). Assim, os valores de pH das bebidas fermentadas de maracujá da Caatinga são semelhantes aos dos vinhos tintos comerciais produzidos a partir de variedades de uvas mundialmente famosas, como Cabernet Sauvignon e Merlot (Lins & Sartori, 2014).

A densidade está relacionada com os teores de álcool e açúcares redutores das bebidas alcoólicas, apresentando resposta proporcionalmente inversa ao teor alcoólico e resposta direta

ao teor de sólidos solúveis presentes (Manfroi et al., 2010), variando de 1,0458 a 1,0409 g cm⁻¹. O teor alcoólico (% v/v) variou de 6,99 a 8,12 (Tabela 2) e variou entre os tratamentos. No entanto, embora a quantidade de sacarose adicionada durante a chaptalização visse um valor mínimo de 8% de teor alcoólico, apenas o T3 atingiu esse valor. Os fermentados alcoólicos de maracujá foram classificados como doces, pois os teores de açúcares totais foram ajustados para 90 g L⁻¹ e a legislação estabelece teor mínimo de 3 g L⁻¹ para esta classificação (BRASIL, 2012). Teores alcoólicos semelhantes aos obtidos no presente estudo foram relatados por Reddy & Reddy (2005) na produção de bebidas alcoólicas a partir de diferentes variedades de manga, com valores de 7 a 8% (v/v); e por Araújo et al. (2011) que relataram um teor alcoólico de cerca de 6% (v/v) para uma bebida fermentada de caju. A acidez titulável, na faixa de 429 a 527 meq L⁻¹, ficou acima do limite máximo (130 meq L⁻¹) estabelecido pela legislação brasileira para vinhos de frutas (BRASIL, 2012).

Tabela 2. Cor e composição físico-química da bebida alcoólica fermentada de maracujá da Caatinga.

Variáveis físico-químicas	Vinhos de maracujá da Caatinga ^{1,2}			
	T1	T2	T3	T4
pH	3.05±0.01b	3.20±0.03a	2.99±0.01c	3.21±0.01a
Densidade (g cm ⁻³)	1.0458±0.0001a	1.0443±0.0001b	1.0412±0.0000c	1.0409±0.0004d
AT (meq L ⁻¹)	527.50±3.34a	498.35±3.79b	498.35±3.79b	429.86±1.26c
AV (meq L ⁻¹)	6.46±0.63a	6.67±0.62a	6.09±0.13a	5.53±0.01a
Dióxido de enxofre livre (mg L ⁻¹)	26.11±0.00c	30,55±0.30a	27.99±0.30b	30.72±0.00a
Dióxido de enxofre total(mg L ⁻¹)	28.16±0.00d	92.93±0.68b	74.24±0.0c	94.72±0.00a
Extrato seco (g L ⁻¹)	145.00±0.26a	142.47±0.32b	136.10±0.10c	131.80±0.10d
Teor de álcool (% v/v)	7.15±0.05c	7.61±0.09b	8.12±0.03a	6.99±0.02d
Cor L*	51.06±0.04b	51.10±0.27b	51.35±0.08b	52.23±0.20a
Cor a*	-2.50±0.02a	-2.53±0.02a	-2.67±0.02b	-2.77±0.05c
Cor b*	19.27±0.03b	19.96±0.10a	17.93±0.06c	14.97±0.10d
Cor C*	19.43±0.04b	20.12±0.10a	18.13±0.06c	15.23±0.11d
Cor h	97.40±0.05c	97.24±0.03d	98.50±0.06b	100.48±0.12a
Ácido ascórbico (mg 100g ⁻¹)	4.55±0.45a	4.40±0.26a	4.77±0.27a	4.27±0.27a
Compostos fenólicos totais (mg GAE L ⁻¹)	735.94±17.29a	805.84±102.52a	817.02±78.06a	819.51±91.67a

⁽¹⁾T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas maduras com diluição. (2) Médias ± desvio padrão na mesma linha seguida das mesmas letras não são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de médias de Tukey (p≤0,05). TA = acidez titulável. VA = acidez volátil. L* = luminosidade, branco (0) a preto (100). a* = componente vermelho, vermelho (+) a verde (-). b* = componente amarelo, amarelo (+) a azul (-). C* = (Chroma) cromaticidade da cor. h = (matiz) ângulo do tom da cor. GAE = expresso em equivalentes de ácido gálico.

A acidez volátil (AV) das amostras variou de 5,53 a 6,67 meq L⁻¹, sem diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2) e abaixo do limite máximo (20 meq L⁻¹) definido pela mesma legislação. Em outros trabalhos publicados sobre bebidas alcoólicas obtidas de frutas tropicais e sobre vinhos tintos e brancos, os autores relataram valores de acidez titulável inferiores aos observados para o fermentado de maracujá da Caatinga (Paula et al. No entanto, os teores de ácidos voláteis foram semelhantes aos apresentados por Silva et al. (2015), que encontraram valores entre 5,89 e 6,17 meq L⁻¹, indicando a saudabilidade do fruto no momento da colheita e processamento (Silva et al.,2008).

As concentrações de dióxido de enxofre livre diferiram significativamente entre as amostras, variando entre 26 e 30 mg L⁻¹ (Tabela 2), estando estes valores próximos dos considerados ideais para a conservação do vinho, que devem rondar os 30 mg L⁻¹ (Silva et al.,2008).

O dióxido de enxofre total é amplamente utilizado em vinícolas para proteger os vinhos dos efeitos oxidativos e da deterioração microbiana (Boeira et al., 2020), sendo a concentração máxima permitida de 350 mg L⁻¹ de SO₂ total (BRASIL, 2012). Assim, todas as formulações apresentaram valores abaixo do máximo permitido (Tabela 2).

Os teores de extrato seco foram semelhantes para todos os tratamentos (Tabela 2), variando de 131 a 145 g L⁻¹. O teor de extrato seco nas bebidas representa a concentração dos sólidos totais, incluindo substâncias orgânicas não voláteis (como açúcares e ácidos fixos) e minerais e é diretamente proporcional à percepção de “corpo” no vinho (Biasoto et al., 2014). Um vinho com extrato seco acima de 30 g L⁻¹ é classificado como uma bebida bem encorpada (Castilhos & Del Bianchi, 2011). Além disso, as quantidades de açúcar adicionadas aos mostos durante a fermentação alcoólica para chaptalização e antes do engarrafamento, aumentaram o teor de extrato seco do produto (Boeira et al., 2020; Oliveira, Souza & Mamede, 2011). Assim,

os resultados aqui obtidos indicaram que as bebidas alcoólicas fermentadas de maracujá foram muito bem encorpadas.

3.3 Avaliação colorimétrica

Os parâmetros de cor das amostras variaram entre os tratamentos (Tabela 2) da seguinte forma: de 51,06 a 52,23 para luminosidade (L^*), -2,50 a -2,77 para o componente vermelho/amarelo (a^*), 14,97 a 19,96 para o componente verde/azul (b^*), 15,23 a 20,12 para cromaticidade (C^*) e 97,24 a 100,48 para o ângulo de matiz (h). A luminosidade foi significativamente maior para T4, tratamento elaborado com polpa madura diluída, mas os demais tratamentos não apresentaram diferença entre si. Os tratamentos elaborados com polpa in natura (T1 e T2) foram menos intensos para o amarelo e para o ângulo matiz e mais intensos para o verde e cromaticidade. De maneira geral, as variações entre os tratamentos poderiam ser justificadas pela adição de água às polpas (T3 e T4), diluição do meio, e pelo grau de amadurecimento dos frutos (Intermediário e maduro). Além disso, o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante, também relacionados ao grau de amadurecimento, apresentam forte correlação com a cor da polpa da fruta (Zielinski et al., 2014).

3.4 Teor de ácido ascórbico (vitamina C)

O teor de ácido ascórbico das amostras foi de cerca de 4 mg 100g⁻¹ (Tabela 2), não havendo diferença entre os tratamentos. Silva e cols. (2020) caracterizaram a polpa de maracujá da Caatinga (cv. BRS Sertão Forte) e encontraram 11 e 17 mg 100g⁻¹ de vitamina C nos estádios intermediário e maduro, respectivamente. Maiores quantidades foram encontradas nas seguintes variedades de maracujá: *Passiflora edulis* roxo (32 mg 100g⁻¹ peso fresco), *Passiflora edulis* amarelo (24 mg 100g⁻¹ peso fresco), *Passiflora maliformis* (15 mg 100g⁻¹ peso fresco) e *Passiflora glandulosa* Cav. (57,76 mg 100g⁻¹ peso fresco) (Ramaya et al., 2012; Lima-Neto

et al., 2017). A fermentação alcoólica e outras fases do processamento da fruta para obtenção da bebida alcoólica fermentada influenciaram no teor de vitamina C, uma vez que esta vitamina é facilmente degradada. Explicando a redução drástica do ácido ascórbico apresentada na Tabela 2. Ainda assim, a bebida alcoólica de maracujá pode ser considerada como fonte de vitamina C.

3.5 Teor total de compostos fenólicos

Quantidades semelhantes de compostos fenólicos totais foram encontradas em todos os tratamentos (Tabela 2) ($>700\text{mg GAE L}^{-1}$), valores superiores aos relatados por Lima-Neto et al. (2017) e Zielinski et al. (2014) para as variedades amarelas *Passiflora edulis* ($276\text{ mg GAE Kg}^{-1}$) e *Passiflora glandulosa* Cav. ($205,5\text{ mg GAE kg}^{-1}$) quando os autores analisaram frutas in natura. Silva e cols. (2020) caracterizaram o maracujá da Caatinga (cv. BRS Sertão Forte) e também encontraram valores inferiores aos encontrados no presente estudo, de 530 e 410 mg GAE kg^{-1} para os estádios intermediário e maduro, respectivamente. Enquanto Santos et al. (2021) encontraram 365 e 476,1 mg kg^{-1} de compostos fenólicos totais para *P. cincinnata* e *P. edulis*, respectivamente.

O aumento observado no teor de compostos fenólicos do fermentado alcoólico obtido do maracujá da Caatinga (Tabela 2) pode ser explicado pela possível influência na fração fenólica desencadeada pela ação da levedura comercial, enzima pectinolítica e outros consumíveis enológicos adicionados, e por diversas reações ocorridas durante os processos pré e pós-fermentativos. Além disso, vários fatores afetam essas reações, como a duração das etapas de clarificação, fermentação e estabilização, o valor do pH, a temperatura, as concentrações minerais, a quantidade de oxigênio dissolvido e o grau de homogeneização do mosto durante a fermentação (Moreno-Arribas & Polo, 2009).

Embora os teores totais de compostos polifenólicos presentes nos vinhos brancos sejam cerca de 10 vezes menores do que os presentes nos vinhos tintos (Vaccari et al., 2009), as bebidas alcoólicas de maracujá da Caatinga apresentaram teores aproximadamente 1,5 a 3 vezes menores que os vinhos tintos comerciais das variedades Cabernet Sauvignon, Merlot e Syrah (Lins & Sartori, 2017). Por outro lado, os teores de compostos fenólicos totais das bebidas alcoólicas de maracujá da Caatinga foram cerca de duas vezes os valores encontrados nos vinhos brancos comerciais das variedades ‘Verdejo’ e ‘Malvasia’ (Paixão et al. Isso confere mérito a essa espécie de maracujá, indicando o potencial da matriz como fonte de compostos bioativos.

3.6 Compostos fenólicos

Um grande número de compostos fenólicos foi encontrado na bebida alcoólica fermentada de maracujá (Tabela 3), sendo vinte e um compostos identificados e quantificados por HPLC-DAD-FD, pertencentes a quatro grupos principais: ácidos fenólicos, flavonoides, flavonoides e estilbenos. Dos compostos testados, apenas a viniferina não foi identificada nas amostras. O perfil fenólico variou entre os tratamentos, sendo os maiores teores de ácidos fenólicos totais e estilbenos totais encontrados no tratamento elaborado com polpa in natura no estágio intermediário de maturação (T1), seguido do tratamento elaborado com polpa in natura madura (T2) e com polpa diluída no estágio intermediário de maturação (T3), os quais não diferiram entre si. Maiores quantidades de flavonoides totais (flavonoides e flavonoides) foram encontradas em T2, mas os flavonoides totais em T1 e T2 não diferiram significativamente. Em síntese, o estado de maturação do maracujá foi determinante para o perfil de compostos fenólicos da bebida. A diluição parece causar uma perda significativa no conteúdo total de compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos são os metabolitos secundários das plantas responsáveis pela capacidade antioxidante dos frutos, pelo que o seu consumo regular proporciona prevenção contra doenças degenerativas crónicas e reduz o risco de alguns tipos de cancro (Paikrao et al., 2010; Huang et al., 2012). Alguns estudos têm mostrado uma forte correlação entre as quantidades de compostos bioativos em frutas, incluindo os compostos fenólicos, e condições climáticas áridas e semiáridas, onde as plantas são submetidas à exposição excessiva ao calor e à luz solar (Siqueira et al., 2013; Carvalho et al., 2018).

Estudos anteriores sobre a atividade biológica de espécies de *Passiflora* mostraram uma alta capacidade antioxidante em ensaios *in vitro*, relatando que a capacidade antioxidante da fruta foi atribuída aos compostos fenólicos presentes na polpa da fruta e suas respectivas estruturas químicas, principalmente os flavonoides (Zou et al., 2016; Zeraik et al., 2010; Rotta et al., 2019; Silva et al., 2020; Santos et al., 2021).

Nesse contexto, os resultados obtidos no presente estudo expressam o elevado potencial antioxidante dos maracujás da Caatinga, corroborando com relatos da literatura sobre maracujás BRS Sertão Forte Caatinga, onde Silva et al. (2020) identificaram teores significativos de ácido fenólico e flavonoides, independente do estado de maturação da fruta. Os teores de ácido fenólico das bebidas fermentadas de maracujá da Caatinga foram superiores aos encontrados nos frutos de diferentes espécies de *Passiflora* (*P. edulis*, *P. alata* e *P. ligularis*) (Rotta et al., 2019). Nenhum estudo anterior avaliou o perfil fenólico de bebidas alcoólicas elaboradas com maracujá da Caatinga.

3.6.1 Ácidos fenólicos

O grupo ácido fenólico é constituído pelos ácidos hidroxibenzóico (HBA) e hidroxicinâmico (HCA), encontrados principalmente na forma livre. O HPLC-DAD-FD permitiu a identificação e quantificação dos seguintes ácidos fenólicos: caféico, cáftárico,

clorogênico, p-cumárico, ferúlico e gálico (Tabela 3). Destes, o ácido gálico esteve presente em maior quantidade. A maior quantidade de ácidos fenólicos totais foi encontrada no estágio intermediário de maturação da polpa in natura (T1) e a menor quantidade na polpa madura diluída (T4), diferenciando-a dos demais tratamentos. Os valores de T2 e T3 foram semelhantes, mostrando que a composição da polpa madura in natura foi semelhante à da polpa diluída em estágio intermediário de maturação.

PUBLICADO

Tabela 3. Perfil de compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD da bebida alcoólica fermentada de maracujá

Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	TR ¹ (min)	λ^1 (nm)	Vinhos de maracujá da Caatinga ^{2,3}			
			T1	T2	T3	T4
Ácido Cafeico	29.91±0.18	320	1.92±0.04b	2.88±0.01a	1.73±0.03c	1.94±0.00b
Ácido Caftárico	19.45±0.20	320	0.95±0.02a	0.76±0.01c	0.84±0.07b	0.67±0.03d
Ácido Clorogênico	25.34±0.17	320	0.50±0.01b	0.50±0.00b	0.47±0.01c	0.54±0.01a
Ácido ρ -Cumárico	33.80±0.17	320	1.17±0.09a	1.01±0.14a	1.03±0.05a	0.63±0.02b
Ácido Ferrulico	39.18±0.05	320	0.52±0.00a	0.45±0.01b	0.47±0.04b	0.37±0.01c
Ácido Gálico	9.66±0.28	280	7.07±0.15a	4.02±0.30c	5.26±0.22b	3.08±0.17d
Ácidos fenólicos totais	-	-	12.12±0.08a	9.61±0.17b	9.80±0.14b	7.22±0.17c
Caempferol-3-O-glucosídeo	45.87±0.11	360	0.26±0.01b	0.31±0.00a	0.27±0.01b	0.31±0.01a
Quercetina-3- β -D-glicosídeo	43.62±0.03	360	7.62±0.16a	7.66±0.14a	7.57±0.08a	7.13±0.00b
Isorhametina-3-O-glicosídeo	46.37±0.02	360	0.58±0.06a	0.50±0.00b	0.58±0.00a	0.28±0.00c
Miricetina	46.97±0.02	360	0.49±0.02a	0.51±0.00a	0.51±0.03a	0.48±0.00a
Rutina	42.98±0.04	360	3.84±0.03c	4.37±0.06a	3.44±0.05d	4.08±0.05b
Flavonóis Totais	-	-	12.79±0.22ab	13.35±0.09a	12.37±0.14b	12.27±0.05b
(+)-Catequina	22.27±0.20	320F	0.66±0.09a	0.62±0.00a	0.70±0.12a	0.67±0.11a
(-)-Epicatequina	28.43±0.15	320F	1.48±0.00a	1.21±0.03b	1.34±0.01ab	1.40±0.21ab
(-)-Epicatequina galato	41.50±0.04	280	2.34±0.16c	6.60±0.16a	2.31±0.22c	3.31±0.14b
(-)-Epigallocatequina galato	32.44±0.19	280	1.82±0.03ab	2.17±0.32a	1.46±0.15bc	1.31±0.20c
Procianidina A2	44.76±0.03	320F	2.20±0.56a	1.38±0.03b	2.52±0.02a	1.15±0.23b
Procianidina B1	21.70±0.17	320F	2.03±0.28bc	2.58±0.05a	1.78±0.22c	2.49±0.46ab
Procianidina B2	27.28±0.15	320F	2.42±0.48a	2.72±0.08a	2.47±0.02a	2.28±0.04a
Flavonóis Totais	-	-	12.94±0.43b	17.28±0.18a	12.58±0.41b	12.60±0.43b
<i>trans</i> -resveratrol	48.32±0.02	320	0.28±0.00a	0.27±0.00b	0.27±0.00a	0.26±0.00c
<i>cis</i> -resveratrol	48.35±0.03	280	0.35±0.01a	0.34±0.01a	0.32±0.01a	0.27±0.00a
Piceatanol	43.79±0.03	320	0.89±0.04a	0.61±0.03b	0.68±0.05b	0.61±0.03b
Viniferina	51.01±0.00	320	ND	ND	ND	ND
Estilbenos Totais	-	-	1.52±0.05a	1.21±0.02b	1.28±0.04b	1.13±0.03b

⁽¹⁾TR = tempo de retenção. λ = comprimento de onda. (2) T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas maduras com diluição. (3) Médias \pm desvio padrão (n=3) na mesma linha seguida de letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras no teor de compostos fenólicos de acordo com o teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). ND = não detectado.

A literatura também cita o ácido gálico como um dos HBAs encontrados em maior concentração no vinho, sendo originário das uvas e também sendo formado pela hidrólise dos taninos (Moreno-Arribas & Polo, 2009). Ao contrário da Tabela 3, que destaca T1 seguido de T3 como os tratamentos que deram origem à bebida alcoólica da Caatinga com os maiores teores de ácido gálico (7,07 e 5,26 mg L⁻¹, respectivamente), os resultados apresentados por Silva et al. (2020) apresentam menores concentrações deste ácido em maracujás da Caatinga, principalmente in natura no estágio intermediário (1,67 mg L⁻¹). Considerando isso, pode-se supor que durante o processamento do maracujá, a concentração de ácido gálico aumentou devido à hidrólise dos taninos. Além disso, fazendo um paralelo com o perfil de ácidos fenólicos do maracujá da Caatinga determinado por Silva et al. (2021) e Santos et al. (2021), foi demonstrado que durante o processamento do fruto para produção de bebida fermentada alcoólica, houve possível perda dos ácidos clorogênico, catártico, p-cumárico e ferrulico, e aumento do teor de ácido caféico.

3.6.2 Flavonoides (*flavanols and flavonols*)

Neste estudo, os compostos flavonóis identificados foram: kaempferol-3-O-glicosídeo, quercetina-3-β-D-glicosídeo, isorhamnetin-3-O-glicosídeo, miricetina e rutina (Tabela 3). O composto fenólico presente em maior quantidade (>7,00 mg L⁻¹) em todas as amostras foi a quercetina-3-β-D-glicosídeo, com variação significativa entre as amostras de polpa in natura e diluída, mas não entre os estádios de maturação. Por outro lado, a miricetina não apresentou variação entre os estádios de maturação ou entre as polpas in natura e diluída.

Em comparação com o perfil de flavonoides identificado por Silva et al. (2020) em maracujá da Caatinga, houve redução nos teores de quercetina-3-β-D-glicosídeo e rutina, compostos possivelmente degradados durante a produção da bebida alcoólica. Segundo Moreno-Arribas & Polo (2009), uma vez que os flavonóides são facilmente oxidados, a

exposição ao oxigénio antes da fermentação alcoólica durante a preparação dos vinhos brancos, é suficiente para reduzir estes compostos no mosto. Além disso, as enzimas pectinolíticas adicionadas ao mosto para melhorar a qualidade e o rendimento da bebida também podem degradar os flavonoides.

Foram identificados sete flavanóis (Tabela 3), a saber: (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epicatequina galato, (-)-epigallocatequina galato, procianidina A2, procianidina B1 e procianidina B2, sendo os flavanóis o grupo mais prevalente. O composto (-)-epigallocatequina galato se destacou com uma quantidade de 6,60 mg L⁻¹ no tratamento com polpa madura in natura (T2), quase três vezes a quantidade detectada na polpa de estágio intermediário (2,34 mg L⁻¹). Como consequência, não houve diferença nas quantidades deste componente quantificadas nas polpas de estágio intermediário (2,3 mg L⁻¹ em T1 e T3). (+)-Catequina e procianidina B2 não apresentaram variação entre os diferentes estádios de maturação ou entre as polpas in natura e diluída. A procianidina A2 permaneceu constante mesmo após a diluição da polpa, sendo mais detectada no estágio intermediário. Pequenas quantidades de procianidina B1 (0,12 mg kg⁻¹), (-)-epicatequina (0,02 mg kg⁻¹), (-)-epicatequina galato (0,15 mg L⁻¹) e procianidina B2 (1,40 mg kg⁻¹) também foram encontradas no maracujá in natura da Caatinga por Santos et al. (2021), sugerindo aumento desses flavonoides durante o preparo da bebida alcoólica. galato de epigallocatequina (3,06 mg kg⁻¹) e (+)-catequina (1,64 mg kg⁻¹) foram maiores na fruta do que na bebida alcoólica.

3.6.3 Stilbenos

Os estilbenos são de grande interesse devido ao seu relevante potencial antioxidante, anticancerígeno e antimutagênico (Buiarelli et al., 2007; Moreno-Arribas & Polo, 2009). Os estilbenos foram os menos prevalentes dos compostos fenólicos detectados, sendo identificados três compostos: trans-resveratrol, cis-resveratrol e piceatannol. Piceatannol esteve presente em

maior quantidade em todas as amostras (Tabela 3). O trans-resveratrol foi o composto quantificado com as menores quantidades ($<0,3 \text{ mg L}^{-1}$), não apresentando variação entre as amostras elaboradas com polpa no estágio intermediário (T1 e T3), que apresentaram maiores quantidades do que os tratamentos preparados com polpa madura.

Os teores de resveratrol *trans* e *cis* encontrados neste estudo, embora baixos, estavam de acordo com a faixa de concentração ($0,1-0,8 \text{ mg L}^{-1}$) comumente relatada para vinhos brancos. Considerando que não foi encontrada viniferina nas bebidas obtidas, infere-se que além da matriz (fruta) não conter quantidade significativa desse estilbeno, não houve polimerização do monômero resveratrol por meio da atividade da peroxidase (Moreno-Arribas & Polo, 2009), sendo essa reação a responsável pela síntese desse composto. Por outro lado, houve possíveis perdas do composto piaceatannol em função do processamento, pois Silva et al. (2020) encontraram maiores quantidades em maracujá in natura da Caatinga ($>1,37 \text{ mg L}^{-1}$).

3.7 Atividade antioxidante

A Figura 1 mostra os resultados obtidos para a atividade antioxidante verificada nos diferentes ensaios (DPPH, FRAP e ORAC).

O método DPPH mostrou que o estágio de maturação não interferiu ($p \leq 0,05$) na atividade antioxidante das amostras fermentadas (Figura 1), mas a diluição da polpa reduziu significativamente a atividade ($T1=T2 < T3=T4$); de 2783 a 1981 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (T1 e T3, respectivamente) e de 2527 a 1679 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (T2 e T4, respectivamente). Os métodos FRAP e ORAC mostraram que o estágio de maturação da fruta apresentou resultados não semelhantes para a atividade antioxidante ($T1 \neq T2$ e $T3 \neq T4$) para ambos os métodos, e a diluição da polpa no estágio intermediário (T3) não resultou em redução da atividade antioxidante quando

comparada com a polpa in natura, dando resultados de 7612 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T1 e 7348 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T3 de acordo com FRAP, e de 13258 $\mu\text{mol mol TE L}^{-1}$ para T1 e 12871 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T3 de acordo com ORAC. No estágio maduro, a diluição da polpa reduziu significativamente a atividade antioxidante de 5995 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T2 para 3942 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T4 de acordo com FRAP, e de 15412 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T2 para 9443 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para T4 de acordo com ORAC.

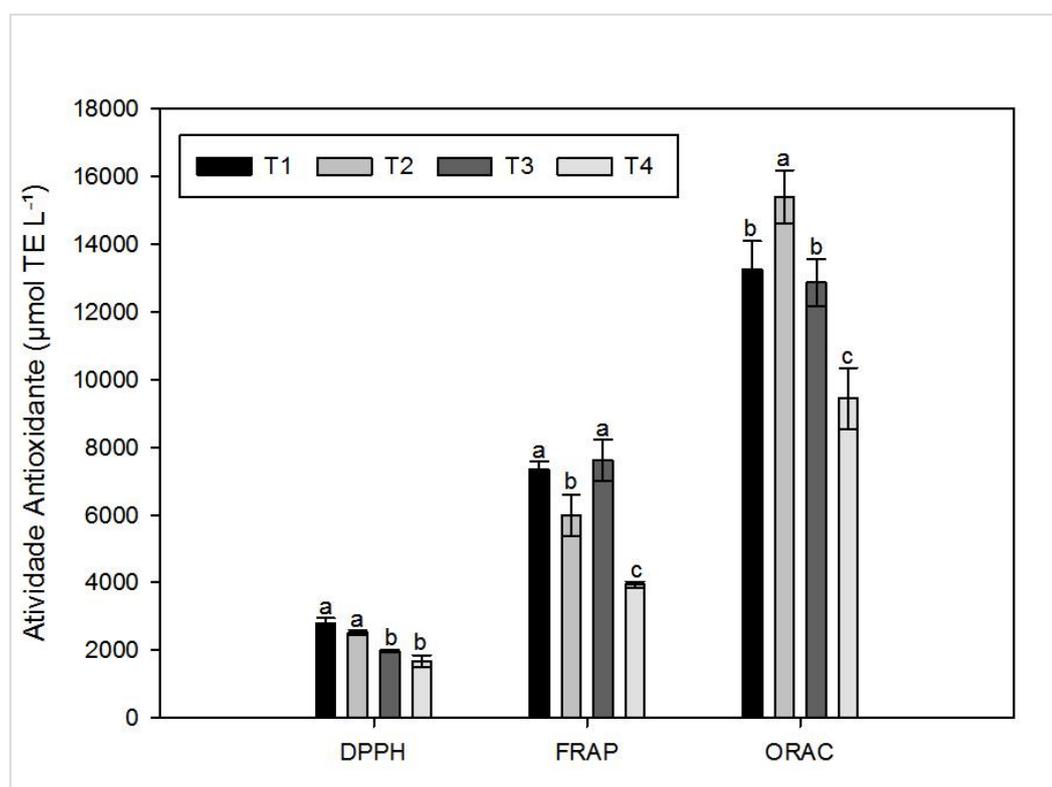


Figura 1. Atividade antioxidante *in vitro* da bebida alcoólica fermentada de maracujá determinada pelos ensaios DPPH, FRAP e ORAC. Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). Legendas: T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas maduras com diluição.

Os valores mínimos encontrados neste estudo concordam com os valores relatados na literatura por Ramaya et al. (2012), Zielinski et al. (2014) e Silva et al. (2020), que relataram atividade antioxidante máxima de 1685 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ em polpa de maracujá (*Passiflora maliformis*) de acordo com o ensaio DPPH, 3915 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (*Passiflora edulis*) de acordo com o ensaio FRAP e 6810 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (*Passiflora cincinnata* Mast. BRS Sertão Forte) de acordo com o ensaio ORAC. Assim, os valores máximos encontrados para os vinhos de maracujá de acordo com os ensaios DPPH, FRAP e ORAC forneceram resultados de 2783 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$, 7612 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (tratamento T1) e 15412 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ (tratamento T2), respectivamente, para os três métodos (Figura 1), valores relativamente superiores aos relatados na literatura. A maior atividade antioxidante do fermentado alcoólico de maracujá em relação ao *in natura* pode ser explicada pela presença de maior teor de fenólicos totais na bebida (Tabela 2).

Em geral, as frutas apresentam grandes variações em sua atividade antioxidante quando avaliadas por diferentes métodos e, portanto, as variações observadas neste estudo para a atividade antioxidante, por métodos antioxidantes *in vitro*, estão relacionadas à estrutura química e aos mecanismos de ação (com relação aos radicais livres) dos compostos fenólicos envolvidos no método de avaliação aplicado (Lima-Neto et al., 2017). Consequentemente, Lins & Sartori (2017) enfatizaram o fato de que o vinho é uma mistura complexa de diferentes compostos, e que o grau de combinação entre os compostos fenólicos e os arranjos moleculares presentes na matriz podem influenciar em grande medida a resposta à eliminação de radicais livres.

Os resultados apresentados neste estudo demonstram que o maracujá da Caatinga apresenta expressiva atividade antioxidante e pode ser utilizado como fonte de antioxidantes naturais, conforme esperado, visto que estudos anteriores (Ramaiya et al., 2013; Zielinski et al.,

2014; Carvalho et al., 2018; Silva et al., 2020) já indicavam que os frutos de várias cultivares de maracujá (*Passiflora*) eram ricos em compostos que atuam na eliminação de radicais livres.

Além disso, embora não tenham sido encontrados na literatura estudos anteriores com bebidas fermentadas de maracujá, as atividades antioxidantes das bebidas produzidas no presente estudo apresentaram atividades antioxidantes superiores às dos vinhos brancos comerciais elaborados com diferentes variedades de uva (Baiano et al., 2012; Silva et al., 2015).

Sabe-se que a variação nos resultados para a variedade utilizada neste estudo (*Passiflora cincinnata* Mast.), em comparação com outras variedades de frutas, pode ser fortemente influenciada pela genética da fruta, pelo clima, pelas fases de desenvolvimento (amadurecimento da fruta), bem como pelo sistema de cultivo e pelas condições do solo (Chitarra & Chitarra, 2005; Ramaya et al., 2012).

A correlação entre a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos e os teores de ácido ascórbico foi realizada por meio da correlação de Spearman (Tabela 4). As correlações positivas foram encontradas neste estudo de acordo com a escala arbitrária definida por Granato et al. (2014).

Considerando o ensaio de DPPH, os compostos fenólicos totais e o *cis*-resveratrol apresentaram correlação perfeita ($r = 1,00$) com a capacidade antioxidante, e o *trans*-resveratrol apresentou forte correlação ($r = 0,90$). Já para o ensaio FRAP, observou-se correlação perfeita ($r = 1,00$) entre os teores de ácido ascórbico e procianidina A2 e atividade antioxidante, e forte correlação ($r = 0,90$) com os teores de ácido clorogênico e isorhamnetin-3-O-glicosídeo. Finalmente para o ensaio ORAC, a quercetin-3- β -D-glucoside e (-)-epigallocatechin galato foram os compostos que apresentaram uma correlação perfeita ($r = 1,00$) com a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais obtiveram uma correlação moderada ($r = 0,64$). Além disso, os ácidos fenólicos foram a classe de fenólicos que apresentou a maior quantidade

de compostos com correlação moderada ($0,50 \leq r < 0,80$) com a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP. Destacando que a bebida alcoólica de maracujá obtida com T1 e frutas com estágio intermediário de maturação foi a que apresentou o maior teor de ácido fenólico (Tabela 3) e os maiores valores de atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP (Figura 1). Consequentemente, a tendência neste caso é que uma maior concentração destes compostos na bebida promova um incremento na sua atividade antioxidante. Os resultados apresentados na Tabela 4 corroboram o indicado na literatura, que indica que a capacidade antioxidante das frutas cítricas está correlacionada com os teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos (Del Caro et al., 2004, Rekha et al., 2012; Silva et al., 2020).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre os compostos fenólicos e o ácido ascórbico com a atividade antioxidante *in vitro* da bebida alcoólica fermentada de maracujá medida pelos ensaios DPPH, FRAP e ORAC.

Componente ¹	DPPH		FRAP		ORAC	
	Spearman r	p- Values	Spearman r	p- Values	Spearman r	p- Values
Compostos fenólicos totais	1.00	0.08	0.16	0.75	0.64	0.33
Ácido ascórbico	0.16	0.75	1.00	0.00	0.04	0.92
Ácido cafeico	0.00	1.00	0.64	0.33	0.16	0.75
Ácido caftárico	0.64	0.33	0.64	0.33	0.16	0.75
Ácido clorogênico	0.10	0.75	0.90	0.08	0.10	0.75
<i>p</i> -coumárico ácido	0.64	0.33	0.64	0.33	0.16	0.75
Ácido ferrúlico	0.64	0.33	0.64	0.33	0.16	0.75
Ácido gálico	0.64	0.33	0.64	0.33	0.16	0.75
Kaempferol-3-O-glicosídeo	0.40	0.33	0.54	0.33	0.01	0.92
Quercetina-3- β -D-glicosídeo	0.64	0.33	0.04	0.92	1.00	0.00
Isorhamnetina-3-O-glicosídeo	0.40	0.42	0.90	0.08	0.10	0.75
miricetina	0.10	0.75	0.40	0.42	0.40	0.42
Rutina	0.00	1.00	0.64	0.33	0.16	0.75
(+)-Catequina	0.36	0.42	0.16	0.75	0.64	0.33
(-)-Epicatequina	0.04	0.92	0.00	1.00	0.16	0.75
(-)-galato de epicatequina	0.00	1.00	0.64	0.33	0.16	0.75
(-)-Galato de epigallocatequina	0.64	0.33	0.04	0.92	1.00	0.00
Procianidina A2	0.16	0.75	1.00	0.00	0.04	0.92
Procianidina B1	0.00	1.00	0.64	0.33	0.16	0.75
Procianidina B2	0.16	0.75	0.16	0.75	0.64	0.33
<i>Trans</i> -resveratrol	0.90	0.08	0.40	0.42	0.40	0.42
<i>Cis</i> -resveratrol	1.00	0.00	0.16	0.75	0.64	0.33
Piceatanol	0.40	0.42	0.54	0.33	0.01	0.92

¹Correlação de Spearman: muito fraca (quase nenhuma): $0,10 \leq r$; correlação moderada: $0,50 \leq r < 0,80$; correlação forte: $0,80 \leq r < 1,00$; correlação perfeita: $r = 1,00$ (Granato et al., 2014). As correlações perfeitas e fortes são apresentadas em negrito.

Uma análise da correlação entre o perfil de compostos fenólicos e a atividade antioxidante é de relevante importância para a caracterização da bebida, contribuindo para a indicação dos compostos que possivelmente influenciam no potencial funcional do produto (Lima et al.,

2014). No entanto, um determinado composto nem sempre apresenta correlação com a atividade antioxidante por todos os métodos empregados (Di Majo et al., 2008), como pode ser visto neste estudo e na literatura (Rufino et al., 2010; Padilha et al., 2017). Portanto, não é tão simples escolher o método mais adequado para determinar a capacidade antioxidante in vitro, sugerindo que essa análise deva ocorrer a partir de uma combinação de diferentes ensaios, sendo os métodos DPPH, FRAP e ORAC frequentemente usados em combinação (Shahidi & Zhong, 2015; Zou et al., 2016).

3.8 Análise Sensorial

A aceitação geral das amostras (Figura 2A e Tabela S2) mostrou que a amostra T4 teve média de aceitação mais expressiva, situando-se na categoria “gostei ligeiramente=6,0”, não diferindo das amostras T2 e T3, que receberam médias de 5,7 e 5,6, respectivamente. A amostra T1 recebeu a pior média de aceitação geral, média de 4,9, sendo assim classificada na categoria “nem gostei nem desgostei = 5,0” na escala híbrida hedônica e 45% dos consumidores rejeitaram esse tratamento. A partir do PCA mostrado na Figura S2, pode-se ver que a amostra T1 não foi preferida por nenhum dos consumidores. As amostras T2 e T4 receberam as maiores pontuações no Teste de Intenção de Compra (Figura 2B). Porém, ao analisar as amostras T1 e T3, pelo menos 40% dos consumidores afirmaram que possivelmente comprariam as amostras. Com relação à categoria “tenho dúvidas se compraria”, a amostra T3 apresentou o maior predomínio de incerteza dos provadores quanto à sua intenção de compra.

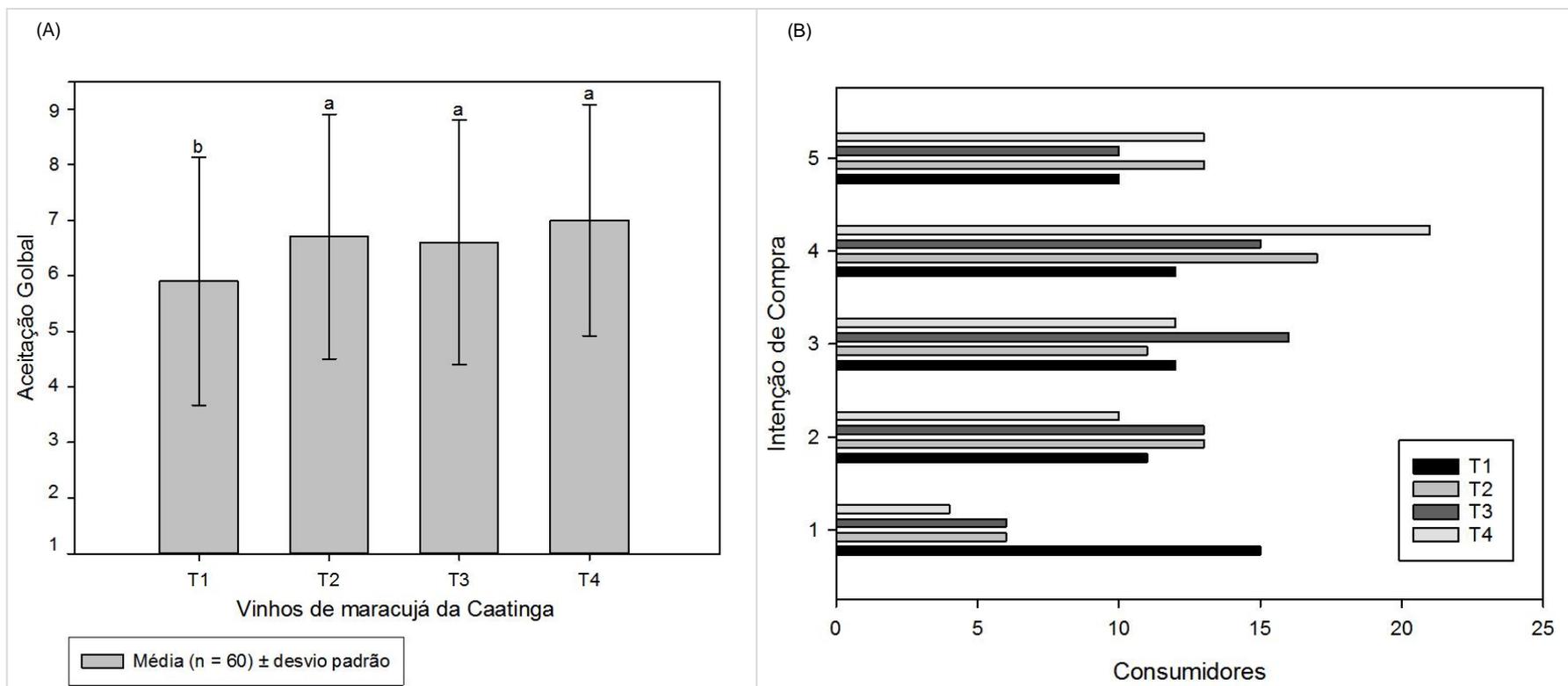


Figura 2: Resultados do teste de consumo (n = 60): (A) Média da aceitabilidade global do fermentado alcoólico de maracujá utilizando a escala híbrida hedônica ancorada com os termos “1= desgostei extremamente” e “9 = gostei extremamente”. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de médias LSD de Fisher ($p \leq 0,05$). (B) Intenção de compra dos vinhos de maracujá. Legendas: T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutas maduras com diluição. Intenção de compra: 1 = Certamente não compraria, 2 = Possivelmente não compraria, 3 = Tenho dúvidas se compraria, 4 = Possivelmente compraria e 5 = Certamente compraria.

Usando a técnica CATA, os consumidores foram solicitados a descrever os perfis sensoriais das bebidas alcoólicas fermentadas de maracujá (Figura 3 e Tabela S3). A Tabela S3 indicou que alguns termos foram igualmente percebidos entre as bebidas obtidas, como adstringente, encorpado, sabor maracujá caatinga e equilibrado, e os aromas floral, verde, maracujá caatinga, cítrico, refrescante e intenso, enquanto outros termos (cor atraente, aroma doce, pouco aromático, ácido, adocicado e amarelo dourado) apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras. Nesse contexto, a amostra T1, que obteve os menores valores médios de aceitação (Figura 2A e Tabela S2), foi indicada como a bebida mais ácida e menos doce, apresentando a cor menos atrativa, sendo indicada também como pouco aromática. Pode-se inferir também que algumas das características sensoriais citadas podem ser consideradas indesejáveis pelos consumidores quando presentes nas bebidas. Esse tratamento enfatizou a acidez total conforme Tabela 2 (527,50 meq L⁻¹), e essa acidez excessiva possivelmente reduziu a percepção do açúcar resultante do açúcar adicionado à bebida alcoólica imediatamente antes do engarrafamento. Por sua vez, o tratamento que obteve a maior média de aceitabilidade geral, T4, foi a amostra com menos citações para a presença de uma cor amarela dourada, apresentando maior valor para L* e um ângulo de matiz (h) mais distante de 90° (cor amarela) conforme a Tabela 2.

Em sequência, de acordo com a Análise de Correspondência (CA) obtida pela soma dos termos CATA (Figura 3), verifica-se que a amostra T4 apresentou o perfil sensorial mais distinto, notadamente em relação à amostra T1. A amostra T4 foi descrita principalmente usando os termos aromas refrescantes, doces e florais, cor atraente, equilibrado e doce. Assim, pode-se inferir que a aparência, aroma e sabor influenciaram na aceitação da bebida alcoólica de maracujá, sendo que para se obter um produto melhor do ponto de vista sensorial deve-se utilizar frutas maduras e diluir a polpa com água.

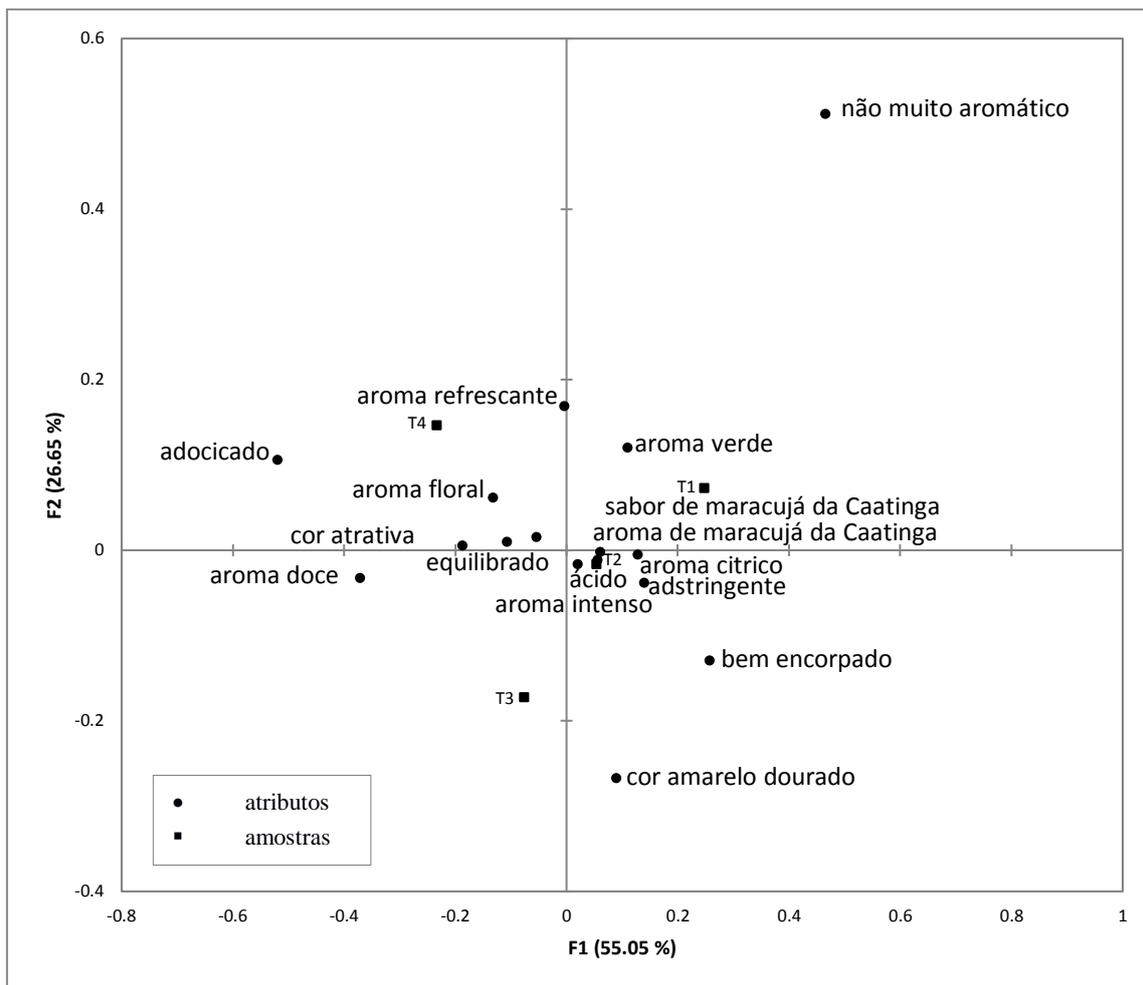


Figura 3: Análise de Correspondência obtida a partir da soma dos termos CATA citados para avaliação sensorial descritiva de fermentados alcoólicos obtidos do maracujá da Caatinga. Legenda: T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutos em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutos maduros sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutos em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir de polpa congelada de frutos maduros com diluição.

4 Conclusões

A produção de bebidas alcoólicas é uma alternativa viável para agregar valor aos frutos nativos da Caatinga, até então pouco explorados economicamente. Com exceção da acidez total, os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos básicos estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira. A identificação e quantificação dos compostos

fenólicos presentes nas amostras produzidas revelou um grande número de compostos e atividade antioxidante promissora, embora tenham sido observadas perdas significativas entre os tratamentos com o aumento do amadurecimento dos frutos em paralelo com a diluição da polpa durante o processamento. Mais estudos são necessários a fim de adequar o desvio da acidez total dos valores citados na legislação. A composição das polpas de maracujá da Caatinga indicou um potencial para o desenvolvimento de novos e exóticos produtos alimentícios.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e Bem Diverso pelo apoio financeiro (projeto BRA/14/G33 Embrapa/PNUD/GEF); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante este estudo; e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus I, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil, pelo apoio.

Referências

- Aidar, S. de T., Araújo, F. P. de, Castro, C. D. P. & Rybka, A. C. P. (2016). Plantas frutíferas. In: PORTO, D. D.; SOUZA, F. de F. (Ed.). Cadernos do semiárido: Biodiversidade da Caatinga para a Produção Agropecuária. Recife, PE, UFPE, 18-22.*
- Amerine, M.A.; Ough, C.S. *Análisis de vinos y mostos*. Zaragoza: Acribia, 1976, 158 p.
- AOAC (2012). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (19th ed.)*. Gaithersburg, MD, USA: AOAC.

- Araújo, A. J. de B., Santos, N. C., Barros, S. L., Vilar, S. B. de O., Schmidt, F. L., Araújo, F. P. et al. (2019a). Caracterização Físico-química e Perfil Lipídico da Semente de Maracujá do Mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). *Caderno de Pesquisa, Ciência e Inovação*, 2(3), 14-22.
- Araújo, F. P. de, Faleiro, F. G., Aidar, S. de T. & Melo, N. F. de. (2018). Alimentícias. In: Coradin, L., Camillo, J. & Pareyn, F. G. C. (Ed). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial, plantas para o futuro: região Nordeste. Brasília – DF, MMA, 217-224.
- Araújo, F. P., Melo, N. F. & Faleiro, F. G. (2016). Cultivar de maracujazeiro silvestre (*Passiflora cincinnata* Mast.) para a Caatinga e para o Cerrado BRS SF. Petrolina: Embrapa Semiárido. Np. 1 Folder.
- Araújo, S. M., Silva, C. F., Moreira, J. J., Narain, N. & Souza, R. R. (2011). Biotechnological process for obtaining new fermented products from cashew apple fruit by *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of Industrial Microbiology*, 38, 1161-1169.
- Ares, G., Dauber, C., Fernández, E., Giménez, A., & Varela, P. (2014). Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. *Food Quality and Preference*, 32, 65-76.
- Baiano, A., Terracone, C., Longobardi, F., Ventrella, A., Agostiano, A. & Nobile, M. A. D. (2012). Effects of different vinification technologies on physical and chemical characteristics of Sauvignon blanc wines. *Food Chemistry*, 135, 2694-2701.
- Bessa, M. A. D., Oliveira, E. N. A. de, Feitosa, F. F., Feitosa, R. M., Almeida, F. L. C., & Oliveira Neto, J. O. (2018). Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017217.

Biasoto, A. C. T., Netto, F. M., Marques, E. J. N. & Silva, M. A. A. P. da. (2014).

Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. *Food Research International*, 62, 456-466.

Brand-Williams W., Cuvelier, M.E, Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 28, 25-30.

Boeira, S. L., Freitas, P. H. B., Uchôa, N. R., Bezerra, J. A., Cad, S. V., Júnior, S. D. et al. (2020). Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native acai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. *LWT - Food Science and Technology*, 117, 108632.

Braga et al. Maracujá-do-cerrado. In: VIEIRA RF, AGOSTINI-COSTA T. S., SILVA D. B., FERREIRA F. R., SANO S. M. (Ed.). *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006. p. 216-33.

BRASIL (2012). Instrução Normativa Nº 34, de 29 de novembro de 2012. Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta. 2012.

Buiarelli, F., Coccioli, F., Jasionowska, R., Merolle, M., & Terracciano, A. (2007). Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rap. Commun. Mass Spectrom.*, 21, 2955-2964.

Carvalho, M. V. O. de, Oliveira, L. de L. de & Costa, A. M. (2018). Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. *Food Chemistry*, 266, 350-358.

Carvalho, P. P. de, Antoniazzi, C. A., Silva, N. T. da, Mikosvki, A. I., Carvalho, I. F. de, Carvalho, M. L. da S. Regeneração in vitro de *Passiflora miniata* Mast. *Ornamental Horticulture*, v. 23, n. 1, p. 88-95, 2017.

- Castilhos, M. B. M., V. L. Del Biachi. (2011). Caracterização físico-química e sensorial de vinhos brancos da região noroeste de São Paulo. *Holos*, 4, 148-158.
- CEPLAC. Maracujá. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm>>. Acesso em 01 de nov. de 2019.
- Chitarra, M. I. F. & Chitarra, A. B. (2005). Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. (2. ed.). Lavras: UFLA, MG.
- Costa, R. R. da, Rodrigues, A. A. M., Vasconcelos, V. A. F. de, Costa, J. P. D., & Lima, M. A. C. de. (2020). Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of ‘Chenin Blanc’ grape. *Scientia Agricola*, 77(3), e20180207.
- Davalos, A., Gómez-Cordovés, C. & Bartolomé, B. (2004). Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 48-54.
- Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., & Agabbio, M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed Citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1), 99-105.
- Di Majo, D., La Guardia, M., Giammanco, S., La Neve, L., & Giammanco, M. (2008). The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chemistry*, 111, 45-49.
- Genovese, M. I. & Pinto, M. S. (2008). De Souza Schmidt Goncalves, A.E. ; LAJOLO, F. M. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Exotic Fruits and Commercial Frozen Pulps from Brazil. *Food Science and Technology International*, 14, 207-214.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structureactivity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.

- Huang, W. Y., Zhang, H. C., Liu, W. X., & Li, C. Y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 13(2), 94–102.
- Jesus, O. N. de & Faleiro, F. G. (2016). Classificação Botânica e Biodiversidade. In: Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V. (Ed.). Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa. p.348.
- Lima-Neto, A. B. M., Marques, M. M. M., Mendes, F. N. P., Vieira, I. G. P., Diniz, D. B., Guedes, M. I. F. (2017). Antioxidant activity and physicochemical analysis of passion fruit (*Passiflora glandulosa* Cav.) pulp native to Cariri region. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 39(4), 417-422.
- Lins, A. R. & Sartori, G. V. (2014). Qualidade fenólica e atividade antioxidante de vinhos tintos produzidos no estado do Paraná. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 16 (1), 69-76.
- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 129-148.
- Manfroi, V., Rizzon, L. A., Guerra, C. C., Fialho, F. B., Dall’Agnol, I., Ferri, V.C. & Rombaldi, C.V. Influência de taninos enológicos em diferentes dosagens e épocas distintas de aplicação nas características físico-químicas do vinho Cabernet Sauvignon. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, p.127-135, 2010.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., Carr, B. T. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 354p.

Natividade, M. M. P., Pereira, G. E., Correia, L. C., Souza, S. V. C., Lima, L. C. O. (2013). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665-674.

Moreno-Arribas, M. V. & Polo, M. C. Wine Chemistry and Biochemistry. Springer Science, New York, USA, 2009.

OIV (2019). Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis.

Oliveira, A. B., Lopes, M. M. A., Moura, C. F. H., Oliveira, L. S., Souza, K. O., Filho, E. J., et al. (2017). Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. *Scientia Horticulturae*, 222, 84-89.

Oliveira Junior, M. X., José, A. R. S., Rebouças, T. N. H., Morais, O. M. & Dourado, F. W. N. (2010). Superação de dormência de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). *Revista Brasileira Fruticultura*, 32(2), 584-590.

Oliveira, L. C. de, Souza, S. O. de, Mamede, M. E. de O. (2011). Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 70(2), 158-67.

Oliveira, P. M. O., Dantas, A. M., Morais, A. R. S., Gibbert, L., Krüger, C. C. H., Lima, M. S., Magnani, M., Borges, G. S. C. (2020). Juá fruit (*Ziziphus joazeiro*) from Caatinga: A source of dietary fiber and bioaccessible flavanols. *Food Research International*, 129, 108745.

Padilha, C. V. S., A. C. T., Corrêa, L. C., Lima, M. S. & Pereira, G. E. (2017). Phenolic compounds profile and antioxidant activity of commercial tropical red wines (*Vitis vinifera* L.) from São Francisco Valley, Brazil. *Journal of Food Biochemistry*, 41, e12346.

- Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J.C., Câmara, J.S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105, 204-214.
- Paikrao, H. M., Patil, A. S., Gaikwad, V. J., Dhore, R. D., Ambulkar, P. S., Ahirkar, K. K. & Bande, S. N. (2010). Comparitive phylogenetic analysis of Passiflora based on protein marker chloroplast expressed glutamine synthetase (ncpGS) and ribosomal protein S4 (rpS4). *Journal of Advanced Bioinformatics Applications and Research*, 1(1), 1-6.
- Paula, B. de, Filho, C. D. C., Matta, V. M. da, Menezes, J. da S., Lima, P. da C., Pinto, C. O. & Conceição, L. E. M. G. (2012). Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. *Revista Ciência Rural*, 42(9), 1688-1693.
- Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., Zacaria, M. H., King, W. S. & Sahrir, M. A. S. (2012). Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *J Sci Food Agric*, 93, 1198-1205.
- Reddy, L. V. A., & Reddy, O. V. S. (2005). Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 41, 1345-1350.
- Rekha, C., Poornima, G., Manasa, M., Abhipsa, V., Devi, P. J., Kumar, V. H. T., et al. (2012). Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and unripe citrus fruits. *Chemical Science Transactions*, 1(2), 303–310.
- Rosier, J. P. Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas. 2.ed. Florianópolis: Epagri, 1995. 72p.
- Rotta, E. M., Rodrigues, C. A., Jardim, I. C. S. F., Maldaner, L. & Visentainer, J. V. (2019). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity in passion fruit pulp

(*Passiflora* spp.) using a modified QuEChERS method and UHPLCMS/ MS. *Food Science and Technology*, 100, 397-403.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Perez-Jimenez, J. et al. (2006). Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). *Comunicado técnico on-line* ISSN 1679-6535.

Rufino, M. S. M., Fernandes, F. A. N., Alves, R. E. & Brito, E. S. (2009). Free radical scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. *Food Chemistry*, 114(2), 693-695.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.

Santos, T. B., Araújo, F. P. de, Neto, A. F., Freitas, S. T. de, Araújo, J. de S., Vilar, S. B. de O., Araújo, A. J. B., Lima, M. S. (2021). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: *Passiflora Cincinnata* Mast. And *Passiflora Edulis* Sims. *International Journal of Fruit Science*, 22, 1-15.

Shahidi, F. & Zhong Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781.

Silva, G. S., Borges, G. da S. C., Castro, C. D. P. da C., Aidar, S. de T., Marques, A. T. B., Freitas, S. T. de, Rybka, A. C. P. & Cardarelli, H. R. (2020). Physicochemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid region. *Scientia Horticulturae*, 220, 109595.

Silva, M. J. R. da, Tecchio, M. A., Moura, M. F., Brunelli, L. T., Imaizumi, V. M. & Venturini Filho, W. G. (2015). Composição físico-química do mosto e do vinho branco de

cultivares de videiras em resposta a porta - enxertos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(11), 1105-1113.

Siqueira, E. M., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., de Sant'Ana, L. P., & Arruda, S. F. (2013). Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. *PLoS One*, 8(8), e72826.

Strohecker, R. & Henning, H.M. (1967). *Análisis de vitaminas: métodos comprobados*. Madrid: Paz Montalvo, 428p.

Vasco, C., Ruales, J., Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111 (4), 816-823.

Vilas-Boas, E. V. B. *Aspectos fisiológicos do desenvolvimento de frutos*. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999.

Vaccari, N. F. de S., Soccol, M. C. H., Ide, G. M. (2009). Compostos fenólicos em vinhos e seus efeitos antioxidantes na prevenção de doenças. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 8, 71-83.

Villanueva, N., & Da Silva, M.A. A. P. (2009). Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. *Food Quality and Preference*, 20, 1-12.

Zeraik, M. A., Pereira, C. C. M., Zuin, V. G., Yariwake, J. H. (2010). Maracujá: um alimento funcional? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(3), 459-471.

Zielinski, A. A. F., Ávila, S., Ito, V., Nogueira, A., Wosiacki, G. & Haminiuk, C. W. I. (2014). The Association between Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and *In Vitro* Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics. *Journal of Food Science*, 0(0).

Zoecklein, B.W.; Fugelsang, K.C.; Gumo, B.H. & Nury, F.S. (1995). Wine analysis and production. New York: Chapman & Hall, 621p.

Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C. & Zhou, Z. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*, 196, 885-896

Tabela S1. Parâmetros de validação de método para identificação e quantificação de compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD.

Composto Fenólico ¹	R ²	Parâmetros analíticos ^{1,2}				
		Precisão (CV%)	Precisão (recuperação, %)	Linearidade (mg.L ⁻¹)	LD (µg mL ⁻¹)	LQ (µg mL ⁻¹)
Ácido cafeico	0.9988	1.64	98.47	0.63-80.00	0.08	0.28
Ácido caftárico	0.9973	0.11	96.93	0.63-80.00	0.16	0.55
Ácido clorogênico	0.9986	1.27	98.96	0.63-80.00	0.02	0.07
<i>ρ</i> -cumárico ácido	0.9999	1.53	99.28	0.63-80.00	0.05	0.16
Ácido ferrúlico	0.9993	1.56	98.64	0.63-80.00	0.11	0.37
Ácido gálico	0.9987	1.53	99.64	0.63-80.00	0.07	0.24
Kaempferol-3-O-glicosídeo	0.9987	1.79	96.39	0.63-80.00	0.06	0.21
Quercetina-3-β-D-glicosídeo	0.9996	1.68	115.37	0.63-80.00	0.002	0.01
Isorhamnetina-3-O-glicosídeo	0.9988	1.56	97.28	0.63-80.00	0.01	0.04
Miricetina	0.9992	1.62	100.14	0.63-80.00	0.01	0.03
Rutina	0.9998	1.72	96.78	0.63-80.00	0.04	0.13
(+)-Catequina	0.9887	1.42	99.89	0.63-80.00	0.01	0.03
(-)-Epicatequina	0.9838	2.95	93.06	0.63-80.00	0.01	0.04
(-)-galato de epicatequina	0.9962	3.19	99.50	0.63-80.00	0.07	0.10
(-)-Galato de epigallocatequina	0.9993	1.89	99.83	0.63-80.00	0.19	0.31
Procianidina A2	0.9901	3.11	95.11	0.63-80.00	0.003	0.01
Procianidina B1	0.9997	1.42	96.69	0.63-80.00	0.03	0.11
Procianidina B2	0.9839	1.67	92.20	0.63-80.00	0.001	0.003
<i>Trans</i> -resveratrol	0.9991	1.74	97.81	0.31-40.00	0.01	0.05
<i>Cis</i> -resveratrol	0.9996	0.07	104.54	0.31-40.00	0.02	0.08
Piceatanol	0.9993	0.16	109.93	0.31-40.00	0.18	0.59
Viniferina	0.9987	0.10	88.09	0.31-40.00	0.004	0.01

⁽¹⁾Natividade et al. (2013), Correia et al. (2014) e Costa et al. (2020). ⁽²⁾R² = Coeficientes de regressão. LD = Limite de detecção. LQ = Limite de quantificação.

Tabela S2. Médias da aceitabilidade global da bebida alcoólica fermentada obtida do maracujá da Caatinga e percentual de notas de aceitação e rejeição atribuídas pelos consumidores ($n = 60$) para cada amostra.

Vinhos de maracujá da Caatinga¹	Aceitação global^{2,3}	Média de rejeição (%)⁴	Média de aceitação (%)⁵
T1	4.9b	45.0	45.0
T2	5.6a	25.0	60.0
T3	5.7a	26.7	61.7
T4	6.0a	23.3	63.3

⁽¹⁾ T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras com diluição. ⁽²⁾ Escala híbrida hedônica: 1 = desgostei extremamente; 9 = gostei muito. ⁽³⁾ Médias com as mesmas letras na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de médias LSD de Fisher. ⁽⁴⁾ Pontuações recebidas $\leq 4,4$. ⁽⁵⁾ Pontuações recebidas $\geq 5,6$.

Tabela S3. Médias das notas obtidas na análise CATA (“Check-all-that-apply”) para descrição do perfil sensorial das bebidas alcoólicas fermentadas obtidas do maracujá da Caatinga.

CATA termos	Amostras do vinho de maracujá da Caatinga ¹			
	T1	T2	T3	T4
Aroma floral	0.18a	0.20a	0.23a	0.25a
Aroma Verde	0.27a	0.32a	0.18a	0.22a
Cor atraente	0.28b	0.53a	0.50a	0.52a
Aroma de maracujá Caatinga	0.43a	0.37a	0.43a	0.33a
Aroma doce	0.13b	0.13b	0.33a	0.32ab
Aroma cítrico	0.38a	0.45a	0.40a	0.32a
Aroma refrescante	0.30a	0.23a	0.23a	0.30a
Adstringente	0.30a	0.28a	0.28a	0.18a
Não muito aromático	0.18a	0.07ab	0.02b	0.08ab
Acidez	0.65a	0.40b	0.58ab	0.40b
Aroma intenso	0.28a	0.30a	0.32a	0.25a
Bem encorpado	0.23a	0.20a	0.22a	0.08a
Sabor Caatinga Maracujá	0.38a	0.47a	0.47a	0.43a
Adocicado	0.05b	0.07ab	0.15ab	0.20a
Equilibrado	0.15a	0.15a	0.20a	0.18a
Cor amarelo dourado	0.38ab	0.37ab	0.58a	0.20b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste Q de Cochran ($p \leq 0,05$).

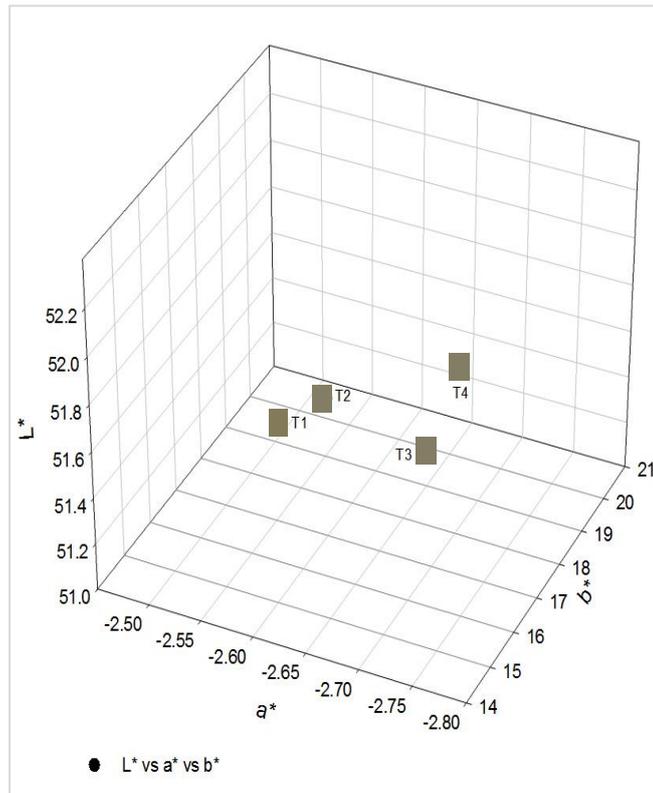


Figura S1: Gráfico correspondente aos valores das coordenadas de cores (L^* , a^* e b^*) no sistema CIELab da bebida alcoólica fermentada de maracujá. **Legenda:** T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras com diluição.

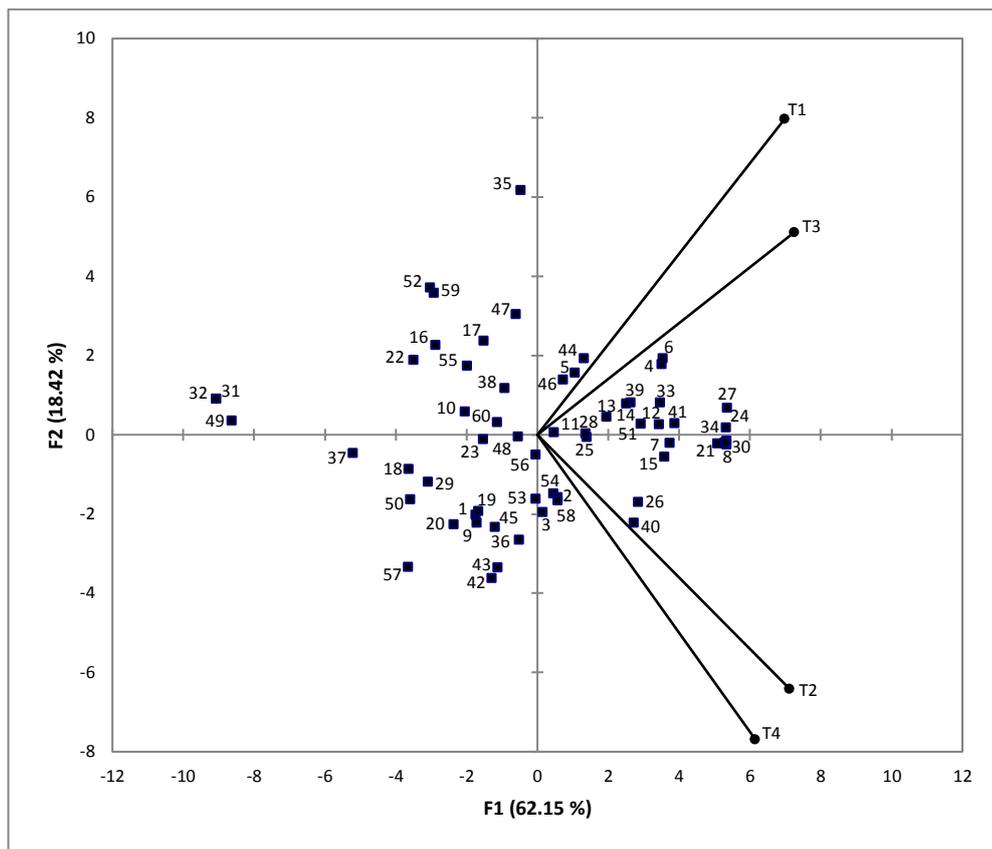


Figura S2: Análise de Componentes Principais (PCA) obtida a partir dos resultados de aceitação global utilizando a escala hedônica de nove pontos (1 = “desgostei extremamente”; 9 = “gostei muito”), mostrando a configuração das amostras de ($n = 4$) e consumidores ($n = 60$). **Legenda:** T1 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação sem diluição. T2 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras sem diluição. T3 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas em estágio intermediário de maturação com diluição. T4 = bebida alcoólica fermentada de maracujá elaborada a partir da polpa congelada de frutas maduras com diluição.

4.2: Artigo Científico

Otimização da hidrólise pectinolítica em mosto de vinho de maracujá da Caatinga com pectinase comercial, de acordo com a abordagem de planejamento composto central rotacional

Artigo Aceito e Publicado, DOI: 10.33448/rsd-v11i5.28088

Periódico Research, Society and Development

ISSN: 2525-3409

Qualis C em Ciência de Alimentos

Otimização da hidrólise pectinolítica em mosto de vinho de maracujá da Caatinga com pectinase comercial, de acordo com a abordagem de planejamento composto central rotacional

Renata Torres dos Santos e Santos^{a*}, Luis Henrique Pereira Sá Torres^b, Aline Camarão Telles Biasoto^c, Sérgio Tonetto de Freitas^d, Nataniel Franklin de Melo^e, Flávio Luiz Honorato da Silva^f

Renata Torres dos Santos e Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5306-1689>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: retorressantos@gmail.com

Luis Henrique Pereira Sá Torres

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4936-8933>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: luis.henrik@hotmail.com

Aline Camarão Telles Biasoto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2424-2384>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: aline.biasoto@embrapa.br

Sérgio Tonetto de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9579-7304>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: sergio.freitas@embrapa.br

Nataniel Franklin de Melo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6888-4090>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: nataniel.melo@embrapa.br

Flávio Luiz Honorato da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1307-3324>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: flavioluizh@yahoo.com.br

Resumo

O *Passiflora cincinnata* Mast. tem alto sabor e potencial para produção de vinhos e outras bebidas alcoólicas. Porém, para a produção de vinho, a presença de pectina torna-se indesejável,

pois influencia na eficiência do processo fermentativo e na limpidez do produto final. O objetivo deste estudo foi otimizar o processo de hidrólise da pectina em mosto de maracujá da Caatinga para produção de vinho com enzimas pectinolíticas, utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). O DCCR fatorial 2^3 , ensaios E01 a E17, foi aplicado com seis testes axiais e três repetições no ponto central. O mosto de maracujá da Caatinga foi obtido com polpa e água destilada (proporção 40:60). Enzima comercial com alta concentração de pectinase foi testada. Concentração de enzima ($0,014-0,056 \text{ g L}^{-1}$), temperatura de trabalho ($43-57^\circ\text{C}$) e tempo de reação (12-139min) foram as variáveis independentes no processo de otimização; e o teor de pectina solúvel ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) corresponde a uma variável dependente do processo. Antes do início dos ensaios, a fim de proporcionar a faixa de pH ótimo de trabalho para a pectinase, correção do pH do mosto para 3,9. O vinho inicial de maracujá da Caatinga deve ter em sua composição $24,06 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de pectina solúvel. Após a otimização com DCCR, os tratamentos apresentaram teores de pectina variando de 6,81 (E16: $0,014\text{g L}^{-1}/50^\circ\text{C}/75\text{min}$) a $0,00 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (E05: $0,05 \text{ g L}^{-1}/45^\circ\text{C}/30\text{min}$ e E06: $0,05 \text{ g L}^{-1}/45^\circ\text{C}/120\text{min}$). De acordo com os resultados, para um processo satisfatório de hidrólise de pectina em vinho de maracujá da Caatinga deve-se adicionar $0,05 \text{ g L}^{-1}$ de pectinase a 45°C por 30min.

Palavras-chave: bioma Caatinga; DCCR; planejamento fatorial; *Passiflora cincinnata* Mast.; pectina.

1 Introdução

O maracujá é uma planta tropical com ampla variabilidade genética, pertencente ao *Passifloraceae* família. É formado por 20 gêneros e 630 espécies, das quais o gênero *Passiflora* é economicamente o mais importante, composto por 24 subgêneros e de 400 a 530 espécies, das quais 150 a 200 são nativas do Brasil (Cervi, 2006; Amorim et al., 2013; Carvalho et al., 2017).

Fruta nativa brasileira, o maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.), que ocorre frequente e espontaneamente em regiões com Bioma Caatinga, é uma fruta climatérica que apresenta longo período de maturação após a colheita e, quando madura, apresenta casca de coloração amarelo-esverdeada, teor de sólidos solúveis de 8 a 13%, valor de pH variando de 2,0 a 3,0, aproximadamente 3,0% de acidez e elevado teor de pectina (Aidar et al., 2016; Jesus & Faleiro, 2016; Araújo et al., 2016; Araújo et al., 2018; Santos et al., 2020b). A fruta também possui alta atividade antioxidante, teores de vitamina C e outros compostos bioativos, tornando-a muito atrativa para os consumidores (Silva et al., 2020; Santos et al., 2021a; Santos et al., 2021b). A pectina presente no maracujá é constituída de 76 a 78% de ácido galacturônico, 9% de grupos metoxila e uma pequena quantidade de galactose e arabinose (Manica, 1981).

É de grande importância econômica para os agricultores das agroindústrias no bioma Caatinga do Brasil e apresenta elevado potencial para o melhoramento nutricional de bebidas alcoólicas, como o Vinho de Maracujá Caatinga (Santos et al., 2021a). Porém, quando as bebidas são elaboradas a partir de sucos de frutas, a presença de matéria insolúvel como a pectina é indesejável durante o processamento, pois esta substância forma um colóide que retarda ou evita a sedimentação das partículas sólidas que conferem, sobretudo, turbidez à bebida, influenciando assim na eficiência do processo de clarificação (Uenojo & Pastore, 2007; Moreno-Arribas & Polo, 2009).

As pectinas são polissacarídeos estruturais presentes nas células vegetais, encontradas em diferentes quantidades e com diferentes composições, constituídas principalmente por ácido galacturônico e açúcares neutros como ramnose, galactose, arabinose e xilose (May, 2000; Yapo et al., 2006). Esta substância é facilmente precipitada na presença de solventes orgânicos ou co-solventes, sendo usualmente empregados álcoois como etanol ou metanol, devido à insolubilidade das substâncias pécticas nestes solventes (Liu et al., 2006).

Nas bebidas alcoólicas, além das influências citadas acima para sucos de frutas, a pectina também influencia no processo fermentativo, pois sua presença pode promover a liberação de metanol (álcool metílico) dos ácidos poligalacturônicos metilados durante o processamento da bebida (Canteri et al., 2012; Reis et al., 2020). O metanol é um composto secundário considerado indesejável em bebidas alcoólicas e pode causar alterações indesejáveis no sabor da bebida, além de prejudicar a saúde do consumidor, devido às suas propriedades tóxicas (Reis et al., 2020; Gomes et al., 2020). Sua produção é indesejável em vinhos, e caso ocorra não deve ultrapassar o limite de 300 mg L⁻¹ em vinhos brancos ou espumantes (Brasil, 2018). Assim, as enzimas pectinolíticas são amplamente utilizadas nas indústrias alimentícias com o objetivo de reduzir esses efeitos.

Durante o tratamento enzimático, as enzimas pectinolíticas têm a função de despolimerizar ou desesterificar os compostos pécticos, hidrolisando as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica da pectina, auxiliando na formação de flocos pectina-proteína e, conseqüentemente, reduzindo sua capacidade de retenção de água, reduzindo conseqüentemente a viscosidade do suco devido à água liberada no sistema (Uenojo & Pastore, 2007; Ninga et al., 2021).

O Desenho Experimental (DE) pode ser realizado de forma planejada, onde os fatores ou variáveis independentes são ajustados para avaliar seu impacto na resposta da variável (dependente), e no caso de duas ou três variáveis independentes, recomenda-se um Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) (Rodrigues & Iemma, 2014).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi otimizar o processo de hidrólise da pectina em mosto de maracujá da Caatinga para produção de vinho com adição de enzimas pectinolíticas, utilizando um Delineamento Composto Central Rotativo.

2 Metodologia

2.1 Matéria-prima

Maracujá da Caatinga, em estágio intermediário de maturação, foram colhidos manualmente no Campo Experimental da Embrapa (Petrolina, Brasil). Os frutos foram selecionados visualmente considerando casca firme, sem áreas amassadas ou cortes na casca e aparente ausência de contaminação microbiana. Os frutos foram armazenados por sessenta dias após a colheita, em temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, até que a casca adquirisse coloração amarelo-esverdeada. Na sequência, os frutos foram sanitizados, primeiramente lavados em água corrente e em seguida imersos em solução de hipoclorito de sódio 200 mg L^{-1} por 15 min, antes do enxágue em água corrente. A polpa e as sementes foram então retiradas da casca e despulpadas em despulpadeira elétrica com peneira malha 10 (Macanuda, modelo DMJI-05, Brasil).

A polpa da fruta foi caracterizada em análise triplicata, de acordo com os métodos propostos pela AOAC (2012) para: sólidos solúveis - leitura direta usando um refratômetro portátil (Atago, Pocket Refractometer modelo PAL-3), pH - leitura direta das amostras usando um medidor de pH (Hanna Instruments, modelo HI 2221) e acidez titulável - titulação com NaOH 0,1M. Adicionalmente, foi determinado na polpa da fruta, açúcares redutores - pelo espectrômetro de UV (540 nm) pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959), e pectina solúvel - pelo espectrômetro de UV (520 nm) pelo método do m-hidroxidifenil (McReady & MacComb, 1952).

2.2 Enzima

A enzima testada foi uma enzima comercial - Endozym Pectofruit (AEB, Paraná - Brasil), caracterizada comercialmente como uma enzima purificada, extraída de *Aspergillus*, preparação com alta concentração de pectinase, produzida para ser utilizada na despectinização de sucos de frutas concentrados.

2.3 Obtenção do mosto de maracujá da Caatinga

O vinho de maracujá da Caatinga deve ser obtido com 40% de polpa e 60% de água destilada. Previamente ao início dos ensaios testados, a fim de fornecer a faixa ótima de pH de trabalho para a pectinase, foi realizada a correção do pH do mosto para 3,9 utilizando um complexo desacidificante DEACID® (AEB, Paraná - Brasil), composto por sais de amônio. Além de melhorar a atividade da pectinase, a diluição e correção do pH também visavam corrigir a acidez do mosto de forma a atingir os valores estabelecidos pela legislação de bebidas de frutas que se estabelece entre 50 mEq L⁻¹ a 130 mEq L⁻¹ (Brasil, 2012).

2.4 Delineamento Experimental

Foi utilizado um DCCR fatorial 2³ com configuração estrela, com seis pontos axiais e três repetições no ponto central, totalizando dezessete tentativas (E1 a E17). As variáveis independentes foram a temperatura de trabalho (°C), tempo de ação (min) e concentração de pectinase (g hL⁻¹) e a variável dependente foi o teor de pectina solúvel (mg 100g⁻¹). As tabelas 1 e 2 mostram os níveis e valores das variáveis independentes utilizadas e a matriz de desenho experimental, respectivamente. Os níveis estudados para essas variáveis foram determinados com base nas condições citadas no datasheet da enzima comercial utilizada (Endozym Pectofruit).

Foi utilizado um total de 250 mL de mosto de maracujá para cada ensaio, realizado com auxílio de pHmetro digital (Hanna Instruments, modelo HI 2221), balança analítica digital (CRYSTAL 200 modelo CAL, Gilbertinni), banho-maria com aberturas e controle digital de temperatura (modelo Q334M-28, Quimis) e termômetro digital (AK05, Akso). Após os tempos de hidrólise pré-definidos para os ensaios, o mosto foi resfriado em banho de gelo até a temperatura de 30°C e deixado em repouso sob refrigeração (7±1°C) por 24h antes da análise do teor de pectina solúvel.

Tabela 1. Níveis e valores das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central Rotacional - DCCR.

	níveis	Variáveis Independente		
		Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Concentração de enzima pectinolítica (g L ⁻¹)
Planejamento Fatorial	-1	30	45	0.02
	+1	120	55	0.05
Pontos Axiais (configuração estrela)	- α	12	43	0.014
	+ α	139	57	0.056
Ponto central	0	75	50	0.035

Fonte: Autores.

Tabela 2. Matriz codificada do planejamento experimental fatorial 2³ completo mais pontos axiais aplicado ao mosto de vinho de maracujá da Caatinga.

Matrix Codificada			
Ensaio	Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Concentração da Enzima Pectinolítica (g L ⁻¹)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9 (axial)	-1.68	0	0
10 (axial)	+1.68	0	0
11 (axial)	0	-1.68	0
12 (axial)	0	+1.68	0
13 (axial)	0	0	-1.68
14 (axial)	0	0	+1.68
15 (C)	0	0	0
16 (C)	0	0	0
17 (C)	0	0	0

Fonte: Rodrigues & Iemma (2014), adaptado pelos autores.

2.5 Determinação da pectina

Pectina soluvel ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) foi determinada pela leitura do extrato da amostra (extraída com etanol 95% e 75%) com solução 0,0125 M de tetraborato/ácido sulfúrico e 0,15% m-hidroxifenil em refratômetro a 520 nm segundo a técnica utilizada por McReady & MacComb (1952). A resposta do DOE (Planejamento de Experimentos) expressou a redução percentual de pectina no mosto, considerando o teor inicial de pectina antes da hidrólise como 100%.

The quantitative pectin contents in the samples were determined in the *in natura* Caatinga passion fruit pulp and in the wine must before and after enzymatic hydrolysis. The Response Pectin Reducion (RPR) was obtained through of the equation 1, that is:

$$RPR(\%) = ((PI - PF)/PI) * 100 \quad (1)$$

Onde:

PI - teor de pectina no mosto antes da hidrólise;

PF - teor de pectina no mosto hidrolisado.

2.6 Análise Estatística

Os resultados foram investigados estatisticamente por meio do software STATISTICA versão 10.0 (StatSoft Inc®, EUA), com nível de significância de 95%, para análise de efeitos e verificação do modelo empírico por meio do coeficiente de regressão e ANOVA.

3. Resultados e Discussão

Os parâmetros avaliados na composição físico-química da polpa do maracujá da Caatinga indicaram teor de sólidos solúveis (SS) de 9,8%, pH na faixa de 2,80, acidez titulável (AT) de 4,49% (expressa em ácido cítrico), 32.13 g L^{-1} de açúcares redutores (AR) e teor de pectina de $63.42 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Composição físico-química da polpa de maracujá da Caatinga.

Parâmetros físico-químicos	Polpa de Maracujá Caatinga¹
Sólidos solúveis (%)	9.8±0.00
pH	2.80±0.00
Acidez titulável (% ácido cítrico)	4.49±0.02
Ratio (SS/TA)	2.18±0.01
Açúcar redutor (g L ⁻¹)	32.13±0.04
Pectina (mg 100g ⁻¹)	63.42±3.32

⁽¹⁾ Os valores são expressos como média ± desvio padrão ($n=3$).

Fonte: Autores.

A composição físico-química da polpa obtida (*P. cincinnata* Mast.) corroborou com alguns dos valores encontrados na literatura para a caracterização da polpa de maracujá da Caatinga cv. BRS Sertão Forte (Silva et al., 2020; Santos et al., 2021b). Silva et al. (2020) caracterizaram a polpa do fruto com valor de pH de 2,75, SS de 8,40°Brix, TA de 5,35% e RS de 3,15%; enquanto Santos e cols. (2021b) encontraram valor de pH de 2,74, SS de 13,16°Brix e TA de 8,41%. As diferenças encontradas entre esses estudos são aceitáveis e podem estar relacionadas a vários, entre os quais as condições edafoclimáticas da região de origem dos maracujás da Caatinga, o quantitativo de chuva durante o cultivo, a luminosidade e a atividade fotossintética das plantas e o tempo de maturação das frutas no ponto do processamento (Freire et al., 2009; Batista et al., 2015; Kluge et al., 2015; Santos et al., 2016).

O teor de pectina foi quantificado na maioria dos ensaios considerados (ver Tabela 4). O teor de pectina da polpa foi 63.42 mg 100 g⁻¹ (Table 3) e após a diluição, o teor de pectina no vinho não hidrolisado deve ser quantificado como 24.06 mg 100 g⁻¹.

A Tabela 4 mostra a matriz decodificada com os tratamentos aplicados no delineamento experimental juntamente com a variável resposta obtida (redução percentual do teor de pectina). A boa reprodutibilidade do experimento foi verificada a partir dos pontos centrais (ensaios 15, 16 e 17) com redução no teor de pectina na faixa de 92,93% e desvio padrão de $\pm 0,05$.

Ao analisar as reduções percentuais de pectina obtidas após a aplicação do tratamento enzimático, em geral houve uma pequena variação nas respostas e, portanto, embora os coeficientes obtidos tenham sido significativos, o modelo gerado e a análise de variância com nível de confiança de 95% não foram estatisticamente significantes. Portanto, a superfície de resposta para a pectina não foi desenvolvida devido à falta de significância estatística para esta variável. Entretanto, analisando os resultados pontualmente, as respostas foram consideradas satisfatórias para o objetivo do estudo proposto (redução acentuada no teor inicial de pectina do mosto).

Assim, pode-se observar que a eficiência da hidrólise diminui com o aumento da temperatura a partir de 50°C, sendo a temperatura de 45°C a condição de aquecimento que proporciona a maior eficiência (corridas 1, 2, 5 e 6).

Considerando estes fatos, qualquer tempo de ação da hidrólise a uma temperatura de 45°C e concentração de pectinase de 5 g hL⁻¹ resultou na remoção total da pectina (100%) do mosto de maracujá da Caatinga (ensaios 5 e 6) conforme observado na Figura 1, e os tubos correspondentes aos ensaios 5 e 6 apresentaram coloração idêntica à do tubo branco (contendo nenhuma amostra).

Tabela 4. Matriz de design experimental fatorial completa 2^3 mais pontos axiais aplicados ao mosto de maracujá da Caatinga mostraram a resposta de redução de pectina.

Ensaio	Matrix Decodificada			Resposta
	Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Concentração (g L ⁻¹)	Redução Pectina (%)
<i>1</i>	30	45	0.02	96.26
<i>2</i>	120	45	0.02	96.55
<i>3</i>	30	55	0.02	93.52
<i>4</i>	120	55	0.02	91.85
<i>5</i>	30	45	0.05	100
<i>6</i>	120	45	0.05	100
<i>7</i>	30	55	0.05	93.93
<i>8</i>	120	55	0.05	93.64
<i>9 (axial)</i>	12	50	0.035	71.49
<i>10 (axial)</i>	139	50	0.035	94.60
<i>11 (axial)</i>	75	43	0.035	83.67
<i>12 (axial)</i>	75	57	0.035	87.99
<i>13 (axial)</i>	75	50	0.014	87.86
<i>14 (axial)</i>	75	50	0.056	93.56
<i>15 (C)</i>	75	50	0.035	92.89
<i>16 (C)</i>	75	50	0.035	92.93
<i>17 (C)</i>	75	50	0.035	92.98

Fonte: Autores.

Paralelamente, pode-se observar que nas demais temperaturas, o tempo de ação e a concentração de pectinase influenciaram na eficiência da hidrólise. Assim, o menor tempo de ação (12 min) deu a menor eficiência do estudo, resultando na menor redução de pectina de 71,49% (corrida 9). Além disso, ao analisar as condições do ensaio 13, embora este ensaio tenha

aplicado a menor concentração de pectinase (0.014 g L^{-1}), a eficiência da hidrólise foi maior que a do ensaio 9 devido ao maior tempo de ação adotado (75 min).

Figura 1. Resultados da análise de pectina solúvel em mosto de maracujá da Caatinga. Legendas (da esquerda para a direita): 0 = branco, A = ensaio 03, B = ensaio 05, C = ensaio 04, D = ensaio 06, E = ensaio 07.



Fonte: Autores.

Locatelli (2012) afirmou que em seu estudo com pectinase, um aumento na concentração da enzima influenciou a velocidade da reação de hidrólise até certo ponto, devendo-se levar em consideração o fato de que existem alguns fatores que afetam diretamente o processo de hidrólise, como a eficácia da própria enzima, características da matéria-prima, aplicação e eficiência do pré-tratamento, presença de inibidores e condições do processo de hidrólise, resultando em uma relação não linear entre a dose da enzima e a conversão enzimática.

Assim Haagensen (2009) afirmou que frequentemente, devido a diversos fatores, um aumento na dose da enzima não implica em um aumento significativo na taxa de hidrólise.

Em adição, Taherzadeh & Karimi (2007) e Haagensen (2009) apontaram que as condições específicas do processo de hidrólise, como temperatura e valor de pH, são os principais fatores que podem afetar a atividade enzimática, reduzindo sua eficiência. Os autores também afirmaram que o tempo de ação e o fator de pH ideal podem afetar um ao outro.

A literatura relata que, em geral, os estudos referentes ao uso de pectinases para aplicações industriais em frutas mostram uma grande variação no valor de pH ótimo e na temperatura ideal para a ação da enzima, estando na faixa entre 3 e 5,5 e entre 30 e 50 °C, respectivamente ; as condições ideais dependendo das características da enzima a ser aplicada no processo (Ueda et al., 1982; Jayani et al., 2005; Uenojo & Pastore, 2007; Taherzadeh & Karimi, 2007; Meneghel et al., 2016).

Em seus estudos, Hamid & Ismail (2016) e Hamid & Ismail (2020) usaram um DOE para otimizar o processo de hidrólise enzimática com celulase em sementes de tâmara, testando uma faixa de temperatura de 30 a 70°C. Eles observaram que as melhores condições para a atividade da celulase em seus estudos ocorreram na faixa de 40 a 50°C e definiram a temperatura de 45°C como parte das condições ótimas de processo, resultado semelhante ao observado no presente estudo com o maracujá da Caatinga deve.

Os autores também afirmaram que as estruturas das enzimas são altamente suscetíveis a danos causados pelo calor em altas temperaturas, e por isso a atividade das enzimas diminui com o aumento da temperatura a partir de 50 °C devido ao fato de que o calor fornece energia suficiente para quebrar algumas das atrações intermoleculares entre moléculas polares, como ligações de hidrogênio, atração dipolo-dipolo, interações iônicas e força hidrofóbica entre grupos apolares dentro da estrutura da enzima.

As observações encontradas na literatura justificam o comportamento observado no presente estudo em que a dose máxima de pectinase comercial utilizada não apresentou a maior eficiência, e a menor dose utilizada não apresentou a menor eficiência, confirmando o apontado pelos autores a respeito à influência da temperatura na eficiência da hidrólise enzimática considerando diferentes tempos de ação e doses de pectinase.

Assim, a utilização de um método de planejamento fatorial foi de extrema importância no presente estudo, possibilitando planejar e realizar o estudo para obter as condições ideais de forma organizada com o mínimo de experimentos, economizando tempo e recursos financeiros (Silva et al., 2006; Rodrigues & Iemma, 2014).

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, embora a aplicação de um delineamento experimental CCRD tenha permitido determinar as melhores condições para as variáveis utilizadas (tempo, temperatura e concentração enzimática) para obter uma redução total da concentração de pectina presente no mosto de maracujá da Caatinga, a superfície de resposta para a pectina não pôde ser obtida devido à falta de significância estatística para esta variável. As condições operacionais ideais de tempo, temperatura e concentração comercial de Endozym Pectofruit recomendadas para a produção do vinho Caatinga Maracujá são 30 min., 45°C e 0,05 g L⁻¹, respectivamente. O estudo servirá de base para o desenvolvimento de um processo tecnológico de produção para futuros estudos em escala piloto ou industrial para obtenção do vinho de maracujá da Caatinga. Além disso, sugere-se testar as condições ótimas do tratamento enzimático em outras frutas tropicais, para validação. A produção de vinhos e espumantes a partir do maracujá da Caatinga representa uma alternativa potencial para agregar valor ao fruto, gerando mais rentabilidade para pequenos agricultores do Bioma Caatinga no Brasil.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) (processo número 141356/2020-0) pela concessão de bolsa durante este estudo, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e Bem Diverso (projeto BRA/14/G33 Embrapa/PNUD/GEF), e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus I, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil, pelo apoio.

Referências

- Aidar, ST, Araújo, FP, Castro, CDP & Rybka, ACP. (2016). Plantas frutíferas. In: Porto, DD, Souza, FF (Ed.). *Cadernos do semiárido: Biodiversidade da Caatinga para a Produção Agropecuária*. Recife, PE, UFPE, 18-22.
- AOAC (2012). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (19th ed.). Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Amorim, FL, Silveira, PTS, Silva, GV, Cafieiro, CSP. (2013). Elaboração e aceitação sensorial de licor maracujá-do-mato com diferentes tipos de calda. *Revista de Desenvolvimento e Inovação*, 1(1), 88-91.
- <https://revista.ifro.edu.br/index.php/redi/article/view/29/21>
- Araújo, FP, Faleiro, FG, Aidar, ST & Melo, NF. (2018). Alimentícias. In: Coradin, L, Camillo, J & Pareyn, FGC (Ed). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial, plantas para o futuro: região Nordeste*. Brasília – DF, MMA, 217-224.

Araújo, FP, Melo, NF & Faleiro, FG. (2016). Cultivar de maracujazeiro silvestre (*Passiflora cincinnata* Mast.) para a Caatinga e para o Cerrado BRS SF. Petrolina: Embrapa Semiárido. Np. 1 Folder.

Batista, PF, Lima, MAC, Trindade, DCG, Alves, RE. (2015). Quality of different tropical fruit cultivars produced in the lower basin of the São Francisco Valley. *Revista Ciência Agronômica*, 46(1), 176-184. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902015000100021>

Brasil. (2012). Instrução Normativa n.34 de 29 de novembro de 2012. *Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas fermentadas.*

Brasília – DF. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Brasil. (2018). Instrução Normativa nº 48 de 31 de agosto de 2018. *Resolve alterações na Instrução Normativa nº 14, de 08 de fevereiro de 2018, sobre a Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho e Derivados da Uva e do Vinho.* Brasília - DF. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Canteri, MHG, Wosiacki, LMG, Scheer, AP. (2012). Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, 20(2), 149-157. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000024>

Carvalho, PP, Antoniazzi, CA, Silva, NT, Mikosvki, AI, Carvalho, IF, Carvalho, MLS. (2017). Regeneração in vitro de *Passiflora miniata* Mast.. *Ornamental Horticulture*, 23(1), 88-95. <https://doi.org/10.14295/oh.v23i1.965>

Cervi, ACO. (2006). O gênero *passiflora* l. (Passifloraceae) no brasil, espécies descritas após o ano de 1950. *Adumbrationes Ad Summae Editionem*, Ed. 16: 1-5.

[https://bibdigital.rjb.csic.es/medias/ef/5a/55/c5/ef5a55c5-f0cb-4e7b-95f4-](https://bibdigital.rjb.csic.es/medias/ef/5a/55/c5/ef5a55c5-f0cb-4e7b-95f4-012a78c3544b/files/Adumb_16.pdf)

[012a78c3544b/files/Adumb_16.pdf](https://bibdigital.rjb.csic.es/medias/ef/5a/55/c5/ef5a55c5-f0cb-4e7b-95f4-012a78c3544b/files/Adumb_16.pdf)

Freire, MTA, Petrus, RR, Freire, CMA, Oliveira, CAF, Felipe, AMPF, Gatti, JB. (2009). Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada

(*Theobroma grandiflorum* Shum). *Brazilian Journal of Food Technology*, 12(1), 9-16.

<http://dx.doi.org/10.4260/BJFT20090608>

Gomes, WPC, Yoshinaga, F, Bortoleto, GG. (2020). Determinação de álcoois em bebidas comerciais por cromatografia gasosa e amostragem por headspace. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, 10(1), 111-124. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7746>

Haagensen, F. D. (2009). *Enzyme performance and hydrolysis cost*. Novozymes, Rethink Tomorrow.

Hamid, HSHB & Ismail, KSK. (2020). Optimization of enzymatic hydrolysis for acid pretreated date seeds into fermentable sugars. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101530. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101530>

Hamid, HSHB & Ismail, KSK. (2016). Two stage pretreatment of date's seeds for fermentable sugar production. *Advances in Environmental Biology*, 10(7), 294-300. <http://www.aensiweb.net/AENSIWEB/aeb/aeb/2016/July/294-300.pdf>

Jayani RS, Saxena S, Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochem*, v. 40, p. 2931- 2944. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026>

Jesus, ON & Faleiro, FG. (2016). Classificação Botânica e Biodiversidade. In: Faleiro, FG, Junqueira, NTV. (Ed.). *Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília, DF: Embrapa. 348.

Kluge, RA, Tezoto-Uliana, JV, Silva, PPM. (2015). Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. *Revista Virtual de Química*, 7(1), 56-73. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20150004>

Liu, Y, Shi, J, Langrish, TAG. (2006). Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. *Chem. Eng. J.*, 120, 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.02.015>

- Locatelli, GO. (2012). Estudo das condições de hidrólise da pectina para uso como substrato na produção de polihidroxialcanoatos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Manica, I. (1981). *Fruticultura tropical 1: Maracujá*. São Paulo: Agronômica Ceres, 151p.
- May, CD. (2000). Pectins. Handbook of Hydrocolloids. Edited by: Phillips, G. O.; Williams, P. A. New York.
- McReady, RM, McComb, EA. (1952). Extraction and determination of total pectic materials in fruits. *Analytical Chemistry*, 24, 1986-1988. <https://doi.org/10.1021/ac60072a033>
- Meneguel, L, Santos, M, Pozza, A, Rossi, C, Miglioranza, B, Malvessi, E, Silveira, MM. (2016). Aplicação de extrato pectinolítico produzido por *Aspergillus oryzae* no tratamento de suco de maçã. In: XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática - ENZITEC.
- Miller, GL. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Moreno-Arribas, MV & Polo, MC. (2009). Wine Chemistry and Biochemistry. Springer Science, New York, USA.
- Ninga, KA, Desobgo, ZSC, S, Nos, EJ. (2021). Pectinase hydrolysis of guava pulp: effect on the physicochemical characteristics of its juice. *Helyon*, 7, e08141. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08141>
- Reis, JA, Martins, VL, Lyra, WS, Gomes, PRB. (2020). Determinação de metanol em bebidas alcoólicas utilizando colorimetria por imagens digitais. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade*, 7(16), 455-468. [https://doi.org/10.21438/rbgas\(2020\)071601](https://doi.org/10.21438/rbgas(2020)071601)
- Rodrigues, MI & Iemma AF. (2014). *Experimental Design and Process Optimization*. (1 Ed). Campinas, São Paulo, 336p.

Santos, EHF, Neto, AF & Donzeli, VP. (2016). Aspectos físico-químicos e microbiológicos de polpas de frutas comercializadas em Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). *Brazilian Journal of Food Technology*, 19, e 2015089. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.8915>

Santos, RTS, Biasoto, ACT, Rybka, ACP, Castro, CDPC, Aidar, ST, Borges, GSC & Silva, FLH. (2021a). 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.). *Food Science and Technology*, 148, 111714. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111714>

Santos, TB, Araújo, FP, Neto, AF, Freitas, ST, Araújo, JS, Vilar, SBO, Araújo, AJB, Lima, MS. (2021b). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: *Passiflora Cincinnata* Mast. And *Passiflora Edulis* Sims. *International Journal of Fruit Science*, 22, 1-15.

<https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>

Silva, GS, Borges, GSC, Castro, CDPC, Aidar, ST, Marques, ATB, Freitas, ST, Rybka, ACP & Cardarelli, HR. (2020). Physicochemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid region. *Scientia Horticulturae*, 220, 109595. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109595>

Silva, JA, Silva, FLH, Alves, RRN, SDP. (2006). Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e brix na produção dos metabólitos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. *Química Nova*, 29, 695. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400013>

Taherzadeh, MJ & Karimi, K. (2007). Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A Review. *BioResources*, 2(4), 707-738.

https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_2_4_707_738_Taherzadeh_Karimi_EnzymeBased_Hydrol_Ethanol_Review

Ueda S, Fujio Y, Lim J. (1982). Production and some properties of pectic enzymes from *Aspergillus oryzae* A-3. *J. Appl. Biochem*, 4, 524-532.

Uenojo, M & Pastore, GM. (2007). Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. *Química Nova*, 30(2), 388-394. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200028>

Yapo, BN, Robert, C, Etienne, I, Wathelet, B, Paquot, M. (2006). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356-1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>

4.3: Artigo Científico

Vinho de maracujá da caatinga: investigação da cinética fermentativa e vida de prateleira da bebida

Artigo a ser submetido no Periódico Journal of Food Science and Technology

ISSN: 0975-8402

Qualis A3 em Ciência de Alimentos

Vinho de maracujá da caatinga: investigação da cinética fermentativa e vida de prateleira da bebida

Renata Torres dos Santos e Santos¹, Inglides Gomes de Oliveira²,
Edna Santos de Barros³, Luis Cláudio Corrêa³,
Tatyana Patrício de Albuquerque Sousa¹, Marcus Bruno Soares Forte⁴,
Aline Camarão Telles Biasoto^{3,5*}, Flávio Luiz Honorato da Silva⁶

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, Campus I - Centro Tecnológico, CEP 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, CEP 40170-115, Salvador, BA, Brasil

³EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Semiárido Tropical, BR128, Km 152, CEP 56302 -970, Petrolina, PE, Brasil

⁴Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Rua Monteiro Lobato, 80-Zeferino Vaz, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil

⁵EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Ambiental, SP 340, Km 127, CEP 13820 - 000, Jaguariúna, SP, Brasil

⁶Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus I - Centro Tecnológico, CEP 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil

* Autor de correspondência, e-mail: aline.biasoto@embrapa.br

Resumo

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá. As bebidas fermentadas alcoólicas têm sido consideradas uma alternativa comercial, inovação e agregação de valor à cadeia produtiva do maracujá. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi monitorar a cinética do processo de fermentação do maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) para produção de vinho,

utilizando levedura comercial *S. cerevisiae*. Além disso, a composição físico-química, a atividade antioxidante e a concentração de compostos bioativos foram investigadas durante 12 meses de armazenamento da garrafa de vinho à temperatura ambiente. O processo de fermentação alcoólica foi acompanhado por um período de 161 horas e apresentou eficiência aproximada de 89%, produção de 0,71 g L⁻¹ h⁻¹, rendimento de produto (YP/S) de 0,453 e taxas de formação de produto e substrato, r_p e r_s , de 1,57 e 0,71 g L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Ao final da tumultuada fase da fermentação, as leveduras apresentaram bom desempenho com viabilidade próxima a 90%. Os resultados da composição físico-química foram satisfatórios para este tipo de produto. O teor de compostos fenólicos totais foi considerado relevante (>500 mg GAE L⁻¹) e dezesseis compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonóis, flavanóis e estilbenos foram identificados e quantificados por HPLC-DAD. Durante o estudo de vida de prateleira, observou-se que após 6 meses de armazenamento da garrafa ocorreram perdas na composição da bebida.

Palavras-chave: *Passiflora cincinnata* Mast.; vinhos de frutas; Bioma Caatinga; bebida funcional; fotoquímicos.

1 Introdução

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá. O maracujá amarelo, cultivado em quase todo o território nacional, é responsável por mais de 90% da produção nacional (CEPLAC, 2019). No entanto, outras espécies também apresentam características sensoriais e nutricionais promissoras, que podem ser exploradas para consumo *in natura* e processamento industrial, entre elas, a espécie silvestre da Caatinga brasileira, *Passiflora cincinnata* Mast (Maracujá da Caatinga) (BRAGA et al., 2006).

O maracujá da caatinga é uma frutificação frequente e espontânea no bioma Caatinga, que abrange a maior parte do semiárido brasileiro. Este fruto apresenta boa resistência à seca e também a uma série de doenças e pragas que acometem o maracujá-comum (ARAÚJO et al., 2002). Sua polpa apresenta coloração branco-amarelada a esbranquiçada, é extremamente aromática, possui sabor exótico e acidez característica do fruto (SOUZA et al., 2013). Possui grande importância econômica para os pequenos agricultores cooperados, sua comercialização ainda ocorre em pequena escala, sendo explorada para venda in natura ou na forma de polpa, geleias e outros tipos de doces, licor e cerveja (ARAÚJO et al., 2002; SOUZA et al., 2013).

No entanto, a utilização do maracujá da Caatinga para produção de vinho ainda é desconhecida e pouco explorada em pesquisas científicas.

Nas últimas décadas, pesquisas têm sido realizadas buscando avaliar a viabilidade do aproveitamento de frutas de diferentes biomas no Brasil para a produção de vinhos de frutas, apresentando resultados satisfatórios em relação à qualidade da bebida e aceitabilidade pelos consumidores. A utilização de diversas frutas já foi citada na literatura para a produção de vinho, entre elas o açaí, a laranja, o cacau, o cupuaçu, a gabirola e a jaboticaba (DUARTE et al., 2010; ALCANTARA e MENEZES, 2017; BOEIRA et al. 2020).

Teixeira et al. (2014) produziram vinho de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) e Santos et al. (2021a) utilizando maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.). Ambos os estudos identificaram o potencial do maracujá para a elaboração de vinhos, criando uma bebida com boa quantidade de compostos bioativos e aceitabilidade pelos consumidores. No entanto, não há pesquisas que tenham avaliado o processo de cinética fermentativa do mosto de maracujá para vinificação. Outro fator fundamental para o desenvolvimento de uma nova bebida é a determinação de seu prazo de validade. Teixeira e colaboradores (2014) e Santos et al. (2021a)

só analisaram vinho de maracujá logo após o engarrafamento. Mas outros trabalhos na literatura realizaram este estudo usando vinhos produzidos a partir de uvas tintas e brancas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar a cinética do processo fermentativo do vinho de maracujá da caatinga utilizando a levedura comercial *S. cerevisiae* e o tempo de durabilidade do produto, com vistas a avaliar perdas na qualidade nutracêutica e alterações no físico -composição química da bebida.

2 Material e métodos

2.1 Preparo do mosto do vinho de maracujá

Frutos do maracujá da Caatinga em estágio intermediário de maturação foram adquiridos no Submédio Vale do São Francisco (Petrolina, Pernambuco, Brasil), sendo selecionados considerando a casca esverdeada, firme, sem áreas amassadas ou cortes na casca e aparente ausência de contaminação microbiana. Para acelerar o grau de maturação, os frutos foram mantidos por 48 horas em tambor hermeticamente fechado com aplicação de $1000 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno (SANTOS et al., 2021b). Sendo assim, os frutos foram armazenados em caixas vazias por 6 dias em temperatura controlada ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) até a completa maturação desejada, com casca de coloração amarelo-esverdeada, $10,33 \pm 0,06$ °Brix de sólidos solúveis, $48,30 \pm 0,32 \text{ g L}^{-1}$ de açúcares redutores, $2,67 \pm 0,01$ valor de pH e $3,84 \pm 0,01\%$ de acidez total, expressa em ácido cítrico). Na sequência, os frutos foram sanitizados com solução de hipoclorito de sódio 200 mg L^{-1} por 15 min, e enxaguados em água corrente potável. A polpa foi retirada por meio de despulpadeira elétrica com peneira malha 10 mesh (Macanuda, modelo DMJI-05, Brasil). Na sequência foi adicionada a enzima pectinolítica – Endozym Pectofruit (AEB, Paraná - Brasil) ($0,05 \text{ g L}^{-1}$ no mosto a 45°C por 30 min.) com 18.675 L de água potável, foi adicionado

metabissulfito de potássio ($0,1 \text{ g L}^{-1}$) (AMAZÔNIA, Brasil) como agente antioxidante, complexo desacidificante DEACID® (AEB, Paraná - Brasil) para correção do pH do mosto para 3,9.

2.2 Preparo do vinho de maracujá

A elaboração do vinho de maracujá da Caatinga foi realizada em três repetições, utilizando um garrafão de vidro de microvinificação com capacidade para 10 L e seguindo o protocolo previamente otimizado por Santos et al. (2020). Após a adição de bentonita ($0,1 \text{ g L}^{-1}$) (Amazônia, Brasil) para promover a clarificação do mosto ($0 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24h), a fermentação alcoólica (AF) foi realizada a 16°C . Para iniciar o FA, foi realizada a chaptalização do mosto com adição de 180 g L^{-1} de sacarose comercial (marca União, Brasil), adição de 200 mg L^{-1} de fosfato de amônio (Gesferm®, AMAZON, Brasil) como ativador e 300 mg L^{-1} de levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. bayanus Maurivin PDM (MAURIVIN, Australia). A válvula airlock em forma de S foi utilizada durante todo o período fermentativo, que durou 7 dias (161 horas). A remontagem aberta foi realizada duas vezes ao dia (retirada e reposição de 40% do volume do mosto cinco vezes) durante os primeiros quatro dias de AF. Nos demais dias de AF foi realizada uma remontagem aberta e uma remontagem fechada por dia. Terminada a AF (após estabilizar a densidade, sólido solúvel e confirmar o teor alcoólico), corrigiu-se o teor de SO_2 livre do vinho para 50 mg L^{-1} com metabissulfito de potássio (Amazônia Brasil) realizou-se simultaneamente nova clarificação e estabilização proteica a $0 \pm 2^\circ\text{C}$ por 50 dias. Os agentes clarificantes utilizados foram bentonita (900 mg L^{-1}) (AMAZON, Brasil) e gelatina (300 mg L^{-1}) (EVER, Brazil).

O engarrafamento foi realizado após a correção do teor de SO_2 livre para 100 mg L^{-1} e adição de sacarose comercial (marca União, Brasil) para um teor final de açúcares totais do vinho de 20 g L^{-1} . O vinho foi engarrafado em garrafas de vidro verde oliva de 750 mL e gás nitrogênio foi usado para preencher o espaço livre da garrafa. As garrafas foram fechadas com

rolha de cortiça e armazenadas na posição horizontal em adega climatizada ($16\pm 2^{\circ}\text{C}$) por 30 dias, para estabilização final da bebida. Após esse período, os frascos foram armazenados na posição vertical em prateleiras em ambiente com luz ambiente e temperatura ambiente ($27\pm 7^{\circ}\text{C}$). O monitoramento da qualidade do vinho de maracujá da Caatinga foi realizado durante um ano de vida útil do produto, logo após o armazenamento das garrafas, após seis e 12 meses.

2.3 Análises cinética da fermentação

O monitoramento da cinética de fermentação ocorreu durante todo o período de AF. As análises de densidade, pH (Hanna Instruments, modelo HI 2221), acidez, sólidos solúveis, açúcares redutores, biomassa, viabilidade celular das leveduras foram realizadas diariamente em intervalos regulares, remontagem aberta realizada duas vezes ao dia (retirando a válvula e substituindo 40 % do volume do frasco 5 vezes). Também diariamente, foram medidas as temperaturas da sala e do mosto.

Densidade, pH, acidez titulável (expressa em ácido cítrico) e sólidos solúveis foram determinados de acordo com a Associação de Químicos Analíticos Oficiais – AOAC (2012). Os açúcares redutores foram determinados no espectrômetro UV a 540 nm usando o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), após inversão da sacarose (MILLER 1959). A biomassa foi quantificada por análise gravimétrica após secagem (105°C por 24h) até massa constante em estufa (SANTOS et al., 2018). A viabilidade celular foi determinada por contagem de células em câmara de Neubauer, usando azul de metileno como corante vital, em microscópio óptico (LEE 1981).

Os parâmetros cinéticos foram determinados a partir dos dados obtidos no acompanhamento da cinética fermentativa. A concentração experimental de etanol em $^{\circ}\text{GL}$ e em g L^{-1} foi determinada pelas Eqs.1 e 2, respectivamente (26). A eficiência da fermentação

(%) foi determinada pela Eq. 3, a produtividade da fermentação ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) foi determinada pela Eq. 4, os fatores de conversão de substrato para produto (YP/S) foram determinados usando a Eq. 5, o consumo de substrato (r_s , em $\text{g.L}^{-1}.\text{h}$) e a formação de produto (r_p , em $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) foram determinados usando as Eqs. 6 e 7, respectivamente (NASCIMENTO 2018).

$$\text{Etanol } (^{\circ}\text{GL}) = (D_i - D_x) \times 125 \quad /1/$$

$$\text{Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 0,7895 \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}}\right) \times \text{Etanol } (^{\circ}\text{GL}) \times 1000 \left(\frac{\text{mL}}{\text{L}}\right) \quad /2/$$

$$\text{Eficiência } (\%) = \frac{\text{Etanol produzido}}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad /3/$$

$$\text{Pr } (\text{g/L.h}) = \frac{\text{Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}{t \text{ (h)}} \quad /4/$$

$$\text{YP/S} = \frac{\text{Ethanol}}{\Delta S} \quad /5/$$

$$r_p = \frac{dP}{dt} \quad /6/$$

$$r_s = \frac{dS}{dt} \quad /7/$$

Onde:

D_i - densidade relativa no momento do início da fermentação (g cm^{-3});

D_x - densidade relativa no momento em que se deseja obter o teor alcoólico (g cm^{-3});

t – tempo (h);

S - concentração de substrato (g L^{-1});

P - concentração do produto (g L^{-1}).

2.4 Análise da vida de prateleira

Parâmetros físico-químicos, potencial antioxidante, teor de compostos fenólicos totais e perfil de compostos fenólicos foram analisados na bebida alcoólica fermentada de maracujá durante a vida útil de 0, 6 e 12 meses. Para cada vez, três garrafas foram analisadas; todas as análises foram repetidas três vezes para cada garrafa e os resultados foram expressos como valores médios \pm desvios padrão (DP).

De acordo com os métodos propostos pela AOAC (2012), foram determinados os seguintes parâmetros físico-químicos: densidade, a partir da leitura direta das amostras em balança eletrônica hidrostática (Gibertini, modelo Super Alcomat, Itália); pH, a partir da leitura direta das amostras em um medidor de pH (Hanna Instruments, modelo HI 2221); acidez titulável, por titulação com NaOH 0,1N em titulador automático (Metrohm, modelo Tritino Plus 848, Suíça); acidez volátil, por titulação com NaOH 0,1N e fenolftaleína como indicador após destilação da amostra em destilador enológico (Gibertini, modelo Super DEE, Itália); dióxido de enxofre livre e total (SO_2) pelo método titrométrico de Ripper com solução de iodo 0,02 N e amido como indicador; extrato seco e teor alcoólico, por densimetria e leitura direta das amostras em balança eletrônica hidrostática (Gibertine, Itália, modelo Super Alcomat) após destilação da amostra em destilador enológico (Gibertini, Itália modelo Super DEE, Itália). Os açúcares redutores foram determinados pelo espectrômetro UV (540 nm) usando o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), após inversão da sacarose (MILLER 1959). Os sistemas CIELab CIEL*C*h e espectrofotômetro portátil Delta Vista (Delta Color, modelo Delta Vista

450G) foram usados para determinar os parâmetros colorimétricos: L*(luminosidade), a* (coordenada vermelho/verde), b* (amarelo/ coordenada azul), C* (cromaticidade ou saturação) e o ângulo h (matiz) (PATHARE et al., 2013) e a intensidade da cor (IC) foi determinada espectrofotometricamente a 420 nm de acordo com Glories (1984).

Para avaliar a atividade antioxidante das amostras os ensaios espectrométricos (*in vitro*) DPPH[•], ABTS^{•+} e FRAP foram realizados, e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TE L}^{-1}$. As absorbâncias foram lidas usando o espectrofotômetro Multiskan GO (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

Determinação da capacidade de eliminação de radicais livres pelo DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ensaio de captura radical foi realizado usando o método descrito por Brand-Williams et al. (1995). Um volume de 3900 μL de solução DPPH (Sigma-Aldrich, Hamburg, Germany), $c(\text{DPPH})=0.06 \text{ mmol L}^{-1}$, foi adicionado a 100 μL de amostra de vinho diluída em acetona 70%. Após uma hora de descanso no escuro, a absorbância da cor amarelo brilhante foi medida a 515 nm, contra uma análise de amostra em branco. A curva de calibração padrão ($R^2 = 0,9980$) foi preparada usando diferentes concentrações (0 - 5 mg L^{-1}) de Trolox (TE).

ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] método de captura radical foi determinado de acordo com Re et al. (1999), solução de 7 mM ABTS (Sigma-Aldrich, USA) foram misturados com solução de persulfato de potássio 70 mM e incubados no escuro por 16 h. Posteriormente, preparou-se um volume de 30 μL de amostra de vinho e 3.000 μL de reagente ABTS e, após 6 min de incubação no escuro, mediu-se a absorbância a 743 nm, contra uma análise de amostra em branco. A curva de calibração padrão ($R^2 = 0,9931$) foi preparada usando diferentes concentrações (0 - 2 $\mu\text{M L}^{-1}$) de Trolox.

O ensaio do poder redutor/antioxidante férrico (FRAP) foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado misturando tampão acetato 0,3 M (pH

3,6) com TPTZ 10 mM [2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine] (Sigma-Aldrich, Milan, Italy) solução (diluída em HCl 40 mM) e solução de cloreto férrico 20 mM. Em seguida, foi adicionado um volume de 150 µL de amostra de vinho, 2.850 µL de reagente FRAP. Após 30 min de repouso no escuro, a absorbância da coloração azul foi medida em 593 nm, contra uma análise de amostra em branco. Curva de calibração padrão ($R^2 = 0,9997$) foi preparada usando diferentes concentrações (25 - 800 µM) de Trolox.

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi avaliado conforme descrito por Singleton & Rossi (1965) usando o reagente Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e leitura de absorbância a 760 nm. A quantificação foi realizada por meio de uma curva de calibração ($R^2 = 0,9926$) preparada com ácido gálico - GAE (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

O perfil de compostos fenólicos do vinho de maracujá da Caatinga foi determinado por HPLC-DAD utilizando os métodos previamente validados nas mesmas condições analíticas por Natividade et al. (2013) e Costa et al. (2020). As amostras foram filtradas através de uma membrana de nylon de 13 mm de diâmetro com tamanho de poro de 0,45 µm (Analítica, SP, Brasil), antes da análise por HPLC. Um volume de 20 µL de cada amostra foi injetado automaticamente no cromatógrafo Waters modelo Alliance e2695 equipado com uma coluna Gemini-NX C18 (150 mm × 4,60 mm x 3 µm) com uma pré-coluna Gemini-NX C18 (4,0 mm × 3,0 mm), ambos da Phenomenex® (EUA), e detector de matriz de diodos – DAD (220, 280, 320 e 360 nm). As fases móveis foram usadas 0,85% de ácido ortofosfórico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como solvente A e acetonitrila (grau HPLC, J. T. Backer, Madrid, Espanha) como solvente B. A seguinte eluição gradiente foi aplicado: 0 min com 100% de solvente A; ajustado para 93% do solvente A e 7% do solvente B em 10 min; 90% do solvente A e 10% do solvente B em 20 min; 88% do solvente A e 12% do solvente B em 30 min; 77%

do solvente A e 33% do solvente B em 40 min; 65% do solvente A e 35% do solvente B em 45 min; e 100% de solvente B em 55 min (tempo total de execução de 60 min). A temperatura do forno foi de 40 °C e a vazão de 0,5 mL min⁻¹.

Vinte e dois compostos fenólicos foram quantificados. A isorhamnetin-3-O-glucoside foi adquirida da MedChemExpress (Monmouth Junction, EUA); o ácido gálico foi adquirido da Chem Impex (Wood Dale, EUA); kaempferol-3-O-glicosídeo, miricetina, quercetina-3-β-D-glicosídeo, ácidos transcaftárico, clorogênico, cafeico, ferrulico e ρ-cumárico, piceatannol, viniferina e cis-resveratrol de Cayman (St. Louis, MO , EUA); a rutina foi adquirida da Fisher Scientific (New Jersey, EUA); e os demais compostos fenólicos como (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epicatequina galato, (-)-epigallocatequina galato, procianidina A2, B1 e B2 e trans-resveratrol foram adquiridos da Extrasynthese (Geney, França).

2.5 Análise estatística

ANOVA e teste de Tukey foram realizados para comparar diferenças significativas durante a vida de prateleira do vinho de maracujá da Caatinga, usando o software Statistical Analytical Systems - SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA, University Edition, 2017). Os valores foram expressos como médias ($n = 9$) com desvios padrão. Os gráficos e figuras foram obtidos com o software Sigma Plot versão 14.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1 Análises cinéticas do processo de fermentação

Durante a produção do vinho de maracujá da Caatinga, foram monitorados parâmetros físico-químicos do mosto e viabilidade celular das leveduras (Fig.1), acompanhando o comportamento cinético da fermentação alcoólica (Fig.2). Adicionalmente, a Tabela 1 mostra

os parâmetros cinéticos do processo de fermentação determinados a partir dos dados de consumo total de açúcar, produção de etanol e concentração celular por peso seco (Tabela 1).

O tempo de monitoramento da fermentação alcoólica ocorreu por 161h (see Fig. 1). Verificou-se que a fase de adaptação (fase lag) das leveduras às condições ambientais do mosto, ocorreu dentro das primeiras horas da AF (até 17h), neste período a densidade se manteve estável e não houve consumo do substrato por parte das leveduras. Nesta fase não é notada a formação de bolhas em função do desprendimento de CO₂ e não ocorre produção de calor significativo (BOULTON & QUAIN, 2006; MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009), o que explica a equivalência entre as temperaturas do mosto e sala de fermentação (Fig. 1F).

É também na fase lag que as células produzem todas as enzimas e proteínas de transporte necessárias para o metabolismo dos açúcares presentes, utilizando preferencialmente a glicose como fonte de carbono e energia (BOULTON & QUAIN, 2006). Por isso, quando é praticada a chaptalização do mosto, torna-se necessário aguardar para que previamente ocorra a quebra da sacarose em frutose e glicose, durante este tempo nenhum crescimento ocorre, uma vez que as leveduras estão ocupadas em estabelecer o catabolismo (MORENO-ARRIBAS e POLO, 2009).

Observa-se, que nas primeiras 17h houve crescimento na quantidade de açúcares redutores do mosto (Fig. 2), razão devida à quebra da sacarose, gerando mais açúcares redutores além dos que já existiam naturalmente no mosto de maracujá da Caatinga. Após este período, constatou-se o início da fase tumultuosa (fase exponencial log), que pode ser caracterizada pela alta atividade das leveduras. Ocorreu então um decréscimo considerável na densidade e do teor de sólidos solúveis do mosto, resultado consequente do consumo dos açúcares para produção de etanol pelas leveduras (ver Figs.1A, 1D e 2). Verifica-se que ao mesmo tempo que os açúcares apresentaram perfil de declínio acentuado e o etanol apresentou um pico de

crescimento acelerado (Fig. 2). Isso ocorre em função de ser a fase do processo de fermentação onde simultaneamente acontece o maior crescimento celular e consumo de substrato, resultando numa maior produção de etanol no meio (BOULTON & QUAIN, 2006; NASCIMENTO 2018).

Durante a fase exponencial log, a temperatura da sala de fermentação e do mosto apresentaram variação em até 5,5°C, resultante da produção de calor em decorrência da multiplicação microbiana e do borbulhamento intenso no meio, causado pelo elevado desprendimento de gás carbônico para a produção do etanol (HASHIZUME 2001).

Já a partir de 96 horas de fermentação (quarto dia), nota-se que ocorreu pouco consumo de substrato e uma lenta formação de produto (Fig.2), caracterizando que a fermentação já encontrava-se em fase lenta (início de declínio), também conhecida como a fase pós-fermentação. Nesta etapa, aconteceu a estabilização da densidade ($\sim 1.000 \text{ g cm}^{-3}$), do teor de sólidos solúveis ($\sim 7 \text{ °Brix}$) e da concentração de açúcares redutores ($\sim 1.50 \text{ g L}^{-1}$). Além disso, verificou-se também um declínio significativo da temperatura do mosto em fermentação, reduzindo de 21,5°C para 16°C (temperatura da sala de fermentação). Observa-se, que nesta fase ocorreu também ocorreu o início do decaimento na concentração de biomassa (Fig. 2), devido à presença de compostos inibidores que tornaram o meio impróprio para as leveduras, causando a morte das mesmas (CARMO et al., 2012).

Dantas & Silva (2017) relatam que a fase lenta é resultante da intoxicação da levedura pelo álcool produzido durante a fermentação. Adicionalmente, de acordo com Couto et al. (2007) e Boulton & Quain (2006), nesta fase ocorre a exaustão das leveduras, resultante da baixa concentração de fonte de carbono, da escassez de substrato, e da alta concentração de etanol, que limita a taxa de crescimento das leveduras, e assim o número de células que desaparecem torna-se progressivamente superior ao das que surgem.

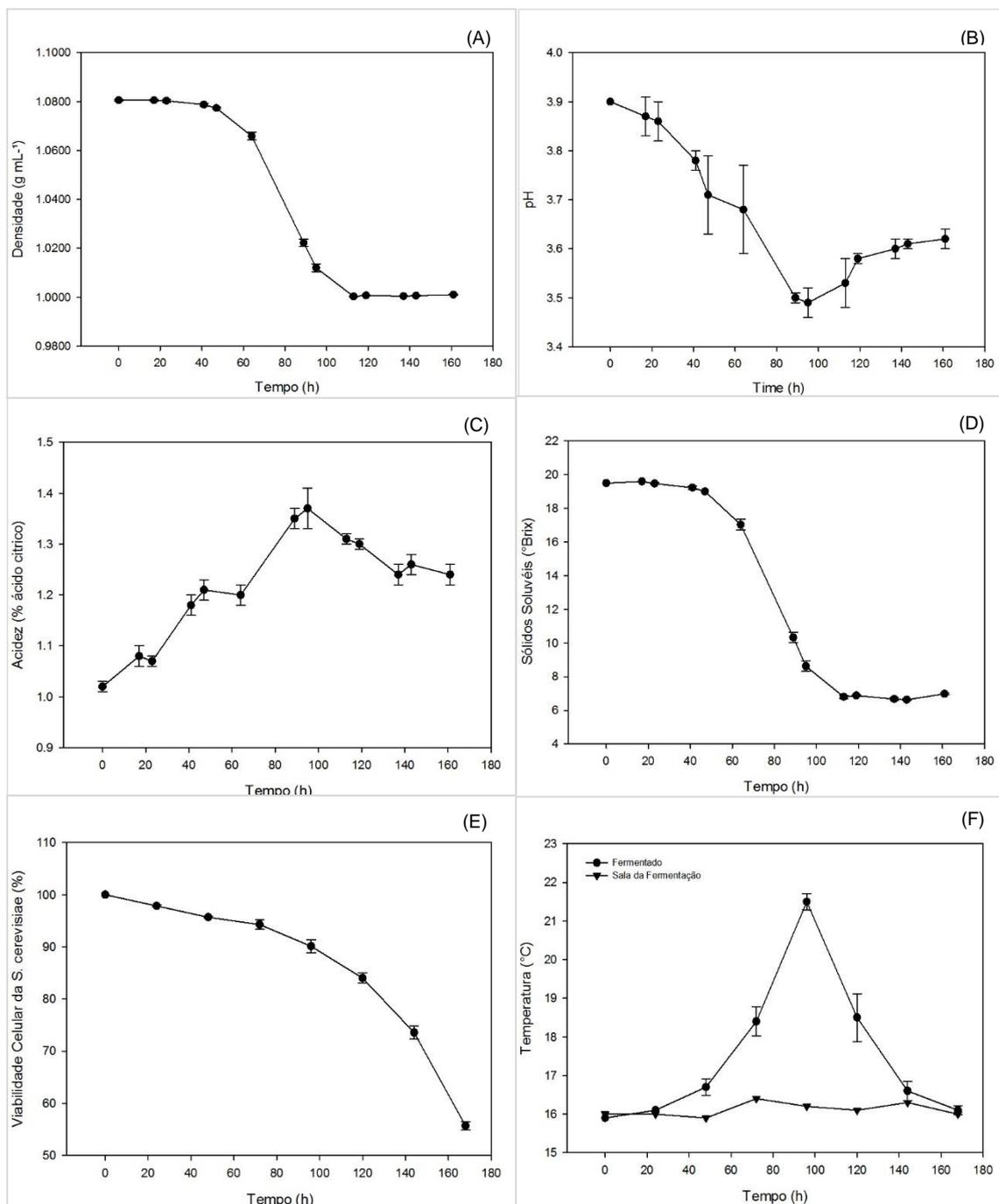


Figura 1. Dados coletados durante o monitoramento da fermentação alcoólica do vinho de maracujá da Caatinga por um período de 161 horas. Os resultados são mostrados como a média \pm desvio padrão (representados pela barra). (A) Médias da densidade (g cm⁻³), (B) pH, (C) acidez total (% expressa em ácido cítrico), (D) sólidos solúveis (°Brix), (E) viabilidade celular da *S. cerevisiae* (%), (F) temperatura do mosto e da sala de fermentação (°C).

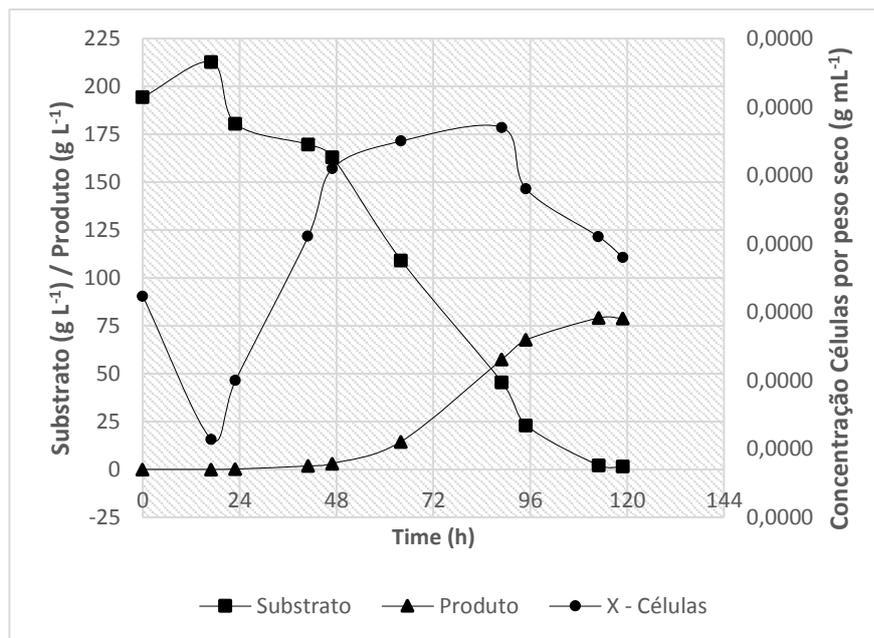


Figura 2. Cinética do processo de fermentação alcoólica para produção de vinho de maracujá da Caatinga durante 120 horas de fermentação.

Na condução do processo fermentativo, os valores de pH e de acidez total apresentaram variação ao decorrer das horas (Figs. 1B e 1C). Podendo ser visualizada queda no valor de pH e aumento da acidez foram entre 23h e 96 horas (segundo e o quarto dia da fermentação), período que coincide com a fase de maior atividade da levedura (fase exponencial). O pH reduziu de 3.87 para = 3.60 e a acidez aumentou de 1.02 para 1.37%. Este comportamento pode ser justificado pela produção de ácidos orgânicos por parte da levedura durante a fermentação, principalmente os ácidos lático, acético e succínico, em função de desvios de rotas metabólicas, como amplamente reportado na literatura (BOULTON & QUAIN, 2006; COUTO et al., 2007). Comportamento semelhante também foi observado na literatura por outros autores ao fermentarem outras frutas tropicais para a obtenção de vinho de abacaxi e umbu (PARENTE et al., 2014; DANTAS & SILVA, 2017).

A taxa de mortalidade celular das leveduras aumentou com o curso da fermentação (Fig. 1E), tornando-se mais acentuada com 140 horas, devido à alta concentração de etanol no meio fermentado (próximo 10% v/v) e ausência de substrato (Fig.2). Ainda assim, ao final das 161h de monitoramento do processo fermentativo, verificou-se que as leveduras ainda apresentavam bom desempenho no que tange à atividade fermentativa (viabilidade próxima a 90%). Estudos utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação alcoólica da cana de açúcar também mostraram taxas de viabilidade próximo de 80 a 90% ao final da fermentação (46).

Analisando os dados obtidos dos parâmetros cinéticos (Tabela 1), pode-se constatar uma eficiência de 88%, produtividade de etanol de $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, rendimento em produto de 0.453 e velocidades de formação de produto e substrato de 1.57 e $0.71 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 1. Parâmetros fermentativos do processo de fermentação alcoólica para produção de vinho de maracujá da Caatinga.

<i>Parâmetros cinéticos</i>	<i>Vinho de maracujá da Caatinga</i>
<i>Eficiência (%)</i>	88.72±0.99
<i>Pr (g L⁻¹ h⁻¹)</i>	0.71±0.02
<i>Y_{P/S}</i>	0.453±0.005
<i>r_s (g L⁻¹ h⁻¹)</i>	1.57±0.06
<i>r_p (g L⁻¹ h⁻¹)</i>	0.71±0.02

Resultados parecidos foram obtidos por Fontan et al. (2011) ao avaliarem a cinética da fermentação para a elaboração do vinho de melancia, obtendo uma eficiência de 94%, produtividade de $1.65 \text{ g L}^{-1} \text{ h}$ e rendimento em produto ($Y_{P/S}$) de 0,65. Da mesma forma, Parente et al. (2014) ao produzirem vinho de abacaxi, observaram uma produtividade de 1,55

g L⁻¹ h e rendimento em produto (Y_{P/S}) de 0,413. Bessa et al. (2018) identificaram um rendimento em produto de 0,49 e 0,42 ao produzirem vinho de melão. Variações observadas nos parâmetros cinéticos entre essa e as demais pesquisas citadas, podem ser atribuídas a diversos fatores, tais como: composição da matéria-prima, cepa de levedura, temperatura do processo fermentativo e concentração do substrato, conforme relatam Almeida et al. (2006).

3.2 Análise de vida de prateleira do vinho de maracujá da Caatinga

Composição físico-química, parâmetros colorimétricos, atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e perfil de compostos fenólicos identificados no vinho de maracujá da Caatinga durante a investigação do tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses), são mostrados nas Figs. 3, 4 e 5, e na Tabela 2, respectivamente.

De forma geral, verificou-se que o fermentado de maracujá da Caatinga apresentou mudanças significativas em sua composição físico-química (Figs. 3 e 4) após os 6 meses de armazenamento em prateleira sob exposição à luz e temperatura ambiente. Ocorreu redução da densidade da bebida e na quantidade da acidez total e volátil, assim como no teor alcoólico e extrato seco, e nos teores de dióxido de enxofre livre e total. Houve aumento do valor do pH e apenas a concentração de açúcar permaneceu sem mudanças significativas por todo o período do estudo.

A qualidade da bebida quanto a sua composição atendeu o padrão de qualidade estabelecido na legislação brasileira, exceto para a acidez total que apresentou resultado acima do limite máximo permitido que é de 130 mEq L⁻¹ (BRASIL 2012). Em estudos futuros, a correção desta variação pode ser realizada com a desacidificação do mosto, aumentando o pH do meio.

Os parâmetros de cor da bebida variaram durante o prazo de validade (Fig. 4) da seguinte forma: de 45,42 a 49,10 para luminosidade (L^*), -1.85 a -3.25 para o componente vermelho/amarelo (a^*), 12.62 a 14.20 para o componente verde/azul (b^*), 12.74 a 14.54 para cromaticidade (C^*) e 98.34 a 103.52 para o ângulo de matiz (h). A luminosidade aumentou durante a vida de prateleira e foi significativamente maior para os tempos de 6 e 12 meses, não havendo diferença entre eles. Ao mesmo tempo, o aumento da vida de prateleira favoreceu a intensidade das cores verde e amarela, a cromaticidade e o ângulo matiz. A intensidade da cor (em 420 nm) apresentou aumento gradativo com o tempo de prateleira.

Um dos indicativos de deterioração e consequente oxidação em vinhos branco, rosé e tinto é a mudança na sua coloração de forma visível; em vinhos brancos, a mudança da tonalidade amarela até o acastanhado é a medida do grau de oxidação visível, quanto maior for o grau de oxidação do vinho maior será o valor de absorvância em 420nm (MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009; AQUARONE 1993). Nesse sentido, embora este estudo tenha observado um aumento significativo no valor da intensidade da cor no tempo 0 do prazo de validade, variando de 0,150 a 0,179, aos 6 meses, para 0,199 aos 12 meses, aponta-se que visivelmente essa alteração não eram perceptível aos olhos.

Em geral, a cor do produto, principalmente das bebidas, é um atributo de extrema importância que contribui para a qualidade geral, não apenas contribuindo para uma boa aparência, mas também influenciando a resposta visual dos consumidores (48). A literatura também aponta que a cor das bebidas alcoólicas é muito complexa e difícil de descrever e comparar (BALCEREK et al., 2017). Nesse sentido, foi possível verificar que, durante o período de prateleira, o fermentado de maracujá da Caatinga não apresentou perda de qualidade visual na cor. Ainda, aponta-se que a predominância da cor verde/amarelo apresenta correlação

com a cor da polpa da fruta, sendo justificada pelo teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante (ZIELINSKI et al., 2014). Para além dos constituintes fenólicos dos vinhos, a cor deve-se também a vários parâmetros físico-químicos, como o pH e o teor de dióxido de enxofre (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Realizando-se uma correlação com as demais características físico-químicas analisadas, verificou-se que também ocorreu alterações significativas na composição do fermentado de maracujá da Caatinga, como em seu pH, acidez, teor alcoólico e na concentração de dióxido de enxofre, levando a inferir que a bebida obtida neste estudo e armazenada sob as condições expostas não mantém estabilidade por um longo período (a partir dos 6 meses).

As condições do local de armazenamento do vinho, como a temperatura, a umidade relativa e a circulação de ar, são fatores ambientais que influenciam diretamente na estabilidade da bebida ao longo do tempo, além da exposição à luz; o aumento da temperatura é o principal fator que promove a instabilidade e a alteração indesejável do seu perfil aromático e intensidade da cor; Neste sentido, o vinho branco possui maior sensibilidade a luz do que o tinto (MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009; AQUARONE 1993).

A atividade antioxidante (Fig. 5), determinada pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, mostrou que a bebida tinha uma capacidade antioxidante significativa (2564 a 2142 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ por DPPH, 2757 a 1855 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ por ABTS e 4088 a 3356 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ por FRAP). DPPH e ABTS são radicais livres que são reduzidos e estabilizados na presença de compostos doadores de elétrons, e FRAP refletem a capacidade antioxidante potencial reduzindo o complexo de TPTZ- Fe^{3+} a TPTZ- Fe^{2+} (52). Os resultados apresentados neste estudo mostraram que, a atividade antioxidante foi significativamente ($p < 0,05$) reduzida ao longo dos 12 meses de vida de prateleira observados, independentemente dos métodos de determinação. Também foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores obtidos entre os métodos.

O teor de fenólicos totais, mostrado na Fig. 6, diminuiu significativamente (de 894 para 514 mg GAE L⁻¹) na bebida ao longo dos 12 meses de vida útil. Os resultados obtidos neste trabalho são compatíveis com os relatados na literatura, que mostram uma grande variabilidade no conteúdo fenólico da *Passiflora*, atribuível a inúmeras variáveis da planta, como o grau de maturação dos frutos (SANTOS et al., 2021a; SANTOS et al., 2021c; ZIELINSKI et al., 2014; SILVA et al., 2020).

Dezesseis compostos fenólicos sendo identificados e quantificados por HPLC-DAD (Tabela 2), pertencentes a quatro grupos principais: ácidos fenólicos, flavonóis, flavanóis e estilbenos. Dos compostos testados, ácido clorogênico, kaempferol-3-O-glicosídeo, isorhamnetin-3-O-glicosídeo, trans-resveratrol e viniferina não foram quantificados na bebida durante todo o período de vida útil. Os resultados mostraram que os teores de flavonoides e ácidos fenólicos apresentaram maior predominância, respectivamente, enquanto os teores de flavonoides e estilbenos apresentaram baixas concentrações. Os fenólicos mais abundantes nos três tempos de vida de prateleira observados foram procianidina B2 e ácido gálico, nesta ordem. Além disso, verifica-se também que houve redução significativa no teor total dos grupos de compostos fenólicos no avanço da vida de prateleira, exceto para o teor de estilbenos, que apresentou aumento significativo do composto cis-revesratrol no fim do prazo de validade de 12 meses. Comportamento semelhante ao do cis-revesratrol também foi observado pelos compostos ácido *p*-cumárico, miricetina e procianidina B1, quando analisados os resultados individuais dos compostos fenólicos.

Em estudo anteriormente desenvolvido para avaliar as características do fermentado de maracujá da Caatinga, produzido a partir do fruto em dois estágios de maturação aparente (intermediário e maduro), Santos et al. (2021a) encontraram quantidade de compostos fenólicos totais na bebida produzida entre 735 a 819 mg GAE L⁻¹, resultado considerado relevante e

semelhante aos obtidos neste estudo. Adicionalmente, os autores relatam, ainda, que ao analisarem o perfil de fenólicos por HPLC-DAD-FD, vinte e um compostos foram identificados e quantificados e que somente a viniferina não foi identificada em nenhuma das amostras, considerando a mesma metodologia aplicada neste estudo. Paralelamente, ao analisar os resultados de Santos et al. (2020a) com os deste estudo, verifica-se semelhança dos valores quantificados para a maioria dos compostos identificados, exceto para o ácido ferrulico, a catequina e a prociadina B2 que foram significativamente maiores neste estudo. A variação nos resultados pode ser fortemente influenciada pela composição da fruta (os estádios de maturação da fruta), bem como pelo clima, sistema de cultivo e condições do solo em cada safra, além das condições do processo de elaboração da bebida principalmente fermentação (MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009).

É interessante notar que os resultados obtidos para a atividade antioxidante, teor de fenólicos totais e compostos fenólicos mostraram-se semelhantes neste estudo, durante o período de vida de prateleira. Esta observação está de acordo com os resultados obtidos por outros autores (FERNÁNDEZ-PACHÓN et al., 2014), que mostraram que a concentração de conteúdo fenólico total e o perfil fenólico (ácidos em particular) influenciam na atividade antioxidante do vinho tinto e branco.

Adicionalmente, a literatura pontua que os compostos fenólicos são essenciais para a qualidade dos vinhos, sendo responsáveis por atributos sensoriais importantes como a cor, o sabor e a adstringência, e que paralelo a isto, nos vinhos brancos, esses compostos são os principais envolvidos nas reações de oxidação e escurecimento que ocorrem durante o armazenamento, sendo influenciado por diversos fatores como a temperatura do ambiente e a luz incidente na garrafa (LIMA et al., 2013; MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009).

No estudo anterior avaliou-se a estabilidade, atividade antioxidante e perfil fenólico de fermentados de frutas tropicais (exceto uvas) durante sua vida de prateleira. Em vinhos brancos, elaborado com uvas da variedade Goethe, Lima et al. (2013) estudaram a influência de diferentes condições no armazenamento do vinho durante 10 meses de vida de prateleira, e observaram que as amostras do vinho expostas à luz e temperatura ambiente ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$) apresentaram maior degradação de compostos fenólicos individuais e menor índice de escurecimento do que as amostras que permaneceram ao abrigo da luz com temperatura de 15°C , além disso observaram que os fatores luz, temperatura e posição da garrafa afetaram significativamente a composição química dos vinhos branco no estudo. Estes resultados encontram-se de acordo com os resultados obtidos neste estudo com o fermentado de maracujá da Caatinga.

Em paralelo aos resultados anteriormente apresentados e discutidos neste trabalho, observa-se coerência com os dados obtidos, verificando que as modificações ocorridas na bebida, durante a sua vida de prateleira, apontam que as condições de armazenamento expostas ao fermentado de maracujá da Caatinga não foram favoráveis para prolongar a estabilidade e conservação da bebida na garrafa a partir dos 6 meses, levando a perdas significativas que possivelmente indicam o início de uma oxidação, mesmo que pouco intensa. Neste sentido, pode-se afirmar que visando garantir a estabilidade da bebida produzida neste estudo, recomenda-se em futuros estudos, o armazenamento da garrafa em temperaturas mais baixas e na ausência da incidência de luz solar.

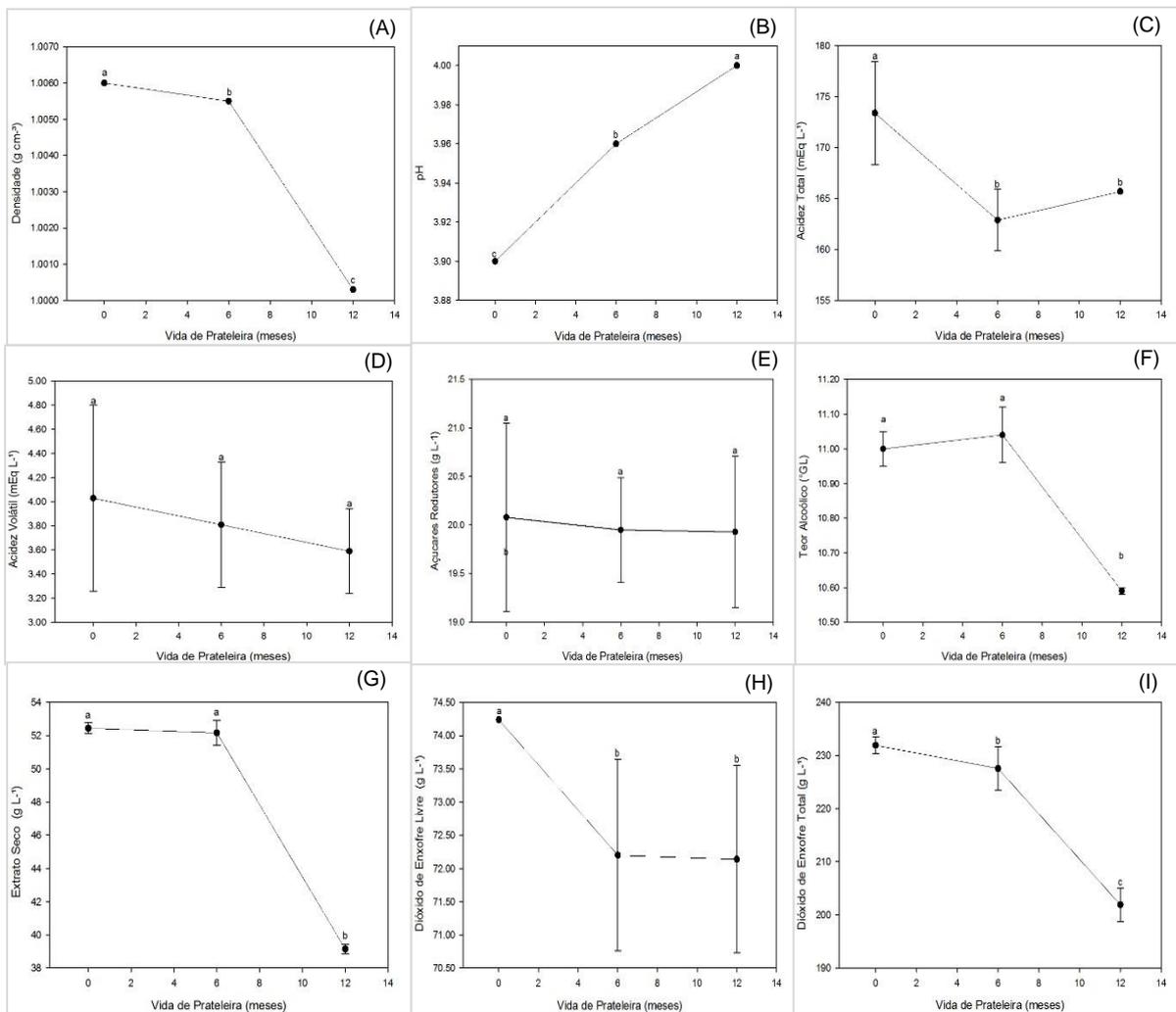


Figura 3. Composição físico-química da bebida fermentada alcoólica de maracujá durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses). Os resultados são mostrados como média \pm desvio padrão (representado por barra). Valores médios com as mesmas letras, na mesma figura, não são estatisticamente significativamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de (A) Densidade, (B) pH, (C) Acidez Total, (D) Acidez Volátil, (E) Açúcares Redutores, (F) Conteúdo Alcoólico, (G) Extrato Seco, (H) Dióxido de Enxofre Livre (I) Dióxido de Enxofre Total.

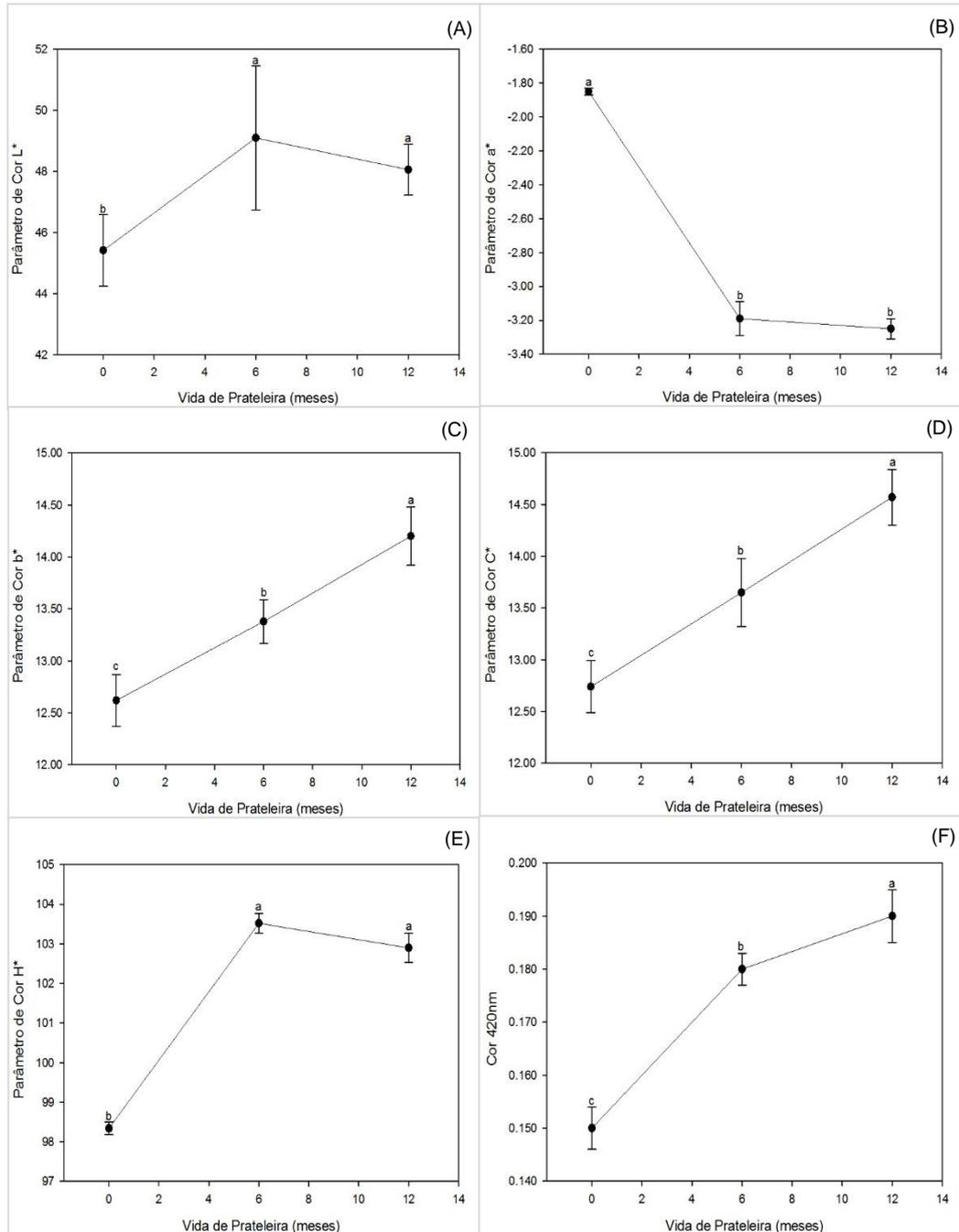


Figura 4. Parâmetros colorimétricos do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses). Os resultados são mostrados como a média \pm desvio padrão (representado por barra). Valores médios com as mesmas letras na mesma figura não são estatisticamente significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). (A) L*: luminosidade [preto (0) a branco (100)]. (B) a*: coordenada vermelho/verde [vermelho (+) a verde (-)]. (C) b*: coordenada amarelo/azul [amarelo (+) a azul (-)]. (D) C*: cromaticidade ou saturação. (E) H (ângulo h): hue. (F) Intensidade de cor em 420nm.

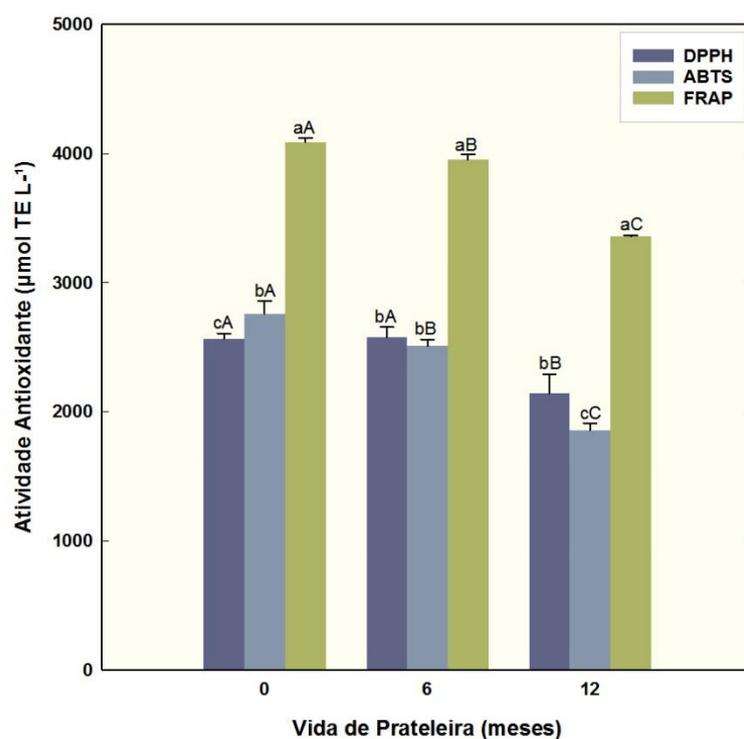


Figura 5. Atividade antioxidante do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses) determinado *in vitro* pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (representado por barra). Letras minúsculas iguais nas barras indicam diferenças estatisticamente não significativas de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$), entre os métodos no mesmo tempo de vida útil. Letras maiúsculas iguais nas barras indicam diferenças não estatisticamente significativas de acordo com o teste de média de Tukey ($p \leq 0,05$), ao longo do tempo de vida de prateleira para cada método.

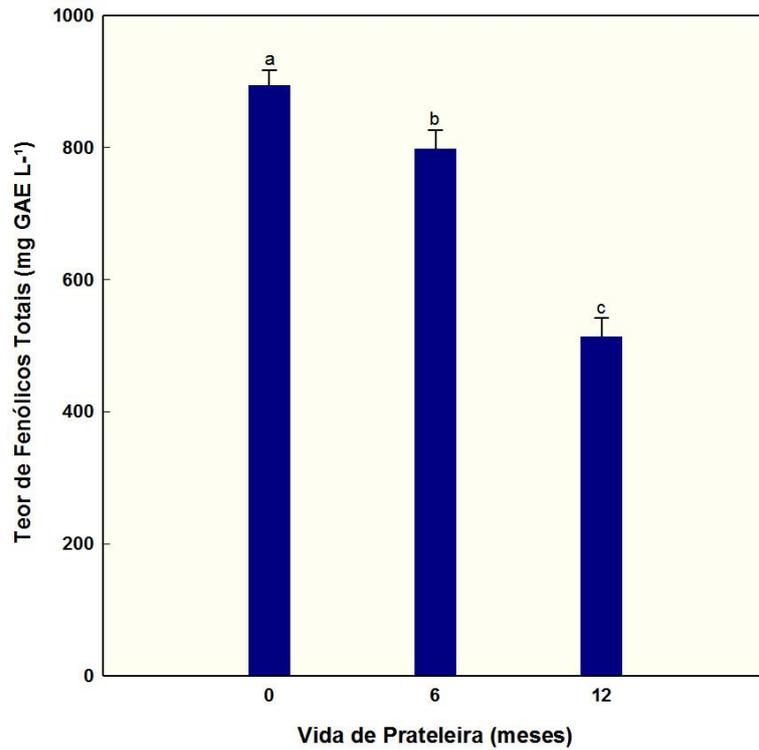


Figura 6. Teor de fenólicos totais do vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses). Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (representado por barra). Letras minúsculas iguais nas barras indicam diferenças não estatisticamente significativas de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Perfil dos compostos fenólicos do vinho de maracujá da Caatinga por HPLC-DAD durante o tempo de prateleira (0, 6 e 12 meses).

Compostos fenólicos (mg L ⁻¹)	Vinho de maracujá ^{1,2}		
	T0	T1	T2
Ácido Cafeico	1.804±0.025a	1.379±0.049b	1.029±0.029c
Ácido <i>trans</i> -Caféico	1.021±0.037a	0.796±0.037b	0.142±0.013c
Ácido Clorogênico	NQ	NQ	NQ
Ácido <i>p</i> -Cumárico	0.363±0.021c	0.729±0.010b	0.925±0.067a
Ácido Ferrulico	0.938±0.052a	0.838±0.123a	0.858±0.013a
Ácido Gálico	3.017±0.165a	2.146±0.705b	2.646±0.040ab
Ácidos fenólicos totais	7.142±0.205a	5.888±0.662b	5.600±0.079b
Caempferol-3-O-glucosídeo	NQ	NQ	NQ
Quercetina-3-β-D-glicosídeo	2.442±0.038a	0.488±0.014b	0.317±0.020c
Isorhametina-3-O-glicosídeo	NQ	NQ	NQ
Miricetina	0.025±0.016b	0.021±0.010b	0.050±0.000a
Rutina	1.379±0.019a	0.426±0.031b	0.100±0.039c
Flavonóis Totais	3.846±0.058a	0.921±0.037b	0.467±0.038c
(+)-Catequina	1.529±0.224a	1.263±0.059b	0.967±0.066c
(-)-Epicatequina	0.988±0.019a	0.904±0.021b	0.792±0.020b
(-)-Epicatequina galato	1.125±0.032a	1.158±0.049a	NQ
(-)-Epigallocatequina galato	0.746±0.226a	0.763±0.278a	NQ
Procianidina A2	1.238±0.021a	1.058±0.038b	0.358±0.013c
Procianidina B1	1.075±0.059b	1.179±0.097a	1.255±0.032a
Procianidina B2	9.229±0.132a	7.896±0.089b	5.883±0.047c
Flavonóis Totais	15.771±0.302a	14.379±0.296b	9.225±0.042c
<i>trans</i> -resveratrol	NQ	NQ	NQ
<i>cis</i> -resveratrol	0.325±0.050b	0.371±0.029b	1.071±0.095a
Piceatanol	0.425±0.000a	0.233±0.013b	0.075±0.000c
Viniferina	NQ	NQ	NQ
Estilbenos Totais	0.750±0.050b	0.604±0.037c	1.146±0.095a

⁽¹⁾ Vinho de maracujá da Caatinga durante o tempo de vida útil (T0 = 0, T1 = 6 e T2 = 12 meses).

⁽²⁾ Médias ± desvio padrão seguido das mesmas letras, na mesma linha, representam diferenças não estatisticamente significativas no teor de compostos fenólicos entre os tempos de prateleira, de acordo com o teste de Tukey (p≤0,05). NQ = não quantificado.

4 Conclusões

Os dados apresentados permitem concluir que o maracujá da Caatinga demonstrou potencial para a produção do fermentado alcoólico utilizando levedura comercial *S. cerevisiae* var. bayanus. Essa levedura obteve bom desempenho no processo fermentativo. O estudo de vida de prateleira do fermentado de maracujá da Caatinga mostrou que a bebida obteve qualidade físico-química satisfatória durante o período de 12 meses de armazenamento da garrafa em condições que simulam uma prateleira de supermercado. Entretanto, verificou-se que a partir dos seis meses de armazenamento, ocorrem perdas significativas na capacidade antioxidante do produto e no conteúdo de compostos fenólicos totais e de grande parte daqueles identificados utilizando a técnica de HPLC-DAD.

Agradecimentos

Agradecimentos ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus I, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil, por seu apoio; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) pelo apoio financeiro sob concessão da bolsa nº 141356/2020-0; e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com Bem Diverso (project BRA/14/G33 Embrapa/ PNUD/GEF) pelo apoio e financiamento do projeto desenvolvido.

Referências

- Almeida, M. M., de Almeida Tavares, D. P. S., Silva, A., Rocha, L. D. S. C., da Silva, F. L. H., & Mota, J. C. (2006). Cinética da produção do fermentado do fruto do mandacaru. AOAC. (2012). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (19th ed.). Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Aquarone, E., Schmidell, W., de Almeida Lima, U., & Borzani, W. (2001). *Biotechnologia industrial-vol. 4: biotecnologia na produção de alimentos* (Vol. 3). Editora Blucher.

- Araújo, F. P., Santos, C. A. F., Silva, G. C., & de ASSIS, J. S. (2002). Caracterização de frutos de maracujá do mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) cultivado em condições de sequeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53.; REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 25., 2002, Recife. Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora brasileira: resumos. Recife: Sociedade Botânica do Brasil: Universidade Federal Rural de Pernambuco: Universidade Federal de Pernambuco.
- Balcerek, M., Pielech-Przybylska, K., Patelski, P., Dziekońska-Kubczak, U., & Strąk, E. (2017). The effect of distillation conditions and alcohol content in ‘heart’ fractions on the concentration of aroma volatiles and undesirable compounds in plum brandies. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(3), 452-463.
- Barbosa Santos, T., De Araujo, F. P., Neto, A. F., De Freitas, S. T., de Souza Araújo, J., de Oliveira Vilar, S. B., ... & Lima, M. S. (2021c). Phytochemical compounds and antioxidant activity of the pulp of two brazilian passion fruit species: *Passiflora cincinnata* Mast. and *Passiflora edulis* Sims. *International Journal of Fruit Science*, 21(1), 255-269.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bessa, M. A. D., Oliveira, E. N. A. D., Feitosa, B. F., Feitosa, R. M., Almeida, F. L. C., & Oliveira Neto, J. O. D. (2018). Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21.
- Boeira, L. S., Freitas, P. H. B., Uchôa, N. R., Bezerra, J. A., Cád, S. V., Junior, S. D., & Maciel, L. R. (2020). Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native acai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. *LWT*, 117, 108632.
- Borzani, W., Aquarone, E., & Lima, U. A. (1993). Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. *São Paulo: Metha Ltda*, 5.
- Boulton, C., & Quain, D. (2006). *Brewing yeast and fermentation*. John Wiley & Sons.
- Braga, et al. (2006). Maracujá-do-cerrado. In R. F. Vieira, T. S. Agostini-Costa, D. B. Silva, F. R. Ferreira, & S. M. Sano (Eds.), *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil* (pp. 216–233). Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Antioxidative activity of phenolic composition of commercial extracts of sage and rosemary. *LWT*, 28, 25-30.

- Carmo, S. K. S., Sá, S. K. C. V. L., Almeida, M. M., & Swarnakar, R. (2012). Produção e caracterização de fermentado de umbu a partir de sua polpa comercial. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 14(1), 15-20.
- Castro Alcântara, V., & Menezes, E. G. T. (2017). Vinho de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 3(6), 0780-0785.
- CEPLAC. (2019). Maracujá. Disponível em. Acesso em 01 de jan. de <http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm>.
- Costa, R. R. D., Rodrigues, A. A. M., Vasconcelos, V. A. F. D., Costa, J. P. D., & Lima, M. A. C. D. (2020). Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of 'Chenin Blanc' grape. *Scientia Agricola*, 77.
- Dantas, C. E. A., & Silva, J. L. A. (2017). Fermentado alcoólico de umbu: produção, cinética de fermentação e caracterização físico-química. *Holos*, 2, 108-121.
- Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., e Silva, J. B. D. A., & Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabirola, jaboticaba and umbu. *LWT-Food Science and Technology*, 43(10), 1564-1572.
- Fernández-Pachón, M. S., Villano, D., Garcia-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2004). Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 113-118.
- Ferreira-Lima, N. E., Burin, V. M., & Bordignon-Luiz, M. T. (2013). Characterization of Goethe white wines: influence of different storage conditions on the wine evolution during bottle aging. *European Food Research and Technology*, 237, 509-520.
- Fontan et al. (2011). Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melância. *Boletim Centro de Pesquisa de processamento de Alimentos*, v. 29, n. 2, p. 203-210.
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges 2: mesure origine et interpretation. *Connaissance Vigne Vin*, 18(4), 253-271.
- Lee, S. S., Robinson, F. M., & Wang, H. Y. (1981). Rapid determination of yeast viability. In *Biotechnol. Bioeng. Symp.:(United States)* (Vol. 11, No. CONF-810554-). Univ. of Michigan, Ann Arbor.
- Melo Santos, S. F., da Silva Moraes, F., Fernandes, L. M., Ribeiro, L. B., & de Luna Freire, K. R. (2018). Análise cinética da fermentação das leveduras comerciais S-04 e S-33. *Revista Saúde & Ciência Online*, 7(2), 197-208.

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Moreno-Arribas, M. V., & Polo, M. C. (Eds.). (2009). *Wine chemistry and biochemistry* (Vol. 735). New York, NY, USA: Springer.
- Nascimento et al. (2018). *Microbiologia Industrial: bioprocessos*. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.674.
- Natividade, M. M. P., Corrêa, L. C., de Souza, S. V. C., Pereira, G. E., & de Oliveira Lima, L. C. (2013). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665-674.
- Oura, E. (1977). Reaction products of yeast fermentations. *Process Biochemistry*, v. 12, n. 3, p. 19-21, 35.
- Parente, G. D. L., de Almeida, M. M., da Silva, J. L., da Silva, C. G., & Alves, M. F. (2014). Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi 'pérola' e caracterização da bebida. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 9(2), 33.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and bioprocess technology*, 6, 36-60.
- Re, R., Pellegrini, N., & Proteggente, A. Pannala, a., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Renata Torres dos Santos e Santos et al. (2021b). Uso do etileno para acelerar e homogeneizar o amadurecimento do maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.). Trabalho apresentado em Anais do 14 SLACA - Simpósio Latino-Americano de Ciência de Alimentos.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). Phenolic compounds. *Handbook of enology*, 2, 141-203.
- Santos, R. D. S., Biasoto, A. C. T., Rybka, A. C. P., Castro, C. D. C., Aidar, S. D. T., Borges, G. S. C., & Silva, F. L. H. (2021). 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*, 148, 111714.

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- SOUZA et al. (2013). Elaboração, aceitabilidade e intenção de compra de iogurte saborizado com polpa de maracujá do mato. In.: VIII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. Salvador, Bahia.
- Souza Silva, G., Borges, G. D. S. C., da Costa Castro, C. D. P., de Tarso Aidar, S., Marques, A. T. B., de Freitas, S. T., ... & Cardarelli, H. R. (2020). Physicochemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid region. *Scientia Horticulturae*, 272, 109595.
- Teixeira, A. S., de Andrade, R. O., de Lima, G. S., & Cardoso, R. L. (2014). Elaboração e avaliação da estabilidade de fermentado alcóolico de maracujá. *Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 4(1).
- Zielinski, A. A. F., Ávila, S., Ito, V., Nogueira, A., Wosiacki, G., & Haminiuk, C. W. I. (2014). The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. *Journal of Food Science*, 79(4), C510-C516.
- Fontan et al. (2011). Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melância. *Boletim Centro de Pesquisa de processamento de Alimentos*, v. 29, n. 2, p. 203-210.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando tudo o que foi apresentado, os resultados obtidos neste estudo demonstram que o maracujá da Caatinga apresenta potencialidade e é viável para o beneficiamento de bebidas alcoólicas, sobretudo na elaboração de fermentado base e fermentado gaseificado (vinho base e vinho espumante) a partir da diluição da polpa *in natura* do fruto na proporção 60:40 (água/polpa), utilizando *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus* que apresentou ação eficiente no processo fermentativo. Os fermentados elaborados apresentaram potencial capacidade antioxidante e de compostos fenólicos e receberam aceitação sensorial satisfatória pelos consumidores, sobretudo para as formulações classificadas como suave, com 20 g L⁻¹ de açúcar residual em sua composição.

Adicionalmente, o fermentado gaseificado, desenvolvido nesse estudo, consiste em um produto inovador que pode ser incorporado à indústria de bebidas alcoólicas na região semiárida nordestina, como uma nova bebida promissora, com caráter regional no semiárido, que agrega valor e aspectos sensoriais ao fruto da Caatinga.