



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

MARIA CECÍLIA SOARES CORREIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRE DE
SAPOTI (*Manilkara zapota*)

JOÃO PESSOA – PB

2024

MARIA CECÍLIA SOARES CORREIA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRE DE
SAPOTI (*Manilkara zapota*)**

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

Orientadora: Profa. Dra. Julice Dutra Lopes
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa

**JOÃO PESSOA – PB
2024**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C824d Correia, Maria Cecília Soares.

Desenvolvimento e caracterização de vinagre de
sapoti (*Manilkara zapota*) / Maria Cecília Soares
Correia. - João Pessoa, 2024.
99 f. : il.

Orientação: Julice Dutra Lopes.

Coorientação: Carlos Alberto Bispo de Sousa.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Sapoti - Vinagre. 2. Bactérias acéticas - Análise
sensorial. 3. *Saccharomyces bayanus*. I. Lopes, Julice
Dutra. II. Sousa, Carlos Alberto Bispo de. III. Título.

UFPB/BC

CDU 634.43(043)

MARIA CECÍLIA SOARES CORREIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO DE SAPOTI (*Manilkara zapota*)

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

Aprovada em 31 de janeiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 JULICE DUTRA LOPES
Data: 15/07/2024 20:31:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.ª Dra. Julice Dutra Lopes - DEQ/CT/UFPB
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 CARLOS ALBERTO BISPO DE SOUSA
Data: 19/07/2024 14:51:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa - DEQ/CT/UFPB
(Coorientador)

Documento assinado digitalmente
 ANDREA FARIAS DE ALMEIDA
Data: 18/07/2024 09:42:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.ª Dra. Andréa Farias de Almeida – DBTC/CBIOTEC/UFPB
(Examinador Interno)

Documento assinado digitalmente
 MARCELO BARBOSA MUNIZ
Data: 20/07/2024 10:26:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 CLOVIS GOUVEIA DA SILVA
Data: 22/07/2024 10:24:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Clóvis Gouveia da Silva - DEQ/CT/UFPB
(Examinador Externo)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero dar graças a Deus, por ter me criado e por ter me dado a capacidade de aprender, de permanecer mesmo em meio aos desafios. Foi Ele a minha força durante cada dia deste período tão importante em minha vida. Ao meu marido Manoel, por todo apoio e encorajamento nas dificuldades, por sempre me lembrar das capacidades que Deus me deu, e por ser esse porto seguro nas tempestades que foram aparecendo nesse tempo. Aos meus pais, Regina e Almir, por todo tempo investido na minha educação, desde minha infância até a fase adulta. Sou extremamente grata por toda confiança e por nunca medirem esforços para que eu pudesse seguir esse sonho. Ao meu irmão Artur, por toda parceria e apoio em algumas etapas do processo de execução deste trabalho.

Quero agradecer também aos meus orientadores, professora Julice e professor Carlos Bispo, por todo conhecimento passado, pela paciência que tiveram comigo neste trabalho, mesmo quando tudo parecia dar errado, eles permaneceram me motivando e não me deixando desistir, por mais difícil que parecesse. Aos professores da banca, Marcelo e Andréa, por todas as sugestões e contribuições que foram de extrema importância para o desenvolvimento deste projeto.

Aos meus queridos técnicos do laboratório LBA, Maria Conceição, Clóvis e Karla, pelas horas dedicadas a me ensinarem todo conhecimento que era necessário na utilização do laboratório, pelo apoio, parceria e amizade. Eles foram extremamente importantes em cada etapa, não só na execução das atividades, mas também na organização do conhecimento adquirido, me ensinando a amar cada parte do processo de aprendizado.

Aos alunos dos cursos de Química Industrial, Engenharia Química, Engenharia de Alimentos e Biotecnologia, pelo auxílio nas atividades dos laboratórios, pela presença e partilha de conhecimentos durante os anos desta pesquisa. Aos técnicos destes cursos, Sófacles, Thayze, Katharina, Adriana, Túlio, Diógenes e Milena, pela ajuda em diversas análises que eram necessárias para que os objetivos fossem concluídos.

Aos meus amigos e irmãos da Comunidade Católica Shalom, por serem auxílio espiritual nessa caminhada, sempre me ajudando a enxergar o processo com olhar de esperança e de confiança em Deus. Por cada um que se dispôs a participar da análise sensorial, doando seu tempo e disposição para julgar as características do produto obtido neste trabalho.

À Fapesq-PB por acreditar na pesquisa desenvolvida e investir financeiramente para que a execução dela fosse possível.

**“Comece fazendo o que é necessário, depois
o que é possível, e de repente você estará
fazendo o impossível.”**

São Francisco de Assis

RESUMO

O sapoti (*Manilkara zapota*) é um fruto pequeno, com formato oval, casca fina e marrom, além de ser doce e succulento. Normalmente é consumido *in natura*, mas por possuir alta perecibilidade os produtores encontram dificuldades em mantê-lo conservado para a sua comercialização. Uma das tecnologias que pode solucionar este problema é a produção de vinagre, que consegue aproveitar matérias-primas e seus subprodutos. Ele é obtido por uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética, ambas resultantes da ação de microrganismos. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar vinagre de sapoti, obtido a partir do isolamento de bactérias acéticas provenientes de kombucha e do próprio fruto sapoti. O caldo de sapoti foi extraído em prensa hidráulica, o que proporcionou a obtenção de um caldo com poucos sólidos em suspensão. As bactérias acéticas usadas para a produção do vinagre foram obtidas pelo isolamento das bactérias naturais do próprio sapoti (SVS) e pelas provenientes de kombucha artesanal (KVS2). A fermentação alcoólica do caldo de sapoti foi realizada em biorreatores de polietileno, utilizando a levedura *Saccharomyces bayanus* numa concentração de 0,5 g/L. Utilizou-se o método lento, para a realização da fermentação acética, com 75% de fermentado alcoólico de sapoti e 25% de inóculo. O acompanhamento da fermentação acética do meio contendo bactérias naturais do próprio sapoti durou 16 meses, apresentando acidez final de 3,817%, já o acompanhamento da fermentação acética do meio com kombucha durou 106 dias, chegando a uma acidez total final de 5,09%. Então, o vinagre foi retirado do biorreator, filtrado a vácuo, engarrafado e pasteurizado. O vinagre de sapoti passou por várias análises para garantir que estava dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira, sendo posteriormente submetido a análise sensorial com julgadores não treinados. O rendimento da polpa de sapoti foi de 66,80%, e após a extração os sólidos solúveis totais (SST) do caldo ficou em 23,2°Brix, os compostos fenólicos totais (CFT) presentes foram 17,203 mg EAG/100 mL, a atividade antioxidante por DPPH foi 15,164 µM Trolox/100 mL e por FRAP foi 58,758 µM Trolox/100 mL. A fermentação alcoólica obteve um teor alcoólico de 13,4°GL em quase 9 dias, com um rendimento máximo de 0,58 no biorreator. A fermentação acética durou 37 dias e obteve uma acidez total de 5,2338% e um teor alcoólico de 0,1°GL. O vinagre de sapoti apresentou acidez volátil de 4,31%, CFT de 30,883 mg EAG/100 mL; atividade antioxidante por DPPH de 46,674 µM Trolox/100 mL e por FRAP de 41,977 µM Trolox/100 mL. A análise sensorial realizada concluiu que não houve diferença significativa, com 95% de confiança, entre o vinagre de sapoti e o vinagre de maçã comercial. Portanto, foi possível obter um vinagre de sapoti a partir de bactérias de kombucha com 79,7% de aprovação dos julgadores, apresentando ótimas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. O sapoti mostrou-se viável para a elaboração de vinagres.

Palavras-chave: Sapoti; Vinagre; Bactérias acéticas; Análise Sensorial. *Saccharomyces bayanus*

ABSTRACT

The sapodilla (*Manilkara zapota*) is a small fruit, oval in shape, with a thin, brown skin, and is sweet and juicy. It is normally consumed fresh, but because it is highly perishable, producers find it difficult to keep it preserved for sale. One of the technologies that can solve this problem is the production of vinegar, which can use raw materials and their by-products. It is obtained by alcoholic fermentation followed by acetic fermentation, both resulting from the action of microorganisms. The present work aimed to develop and characterize sapodilla vinegar, obtained from the isolation of acetic bacteria from kombucha and the sapodilla fruit itself. The sapodilla broth was extracted using a hydraulic press, which resulted in a broth with few suspended solids. The acetic bacteria used to produce vinegar were obtained by isolating natural bacteria from sapodilla itself (SVS) and those from artisanal kombucha (KVS2). The alcoholic fermentation of sapodilla broth was carried out in polyethylene bioreactors, using the yeast *Saccharomyces bayanus* at a concentration of 0.5 g/L. The slow method was used to carry out acetic fermentation, with 75% alcoholic fermented sapodilla and 25% inoculum. The monitoring of the acetic fermentation of the medium containing natural bacteria from sapodilla itself lasted 16 months, presenting a final acidity of 3.817%, while the monitoring of the acetic fermentation of the medium with kombucha lasted 106 days, reaching a final total acidity of 5.09%. Then, the vinegar was removed from the bioreactor, vacuum filtered, bottled and pasteurized. The sapodilla vinegar underwent several analyzes to ensure that it was within the limits required by Brazilian legislation and was subsequently subjected to sensory analysis with untrained judges. The yield of sapodilla pulp was 66.80%, and after extraction the total soluble solids (TSS) of the juice was 23.2°Brix, the total phenolic compounds (TFC) present were 17.203 mg EAG/100 mL, the antioxidant activity by DPPH was 15.164 μ M Trolox/100 mL and by FRAP it was 58.758 μ M Trolox/100 mL. The alcoholic fermentation obtained an alcohol content of 13.4°GL in almost 9 days, with a maximum yield of 0.58 in the bioreactor. Acetic fermentation lasted 37 days and obtained a total acidity of 5.2338% and an alcohol content of 0.1°GL. The sapodilla vinegar had a volatile acidity of 4.31%, CFT of 30.883 mg EAG/100 mL; antioxidant activity by DPPH of 46.674 μ M Trolox/100 mL and by FRAP of 41.977 μ M Trolox/100 mL. The sensory analysis carried out concluded that there was no significant difference, with 95% confidence, between sapodilla vinegar and commercial apple cider vinegar. Therefore, it was possible to obtain sapodilla vinegar from kombucha bacteria with 79.7% approval from judges, presenting excellent physical-chemical, microbiological and sensory characteristics. Sabotage proved to be viable for making vinegar.

Keywords: Sapodilla; Vinegar; Acetic bacteria; Sensory analysis; *Saccharomyces bayanus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	O sapoti	18
Figura 3.2	Bactérias da família <i>Acetobacteriaceae</i>	27
Figura 4.1	Testes preliminares utilizados para determinar o melhor isolamento e o método da fermentação acética.	32
Figura 4.2	Meio de cultura com isolado de kombucha (KVS1) e com pedaços de sapoti (SVS).	33
Figura 4.3	Biorreatores de polietileno usados para a fermentação acética	35
Figura 4.4	Filtração à vácuo do vinagre de sapoti	35
Figura 4.5	Processo de engarrafamento do vinagre de sapoti	36
Figura 4.6	Garrafas no banho maria	36
Figura 4.7	Garrafas no banho de gelo	37
Figura 4.8	Análise de coliformes totais e termotolerantes	39
Figura 5.1	Amostra clarificada de caldo de sapoti após análise de pectina.	44
Figura 5.2	Amostra não clarificada de caldo de sapoti após análise de pectina.	44
Figura 5.3	Teor acético dos meios de cultura com kombucha, vinagre e com pedaços de sapoti	46
Figura 5.4	Teor acético do isolado de sapoti com fermentado de abacaxi (SVA)	47
Figura 5.5	Acidez Total (% de ácido acético) durante fermentação acética do isolado de kombucha (KVS1) e fermentado alcoólico de abacaxi (KVA), com aeração	48
Figura 5.6	Teor acético durante fermentação acética do isolado de kombucha (KVS1) e fermentado alcoólico de abacaxi (KVA), sem aeração	49
Figura 5.7	Comparação entre o comportamento da acidez total durante a fermentação acética do caldo de sapoti e isolado de bactérias do próprio sapoti (SVS), utilizando Biorreator Tec-Bio V 7,5 L, no modo Automático por motor (AM) e Automático por Válvula (AV)	50
Figura 5.8	Comportamento da acidez total do meio SVS em 16 meses	51
Figura 5.9	Variação da acidez total do meio SVS de julho a novembro de 2023	52
Figura 5.10	Acidez total do inóculo KVS2	54
Figura 5.11	Comportamento do pH no meio KVS2	55
Figura 5.12	Biorreatores onde foi realizada a fermentação alcoólica do caldo de sapoti	56
Figura 5.13	Comparação do comportamento do pH (linha azul) e da acidez total (linha amarela) na fermentação alcoólica do caldo de sapoti	57
Figura 5.14	Consumo de açúcares totais (linha laranja) e produção de álcool (linha azul) durante a fermentação alcoólica do caldo de sapoti	58

Figura 5.15	Inóculos de bactéria da kombucha (KVS2) e de bactérias isoladas do sapoti (SVS)	59
Figura 5.16	Inoculação do meio contendo bactérias acéticas isoladas do sapoti (SVS) no fermentado alcoólico de sapoti	59
Figura 5.17	Acidez total da fermentação acética do isolado de sapoti (FAS)	61
Figura 5.18	Teor alcoólico da fermentação acética do isolado de sapoti	61
Figura 5.19	Inoculação das bactérias da kombucha no fermentado alcoólico de sapoti (FAK)	62
Figura 5.20	Sistema usado nas fermentações acéticas	62
Figura 5.21	Teor de acidez total durante a fermentação acética utilizando bactérias de kombucha (FAK)	64
Figura 5.22	Teor alcoólico durante a fermentação acética utilizando bactérias de kombucha (FAK)	64
Figura 5.23	Vinagre de sapoti envasado em garrafas de vidros de 60 mL	65
Figura 5.24	Notas dos atributos aceitação global (a) e aroma (b) dos vinagres	69
Figura 5.25	Notas dos atributos cor (a) e sabor (b) dos vinagres	70
Figura 5.26	Notas dos atributos acidez (a) e intenção de compra (b) dos vinagres	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Composição físico-química da polpa do sapoti	19
Tabela 3.2	Características físico-químicas de vinagres de vinho e de álcool.	22
Tabela 4.1	Metodologias utilizadas para caracterização da matéria-prima e dos produtos obtidos	38
Tabela 5.1	Rendimento dos componentes do sapoti	41
Tabela 5.2	Caracterização do caldo de sapoti	42
Tabela 5.3	Massa das amostras clarificadas e não clarificadas de caldo de sapoti	45
Tabela 5.4	Quantidade de pectato de cálcio nas amostras clarificadas e não clarificadas de caldo de sapoti.	45
Tabela 5.5	Acidez total do meio SVS na primeira fase do isolamento	51
Tabela 5.6	Valores médios da cinética da fermentação alcoólica do caldo de sapoti	56
Tabela 5.7	Fermentação acética do sapoti com bactérias isoladas do sapoti (FAS)	60
Tabela 5.8	Fermentação acética do sapoti com bactérias da kombucha (FAK)	63
Tabela 5.9	Parâmetros físico-químicos do vinagre de sapoti obtido	66
Tabela 5.10	Atributos avaliados do vinagre de sapoti e do vinagre de maçã comercial	69
APÊNDICE A	pH e teor acético do meio SVS	84
APÊNDICE B	Controle do teor acético e pH do isolado de sapoti com fermentado de abacaxi (SVA)	86
APÊNDICE C	Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L:Automática por motor	87
APÊNDICE D	Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L:Automática por válvula	88
APÊNDICE E	Acidez total e pH do meio contendo bactérias acéticas da kombucha (KVS2)	89
APÊNDICE F	Cinética da fermentação alcoólica de todos os biorreatores	90
APÊNDICE G	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	91
APÊNDICE H	Ficha para o teste de aceitação sensorial e intenção de compra	93
ANEXO A	Comprovante do envio do projeto para o Comitê de Ética e Pesquisa da UFPB	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAB	Bactérias do ácido acético
ADH	Enzima álcool desidrogenase
ALDH	Enzima acetaldeído desidrogenase
AR	Açúcares redutores
ART	Açúcares redutores totais
ANR	Açúcares não redutores
ATP	Adenosina Trifosfato
DNS	Ácido 3,5-dinitro salicílico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FAK	Fermentação acética do sapoti com isolado de kombucha
FAS	Fermentação acética do sapoti com isolado de sapoti
KVS1	Fermentado de sapoti com isolado de kombucha
KVA	Fermentado de abacaxi com isolado de kombucha
LBA	Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas
LEA	Laboratório de Engenharia de Alimentos
LPFD	Laboratório de Produtos Fermentados e Destilados
LTA	Laboratório de Tecnologia de Alimentos
PQQ	Pirroloquina quinona
SST	Sólidos solúveis totais
SVA	Fermentado de abacaxi com isolado de sapoti
SVS	Fermentado de sapoti com isolado de sapoti

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 O SAPOTI	18
3.1.1 Características morfológicas, químicas e nutricionais	18
3.1.2 Exploração tecnológica do sapoti	19
3.2 O VINAGRE	20
3.2.1 Histórico	20
3.2.2 Definição e classificação de vinagre	20
3.2.3 Processos de fabricação	21
3.2.4 Composição e legislação do vinagre	22
3.2.5 Atividade antioxidante e compostos fenólicos de vinagre	23
3.2.6 Processo de clarificação	23
3.3 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA	24
3.3.1 Processo fermentativo	24
3.3.2 Leveduras alcólicas	25
3.4 FERMENTAÇÃO ACÉTICA	26
3.4.1 Processo fermentativo	26
3.4.2 Bactérias acéticas	26
3.4.3 Isolamento das bactérias acéticas	28
3.5 PESQUISAS RECENTES EM FERMENTAÇÃO ACÉTICA	29
4. METODOLOGIA	31
4.1 MATÉRIA-PRIMA	31
4.2 EXTRAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI	31
4.2.1 Clarificação do caldo de sapoti	31
4.2.2 Análise de pectina do caldo de sapoti	32
4.3 OBTENÇÃO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS	32
4.5 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DO CALDO DE SAPOTI	34
4.6 FERMENTAÇÃO ACÉTICA	34
4.7 PASTEURIZAÇÃO	36
4.8 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA E DOS PRODUTOS	37
4.9 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	38
4.10 ANÁLISE SENSORIAL DO VINAGRE	39

4.11 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 RENDIMENTO DO SAPOTI.....	41
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI.....	41
5.3 OBTENÇÃO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS	46
5.3.1 Testes preliminares.....	46
5.3.2 Obtenção das bactérias do próprio fruto sapoti (SVS).....	50
5.3.2 Obtenção das bactérias acéticas de kombucha	53
5.5 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DO SAPOTI	55
5.6 FERMENTAÇÃO ACÉTICA DO SAPOTI.....	58
5.7 CARACTERIZAÇÃO DO VINAGRE DE SAPOTI	65
5.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	68
5.9 ANÁLISE SENSORIAL	68
6. CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
APÊNDICES.....	84
APÊNDICE A – pH e teor acético do meio SVS.....	84
APÊNDICE B – Controle do teor acético e pH do isolado de sapoti com fermentado de abacaxi (SVA).....	86
APÊNDICE C – Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L: Automática por motor	87
APÊNDICE D – Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L: Automática por válvula	88
APÊNDICE E – Acidez total e pH do meio contendo bactérias acéticas da kombucha (KVS2)	89
APÊNDICE F – Cinética da fermentação alcoólica de todos os biorreatores	90
APÊNDICE G – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	91
APÊNDICE H – Ficha para o teste de aceitação sensorial e intenção de compra	93
ANEXO A - Comprovante do envio do projeto para o Comitê de Ética e Pesquisa da UFPB	94

1. INTRODUÇÃO

Grande diversidade de frutas vem sendo explorada por meio do cultivo ou da extração, colocando o Brasil na terceira posição no ranking mundial de produção de frutas (VIDAL, 2020). Dentre as comercializadas está o sapoti (*Manilkara zapota*), que teve sua origem na América Central. No Brasil, este fruto vem sendo cultivado principalmente nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Ceará (SOARES, 2018; SANTOS et al., 2020). O sapoti possui uma polpa dura, esbranquiçada e muito adstringente quando imaturo, e polpa succulenta com coloração castanho-avermelhada, amarelada ou marrom-escura, com sabor adocicado e sem acidez no seu estágio de amadurecimento (SILVA JUNIOR et al., 2014; MORAIS, 2018).

A diversificação de culturas de sapoti vem proporcionando um aumento pelo interesse de cultivo e consumo por parte dos consumidores e, conseqüentemente, das indústrias (SANTOS et al., 2020), pois o sapoti é um fruto que, além de doce e succulento, possui um aroma que facilmente pode ser identificado. Este fruto ainda contém cálcio, fósforo, ferro, vitaminas A, B1, B2, B5 e C, e ainda um valor calórico de 96 calorias em cada 100 g da fruta (BONIFÁCIO, 2018). Normalmente, é consumido in natura, mas por possuir alta perecibilidade, ou seja, um rápido amadurecimento, os produtores acabam encontrando dificuldades em mantê-lo conservado para a sua comercialização. Para solucionar esse problema, muitas tecnologias de processamento vêm sendo desenvolvidas para aproveitar o excedente da produção destes frutos (OLIVEIRA, AFONSO e COSTA, 2011; COSTA et al., 2017; BONIFÁCIO, 2018).

Uma dessas tecnologias é a produção de vinagre, que aproveita matérias-primas e seus subprodutos inaproveitáveis dos estabelecimentos industriais de frutas e das propriedades rurais, que não poderiam estar no mercado de outra forma (EVANGELISTA, 2000; PEDROSO, 2003; CRUZ, 2012). No mundo inteiro, este produto é usado como condimento e conservante de alimento, que pela sua ação nutritiva e biorregulatória, pode ser considerado um complemento necessário à alimentação humana. Os vinagres obtidos de frutas possuem qualidade sensorial e nutricional superior aos provenientes de outras fontes, pois apresentam sabor e aroma próprios. Nutricionalmente, destacam-se a presença de ácidos orgânicos, compostos fenólicos, vitaminas, proteínas e aminoácidos, adquiridos do fruto e da fermentação alcoólica (AQUARONE et al., 2001; MARQUES et al., 2010; FONTAN et al., 2011; ZOCHE e FIGUEIREDO, 2014).

Esse produto é obtido por dois processos bioquímicos diferentes, resultantes da ação de microrganismos. No princípio se inicia a fermentação alcoólica, pela ação das leveduras sobre as matérias-primas açucaradas e amiláceas, depois ocorre a fermentação acética, pela atuação das bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter* (AQUARONE et al., 2001; TESFAYE et al., 2002). Existem métodos distintos para a fabricação de vinagre. Um deles é o método de Orleans, ou método lento, que consiste em colocar uma quantidade predeterminada de vinagre em um recipiente com aberturas na parte de cima para entrada de ar, adicionando a cada semana fermentado de frutas, substituindo o vinho antigo pelo novo ao longo do tempo (MORETTO et al., 1988; PALMA et al., 2001; COSTA, TAKAHASHI e VILLAMONTE, 2006; MAESTRE, 2017).

Foi observado que existem poucos trabalhos acerca da matéria-prima sapoti e uma ausência de fontes atuais sobre a produção do vinagre, a qual tem sido resultado da desvalorização de ambos, ou mesmo, da falta de conhecimento sobre suas qualidades sensoriais e nutricionais. Nas poucas fontes encontradas, foi possível perceber a busca por novas matérias-primas para a produção de vinagre, entre elas frutas diversas e resíduos alimentícios, com enfoque no aproveitamento de ambos.

A adição de açúcar na produção de fermentado de fruta ficou proibida no Brasil a partir de 2020, com a publicação da Instrução Normativa N° 16, de 19 de março de 2020 (BRASIL, 2020) e por isso para a obtenção de um vinagre de frutas é necessária a utilização de uma matéria-prima açucarada naturalmente. Assim o sapoti, por possuir em sua composição um alto teor de açúcar, pode vir a se um excelente insumo para a fermentação alcoólica, facilitando o processo de fabricação do vinagre.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar fermentado acético do fruto do sapoti (*Manilkara zapota*), utilizando bactérias acéticas isoladas do próprio fruto de sapoti e da kombucha.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter bactérias acéticas de kombucha e do próprio fruto sapoti;
- Caracterizar o caldo de sapoti mediante análises físico-químicas previstas na legislação vigente;
- Acompanhar cineticamente a fermentação alcoólica do caldo de sapoti;
- Desenvolver fermentação acética a partir de fermentados alcoólicos de sapoti, utilizando bactérias acéticas isoladas de kombucha e do fruto sapoti, pelo método lento;
- Caracterizar os fermentados acéticos produzidos mediante análises físico-químicas previstas na legislação vigente;
- Avaliar o perfil de compostos fenólicos e dos compostos antioxidantes no caldo e no fermentado acético de sapoti;
- Realizar análise sensorial comparando o vinagre obtido de sapoti com vinagre de fruta comercial.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 O SAPOTI

3.1.1 Características morfológicas, químicas e nutricionais

O sapoti é um fruto pequeno, com formato oval, cujo diâmetro varia de 5 a 9 cm e possui massa entre 45 e 200 g. Sua casca é fina e marrom, contendo na sua superfície um pó que é de fácil desprendimento ao toque (Figura 3.1). Este fruto possui uma polpa dura, esbranquiçada e muito adstringente quando imaturo, e polpa succulenta com coloração castanho-avermelhada, amarelada ou marrom-escura, com sabor adocicado e sem acidez no seu estágio de amadurecimento (SILVA JUNIOR et al., 2014; MORAIS, 2018). Sua vida útil pós-colheita é muito curta, de 8 a 12 dias (ARAÚJO-NETO et al., 2001; MORAIS, 2018), tornando difícil a conservação e a comercialização do fruto em questão (MORAIS et al., 2006; OLIVEIRA, AFONSO e COSTA, 2011).

Figura 3.1 – O sapoti



Fonte: Silva Júnior (2014)

Estudos apontam a presença de atividade antioxidante e compostos fenólicos em frutas como o sapoti. Can-Cauich et al. (2017) obtiveram valores de atividade antioxidante em torno de 0,23g/100g e, aproximadamente, 0,21g EAG/100g (equivalente de ácido gálico por 100 g) de compostos fenólicos. Esses compostos podem gerar possíveis benefícios para a saúde, como a redução dos riscos de câncer ou doença cardiovascular, e prevenção ou reparação de danos celulares causados por espécies reativas de oxigênio (CAN-CAUICH et al., 2017).

As informações sobre as características físico-químicas e o valor nutricional do sapoti são ferramentas básicas para estimular o consumo e a formulação de novos produtos, pois o conhecimento dessas características permitirá uma melhor indicação do seu consumo e utilização na indústria alimentícia (ROCHA et al., 2013). Santos et al. (2020) realizaram uma caracterização físico-química da polpa do sapoti e o resultado está disposto na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Composição físico-química da polpa do sapoti

ANÁLISES	MÉDIA E DESVIO PADRÃO
Açúcares Redutores (% glicose)	3,19 ± 0,50
Açúcares não-redutores (% sacarose)	1,81 ± 0,46
Açúcares Totais	5,00 ± 0,63
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	13,0 ± 0,08
pH	6,65 ± 0,01
Acidez (%)	0,40 ± 0,10
Umidade (%)	79,7 ± 0,08
Cinzas (%)	0,36 ± 0,05
Proteínas (%)	0,40 ± 0,05
Lipídeos (%)	0,79 ± 0,02

Fonte: Santos et al. (2020)

3.1.2 Exploração tecnológica do sapoti

A flora brasileira possui uma grande diversidade de frutas, sendo algumas bastante apreciadas pelo mercado por possuírem tanto uma grande qualidade sensorial quanto nutricional (OLIVEIRA, AFONSO e COSTA, 2011). Uma das prioridades do governo brasileiro é o setor da fruticultura, graças ao seu grande potencial exportador (FORMIGONI, 2018). O Nordeste do país tem uma numerosa produção de frutas. Mesmo possuindo elevadas temperaturas e escassez de água durante o ano, vem sendo campeão em produtividade no setor frutífero (NITAHARA, 2016). Um desses frutos produzidos nessa região é o sapoti, principalmente nos estados de Pernambuco, Bahia, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte (MATTA et al., 2005). Entretanto, este fruto ainda não tem expressão econômica no Nordeste brasileiro, mesmo possuindo um reconhecido potencial para exploração comercial. Isto porque o conhecimento sobre a cultura desse fruto, que indiquem o nível médio de produtividade obtida nas condições de plantio, ainda é inexistente (BANDEIRA et al., 2005). Apesar da pouca exploração comercial, existe uma necessidade de impulsionar as culturas frutíferas, aproveitando seus nutrientes e compostos bioativos (NEGRI, BERNI e BRAZACA, 2017).

3.2 O VINAGRE

3.2.1 Histórico

O vinagre é um alimento fermentado conhecido há milhares de anos, cujo nome vem do francês *vinaigre* ou vinho azedo (PRESCOTT e DUNN, 1959; PEDERSON, 1971). No Brasil, a qualidade do vinagre não é considerada importante, pois a maior parte da população considera esse produto apenas como um condimento azedo. Ao contrário do que se pensa, o vinagre possui propriedades nutricionais, sensoriais, sanitizantes e ainda medicinais e o desconhecimento dessas características induziu a produção a partir de matérias-primas baratas e de processos mais produtivos que originam vinagres que se apresentam apenas como solução ácida (AQUARONE, 1983 citado por AQUARONE, 2001).

No princípio era obtido da fermentação espontânea do vinho de uva e da cerveja, e mesmo sendo conhecido desde a Antiguidade como condimento, conservante, aromatizante, refresco e medicamento, só veio a ser submetido a destilação por Geber (721-815) (HAESELER, 1951). Em 1790, Lavoisier (HAEHN, 1956; HAESELER, 1951) comprovou a função do oxigênio na formação de vinagre e em 1864 foi comprovado a necessidade da presença de fermento vivo para transformar etanol em ácido acético, desta vez pelo cientista Pasteur (HAESELER, 1951; VERONA, 1942).

Foi só na década de 60, que os cientistas Hromatka e Ebner registraram a patente de produção de vinagre pelo método submerso, aerado e ininterrupto, iniciando assim a criação de fábricas de vinagre de várias capacidades e modelos. A eficiência desses fermentadores era tão alta que começaram a utilizar o ácido acético produzido para outros fins (EBNER, 1981).

3.2.2 Definição e classificação de vinagre

Vinagre ou vinagre de vinho é, de acordo com a legislação brasileira, o produto obtido da fermentação acética do vinho (BRASIL, 1990; BRASIL, 1988) devendo conter uma acidez volátil mínima de 40 g por litro, expressa em ácido acético (4%). A graduação alcoólica deste produto não pode ultrapassar 1 °GL, devendo ser obrigatoriamente pasteurizado.

É obtido por dois processos diferentes, a fermentação alcoólica, pela ação de leveduras e a fermentação acética, pela ação das bactérias acéticas. Para a fabricação de vinagres de qualidade, podem ser utilizados frutos que possuem grandes perdas no pós-colheita como matéria-prima, assim amenizaria o desperdício que existe no setor agrícola gerando um produto valorizado (BARBOSA, 2017).

Segundo Belmont (2002), a classificação dos vinagres brasileiros é dada da seguinte forma: vinagre de vinho tinto, que é obtido por meio da fermentação acética do vinho tinto; vinagre de vinho branco, que é obtido através da fermentação acética do vinho branco; vinagre de frutas, que é obtido através da fermentação acética do fermentado alcoólico de frutas; e o vinagre de álcool, que é obtido através da fermentação acética do álcool.

3.2.3 Processos de fabricação

Os principais métodos industriais usados para a elaboração de vinagres são baseados nos métodos de Orleans (lento), Alemão (rápido) ou submersos. O processo lento é o mais antigo, pois surgiu em 1670 e é usado até hoje para a fabricação caseira de vinagre. O produto obtido por meio deste método é de excelente qualidade, e emprega somente fermentado como matéria-prima (BELMONT, 2002). O procedimento consiste em colocar em um barril, com furos na parte superior para entrada de ar, uma quantidade que equivale a um terço de sua capacidade com vinagre, para ir adicionando quantidades de vinho ou fermentado de fruta por semana, durante um mês. Após cinco semanas, retiram-se 20 litros de vinagre e substitui-se por outra quantidade de vinho novo, repetindo esse processo ao longo do tempo (CASTELO, 2002; PEDROSO, 2003).

Os processos rápidos foram idealizados por Boerhave no começo do século XVIII, quando descobriu que a transformação do vinho de maçã em vinagre era mais rápida quando se utiliza um recipiente com bagaço de maçã dentro (AQUARONE et al., 2001). São utilizados recipientes geradores, empacotados com os mais diversos materiais de enchimento, e é lá que as bactérias acéticas colonizam a superfície do material, oxidando etanol a ácido acético. A matéria-prima é recirculada quantas vezes forem necessárias pelo material, onde as bactérias acéticas ficam fixadas, causando assim a transformação total do conteúdo alcoólico em ácido acético (CASTELO, 2002; PEDROSO, 2003).

No método submerso, que surgiu em 1950, mantém-se a cultura de bactérias acéticas submergidas no vinho, com bastante ar. Após o processo de acetificação da matéria-prima, é realizada a descarga de uma parte do vinagre, com a adição de outra parte de vinho sem parar o processo, até uma média de 20 horas (CASTELO, 2002). Durante este processo o ar deve ser cuidadosamente controlado para que um decréscimo da pressão parcial de oxigênio não venha a alterar o metabolismo bacteriano (AQUARONE et al., 2001; PEDROSO, 2003).

3.2.4 Composição e legislação do vinagre

A composição de um vinagre está ligada à matéria-prima que o originou. Vinagres oriundos de frutos ou de malte possui uma composição mais complexa que o de álcool, por possuírem todas as substâncias solúveis existentes na matéria-prima ou ainda as que se formaram nos processos fermentativos alcoólicos e acéticos (AQUARONE et al., 2001). O ácido acético é o principal componente dos vinagres, independente do substrato alcoólico anterior. A sua concentração é dada em gramas de ácido acético por 100 mL de vinagre (MECCA et al., 1979; LLAGUNO e POLO, 1991).

Apesar de almejar-se o maior rendimento possível na transformação de etanol em ácido acético, não se deve esgotar esse substrato, já que na ausência deste, as bactérias acéticas provocam a degradação do ácido acético (AQUARONE *et al.*, 2001).

Na Tabela 3.2 são apresentadas as características físico-químicas de vinagres de vinho e de álcool segundo Palma et al. (2001).

Tabela 3.2 - Características físico-químicas de vinagres de vinho e de álcool.

COMPONENTES	MÁXIMO	MÍNIMO
Vinagre de vinho		
Acidez volátil em ácido acético [g (100 mL) ⁻¹]	-	4,0
Etanol em volume a 20 °C (°GL)	1,0	-
Cinzas g (L)	-	1,0
Extrato seco reduzido [tinto e rose – g (L) ⁻¹]	-	7,0
Extrato seco reduzido [branco – g (L) ⁻¹]	-	6,0
Sulfato de potássio [g (L) ⁻¹]	1,0	-
Vinagre de álcool		
Acidez volátil em ácido acético [g (100 mL) ⁻¹]	-	4,0
Etanol em volume a 20 °C (°GL)	1,0	-
Extrato seco reduzido [g (L) ⁻¹]	-	0,2
Resíduo mineral fixo [g (L) ⁻¹]	-	0,02

Fonte: Palma et al. (2001)

3.2.5 Atividade antioxidante e compostos fenólicos de vinagre

Quando comparados a outros tipos de vinagre, os de frutas possuem qualidades sensoriais e nutricionais superiores (MARQUES et al., 2010). A modificação das condições ambientais e a utilização de substâncias antioxidantes podem evitar os processos oxidativos, pois estes possuem propriedades de impedir ou diminuir o surgimento destas reações (SOARES, 2002; PAZOS et al., 2007). Dessa forma, os compostos antioxidantes podem inibir a oxidação de muitos substratos, sendo divididos em duas classes, os com atividade enzimática e os sem atividade enzimática (BEATTLE, 2003). Segundo alguns estudos, comprovou-se que os vinagres de cereais e de uva são bastante ricos em compostos fenólicos que apresentam essa atividade antioxidante (DÁVALOS et al., 2005; XU et al., 2007).

3.2.6 Processo de clarificação

Em sucos com uma concentração alta de pectina, acaba tendo seu teor de metanol aumentado, pois a pectina é um ácido poligalacturônico que durante o processo de fermentação acaba liberando radicais que formam o metanol. Para remover essas substâncias, é utilizado um processo chamado clarificação (HASHIZUME, 2001; PAULA, 2013).

A clarificação pode ser realizada por dois diferentes processos: floculação ou separação por membranas. O processo de floculação é o mais utilizado no momento para a clarificação de suco, pois é de fácil manuseio e baixo custo. Este processo utiliza a gelatina comercial, de grau alimentício, em uma concentração determinada. A gelatina é aquecida e depois colocada em repouso, para a precipitação dos sólidos em suspensão. Por fim realiza-se uma filtração para a remoção das frações sólidas precipitadas, obtendo-se um suco límpido e transparente (PAIVA, GARRUTI e SILVA NETO, 2000; DANTAS, 2021).

O caráter anfotérico da gelatina possibilita o mecanismo de clarificação, que remove os compostos polifenólicos instáveis e indesejáveis, e evita a formação de turbidez, promovendo a redução da adstringência (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011). Uma alternativa ao processo convencional de clarificação de suco de frutas é o processo de separação por membranas, pois além de reduzir os sólidos em suspensão, pode ser utilizado como uma alternativa aos processos térmicos usados na conservação de alimentos (NETA, HABERT e BORGES, 2005).

No final do processo, o caldo clarificado deve apresentar valores baixos de compostos orgânicos e inorgânicos sem que venha a ocorrer remoção, precipitação ou destruição de

açúcares, pois se presentes em grandes quantidades, podem ficar retidos na superfície dos cristais de açúcar (COSTA et al., 2015).

3.3 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

3.3.1 Processo fermentativo

A fermentação possui inúmeras reações controladas enzimaticamente, que degradam uma molécula orgânica em compostos mais simples, liberando assim energia. Neste processo, os microrganismos atuam sobre um substrato, na ausência ou presença de oxigênio, gerando substâncias ou produtos utilizáveis (FERNANDES, 2016; BARBOSA, 2017).

O processo em que ocorre a degradação anaeróbica de açúcares transformando-os em etanol e gás carbônico é chamado fermentação alcoólica. Os principais microrganismos que realizam este tipo de fermentação são as leveduras, que obtém energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) para realizar suas atividades fisiológicas, como crescimento e reprodução, para no fim gerarem o etanol como subproduto (LIMA et al., 2001; FERNANDES, 2016; BARBOSA, 2017). As leveduras devem ter uma excelente capacidade para produção e resistência ao etanol. Para que elas apresentem essas características, é necessário que se considere fatores como pH, concentração de substrato e temperatura (GAVA, 2002; HADIYANTO et al., 2014; MAESTRE, 2017).

Há pouca produção de etanol em temperaturas muito baixas, e em temperaturas muito elevadas, há perda por evaporação. As altas temperaturas acabam afetando também as fermentações que acontecem em paralelo, que são responsáveis por produzir compostos secundários (GAVA, 2002; BACH, 2012; MAESTRE, 2017). Por esse motivo são utilizadas temperaturas intermediárias, com o intuito de obter-se um alto rendimento de etanol (EVANGELISTA, 2000; GAVA, 2002; MAESTRE, 2017).

O pH deve ser por volta de 4,5 pois assim como a temperatura, o pH é um interferente no meio fermentativo capaz de favorecer a produção de compostos secundários e de afetar o crescimento celular. Com relação à matéria-prima, a fermentação pode ser simples ou complexa, dependendo do tipo de substrato utilizado. Podem ser utilizados como substratos: celulose, pectina, açúcares, melaços, resíduos agroindustriais como palhas, cascas, bagaços (GAVA, 2002), milho, cana-de-açúcar, trigo, entre outros (LIMA et al., 2001; MAESTRE, 2017).

3.3.2 Leveduras alcóolicas

Tradicionalmente, a fermentação é realizada por monocultura de leveduras, o que confere consistência no perfil aromático e teor relativamente alto de álcool etílico. No entanto, para obter sabores característicos, concentração aumentada de ésteres desejáveis e complexidade de aroma adicionada, os produtores de vinho se voltam para espécies não *Saccharomyces* (MERWIN, VALOIS e PADILLA-ZAKOUR, 2008) ou cepas que pertencem ao gênero *Saccharomyces* diferente de *S. cerevisiae* (KELLY et al., 2018). Deve-se ressaltar que existem várias cepas comercialmente disponíveis que pertencem a ambos os grupos (KÖNIG e CLAUS, 2018). Em muitos casos, as leveduras selvagens, aquelas que não foram inoculadas propositalmente, mas acabaram se desenvolvendo no meio, fornecem aos vinhos sabor desejável, intensa persistência de aroma, distinção e variação de safra (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Na maioria das vezes, a fermentação espontânea é iniciada por leveduras não *Saccharomyces* (*Hanseniaspora* / *Kloeckera*, *Metschnikowia*, *Candida*) e terminada por culturas selvagens de *Saccharomyces* (SATORA e TUSZYŃSKI, 2005).

Este gênero possui a habilidade de se ajustar ao meio, alcançando diversos produtos finais. São leveduras aeróbias facultativas que conseguem se adaptar metabolicamente quando são cultivadas em aerobiose, convertendo açúcar em biomassa, entretanto, quando cultivadas em anaerobiose produzem etanol e dióxido de carbono (LIMA et al., 2001; SUZART e DIAS, 2007). Para o cultivo desse gênero de levedura, a temperatura usual está na faixa de 30 a 37 °C (CZERUCKA, PICHE e RAMPAL, 2007; LIONG et al., 2011) e o pH deve estar entre 4,5 e 6,5 (CZERUCKA, PICHE e RAMPAL, 2007; GRAFF et al., 2008).

Saccharomyces bayanus é uma espécie de levedura utilizada para fermentação, principalmente na vinificação (GAMERO et al., 2014). Apesar de pertencer ao gênero *Saccharomyces* e apresentar semelhança genética com outras espécies pertencentes a esse táxon, elas podem variar em termos de propriedades enológicas e capacidade de sintetizar compostos voláteis (BLONDI et al., 2009). Uma comparação feita entre *S. bayanus* e *S. cerevisiae* mostrou que os vinhos fermentados por *S. bayanus* apresentam maior intensidade de sabor (GAMERO et al., 2014). *S. bayanus* produz grandes quantidades de 2-feniletanol, lactato de etila, acetato de 2-feniletil e outros ésteres de acetato (TOSI et al., 2009; GAMERO et al., 2014), enquanto *S. cerevisiae* sintetiza mais isobutanol, álcool isoamílico e álcool amílico (GAMERO et al., 2014).

3.4 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

3.4.1 Processo fermentativo

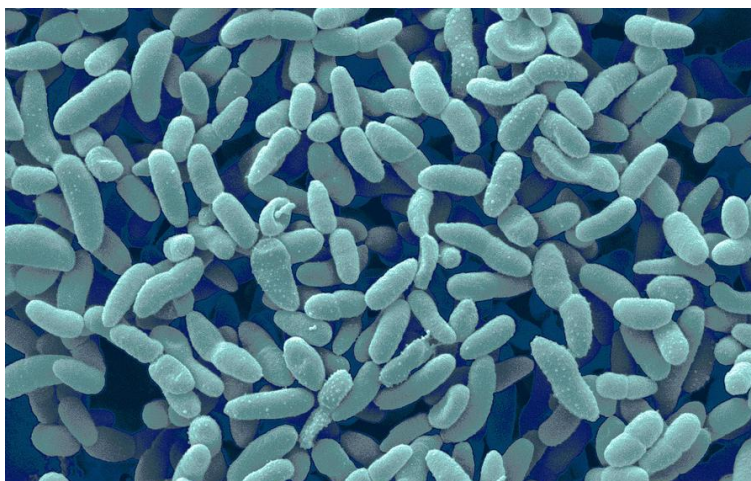
A fermentação acética é aquela onde o etanol é oxidado a ácido acético por bactérias acéticas em meio aeróbio, liberando enormes quantidades de energia (SPINOSA, 2002; BOFFO, 2004). As bactérias acéticas oxidam o etanol em duas etapas. Na primeira delas, o etanol é oxidado a acetaldeído, e na segunda etapa esse acetaldeído é oxidado a ácido acético (LLAGUNO e POLO, 1991).

São produzidos também compostos intermediários como aldeídos, cetonas, ésteres e outros ácidos orgânicos, onde o composto secundário predominante é o acetaldeído. O *flavour* do vinagre é resultado da presença desses compostos (SPINOSA, 2002; BOFFO, 2004).

Uma das principais causas da redução no rendimento da concentração em escala industrial é a evaporação de compostos voláteis durante a fermentação acética. Dependendo da temperatura, essa perda de etanol, na indústria, chega a ser de 10 a 30% do rendimento estequiométrico. As quantidades de ácido acético evaporado durante a fermentação são baixas quando comparadas aos teores presentes na fase líquida, mas com o etanol a evaporação é de grande significância econômica (ROMERO e CANTERO, 1998; SPINOSA, 2002).

3.4.2 Bactérias acéticas

Também conhecidas como bactérias do ácido acético (AAB) (Figura 3.2), foram descritas pela primeira vez como "bactérias do vinagre" por Louis Pasteur há mais de 150 anos, e fazem parte da família da *Acetobacteriaceae*, consideradas microrganismos Gram negativos, tendo morfologia elipsoidal, em forma de bastonetes ou cocos. Esses microrganismos podem ser móveis ou não, com flagelos peritríquios ou polar e não formam esporos (ALMEIDA, 2013). Sua temperatura ótima de crescimento é 30 °C e o seu pH ótimo é na faixa de 5 a 6,5 podendo ainda ter crescimento em valores de pH mais baixos como de 3 a 4 (HOLT et al., 1994; ALMEIDA, 2013).

Figura 3.2 – Bactérias da família *Acetobacteriaceae*

Fonte: Flores (2020)

São um grupo importante e diversificado de bactérias envolvidas na produção de alimentos e bebidas fermentadas, especialmente conhecidas por sua produção de ácido acético (ácido etanoico) na fabricação de vinagre (PASTEUR, 1864, citado por AQUARONE, 2001), e são caracterizados por sua capacidade de oxidar carboidratos, álcoois e álcoois de açúcar (álcoois polihídricos ou polióis) em seus ácidos orgânicos, aldeídos ou cetonas correspondentes, em um processo denominado “fermentação oxidativa”, a partir do qual eles ganham energia (TABAN e SAICHANA, 2017). As bactérias do ácido acético estão envolvidas na produção de uma variedade de alimentos e bebidas fermentadas, incluindo vinagre, kombuchá, cervejas lambic, kefir e nata de coco (POTHAKOS et al., 2016). Essas bactérias também foram associadas a deterioração de alimentos e bebidas alcoólicas, como cerveja, vinho, cidra e sucos de frutas (TABAN e SAICHANA, 2017).

O metabolismo respiratório desses microrganismos é responsável por uma oxidação incompleta que acontece na presença de etanol gerando assim ácido acético, como produto dessa oxidação (ROMANOA et al., 2000; ALMEIDA, 2013). Estas reações de oxidação são correspondentes à fermentação oxidativa, por envolverem a oxidação incompleta do álcool e a grande quantidade acumulada dos metabólitos formados no meio de crescimento (LU; LEE; SCHE, 1999 apud ALMEIDA, 2013).

A enzima álcool desidrogenase (ADH) e a enzima acetaldeído desidrogenase (ALDH) estão localizadas na membrana citoplasmática, com o centro ativo voltado para o exterior, e sua atividade não ocorre no interior da célula, mas principalmente no espaço periplasmático (ADACHI, TOYAMA e MATSUSHITA, 1997). A ADH ligada à membrana tem um pH ótimo de 4, mesmo podendo ser ativa em pH mais baixo, ela é independente de nicotinamida

adenina dinucleótido fosfato na forma oxidada (NADP⁺) e usa pirroloquina quinona (PQQ) como cofator (MATSUSHITA e MATSUTANI, 2016).

A enzima ALDH tem um pH ótimo em torno de 4 e 5, porém, assim como o ADH, é ativa em pH mais baixo e independe do NADP⁺. As duas enzimas possuem afinidade diferente pelo oxigênio, sendo a ALDH mais sensível, o que significa que pode ocorrer um acúmulo de acetaldeído se houver limitação de oxigênio dissolvido no meio, podendo ser tóxico para as bactérias. O ALDH pode ainda ser mais sensível à concentração de etanol do que o ADH, e assim apresentar maior acúmulo de acetaldeído caso o meio tenha alto teor alcoólico (JARA CAMPOS, 2009; GERARD, 2016).

Os gêneros *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* e *Komagataeibacter* podem oxidar completamente o ácido acético a CO₂ e H₂O por meio do ciclo de Krebs (YAMADA et al., 2012 citado por GERARD, 2016), porém só acontece quando não há etanol, pois, a presença dele no meio pode inibir essa oxidação e se acredita que esta seja uma mudança irreversível em seu metabolismo, pois quando o fazem não são mais capazes de oxidar o etanol (DRYSDALE e FLEET, 1989; RASPOR e GORANOVIC, 2008). Por este motivo, é importante que durante a elaboração de vinagres se mantenha uma baixa concentração de etanol (0,5 - 1,0%) para que essa oxidação completa do ácido acético previamente formado seja evitada (MAS et al., 2014). O gênero *Gluconacetobacter* não possui um ciclo de Krebs funcional, portanto, não é capaz de realizar esta oxidação completa do ácido acético (RASPOR e GORANOVIC, 2008; GERARD, 2016).

3.4.3 Isolamento das bactérias acéticas

As bactérias acéticas fazem parte da microflora epifítica primária de frutas, hortaliças e flores, por isso é comum que se isole as bactérias desses substratos. Com o principal objetivo de isolamento e identificação de bactérias acéticas inúmeras investigações foram realizadas, por exemplo, grupos de pesquisadores dos países do Sudeste Asiático (Indonésia, Tailândia e Filipinas), as isolaram de: flores, frutas, creme de coco, açúcar mascavo, alimentos fermentados, pasta de soja etc. (YAMADA et al., 1999; KOMAGATA et al., 2014 apud GERARD, 2016). Normalmente, as espécies de *Gluconobacter* estão associadas a ambientes ricos em carboidratos, enquanto as espécies de *Acetobacter* podem ser encontradas em nichos enriquecidos com álcool (RASPOR e GORANOVIC, 2008).

A dificuldade de crescimento nos meios de cultura usuais tem sido um dos principais problemas para o estudo das bactérias acéticas de processos fermentativos (vinhos, vinagres). Quando as bactérias acéticas passam de um meio rico em etanol/ácido acético para um meio de cultura laboratorial que precisa desses componentes ou os contêm em concentrações mais baixas, pode gerar um estresse nessas bactérias acéticas, dificultando seu crescimento em meios de cultura usuais (GERARD, 2016).

Os meios de nutrientes para o isolamento e crescimento de bactérias acéticas podem variar, principalmente nos tipos de fontes de carbono que estão incluídas, pois cepas de diferentes ambientes ou nichos diferem em suas necessidades nutricionais. Para o isolamento e crescimento de cepas originárias de ambientes ricos em etanol e ácido acético, o uso de meios contendo etanol e ácido acético é recomendado (GULLO e GIUDICI, 2008).

3.5 PESQUISAS RECENTES EM FERMENTAÇÃO ACÉTICA

A produção de vinagre, como foi visto anteriormente, é uma prática bastante antiga. Entretanto, no decorrer dos anos, diversas pesquisas continuam sendo desenvolvidas com o intuito de desenvolver novos produtos como também aperfeiçoar os já existentes no mercado. Um dos trabalhos encontrados teve como objetivo produzir vinagre de suco fermentado de jambolão por meio do método lento, obtendo assim uma grande atividade antioxidante e um elevado teor de compostos fenólicos. A autora também produziu geleia mãe através de vinagres industriais para assim poder analisar suas características físico-químicas e microbiológicas (DUTRA, 2021).

Davies et al. (2021) analisaram as variações de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante durante a obtenção de vinagre balsâmico de mirtilos, demonstrando que a produção deste tipo de vinagre pode abrir uma possibilidade de reduzir perdas por descarte de frutos e ainda obter produtos de valor agregado com características saudáveis. Já Barbosa et al. (2020) produziram um vinagre de manga através do método lento, ou método de Orleans, como resultado obtiveram níveis significativos de carotenoides e fenólicos neste vinagre.

Outra pesquisa desenvolvida por Siqueira et al. (2021) produziram vinagre a partir de polpa de mangaba por fermentação alcoólica semissólida com ação enzimática por meio da pectinase. Além da produção, os autores se dispuseram a investigar a composição química e avaliar sensorialmente o produto final. Como resultado, viram que os parâmetros de cor, pH e acidez volátil apresentaram forte influência no produto, e os atributos sensoriais cor e aroma

apresentaram uma forte correlação positiva entre si. O produto teve uma boa aceitação pelos provadores e foi comprovado o seu potencial antioxidante.

Souza (2023) realizou uma pesquisa para desenvolver vinagre de kombucha a partir de chá de hibisco, chá verde e chá verde com abacaxi adocicados com mel, porém após 45 dias de fermentação acética, a acidez ficou abaixo da recomendada pela legislação. Mesmo assim, as características sensoriais encontradas foram satisfatórias, pois o longo tempo da fermentação conferiu aos produtos propriedades e sabor característicos de vinagre.

4. METODOLOGIA

4.1 MATÉRIA-PRIMA

Os frutos de sapoti foram adquiridos na Ceasa do município de João Pessoa – PB, em estágio inicial de maturação. Os frutos foram levados para o Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA) do Departamento de Engenharia Química da UFPB, e lá foram deixados em temperatura ambiente (25 °C) até a maturação completa. Após estarem maduros o suficiente, foram lavados em água corrente e sanitizados com solução de 50 ppm de hipoclorito de sódio por 5 minutos, enxaguados e colocados em cestas perfuradas por 2 horas, para escoamento da água de sanitização. Os frutos secos passaram por uma seleção para a exclusão dos deteriorados e seguiram para a etapa do corte e descasque, onde foram retiradas as cascas e as sementes manualmente. A polpa do sapoti foi armazenada em freezer (-18°C) até a realização da extração do caldo. Os frutos, as sementes e os resíduos foram devidamente pesados para o cálculo de rendimento da extração.

4.2 EXTRAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI

Para a obtenção do caldo de sapoti foi utilizado um sistema de prensa hidráulica de acionamento manual com capacidade de 30 toneladas, marca SKAY. Devido às características do material a ser extraído, foram usados sacos de algodão forrando o interior do cilindro da prensa. Após a extração, o caldo foi filtrado com o auxílio de uma peneira comum. Retirou-se uma alíquota para realização de análises físico-químicas, e o restante do caldo acondicionado em garrafas PET (5 L) e armazenado em freezer, em temperatura de -18 °C, até o momento da realização da fermentação alcoólica.

4.2.1 Clarificação do caldo de sapoti

O processo de clarificação do caldo de sapoti foi realizado em maio de 2022 no LBA, utilizando gelatina incolor. Em um béquer foi adicionado 1 L de caldo de sapoti junto com aproximadamente 1 g de gelatina sem sabor, a temperatura ambiente (25 °C). Para evitar a formação de grumos, a mistura foi agitada com um bastão de vidro. Em seguida, a solução ficou em repouso por 40 minutos, para depois ser filtrada com funil e papel de filtro. O líquido filtrado foi armazenado em uma temperatura de aproximadamente -18 °C até que fosse realizada a análise de pectina (ARAÚJO e COSTA JÚNIOR, 2018).

4.2.2 Análise de pectina do caldo de sapoti

A análise de pectina foi realizada nos laboratórios de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA), do Departamento de Engenharia Química; de Tecnologia de Alimentos (LTA) e de Engenharia de Alimentos (LEA), do Departamento de Engenharia de Alimentos, todos da UFPB. A análise foi feita no caldo clarificado e no não clarificado, de acordo com a metodologia de Araújo e Costa Júnior (2018). Para se obter a porcentagem de pectato de cálcio presente na amostra foi necessário a utilização da Equação 4.1.

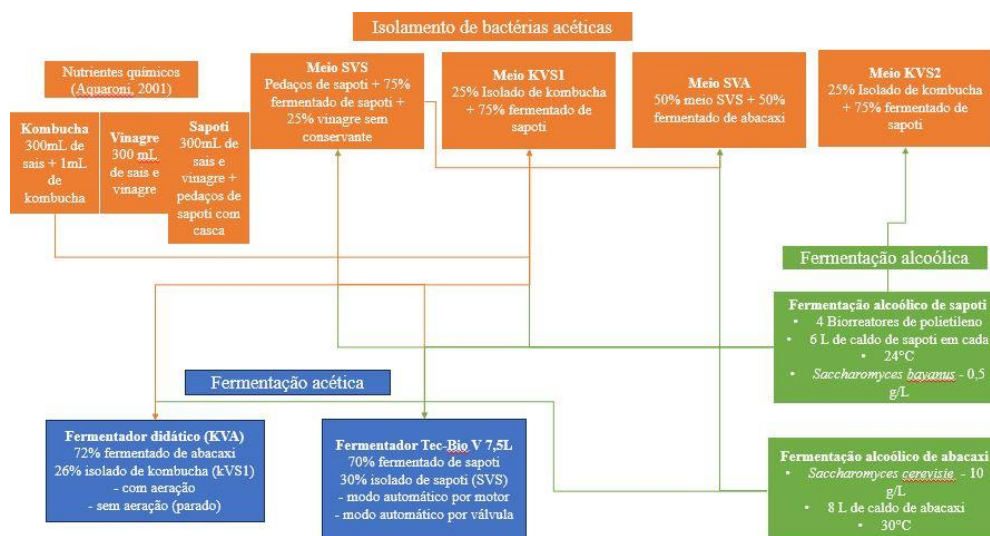
$$\% \text{ Pectato de cálcio} = \frac{\text{Peso do pectato de cálcio} \times 600 \times 100}{\text{mL do filtrado tomado} \times \text{peso da amostra}} \quad (4.1)$$

Após a realização das análises nos caldos clarificados e não clarificados, foi realizada uma comparação da pectina encontrada nos caldos e em outros trabalhos que utilizaram a mesma metodologia, para avaliar a viabilidade do processo de clarificação neste trabalho.

4.3 OBTENÇÃO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS

Para a obtenção das bactérias acéticas usadas para produzir o vinagre foram realizados vários testes preliminares utilizando dois tipos de fermentado alcoólico, um de sapoti e outro de abacaxi. A Figura 4.1 apresentaram os testes que foram realizados antes de escolher a melhor forma de isolamento.

Figura 4.1 – Testes preliminares utilizados para determinar o melhor isolamento e o método da fermentação acética



Após os testes preliminares, optou-se por utilizar as bactérias acéticas que foram obtidas de duas formas, pelo isolamento das bactérias naturais do próprio sapoti, e pela utilização de bactérias provenientes de kombucha, produzida de forma caseira. O processo foi realizado no Laboratório de Produtos Fermentados e Destilados (LPFD) e no Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA), ambos do Departamento de Engenharia Química da UFPB.

Para a realização deste experimento, utilizou-se um fermentado de sapoti com teor alcoólico de 8 °GL, obtido em trabalhos anteriores no LBA, como fonte de nutrientes para o desenvolvimento dessas bactérias. Foram feitos dois tipos de meio de cultura, um com o isolado de kombucha (KVS1) e outro com pedaços de sapoti com casca (SVS). Para a obtenção do meio KVS1 foi utilizado 75% de fermentado de sapoti e 25% do isolado de kombucha obtido em testes preliminares que continha uma mistura de sais, etanol e vinagre de maçã industrial. Para o meio SVS, foram adicionados 75% de fermentado de sapoti, 25% de vinagre de maçã industrial e pedaços de sapoti com casca. Na Figura 4.2 são exibidos os dois meios produzidos utilizando o fermentado de sapoti.

Figura 4.2 – Meio de cultura com isolado de kombucha (KVS1) e com pedaços de sapoti (SVS)



Para controle do processo, foram realizadas análises de acidez total e pH (IAL, 2008) em todos os meios. O controle do SVS se deu em duas etapas, a primeira durou 56 dias, sendo realizadas 5 coletas nesse período. Após um mês do fim da primeira etapa, se iniciou a segunda que durou ao todo 16 meses. Eram feitas coletas 3 vezes no mês, e pela longa

duração do processo, optou-se por utilizar a média da acidez total dessas coletas no resultado. Com relação ao meio KVS1, para o controle foram feitas 4 coletas.

Por questões de contaminação, foi necessária a obtenção de um novo meio de cultura utilizando isolado de kombucha (KVS2) que tinha na sua formulação apenas o fermentado de sapoti (83,3%), agora obtido da fermentação alcoólica do sapoti descrito no item 4.5, e 16,7% de um isolado de kombucha caseira. O controle do processo deste meio durou 106 dias, sendo coletadas amostras para análise de acidez total e pH a cada 5 ou 6 dias por mês.

4.5 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO CALDO DE SAPOTI

A fermentação alcoólica do caldo de sapoti foi realizada em quatro biorreatores de polietileno, com capacidade de 6 L/cada, em temperatura controlada (24 °C) e em sistema de batelada. Em cada biorreator foi adicionado 5 L de caldo de sapoti. A levedura utilizada foi a *Saccharomyces bayanus* da marca RED STAR numa quantidade de 0,5 g/L, conforme recomendação do fabricante. Foi realizado um acompanhamento cinético do processo fermentativo dos biorreatores a cada dois dias inicialmente, determinando os seguintes parâmetros: sólidos solúveis totais (°Brix), utilizando um densímetro apropriado para 100 mL de amostra; pH, utilizando um pHmetro de bancada modelo mPA-210 da marca MS Tecnopon; acidez total por titulação, utilizando metodologia descrita por IAL (2008); teor alcoólico (°GL), utilizando um ebuliômetro, açúcares redutores (AR), açúcares totais (ART) e açúcares não redutores (ANR), determinados pelo método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Miller (1959); e concentração de biomassa (g/L), utilizando metodologia descrita por Florentino (2006), no início e no final da fermentação. A fermentação se encerrou quando o teor alcoólico dos mostos se estabilizou. Finalizado o processo fermentativo, os sobrenadantes foram separados da parte sólida por decantação e armazenados em freezer numa temperatura de -18°C para a fermentação acética.

4.6 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

Diante dos testes preliminares realizados, optou-se pela utilização do método lento, ou método de Orleans, para a realização da fermentação acética. Para este fim, foram utilizados dois biorreatores de polietileno com capacidade de 8 L (Figura 4.3), onde colocou-se 75% de fermentado alcoólico de sapoti e 25% de inóculo à temperatura ambiente.

Figura 4.3 – Biorreatores de polietileno usados para a fermentação acética



Em um biorreator se utilizou um inóculo de bactérias de uma kombucha cedida por um produtor artesanal (KVS2), e no outro biorreator foi adicionado um inóculo de bactérias obtidas do próprio fruto do sapoti (SVS). As amostras eram recolhidas duas vezes na semana para a análise de acidez total, pH e teor alcoólico. Após o vinagre apresentar um teor alcoólico abaixo de 1 °GL e ultrapassar 4% de teor acético, ele foi retirado do biorreator, filtrado à vácuo (Figura 4.4), engarrafado em garrafas previamente sanitizadas (Figura 4.5) e pasteurizado para a realização da caracterização do produto.

Figura 4.4 – Filtração à vácuo do vinagre de sapoti



Figura 4.5 – Processo de engarrafamento do vinagre de sapoti



4.7 PASTEURIZAÇÃO

A pasteurização foi realizada em garrafas de vidro hermeticamente fechadas. Inicialmente as garrafas foram colocadas em equipamento banho maria na temperatura de 65 °C por 30 minutos (Figura 4.6). Após esse período, as garrafas foram imersas em banho de gelo (0 °C) (Figura 4.7).

Figura 4.6 – Garrafas no banho maria



Figura 4.7 – Garrafas no banho de gelo



4.8 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA E DOS PRODUTOS

O caldo de sapoti e os fermentados alcoólicos foram caracterizados quanto aos seguintes parâmetros: acidez total, sólidos solúveis totais (SST), açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e açúcares não redutores, pH. A análise da atividade antioxidante pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS e a dos compostos fenólicos totais foi realizada apenas no caldo e no fermentado acético.

Os fermentados acéticos obtidos foram caracterizados quanto a acidez total, acidez fixa, acidez volátil, pH, teor alcoólico, extrato seco reduzido, açúcares redutores, açúcares redutores totais, açúcares não redutores, densidade relativa, sulfato de potássio e cinzas para verificar se eles atendiam as especificações da legislação vigente (BRASIL, 2012).

As metodologias utilizadas estão apresentadas na Tabela 4.1. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

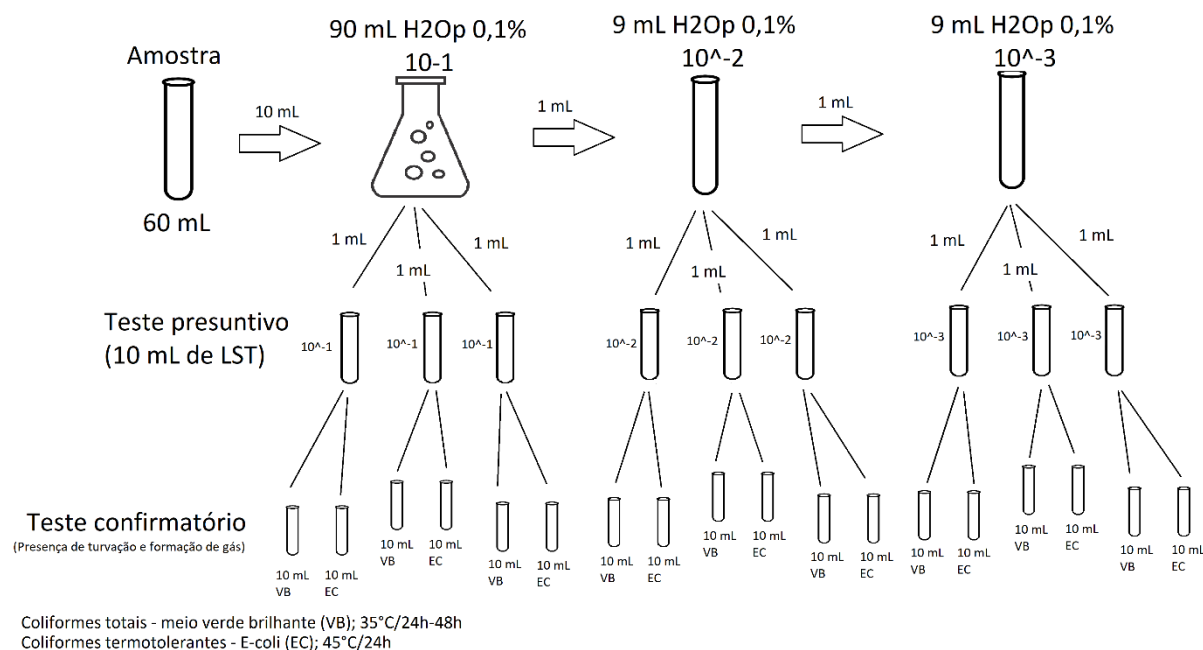
Tabela 4.1 – Metodologias utilizadas para caracterização da matéria-prima e dos produtos obtidos.

Análise	Metodologia
Acidez Total	Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008)
Acidez Volátil	Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008)
Acidez Fixa	Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008)
pH	Leitura direta em pHmetro de bancada
Teor alcoólico	Ebuliometria
Sólidos Solúveis Totais (SST)	Leitura direta em refratômetro de campo, previamente calibrado
Açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e açúcares não redutores	Método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Miller (1959)
Atividade Antioxidante	Método DPPH, de acordo com Silva Júnior et al. (2021); Método FRAP descrito por Benzie e Strain (1996); Método ABTS pelo método de Saimaiti et al. (2022)
Compostos Fenólicos Totais	Slinkard e Singleton (1977)
Extrato seco reduzido	BRASIL (2005)
Densidade relativa	BRASIL (2005)
Sulfato de Potássio	BRASIL (2005)
Cinzas	Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008)

4.9 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes foram utilizados 10 mL da amostra de vinagre e mais 10 mL de amostra neutralizada, com o objetivo de verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes, em uma diluição de até 10^{-3} . A primeira etapa da análise era o teste presuntivo, onde a partir da formação ou não de gases e turvação, era possível ter uma suspeita da presença de coliformes totais e termotolerantes. Após esta etapa, foi feita uma confirmação da contaminação na amostra, como mostra a Figura 4.8 (HUNT e RICE, 2005). Como as amostras analisadas eram ácidas, foi realizada uma neutralização em uma delas para verificar a influência da acidez no experimento.

Figura 4.8 –Análise de coliformes totais e termotolerantes



4.10 ANÁLISE SENSORIAL DO VINAGRE

Avaliou-se, por meio de alfaces frescas, as características sensoriais do vinagre de sapoti e de um vinagre comercial de maçã.

Foram recrutados julgadores de ambos os gêneros, a eles foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE G), norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), autorizando sua participação voluntária na pesquisa, informando sobre a natureza desta, objetivos, finalidade, riscos potenciais e/ou incômodos. Foi adotado como critério de seleção dos julgadores a disponibilidade e o interesse em realizar o teste, pois nem todos eram consumidores de vinagre de fruta.

A análise sensorial foi realizada utilizando testes de aceitação e intenção de compra com 57 julgadores não treinados. Para o teste de aceitação foram analisados os atributos cor, aroma, sabor, acidez, e aceitação global, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (APÊNDICE H), variando de uma extremidade a outra desde “gostei muitíssimo” com nota igual a 9 à “desgostei muitíssimo”, com nota igual a 1, com a mediana de “nem gostei, nem desgostei” (DUTCOSKY, 2011).

Além da atribuição de notas para cada amostra, os julgadores responderam sobre a atitude em adquirir os produtos. Para avaliação dessa atitude foi utilizada a escala estruturada de 5 pontos, na qual 5 representa a nota máxima "compraria" e 1 representa a nota mínima "não compraria", empregando os procedimentos descritos para análise sensorial (DUTCOSKY, 2011).

O teste foi realizado com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CAAE – 70386523.9.0000.5188), para atender às exigências éticas e científicas dispostas na Resolução 466/ 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 2012) (ANEXO A).

4.11 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados das determinações foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a um nível de confiança de 95%. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. Foi utilizado o pacote estatístico Statistica®, versão 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO SAPOTI

Na Tabela 5.1 estão os valores do peso dos frutos após amadurecimento, da polpa, das sementes e dos resíduos, que incluem cascas e frutos descartados. Inicialmente, tinha-se 47,811 kg de sapotis, e após o corte, o descasque e a retirada das sementes, obteve-se 31,939 kg de polpa de sapoti. A quantidade de resíduos foi bastante elevada (15,109 kg) pois grande parte dos frutos apresentou características impróprias para utilização, sendo alguns maduros ou verde demais. O rendimento do processo de corte e descasque foi de 66,8%, valor abaixo do encontrado por Cavalcante (2022) (77,02%) e Neves (2021) (78,99%), ambos realizados no mesmo laboratório, LBA. Esse baixo rendimento pode ter sido causado pela quantidade excessiva de frutos descartados, resultado do amadurecimento descontrolado dos frutos.

Tabela 5.1 – Rendimento dos componentes do sapoti

Parâmetros	Massa (kg)	Rendimento (%)
Massa dos frutos	47,811	-
Massa da polpa	31,939	66,80
Massa das sementes	0,763	1,60
Resíduo	15,109	31,60

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI

Logo após a extração foram obtidos 18,06 L de caldo de sapoti com um SST de 27 °Brix. Com base em uma fermentação preliminar realizada com sapoti decidiu-se diluir o caldo para o SST 23 °Brix por meio da Equação 5.1:

$$V_a = \frac{B_c \times V_c}{B_d} - V_c \quad (5.1)$$

Em que:

V_a = volume de água a ser adicionada (L)

V_c = volume do caldo (L)

B_d = SST do caldo desejado (°Brix)

B_c = SST inicial do caldo (°Brix)

Ao realizar o cálculo, viu-se que seria necessário adicionar 3,14 L de água ao caldo para que ele chegasse a um SST de 23 °Brix. Portanto, ao final da diluição obtiveram-se 21,2 L de caldo com 23,2 °Brix. Por meio da Tabela 5.2 é possível observar os principais parâmetros do caldo de sapoti.

Tabela 5.2 – Caracterização do caldo de sapoti

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Mínimo Legislação (BRASIL, 2018)
pH	4,750 ± 0,01527	5,5
SST (°Brix)*	23,200 ± 0,0000	16,0
Acidez total (g/100g de ácido cítrico)	0,370 ± 0,0000	0,2
Açúcares redutores (g/100 mL)	19,754 ± 7,3560	-
Açúcares redutores totais (g/100 mL)	17,185 ± 3,2146	11,0
CFT (mg EAG/100 mL)*	17,203 ± 7,4844	-
AA – DPPH (µM Trolox/100 mL)*	15,164 ± 1,7543	-
AA – FRAP(µM Trolox/100 mL)*	58,758 ± 2,9171	-
AA – ABTS (µM Trolox/100 mL)*	71,711 ± 11,7137	-

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

O valor de pH do caldo foi 4,75, sendo mais baixo que o valor mínimo exigido por Brasil (2018). Cavalcante (2022) obteve um valor de pH parecido, 4,97 para caldo de sapoti, valor bem abaixo do encontrado por Santos et al. (2020) nas polpas de sapoti (pH 6,65) e mais próximo ao de Soares (2018) que também na polpa de sapoti encontrou um pH de 5,55. Quanto ao valor de sólidos solúveis totais (SST), o caldo deste trabalho apresentou, após a diluição, um valor de 23,2 °Brix. Antes da diluição o SST do caldo de sapoti era 27 °Brix, semelhante ao de Cavalcante (2022) que foi 26,2 °Brix no caldo de sapoti, ambos maiores que o mínimo indicado na legislação (16 °Brix). Santos et al. (2020) obtiveram um SST de 13,0 °Brix na polpa de sapoti enquanto Soares (2018) encontrou no mesmo fruto um valor de 20,2 °Brix. O valor dos sólidos solúveis é de extrema importância porque pode indicar se o fruto é muito açucarado, o que vai influenciar no processo de fermentação.

A análise de açúcar realizada pelo método DNS apresentou erro, pois o valor de ART mostrou-se menor que o valor de AR, com relação ao caldo e a cinética da fermentação, mantendo este comportamento após inúmeras repetições. Uma das hipóteses é que o caldo de

sapoti tenha praticamente só açúcares redutores, pois a quantidade dele parece ser semelhante à de açúcar total. Outra hipótese é que pode ter ocorrido um erro na análise de açúcar total na etapa de hidrólise, o ácido clorídrico adicionado com o intuito de hidrolisar a amostra pode ter sido evaporado com os tubos abertos, prejudicando o processo e influenciando no valor final. Uma solução seria fechar os tubos na etapa do aquecimento para evitar evaporação.

O valor dos compostos fenólicos totais é um balanço das substâncias de todos os compostos que formam as subclasses dos compostos fenólicos em uma amostra. O teor presente no caldo de sapoti foi de 17,2035 mg EAG/100 mL, um pouco mais elevado que o obtido por Cavalcante (2022) em caldo de sapoti extraído da mesma forma, por meio de prensa hidráulica (11 mg EAG/100 mL), e muito menor que o que Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) obtiveram ao avaliar o suco de sapoti (46,98 mg EAG/100 mL). Morais (2018) também realizou a análise de compostos fenólicos totais na polpa do sapoti, encontrando valores entre 9,86 e 16,24 mg EAG/100 mL. O presente trabalho, Morais (2018) e Cavalcante (2022) analisaram frutos de sapoti originários da região Nordeste do Brasil, enquanto Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) utilizaram sapotis da região de Kuala Kurau na Malásia, o que pode influenciar nas características do caldo.

A atividade antioxidante determinada por meio do método de sequestro do radical DPPH foi de 15,164 μ M Trolox/100 mL, enquanto Morais (2018) e Cavalcante (2022) obtiveram no sapoti valores de 12,6 μ M Trolox/100 g e 6,012 μ M Trolox/100 g, respectivamente, onde o valor encontrado por Morais (2018) foi semelhante ao deste trabalho com o caldo do sapoti, já Cavalcante (2022) encontrou um teor de atividade antioxidante muito elevado por este método.

Pelo método FRAP, a atividade antioxidante foi 58,758 μ M Trolox/100 mL para o caldo de sapoti, enquanto Morais (2018) obteve 52,64 μ M Trolox/100 mL na polpa de sapoti, valores bastante parecidos. Cavalcante (2022) encontrou valores bastante elevados (42,894 μ M Trolox/100 mL) no caldo de sapoti, comparados aos de Morais (2018) e aos deste trabalho. Pelo método ABTS o valor da atividade antioxidante do caldo do sapoti foi maior que o obtido pelos outros métodos, chegando a 71,711 μ M Trolox/100 mL, enquanto Cavalcante (2022) com polpa de sapoti obteve 46,203 μ M Trolox/100 g.

Foi possível obter, em percentagem de pectato de cálcio, a quantidade de pectina presente no caldo de sapoti. Após toda a análise descrita no item 4.4.2, obteve-se, em um papel de filtro seco em estufa a 105 °C por 12 horas, uma camada gelatinosa seca de cor amarela, tanto na amostra clarificada (Figura 5.1) quanto na não clarificada (Figura 5.2).

Figura 5.1 – Amostra clarificada de caldo de sapoti após análise de pectina



Figura 5.2 – Amostra não clarificada de caldo de sapoti após análise de pectina



A amostra que era proveniente de caldo não clarificado era um pouco mais turva que a outra, e nas Figuras 5.1 e 5.2 é possível notar uma diferença na concentração do gel, indicando que a amostra não clarificada possuía mais pectina que a clarificada. Entretanto, só foi possível ter a certeza após a aplicação da Equação 4.1, em que são utilizados a massa da amostra (Tabela 5.3) após secagem, a quantidade de caldo usado e a quantidade de amostra filtrada que foi tomada.

Tabela 5.3 – Massa das amostras clarificadas e não clarificadas de caldo de sapoti

Não clarificada			
Amostras	Massa papel	Massa final	Massa da amostra
1	1,88	2,03	0,15
2	1,87	2,07	0,20
3	1,84	2,02	0,18
Clarificada			
Amostras	Massa papel	Massa final	Massa da amostra
1	1,91	2,02	0,11
2	1,89	1,95	0,06
3	1,90	2,01	0,11

Observando o peso da amostra já é possível comparar que a amostra clarificada, nas três medições, apresentou um peso menor que a amostra não clarificada. Com a aplicação da Equação 4.1 obteve-se o resultado observado na Tabela 5.4, onde foi comprovado que na amostra não clarificada encontrou-se uma quantidade maior de pectato de cálcio, chegando a 0,9815 %, enquanto a clarificada obteve 0,5324 % de pectato de cálcio.

Tabela 5.4 – Quantidade de pectato de cálcio nas amostras clarificadas e não clarificadas de caldo de sapoti

Amostra	% Pectato de cálcio
Não clarificada	0,9815 ± 0,14
Clarificada	0,5324 ± 0,18

Sebastião (2015) em seu trabalho determinando pectina na polpa de araçá amarelo por meio da mesma metodologia usada neste trabalho, obteve um valor de 0,64 % de pectato de cálcio, inferior ao obtido nas amostras não clarificadas do caldo de sapoti e superior às amostras clarificadas. Já Damiani (2009) obteve 0,72 % de pectina na polpa de araçá, valor superior a Sebastião (2015) e inferior a este trabalho. Ambos os autores consideraram seus valores de pectato satisfatórios, comparados a Rodrigues (2009), que obteve 4,61 % de pectina no mesmo fruto que eles utilizaram.

Torres, Queiroz e Figueirêdo (2003) utilizaram a mesma metodologia para identificar a presença de pectina em polpas de umbu cajá com teor de sólidos solúveis variados. Com 21 °Brix a polpa de umbu cajá possui uma quantidade de 0,8525 % de pectato de cálcio, superior à amostra clarificada e inferior à não clarificada de caldo de sapoti. Já com 24 °Brix, que é o que mais se aproxima do SST do caldo de sapoti deste trabalho (23 °Brix) apresentou 1,0005 % de pectato de cálcio, valor superior às duas amostras de caldo de sapoti, tanto a clarificada

quanto a não clarificada. Portanto, quanto maior a concentração de sólidos solúveis maior é quantidade de pectina nas amostras.

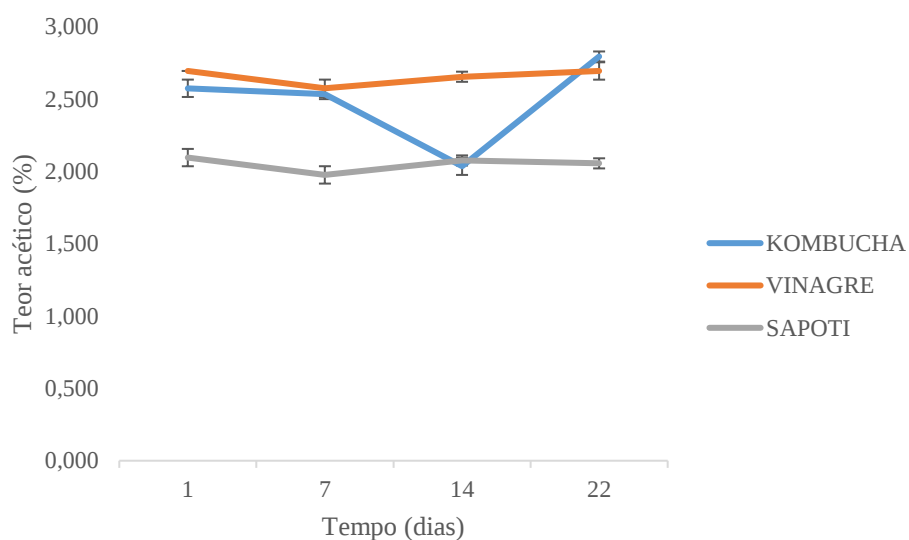
Comparando os valores encontrados neste trabalho com o desenvolvido por Rodrigues (2009) trabalhando com a polpa de araçá (4,61 % de pectato de cálcio), considerou-se baixo o valor do pectato de cálcio das amostras clarificadas e não clarificadas, não apresentando necessidade de realizar o processo de clarificação em todo o caldo de sapoti para o processo de fermentação.

5.3 OBTENÇÃO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS

5.3.1 Testes preliminares

De acordo com o que foi descrito pela Figura 4.1, foram realizados testes preliminares do isolamento de bactérias acéticas e de métodos de fermentação acética. O primeiro isolamento foi utilizando a adição de nutrientes, onde os teores acéticos dos meios apresentaram o comportamento a seguir.

Figura 5.3 - Teor acético dos meios de cultura com kombucha, vinagre e com pedaços de sapoti



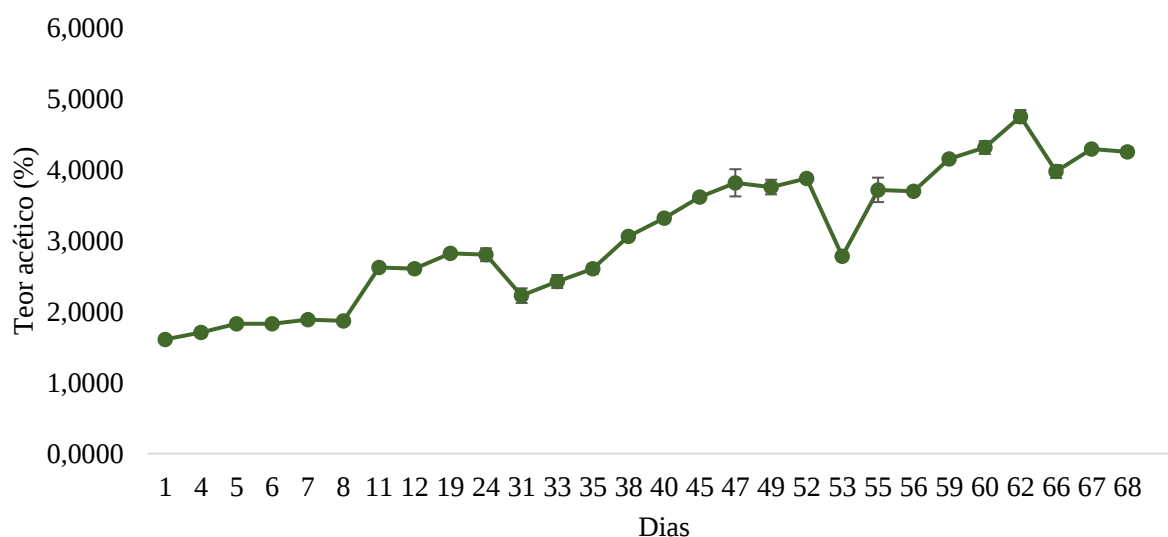
Este acompanhamento durou 22 dias e foi visto que nem o meio com sapoti nem o que continha somente vinagre apresentou a formação de camada de celulose, diferente do meio que continha kombucha, que logo nos primeiros dias de observação mostrou a formação da

célula mãe, característica do produto. Os sais utilizados para a obtenção do meio de cultura deste teste são de origem laboratorial, e não foram idealizados para serem usados como nutrientes para alimentos. Isto pode ter sido a causa da não sobrevivência dos microrganismos que estavam sendo cultivados, exceto o que continha kombucha.

Tendo em vista os resultados apresentados pelo meio com kombucha, que mostrou uma boa capacidade de crescimento e formação da camada de celulose, decidiu-se manter o experimento com este meio para a inoculação em fermentado de sapoti para obtenção do vinagre e descartou-se os meios com apenas vinagre e com pedaços de sapoti.

Para a realização dos testes também foi realizada uma fermentação alcoólica de caldo de abacaxi, que durou 19 horas e obteve um teor alcoólico de 7,4 °GL. O teste de isolamento que utilizou este fermentado alcoólico foi o teste SVA, que continha também o meio SVS, obtido com pedaços de sapoti. No decorrer do controle do teor acético (Figura 5.4) foi observado um potencial meio para isolar bactérias acéticas pois houve um aumento nos valores da acidez total com relação aos outros testes. O teor acético apresentou um grande crescimento, chegando até o valor de 4,7515%, mostrando que as bactérias que estavam sendo cultivadas no isolamento SVS tinham potencial para produzir vinagre a 4%.

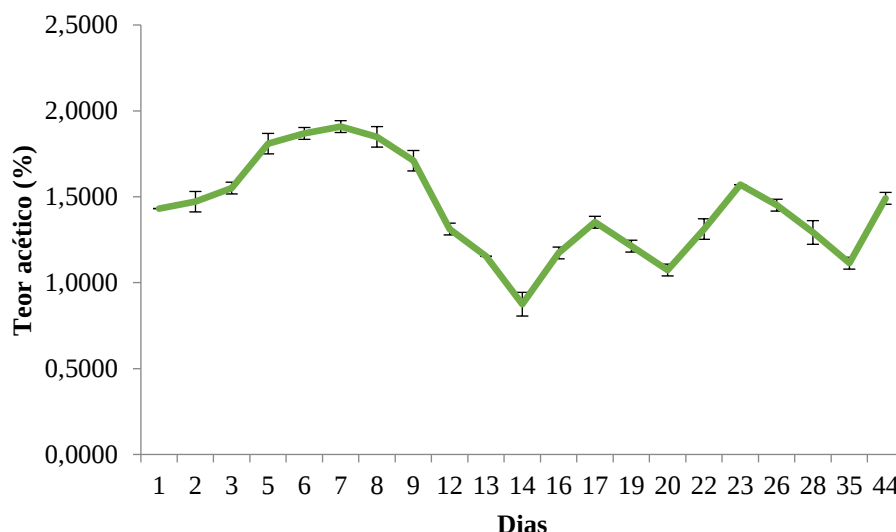
Figura 5.4 – Teor acético do isolado de sapoti com fermentado de abacaxi (SVA)



Como o objetivo do trabalho é o isolamento de bactérias acéticas do próprio sapoti com fermentado de sapoti, os testes feitos com o fermentado de abacaxi, obtido para aprimorar o aprendizado do processo de fermentação, não serão usados para a produção do vinagre de sapoti, mesmo apresentando ótimos resultados.

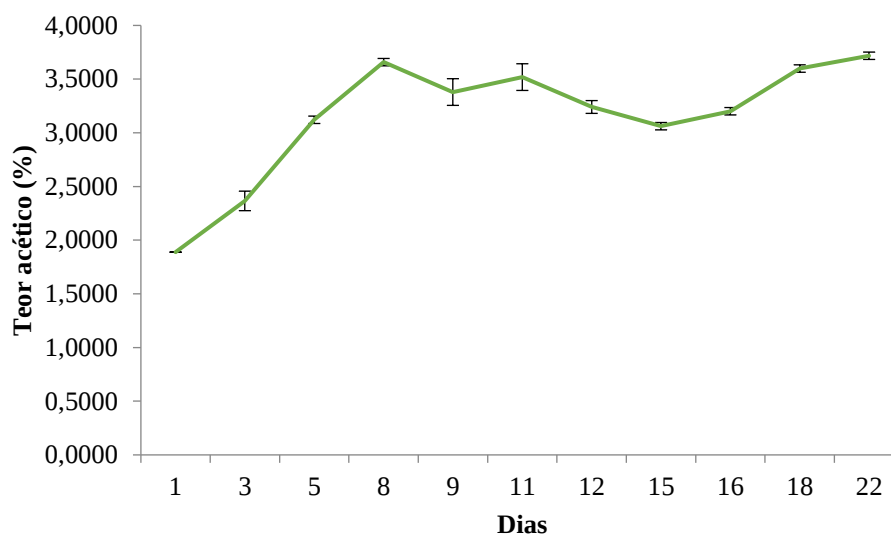
Com relação às metodologias de fermentação acética foram testadas duas. A primeira utilizou um biorreator didático contendo bactérias da kombucha e fermentado alcoólico de abacaxi (KVA). Em nenhum dos dias de coleta o teor acético chegou em 2%, Quando a acidez começava a diminuir, era adicionado uma quantidade de cachaça com 40% (v/v) no fermentador, para que o teor alcoólico chegasse a 7%. Assim, nestes momentos, o teor acético voltava a subir, mas passando aproximadamente dois dias, voltava a cair. A Figura 5.5 mostra o comportamento da acidez total durante a fermentação acética neste biorreator aerado.

Figura 5.5 – Acidez Total (% de ácido acético) durante fermentação acética do isolado de kombucha (KVS1) e fermentado alcoólico de abacaxi (KVA), com aeração



Um teste também foi realizado com o KVA sem aeração, em um recipiente de vidro, e viu-se que os valores de teor acético apresentaram um crescimento considerável, chegando a um valor de 3,7177 %. A Figura 5.6 mostra o comportamento da curva do teor acético, com poucas quedas e muito crescimento.

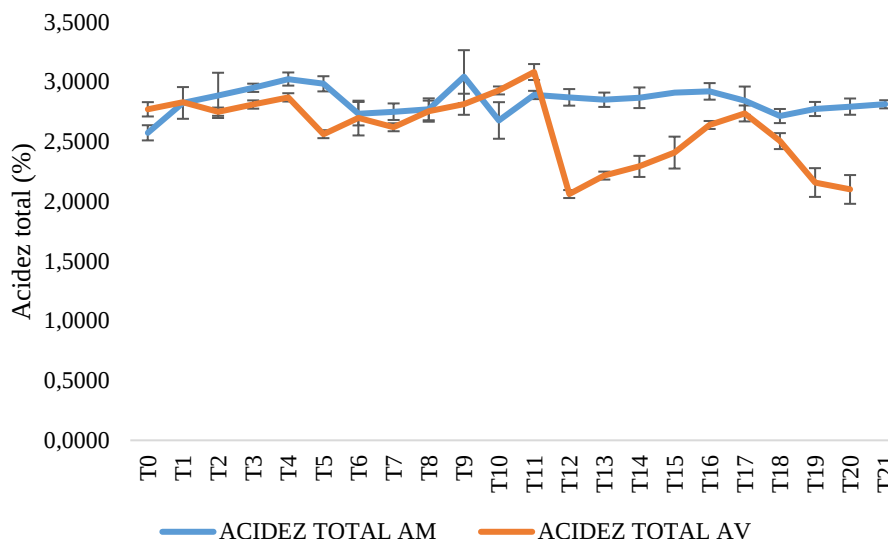
Figura 5.6 – Teor acético durante fermentação acética do isolado de kombucha (KVS1) e fermentado alcoólico de abacaxi (KVA), sem aeração



O outro teste de fermentação acética foi utilizando o biorreator Tec-Bio V 7,5L. O equipamento foi utilizado primeiramente no modo automático por motor, onde era necessário adicionar um valor de referência para a saturação do oxigênio, sendo para este experimento um valor de 100% de saturação. O motor era ligado e a agitação iniciava à medida que esse valor de oxigênio sofria modificações no decorrer do processo. O teor do oxigênio (%) e da agitação causada pelo motor (rpm) podem ser encontradas no APÊNDICE C.

O experimento realizado neste modo não obteve a evolução que estava sendo esperada pois a acidez total se manteve estável durante todo o processo como é possível observar nos valores apresentados no APÊNDICE D e no gráfico da Figura 5.7, onde a acidez total do modo automático por motor é comparada com a acidez obtida no modo automático por válvula.

Figura 5.7 – Comparação entre o comportamento da acidez total durante a fermentação acética do caldo de sapoti e isolado de bactérias do próprio sapoti (SVS), utilizando Biorreator Tec-Bio V 7,5 L, no modo Automático por motor (AM) e Automático por Válvula (AV)



No modo Automático por válvula, a rotação do motor é predeterminada, e a entrada de ar é controlada por uma válvula que é aberta sempre que é necessário, relacionada com a pressão dentro do biorreator. Ainda na Figura 5.7 observa-se que no primeiro modo a acidez se manteve constante, chegando a um valor de 3%, e no segundo modo houve bastante instabilidade, necessitando de uma adição de 2 L de fermentado alcoólico de sapoti no tratamento T12.

Ao final do teste foi visto que as bactérias do sapoti não conseguiram se adaptar em ambiente sob agitação, e provavelmente conseguem se adaptam melhor em um ambiente parecido com o que elas foram isoladas. As bactérias podem ter morrido também graças a presença dos metais do biorreator, pois as bactérias são sensíveis a metais pela reação de oxirredução. Por este motivo, optou-se por realizar uma fermentação acética parada em um biorreator, do mesmo modo que essas bactérias foram obtidas.

5.3.2 Obtenção das bactérias do próprio fruto sapoti (SVS)

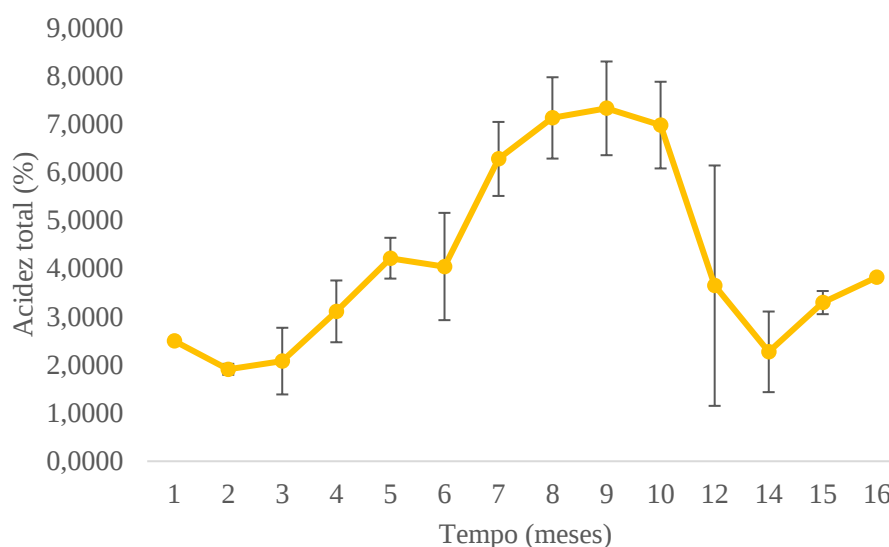
Na fase inicial a acidez total deste meio era 3,3328% e foi diminuindo até 2,5145% no 56º dia. Na Tabela 5.5 estão apresentados os valores de acidez total titulável do meio SVS nesta primeira fase do isolamento.

Tabela 5.5 – Acidez total do meio SVS na primeira fase do isolamento

Dia	Acidez Total Titulável (%)
1	$3,3328 \pm 0,035$
10	$2,5145 \pm 0,060$
13	$2,9935 \pm 0,060$
50	$2,9536 \pm 0,035$
56	$2,5145 \pm 0,060$

A segunda etapa do isolamento se iniciou um mês após o término da primeira fase e durou ao todo 450 dias, de agosto de 2022 até novembro de 2023. Foram realizadas nesta etapa as análises de acidez total titulável e pH para o controle da acidez do meio. Antes da primeira análise, o meio foi alimentado com uma quantidade de fermentado de sapoti correspondente a 20% do volume total do inóculo presente no recipiente, apresentando uma acidez total de 2,4851% e um pH de 3,41. De acordo com a Figura 5.8, que apresenta o comportamento das médias da acidez total (%) nos meses de agosto de 2022 a novembro de 2023, é possível observar que do mês 1 ($2,4950\% \pm 0,0450$) ao mês 2 ($1,9085\% \pm 0,1136$) houve uma queda na acidez que foi causada pela falta de acompanhamentos cinéticos, responsáveis por identificar quando o meio necessita de alimentação. Pela provável falta de álcool no meio durante este período, as bactérias presentes acabaram consumindo o ácido acético produzido por elas mesmas e o valor da acidez caiu.

Figura 5.8 – Comportamento da acidez total do meio SVS em 16 meses



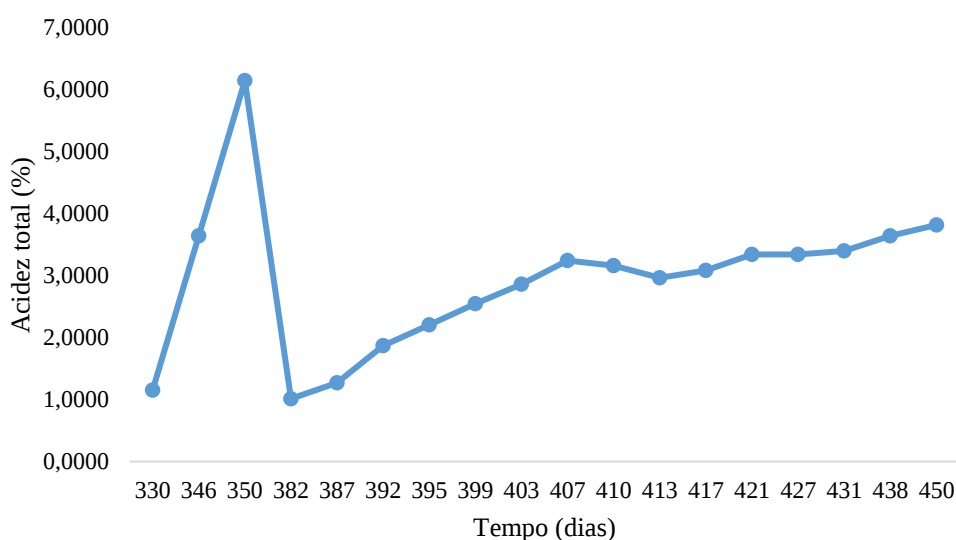
Do 5º ao 6º mês houve mais uma queda nos valores de acidez do meio, pois no mês 5 foi realizada uma troca de recipiente que armazenava o inóculo. Esta mudança aconteceu com

o objetivo de aumentar o volume do inóculo para a realização da fermentação acética, que necessitaria de uma quantidade maior de inóculo. A adição de mais fermentado de sapoti ao meio fez com que houvesse uma diluição, diminuindo assim a acidez do inóculo.

Do 2° ao 9° mês, o comportamento da acidez foi, em sua maioria, de forma crescente, alcançando no 5° mês um valor de acidez total superior total ao que é exigido na legislação ($4,2147\% \pm 0,4236$). A acidez média mais alta obtida foi no 9° mês, chegando a $7,3260\% \pm 0,9727$. Como este valor estava muito acima do indicado na legislação, realizou-se uma nova diluição para que a acidez total do inóculo ficasse entre 4 e 6%, por este fato, a partir do 10° mês é notório uma diminuição na média de acidez do inóculo.

Ainda no 10° mês foi iniciada uma fermentação acética testando um biorreator da marca Tec-bio V 7,5L. Para a realização deste teste preliminar usou-se uma quantidade elevada de inóculo SVS. Segundo a Figura 5.8, depois do 10° mês um decréscimo foi observado, devido às alimentações realizadas com o intuito de manter o álcool no meio e aumentar o volume do inóculo para um novo teste de fermentação acética. Somente após o 14° mês é possível notar um aumento na acidez, sendo esse crescimento mais lento do que os observados nos outros meses. No 12° mês, o desvio padrão da acidez foi bastante elevado chegando a 2,4950, pois foram realizadas apenas três coletas que variaram muito entre si ($1,1531\%$; $3,6381\%$; $6,1431\%$). Na Figura 5.9 podem ser observadas todas as análises feitas a partir do 12° mês até o 16° mês (expressas em dias), para melhor compreensão da evolução da acidez do meio SVS neste período.

Figura 5.9 – Variação da acidez total do meio SVS de julho a novembro de 2023



Na primeira coleta do 14º mês (Dia 382) houve uma diluição exacerbada do meio com o objetivo de aumentar o volume do inóculo em vista da realização de outra fermentação acética, isto fez com que a acidez total do meio caísse bastante de 6,1431% para 1,0139%, possivelmente sobrecarregando o meio de cultura com álcool e gerando um crescimento lento da acidez total até o 450º dia (16º mês). Os valores da acidez total e do pH das coletas durante os 16 meses estão dispostos no APÊNDICE A.

Por uma questão de prazos, não foi possível esperar que a acidez total do inóculo atingisse novamente os 4%, para assim ser utilizada na fermentação acética. Portanto o inóculo feito com fermentado de sapoti e bactérias do próprio sapoti (SVS) permanece disponível para a utilização em trabalhos futuros.

5.3.2 Obtenção das bactérias acéticas de kombucha

Uma das formas de obtenção das bactérias acéticas para a elaboração do vinagre de sapoti foi por meio de inóculos de kombucha, bebida que é obtida através da simbiose de leveduras e bactérias acéticas, para que o açúcar presente seja transformado em álcool e ao mesmo tempo parte do álcool produzido se torne ácido acético. Sabendo da presença de bactérias acéticas em sua composição, optou-se por retirar uma alíquota de uma kombucha, produzida no laboratório LPFD, para juntamente com o vinagre de maçã da marca Almaromi e uma quantidade de nutrientes sintéticos, fosse possível obter um meio de cultura para as bactérias presentes na alíquota da kombucha. A descrição deste teste inicial está no item 5.4 sobre os testes preliminares.

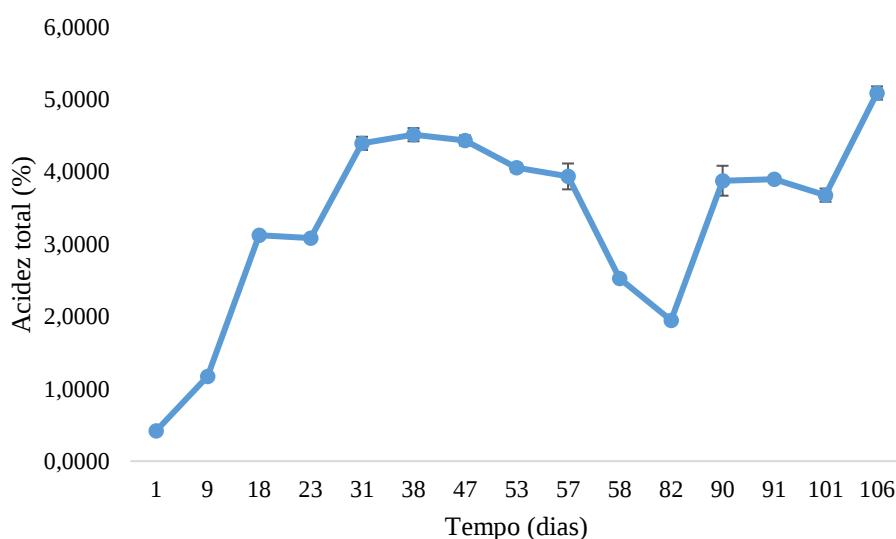
Como as bactérias da kombucha conseguiram se desenvolver bem no meio sintético, optou-se por coletar 50 mL deste meio de kombucha obtido nos testes preliminares para adicioná-lo em um recipiente com 150 mL de fermentado de sapoti, visto que era mais viável utilizar o fermentado alcoólico do próprio fruto como fonte de nutrientes, pela riqueza da microbiota das frutas. No dia 17, o meio de cultura com fermentado de sapoti e bactérias da kombucha (KVS1) obteve uma acidez total de 3,7319%, porém após a segunda medição sofreu uma contaminação, pela *Drosophila melanogaster* que entrou no recipiente onde estava acontecendo o isolamento e, por isso, o material foi descartado após o 26º dia.

Foi necessário realizar uma nova inoculação, nas mesmas proporções (25% de inóculo e 75% de álcool), agora com bactérias de kombucha caseira, para avaliar o desenvolvimento destas bactérias com o fermentado de sapoti. Logo após a inoculação, a acidez total do meio

de kombucha com fermentado de sapoti (KVS2) era de 0,4175% e o pH era de 3,91, como mostra o APÊNDICE E.

Do 9º dia ao 18º dia houve um ótimo crescimento, a acidez total subiu quase 2%, chegando nos 4% exigidos pela legislação no dia 31 (4,3936%). Por 22 dias a acidez total se manteve na faixa dos 4%, voltando a cair a partir após o 53º dia. O comportamento da acidez durante o período do isolamento é demonstrado na Figura 5.10.

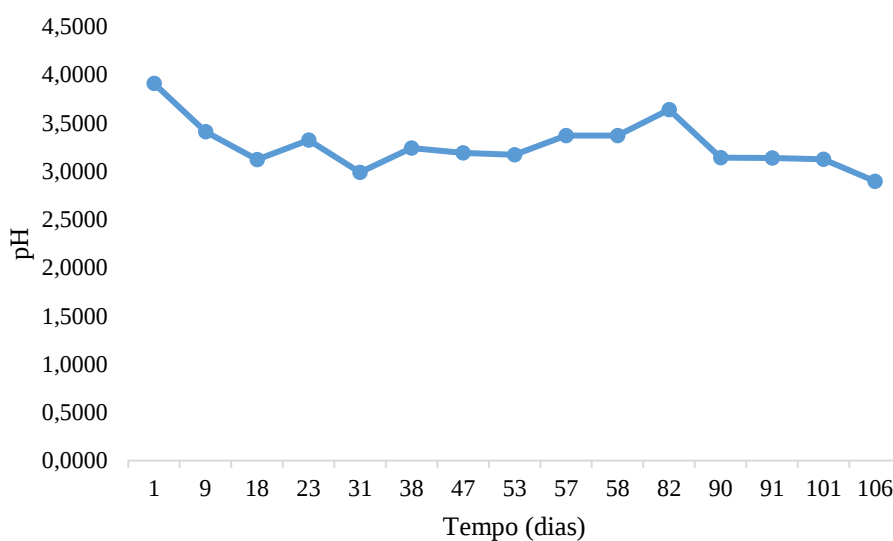
Figura 5.10 – Acidez total do inóculo KVS2



Observando a Figura 5.10 é possível notar a elevação da acidez nos primeiros dias, a estabilidade do dia 31 ao dia 53 onde a acidez se manteve em torno de 4%, e ainda é apresentado um decaimento entre o dia 57 e o dia 82. Pela falta de alimentação do meio com álcool, as bactérias presentes começaram a consumir o ácido acético que elas mesmas produziram, é por este motivo que os valores de acidez total caíram. Observando essa queda, foi realizada uma alimentação com fermentado de sapoti no dia 82, para que as bactérias presentes no meio continuassem a produzir. Em 8 dias após a alimentação, já se notou uma nova elevação na acidez do meio, chegando no valor de 3,8767%. Após um pequeno declínio no 101º, foi realizada uma nova alimentação, para evitar que a acidez voltasse a cair. No dia 106 a maior acidez total desse meio (5,0894%) foi alcançada, estando o inóculo pronto para ser utilizado na fermentação acética.

De acordo com a Figura 5.11, a maioria dos valores de pH do meio seguiram o comportamento da acidez, quando ela diminuía o pH aumentava, quando crescia o pH diminuía.

Figura 5.11 – Comportamento do pH no meio KVS2



No início do processo, o pH do meio se encontra em 3,91 e começa a cair à medida que a acidez vai aumentando, chegando em 3,12 no 18º dia. O menor pH obtido foi de 2,90 no último ponto de coleta do inóculo, coincidindo com a maior acidez total encontrada.

5.5 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO SAPOTI

Tinha-se uma quantidade de 21,2 L de caldo de sapoti para realizar a fermentação alcoólica, por isso planejou-se utilizar 4 biorreatores redondos com 5 L cada um, para maior aproveitamento do caldo, sobrando uma quantidade de 1,2 L. Levando em consideração os parâmetros de outra fermentação alcoólica de sapoti, optou-se por realizar uma diluição, descrita no item da caracterização do caldo, e após o processo, o SST inicial de cada biorreator ficou em torno de 23,2 °Brix. A fermentação foi realizada num freezer a 24°C, com uma concentração inicial de leveduras de 0,5 g/L em cada biorreator. A Figura 5.12 mostra os quatro biorreatores utilizados, já prontos para serem colocados em temperatura controlada.

Figura 5.12 – Biorreatores onde foi realizada a fermentação alcoólica do caldo de sapoti



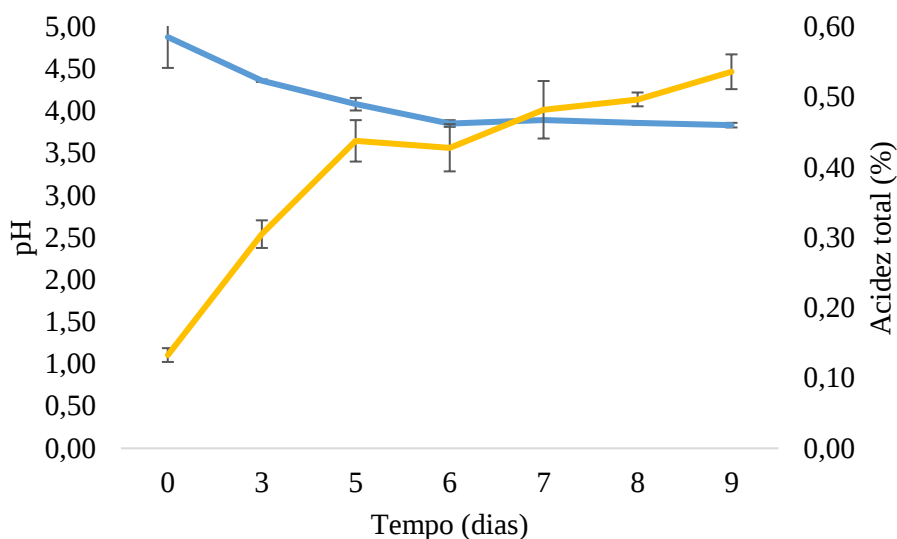
As coletas eram realizadas inicialmente a cada 2 dias, e depois diariamente, para um maior acompanhamento da cinética da fermentação. Foram realizadas ao todo 7 coletas até que o SST chegasse a um valor de 0 °Brix. Na Tabela 5.6 estão dispostos os valores médios de pH, acidez total, sólidos solúveis, teor alcoólico e açúcares redutores e totais entre os quatro biorreatores utilizados nas mesmas condições.

Tabela 5.6 – Valores médios da cinética da fermentação alcoólica do caldo de sapoti

Dias	pH	Acidez total (%)	SST (°Brix)	Teor alcoólico (°GL)	Açúcar redutor (g/L)	Açúcar total (g/L)
0	4,88 ± 0,37	0,13 ± 0,01	23,20 ± 0,00	0,00 ± 0,00	214,15 ± 7,20	204,48 ± 10,34
3	4,36 ± 0,01	0,31 ± 0,02	13,87 ± 0,25	5,25 ± 0,25	114,35 ± 8,61	118,38 ± 28,99
5	4,08 ± 0,07	0,44 ± 0,03	8,37 ± 0,25	8,07 ± 0,51	79,42 ± 6,42	74,50 ± 14,66
6	3,85 ± 0,04	0,43 ± 0,03	4,87 ± 0,25	9,92 ± 0,15	56,53 ± 1,43	40,22 ± 1,31
7	3,89 ± 0,01	0,48 ± 0,04	2,37 ± 0,25	12,27 ± 0,15	20,51 ± 1,45	15,56 ± 1,08
8	3,86 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,87 ± 0,25	12,70 ± 0,12	11,67 ± 0,75	9,71 ± 2,16
9	3,83 ± 0,03	0,54 ± 0,02	0,00 ± 0,00	13,40 ± 0,28	6,27 ± 0,58	6,36 ± 0,87

A média do pH inicial dos mostos ficou em torno de 4,88, e durante os dias da fermentação teve um leve decaimento. Cavalcante (2022) obteve um pH inicial de 4,95 numa fermentação de sapoti com SST de 20 °Brix, valor maior que o encontrado nesta fermentação de sapoti. O pH se manteve em valores próximos a 4 e a acidez, de acordo com a Tabela 5.11, apresentou valores entre 0,13% a 0,54%, em média. A Figura 5.13 mostra o comportamento do pH e da acidez total durante os dias da fermentação alcoólica do caldo de sapoti.

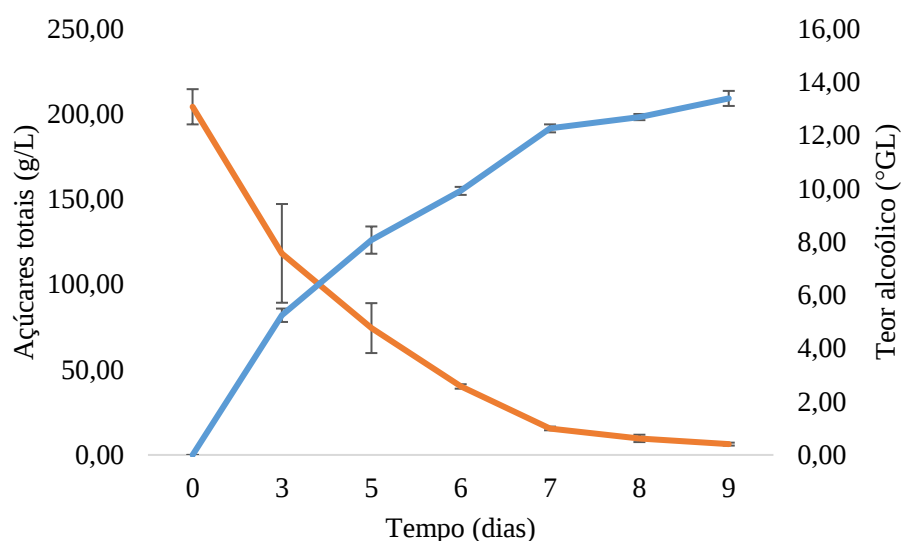
Figura 5.13 - Comparação do comportamento do pH (linha azul) e da acidez total (linha amarela) na fermentação alcoólica do caldo de sapoti



Nota-se que os valores de acidez subiram à medida que os valores de pH caíram, como esperado. De acordo com o gráfico, o ponto de intercessão entre a curva do pH e a curva de acidez é entre o 6º e o 7º dia de fermentação. Entre o dia 5 e o dia 6 houve uma leve queda no valor de acidez, causada por um provável erro de análise. O comportamento das duas curvas foi semelhante ao encontrado por Cavalcante (2022), que encontrou um pH mínimo de 3,56, um pouco menor do que foi obtido nesta fermentação (3,83).

O teor alcoólico da fermentação do caldo de sapoti iniciou-se em 0 °GL, pois não se tem álcool no começo do processo. No caso do sapoti foi observado uma média de 204,477 g/L de açúcares totais presentes no início do processo, pois se trata de um fruto bastante açucarado naturalmente. À medida que esse substrato é consumido, o álcool é produzido pelas leveduras, como é mostrado na Figura 5.14.

Figura 5.14 – Consumo de açúcares totais (linha laranja) e produção de álcool (linha azul) durante a fermentação alcoólica do caldo de sapoti



O gráfico apresentado acima mostra a relação entre o substrato utilizado na fermentação, os açúcares do fruto sapoti, e o etanol produzido no decorrer dos dias. Comportamento semelhante foi encontrado por Cavalcante (2022), utilizando a mesma levedura e o mesmo fruto, porém por questões de quantidade de leveduras utilizadas e pela temperatura da fermentação, a autora obteve um tempo maior de processo, chegando a 21 dias, mais que o dobro do tempo utilizado neste trabalho para a realização da fermentação. O maior teor alcoólico (13,4 °GL) foi obtido em 9 dias, enquanto isso a quantidade de substrato presente era de 6,361 g/L. A fermentação foi encerrada porque os sólidos solúveis presentes atingiram 0 °Brix, nos quatro biorreatores utilizados. No início do processo, o SST era de 23,2 °Brix após a diluição, e levou aproximadamente 9 dias para finalizar.

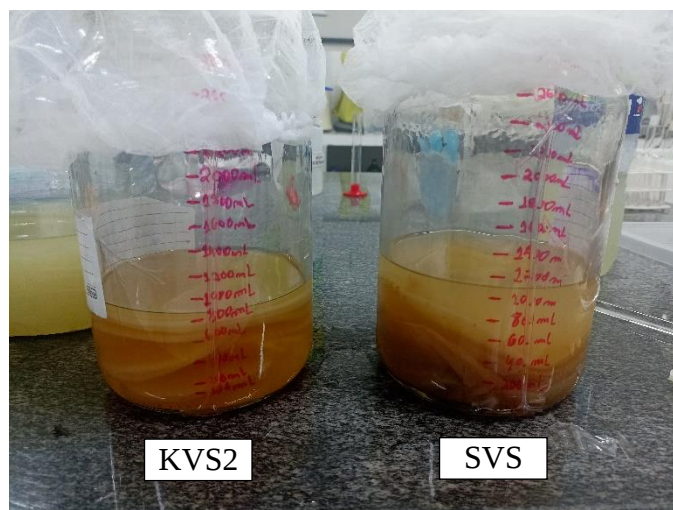
Os valores de açúcares redutores encontrados no decorrer da fermentação (Tabela 5.11) foram maiores que os açúcares totais, pelo mesmo motivo apresentado no tópico da caracterização do caldo de sapoti, variando de 214,15 g/L, no início da fermentação, chegando a 6,27 g/L no término.

5.6 FERMENTAÇÃO ACÉTICA DO SAPOTI

Após vários testes das metodologias de fermentação acética, optou-se pela metodologia que mais se assemelhava com o isolamento das bactérias utilizadas no presente trabalho, a fim de trilhar caminhos seguros na obtenção dos vinagres de sapoti, o método

lento. Para a realização deste experimento foram utilizados inóculos de bactérias de kombucha (KVS2) e bactérias isoladas do próprio sapoti (SVS), citadas no item 5.3 sobre Obtenção das Bactérias Acéticas. Na Figura 5.15 encontram-se os recipientes usados para o armazenamento dos inóculos.

Figura 5.15 – Inóculos de bactéria da kombucha (KVS2) e de bactérias isoladas do sapoti (SVS)



Primeiro foi realizada a inoculação das bactérias isoladas do próprio sapoti (SVS), no biorreator em forma retangular com capacidade de 8 L. A quantidade utilizada foi: 3 L de fermentado de sapoti com teor alcoólico de 13,8 °GL, obtido na fermentação realizada no item 5.5, e adição de 1 L de inóculo de bactérias isoladas do sapoti (SVS), com uma acidez de 7,55%, ao biorreator (Figura 5.16).

Figura 5.16 – Inoculação do meio contendo bactérias acéticas isoladas do sapoti (SVS) no fermentado alcoólico de sapoti



Após a inoculação o valor da acidez total ficou 2,08%, o pH 3,45 e o teor alcoólico em torno de 9,8 °GL, como está apresentado na Tabela 5.7. As amostras eram coletadas duas vezes na semana para a realização da análise de acidez total e pH, e uma vez na semana para a análise de teor alcoólico, para que não fosse perdido um volume muito alto de vinagre.

Tabela 5.7 - Fermentação acética do sapoti com bactérias isoladas do sapoti (FAS)

Dias	pH	Acidez total (%)	Teor alcoólico (%)
0	3,4533 ± 0,0231	2,0844 ± 0,0341	9,8
3	3,4000 ± 0,0000	2,1827 ± 0,0590	9,2
6	3,4333 ± 0,0723	2,3007 ± 0,1022	-
10	3,3133 ± 0,0252	2,1631 ± 0,0341	8,8
14	3,6567 ± 0,0058	2,1827 ± 0,0000	-
17	3,5867 ± 0,0058	2,3991 ± 0,0341	7,0
20	3,5633 ± 0,0058	2,2811 ± 0,0341	-
24	3,5233 ± 0,0058	2,3007 ± 0,0000	4,9
27	3,6400 ± 0,0100	2,3991 ± 0,0681	-
31	3,6400 ± 0,0100	2,5207 ± 0,0333	1,8
35	3,5233 ± 0,0058	2,4777 ± 0,0590	-
38	3,7267 ± 0,0115	1,2892 ± 0,0333	3,1
43	3,7300 ± 0,0100	1,5201 ± 0,0333	-
48	3,5867 ± 0,0058	2,0397 ± 0,0333	-
52	3,5433 ± 0,0058	2,0781 ± 0,0577	-

Durantes os 52 dias de fermentação foi observado que a acidez total não apresentou alteração (Figura 5.17), enquanto o teor alcoólico continuava a diminuir (Figura 5.18), como era esperado que acontecesse numa fermentação acética. O que explica o fato de o teor alcoólico continuar a cair é falta de barreiras existentes no experimento para a evaporação dele, pois não foi possível observar a presença da célula mãe na parte superior do fermentado acético, o que impediria a evaporação completa do álcool. É possível que as bactérias tenham sido inibidas logo no início da fermentação pois, desde então, não houve variação da acidez total. Os possíveis responsáveis por essa suposta inibição são os bacteriófagos, vírus capazes de infectar bactérias consistindo em material genético e proteínas que são injetados no interior da bactéria, e então se segue a replicação viral, redirecionando a maquinaria metabólica da bactéria para a formação de novas partículas virais, que se reúnem formando novos fagos, liberados após o rompimento da bactéria (RAKHUBA et al., 2010; SOUSA, 2012).

No dia 35 foi realizada uma alimentação na fermentação com 1 L de fermentado alcoólico, para observar se as bactérias presentes na fermentação estavam vivas, necessitadas

apenas de álcool para voltarem a atuar. Com a alimentação, é possível ver na Figura 5.17, uma grande redução na acidez total da fermentação, o que era esperado, porém o teor subiu quase 1% e se estabilizou novamente.

Figura 5.17 – Acidez total da fermentação acética do isolado de sapoti (FAS)

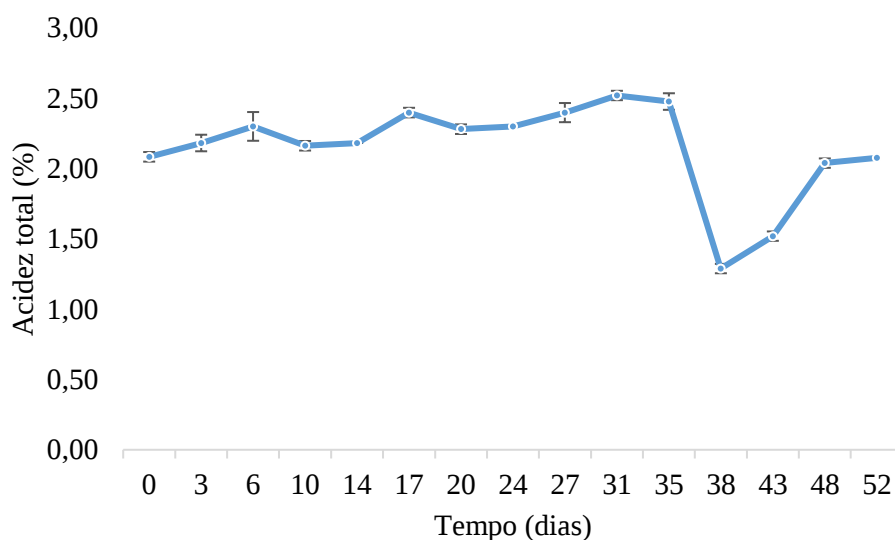
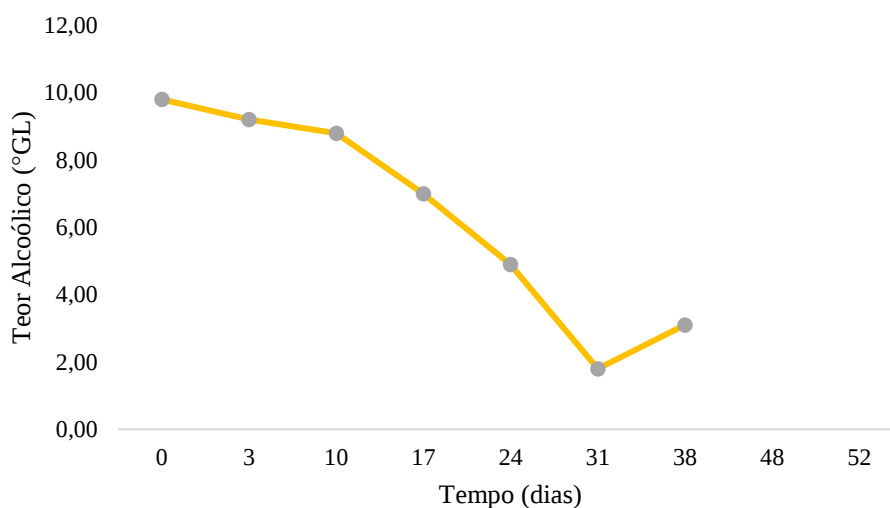


Figura 5.18 – Teor alcoólico da fermentação acética do isolado de sapoti



Tanto a Figura 5.17 quanto a Figura 5.18 comprovam o que foi citado anteriormente, que a acidez se manteve constante, indicando uma possível infecção no inóculo usado na fabricação do vinagre, enquanto o teor alcoólico, que estava inicialmente em 9,8°GL, chegou a alcançar valores próximos a 1°GL, o que já indicaria o final da fermentação acética.

Durante o processo da fermentação usando bactérias do próprio sapoti, foi iniciada uma outra fermentação acética, agora utilizando bactérias da kombucha (KVS2) como inóculo. Sua inoculação (Figura 5.19) se deu do mesmo modo que a fermentação acética utilizando as bactérias isoladas do próprio sapoti (SVS), nas mesmas proporções e em um recipiente semelhante.

Figura 5.19 – Inoculação das bactérias da kombucha no fermentado alcoólico de sapoti (FAK)



Assim como na fermentação do isolado de sapoti, o biorreator usado nesta fermentação com as bactérias da kombucha foi coberto por duas toucas descartáveis (Figura 5.20), permitindo a entrada e saída de oxigênio, que é essencial no processo de fermentação acética por se tratar de uma reação de oxidação.

Figura 5.20 – Sistema usado nas fermentações acéticas



Na Tabela 5.8 estão os dados da cinética da fermentação acética do sapoti com bactérias da kombucha, onde foram realizadas 10 coletas em 37 dias. Os 3 L de fermentado alcoólico de sapoti tinham um teor alcoólico de 13 °GL e o inóculo de kombucha estava com uma acidez total de 5,03%. Após a inoculação, o teor alcoólico inicial da fermentação foi de 10,8 °GL, valor superior ao do sapoti que chegou a 9,8 °GL, mesmo a acidez total inicial dele sendo maior (7,55%). Já a acidez total inicial foi 1,59%, inferior à do sapoti que foi de 2,08%.

Tabela 5.8 - Fermentação acética do sapoti com bactérias da kombucha (FAK)

Dias	pH	Acidez total (%)	Teor alcoólico (%)
0	3,6733 ± 0,0058	1,5928 ± 0,0000	10,8
5	3,6633 ± 0,0153	1,6911 ± 0,0681	-
9	3,6167 ± 0,0058	1,9271 ± 0,0681	8,0
12	3,4967 ± 0,0058	3,0480 ± 0,1228	-
16	3,5967 ± 0,0252	4,2525 ± 0,0667	1,8
20	3,3567 ± 0,0058	5,3880 ± 0,0681	-
23	3,4833 ± 0,0058	4,0601 ± 0,0333	0,0
28	3,6467 ± 0,0153	4,7143 ± 0,1202	-
33	3,3733 ± 0,0058	5,5417 ± 0,0577	-
37	3,3767 ± 0,0058	5,2338 ± 0,2333	-

Pela Figura 5.21, é possível visualizar o crescimento da acidez total do fermentado acético de kombucha, que a partir do 9° dia subiu consideravelmente até o 20° dia. Porém no 16° dia já se notou que o fermentado alcançou a acidez total de 4%, que indica que o fermentado acético já pode ser considerado um vinagre. A evolução do pH acompanhou a acidez total, diminuindo à medida que a fermentação avançava, tendo seu ponto máximo o valor inicial (3,6733). Para manter o volume da fermentação, a coleta para a análise de teor alcoólico era realizada uma vez na semana, e de acordo com os valores obtidos, viu-se que o álcool foi realmente transformado em ácido acético (Figura 5.22), chegando a 0 °GL no 23° dia, dando por encerrada a fermentação.

Figura 5.21 – Teor de acidez total durante a fermentação acética utilizando bactérias de kombucha (FAK)

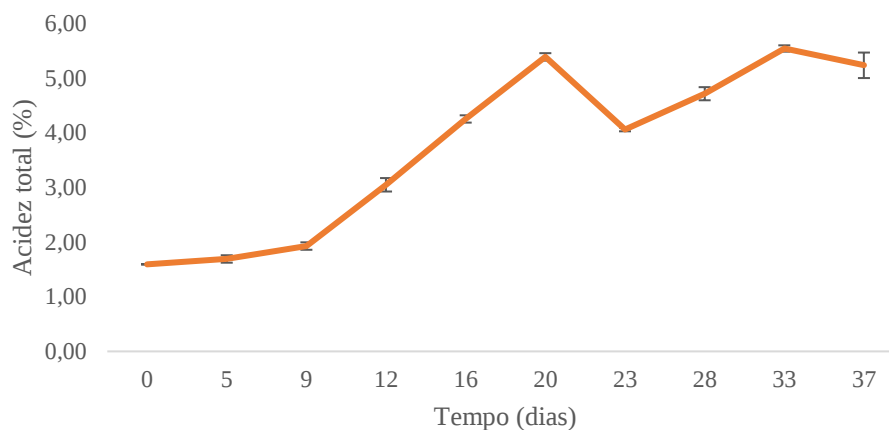
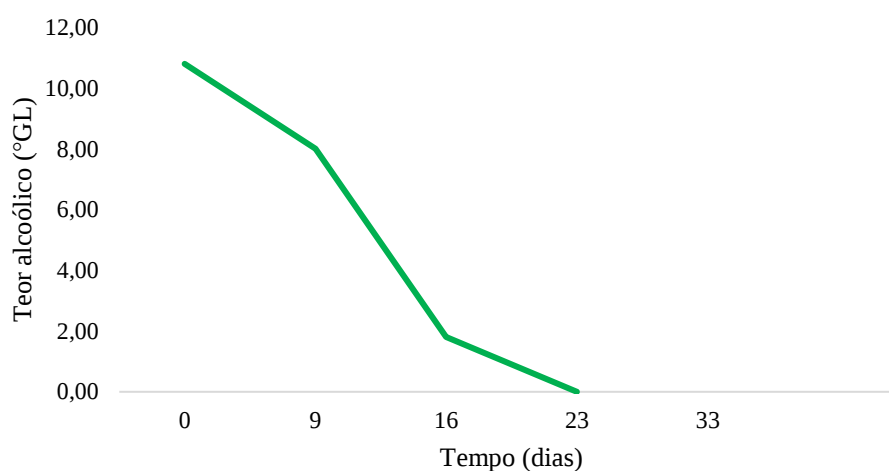


Figura 5.22 – Teor alcoólico durante a fermentação acética utilizando bactérias de kombucha (FAK)



Barbosa et al. (2017) realizaram uma fermentação acética de um fermentado alcoólico de cajá, que durou 27 dias para a acidez total sair de 1% até chegar em 4%, mais lento que a fermentação realizada neste trabalho. Com relação ao teor alcoólico da fermentação acética do fermentado de cajá, os autores iniciaram o processo com um teor de 10,24 °GL e findaram a fermentação acética com um teor de 0,96 °GL, mais elevado do que o obtido neste trabalho (0,1°GL).

5.7 CARACTERIZAÇÃO DO VINAGRE DE SAPOTI

O vinagre de sapoti obtido neste trabalho foi resultado da fermentação acética de um fermentado alcoólico de sapoti com bactérias de kombucha caseira (Figura 5.23). O produto foi submetido a várias análises físico-químicas e microbiológicas, para averiguar se o mesmo encontrava-se em conformidade com a legislação vigente e atestar sua segurança. Os parâmetros analisados estão apresentados na Tabela 5.9.

Figura 5.23 – Vinagre de sapoti envasado em garrafas de vidros de 60 mL



Tabela 5.9 – Parâmetros físico-químicos do vinagre de sapoti obtido

Parâmetros	Valor	Brasil (2012)	
		Mínimo	Máximo
Cinzas (g/L)	1,2670 ± 0,1222	1,00	5,00
Teor alcoólico (°GL)	0,1000 ± 0,0000	-	1,00
Sulfatos(g/L)	< 0,7	-	1,00
Extrato seco reduzido (g/L)	44,3500 ± 0,5238	6,00	-
Acidez total (%)	4,6200 ± 0,0600	-	-
Acidez fixa (%)	0,3130 ± 0,0232	-	-
Acidez volátil (%)	4,3070 ± 0,0600	4,00	-
Densidade relativa (g/L)	1,0310 ± 0,0004	-	-
pH	3,3870 ± 0,0252	-	-
SST (°brix)	8,0000 ± 0,0000	-	-
Açúcar total (g/L)	15,1970 ± 0,5015	-	-
Açúcar redutor (g/L)	11,5430 ± 0,3680	-	-
Açúcar não redutor(g/L)	3,6540 ± 0,7360	-	-
AA DPPH (µM Trolox/ 100 mL)	46,6740 ± 3,5725	-	-
AA FRAP (µM Trolox/100 mL)	41,9770 ± 0,7052	-	-
AA ABTS (µM Trolox/100 mL)	177,8920 ± 34,252	-	-
Compostos fenólicos (mg EAG/100g)	30,8830 ± 3,7138	-	-

SST – Sólidos Solúveis Totais; AA – Atividade antioxidante; EAG – Equivalente de ácido gálico

As cinzas presentes no produto (1,267 g/L) também estão dentro da faixa permitida na legislação brasileira. Dutra (2021) ao produzir um vinagre de jambolão obteve 1,84 g/L de cinzas, valor um pouco mais elevado que o do vinagre de sapoti. Outro parâmetro que apresentou conformidade com a legislação foi o teor alcoólico, que atingiu um valor de 0,1% no vinagre produzido. Barbosa et al. (2017) obtiveram após o processo de fermentação alcoólica um teor de 10,24% e após a fermentação acética, o teor alcoólico caiu para 0,96%. Em um vinagre de manga, Barbosa (2020) alcançou no final do processo de fermentação acética um teor alcoólico de 0,95%, semelhante ao vinagre de cajá de Barbosa et al. (2017).

Para a análise de sulfatos no vinagre foi utilizado um método semiquantitativo, que avaliou a precipitação do íon sulfato por meio de uma solução de concentração conhecida de cloreto de bário. Após os procedimentos, concluiu-se que as amostras de vinagre possuem menos de 0,7 g/L de sulfato de potássio em sua composição, por meio da turvação e limpidez dos tubos utilizados no experimento. De acordo com Brasil (2012), a quantidade de sulfato de potássio na amostra precisa ser no máximo 1 g/L, comprovando que o vinagre de sapoti está dentro da faixa permitida.

No vinagre de sapoti o extrato seco reduzido ficou 44,35 g/L, maior que o valor mínimo permitido que era de 6 g/L. O vinagre de jambolão produzido por Dutra (2021)

apresentou um valor de extrato seco de 15,99 g/L e Barbosa et al. (2020) encontraram um valor de 11,33 g/L de extrato seco reduzido em vinagre de manga, ambos inferiores ao encontrado neste trabalho. O vinagre de sapoti, ao final do processo, conseguiu chegar a uma acidez total de 4,62%, exatamente a mesma acidez obtida por Özdemi et al. (2022) com o vinagre de rosa mosqueta, e ambos diferiram de Dutra (2021), que produziu um vinagre de jambolão com acidez total de 5,31%. Segundo Brasil (2012), a acidez volátil mínima para um fermentado acético é de 4%, e o fermentado obtido neste trabalho apresentou uma acidez volátil de 4,307%, estando assim dentro da faixa permitida. Barbosa (2020) obteve um vinagre de manga com uma acidez volátil menor que a apresentada neste trabalho e menor que a indicada pela legislação (3,28%). A densidade relativa do vinagre de sapoti foi de 1,031 g/cm³, valor semelhante ao encontrado por Neves (2020), que encontrou uma densidade de 1,004 g/cm³ em um vinagre de caju e 1,002 g/cm³ em um vinagre de maçã. O valor de pH obtido no produto foi de 3,387, valor parecido com o encontrado por Barbosa et al. (2020) em vinagre de manga (3,28) e por Özdemi et al. (2022) que determinaram um valor de pH de 3,50 ao desenvolverem um vinagre de rosa mosqueta.

Os sólidos solúveis totais presentes no vinagre de sapoti chegaram a valores superiores aos encontrados por Özdemi et al. (2022), que não ultrapassaram 3,65 °Brix em um vinagre de rosa mosqueta. Foi superior também aos obtidos por Neves (2020), que utilizou maçã e caju para elaborar dois vinagres com SST igual a 3,5 °Brix e 2,77 °Brix, respectivamente. Barbosa et al. (2017) produziram um vinagre de cajá que apresentou um valor de sólidos solúveis totais maior que Neves (2020), chegando a 5,25 °Brix, sendo este valor mais próximo do vinagre de sapoti. No vinagre de sapoti estão presentes 15,197 g/L de açúcares totais, sendo 75,96% de açúcares redutores e 24,04% de açúcares não redutores.

A atividade antioxidante do vinagre de sapoti pelo método DPPH foi de 46,674 µM Trolox/100 mL, valor semelhante ao encontrado por Neves (2020) em um vinagre de caju, 38,42 µM Trolox/100 mL. O mesmo autor também obteve um vinagre de maçã, cuja atividade antioxidante foi de 1.003,75 µM Trolox/100 mL, muito mais elevado ao encontrado no vinagre de sapoti e no vinagre de caju. Já o vinagre de rosa mosqueta de Özdemi et. al (2022) obteve de 51,39 x10⁵ µM Trolox/100 mL, muito maior que todos os valores comparados anteriormente. Pelo método FRAP, a atividade antioxidante do vinagre de sapoti foi 41,977 µM Trolox/100 mL, semelhante ao método DPPH.

O método ABTS apresentou bem mais elevado que os outros dois métodos, 177,8920 µM Trolox/100 mL, maior do que o encontrado por Neves (2020) no vinagre de caju (37,01

μM Trolox/100 mL) e menor que o de maçã (1402,56 μM Trolox/100 mL) produzido pelo mesmo autor.

Os compostos fenólicos presentes no vinagre de sapoti foram quantificados em 30,883 mg EAG/100 mL. Özdemir et al. (2022) obtiveram 760 mg EAG/100 mL em um vinagre de rosa mosqueta, enquanto Davies et al. (2021) encontraram 138,35 mg EAG/100 mL em um vinagre de mirtilo e 288,72 mg EAG/100 mL em um vinagre balsâmico de mirtilo, onde seu método de extração foi utilizando um liquidificador, já Özdemir et al. (2022) extraíram o suco de rosa mosqueta através de uma maceração. Quando comparado o valor de compostos fenólicos com os outros trabalhos, é possível notar que o vinagre de sapoti, obtido nessas condições, não possui altos valores de fenólicos em sua composição, provavelmente por razão do método de extração utilizado, porém a confirmação só poderia ser feita por meio da utilização de métodos diferentes.

5.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Após esperar as 48 horas do teste presuntivo, não foi observado nem turvação nem formação de gases nos tubos que continham as amostras de vinagre, a ácida e a neutralizada, comprovando que não há presença de coliformes totais e termotolerantes no vinagre de sapoti.

5.9 ANÁLISE SENSORIAL

Foram utilizadas alfaces frescas, cortadas em tiras, para a análise das características do vinagre de sapoti, tendo um vinagre de maçã comercial como amostra padrão. Foram recrutados 57 julgadores não treinados de ambos os gêneros e diversos graus de escolaridade, sendo eles consumidores ou não de vinagre. Para o teste de aceitação foram avaliados os atributos de aceitação global, aroma, cor, sabor, acidez, por meio da escala hedônica de 1 a 9, e a intenção de compra foi avaliada pela escala hedônica de 1 a 5.

O teste T- Student foi utilizado para verificar se existia diferença significativa entre os atributos dos dois vinagres avaliados. Dessa forma pode-se constatar que em cada um dos atributos, o vinagre de sapoti e o vinagre de maçã comercial não diferiram significativamente, com nível de 95% de confiança, como é possível ver na Tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Atributos avaliados do vinagre de sapoti e do vinagre de maçã comercial

	Vinagre de Sapoti	Vinagre de Maçã	P-valor
Aceitação global*	7,2 ^a	6,7 ^a	0,069307
Aroma*	6,6 ^a	6,2 ^a	0,095161
Cor*	7,5 ^a	7,5 ^a	0,440865
Sabor*	7,1 ^a	6,6 ^a	0,053725
Acidez*	6,8 ^a	6,3 ^a	0,083297
Intenção de compra**	4,0 ^a	3,8 ^a	0,091012

Nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si. Teste T-Student

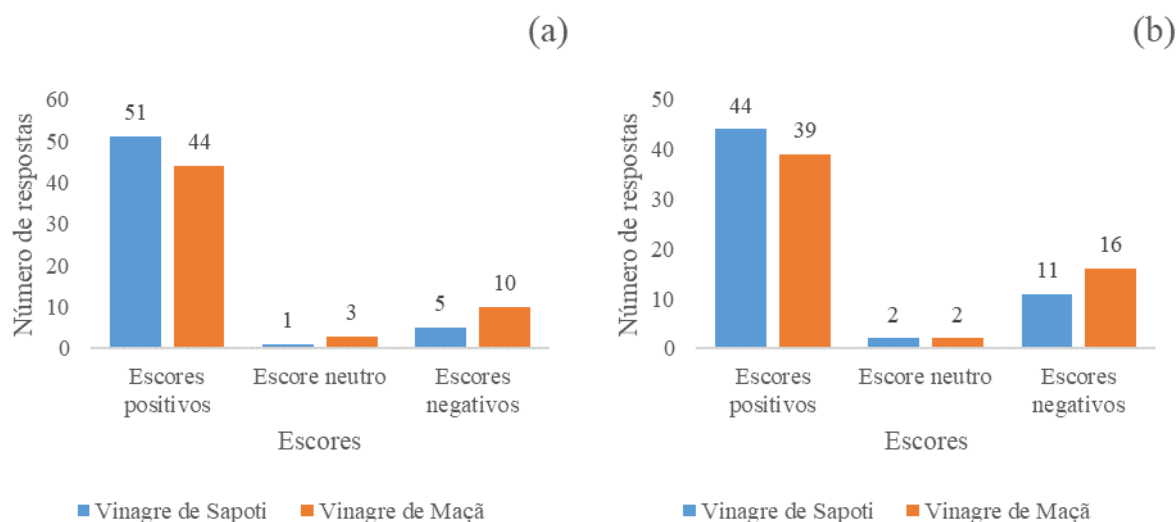
*Escala Hedônica de 9 pontos

**Escala Hedônica de 5 pontos

Na escala de 9 pontos, a média das notas de aceitação global foi 7,2 para o vinagre de sapoti e 6,7 para o vinagre de maçã comercial. A partir deste valor foi possível obter o índice de aceitação do vinagre de sapoti, que atingiu 79,7% de aprovação, portanto o produto obtido foi aceito por estar com um índice acima de 70%. De Souza Abud (2012) obteve um índice de aprovação de 70,7% em um vinagre de laranja “Lima” e 79,1% em um vinagre de maçã comercial, ambos menores que o índice do vinagre de sapoti.

Na Figura 5.24 estão apresentadas as notas da aceitação global (a) e aroma (b) divididas em escores positivos (6 a 9), escore neutro (5) e escores negativos (1 a 4), para os dois vinagres.

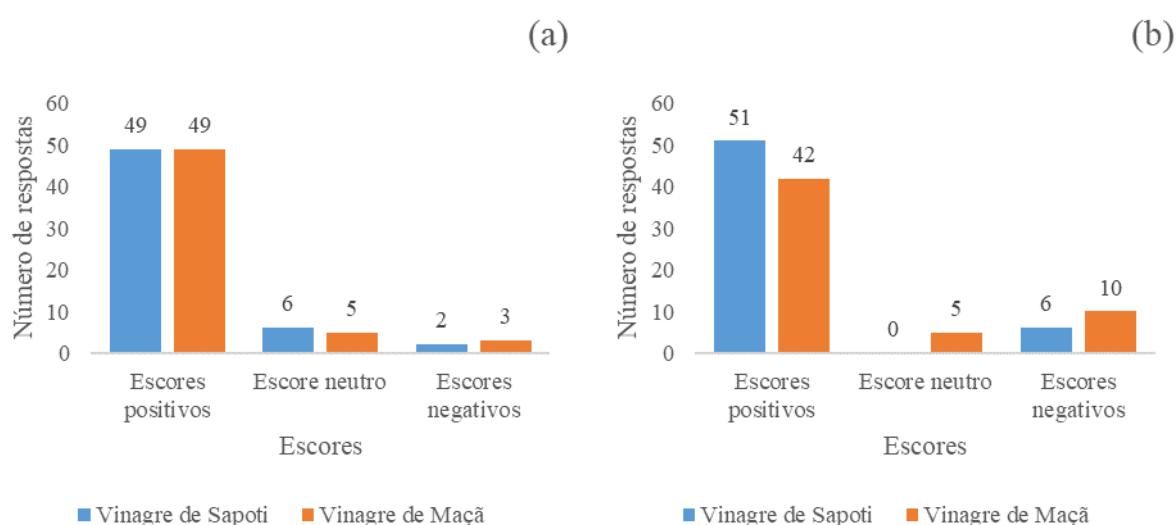
Figura 5.24 – Notas dos atributos aceitação global (a) e aroma (b) dos vinagres



Com relação a aceitação global, 51 pessoas deram notas positivas ao vinagre de sapoti, 1 pessoa deu nota neutra e 5 escolheram dar notas negativas, como não há diferenças

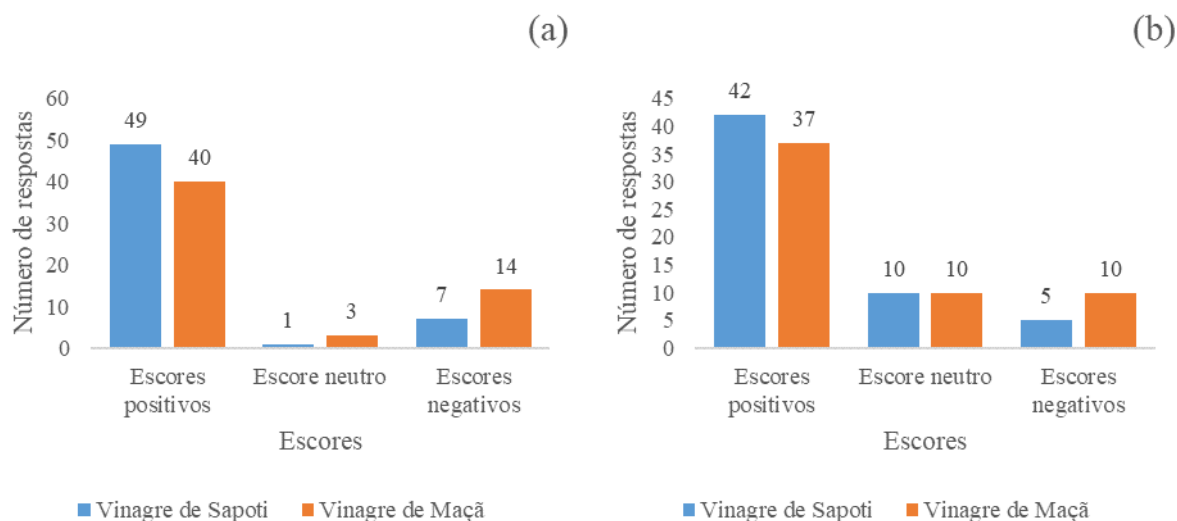
significativas entre os vinagres, as notas da aceitação do vinagre de maçã comercial seguiu o mesmo comportamento. O aroma dos vinagres também foi muito bem avaliado, pois a grande maioria dos julgadores responderam com notas positivas a este atributo. Por possuir uma acidez volátil elevada, o aroma dos vinagres tende a ser bem forte e característico, por isso, quem não consome este produto, pode avaliar com notas baixas esse aspecto, o que explica as 11 pessoas que deram notas negativas ao vinagre de sapoti. A Figura 5.25 mostra as notas da cor (a) do e sabor (b) dos vinagres, divididas em escores positivos (6 a 9), escore neutro (5) e escores negativos (1 a 4).

Figura 5.25 - Notas dos atributos cor (a) e sabor (b) dos vinagres



A coloração dos vinagres de sapoti e de maçã comercial era bastante semelhante, por isso os julgadores não conseguiram identificar pela cor qual era a amostra de sapoti e a de maçã, e consequentemente acabaram dando notas parecidas para as duas amostras. O atributo cor foi um dos mais bem avaliados entre os outros, pois não foi identificado muitas notas negativas e neutras. Já o sabor dos vinagres, por ser marcante, recebeu algumas notas negativas, que foram provenientes de pessoas que não consomem o produto. Quase todos os julgadores deram notas positivas para o sabor do vinagre de sapoti, comprovando sua aprovação. Na Figura 5.26 estão dispostas as notas da acidez (a) e da intenção de compra (b), onde a acidez está dividida em escores positivos (6 a 9), escore neutro (5) e escores negativos (1 a 4), enquanto a intenção de compra, por ter sido usada a escala de 5 pontos, tem como escores positivos 4 e 5, escore neutro 3 e escores negativos 1 e 2, para os dois vinagres.

Figura 5.26 – Notas dos atributos acidez (a) e intenção de compra (b) dos vinagres



O número de respostas positivas para a acidez do vinagre de sapoti chegou a 49, 7 respostas negativas e 1 neutra, prevalecendo novamente as notas positivas, como em todos os atributos já avaliados. Da mesma forma aconteceu na intenção de compra, onde a grande maioria dos julgadores admitiram que comprariam o produto se estivesse no mercado, o que fortalece ainda mais o índice de aceitação do vinagre de sapoti obtido a partir de bactérias da kombucha.

6. CONCLUSÕES

- As bactérias acéticas isoladas da kombucha mostraram grande capacidade de produzir ácido acético, de acordo com os valores de acidez total e pH que o inóculo apresentou, por este motivo foram utilizadas para a produção de um vinagre de sapoti. As bactérias do próprio sapoti não conseguiram se desenvolver como o esperado no tempo previsto, e acabaram sendo guardadas para trabalhos futuros.
- O caldo de sapoti utilizado para a obtenção do vinagre, se encontra de acordo com a legislação vigente para caldos de frutas. Foi realizado o acompanhamento da fermentação alcoólica e acética do sapoti, por meio de diversas análises físico-químicas.
- O fermentado acético obtido das bactérias acéticas com o fermentado alcoólico de sapoti, foi caracterizado, comprovando que ele se encontra dentro dos valores permitidos na legislação, podendo ser chamado de vinagre de frutas.
- Observou-se o perfil de compostos fenólicos e dos compostos antioxidantes tanto no caldo quanto no vinagre de sapoti. Verificou-se que no caldo houve uma presença maior de compostos fenólicos, diferente do produto da fermentação acética, que apresentou valores muito abaixo do esperado, de acordo com outros vinagres de frutas encontrados na literatura. Com relação a atividade antioxidante, pelo método DPPH o caldo apresentou valores menores que o vinagre de sapoti, já no método FRAP, os valores do caldo e do vinagre foram semelhantes, sendo o do caldo um pouco maior. Com relação ao método ABTS, o valor obtido no caldo foi muito menor que o do vinagre.
- Por meio da análise sensorial realizada, foi possível constatar que os atributos do vinagre de sapoti não apresentaram diferença significativa com o vinagre de maçã comercial, sendo o vinagre de sapoti aceito com mais de 70% de aprovação, estando apto para competir com vinagres comerciais.

REFERÊNCIAS

ADACHI, Osao; TOYAMA, Hirohide; MATSUSHITA, Kazunobu. Development of thermotolerant acetic acid bacteria useful for vinegar fermentation at higher temperatures. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 138-145, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.61.138>.

ALMEIDA, S. F. O. **Isolamento e identificação bioquímica de bactérias acéticas durante a fermentação do cacau (*Theobroma cacao* L.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia na produção de alimentos**. Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2001

ARAÚJO, R. O.; COSTA JÚNIOR, J. S. Produção de cajuína e triagem fitoquímica do suco de caju. In: REUNIÃO ANUAL DO SBPC, Maceió – AL, 70, 2018. Disponível em: http://www.sbpnet.org.br/livro/70ra/trabalhos/resumos/3313_1a269d2d7b2738f4b6d09847041a778b4.pdf. Acesso em: 06 de fevereiro de 2022.

ARAÚJO-NETO, S.E.; PRAÇA, E.F.; CARVALHO, E.F.; ALVES, R.E.; MENEZES, J.B.; MORAIS, E.A. Determinação do ponto de colheita e índices de maturação para sapoti (*Manilkara achras* (Mill.) Fosberg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, p.45-49, 2001.

BACH, F. **Avaliação das condições de produção de fermentado acético de soro de leite**. Dissertação (Mestrado em Engenharia química), Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2012.

BANDEIRA, Clódion Torres; LIMA, Raimundo Nonato de; SOBRINHO, Raimundo Braga; MESQUITA, Antonio Lindemberg Martins; OLIVEIRA, Francisco Nelsieudes Sombra; SANTOS, Francisco José de Seixas. A cultura do sapoti. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 71, 2005.

BARBOSA, Cosme Damião et al. Obtenção e caracterização de vinagre de manga pelo método de acetificação de Orleans. **Research, Society and Development**, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5593>

BARBOSA, Vanessa de Oliveira. **Análise dos processos fermentativos para produção de vinagre de cajá (*spondias mombin*)**. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2017. Disponível em: < <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/4755>>.

BEATTLE, D. S. Bioenergética e metabolismo oxidativo. In: DELVIN, T. M.; MICHELACCI, M. (Coord.) **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher. 1216 p, 2003.

BELMONT. Indústria de Vinagres Belmont. Disponível na Internet: <http://www.vinagrebeltmont.com.br>> Acesso em:18/07/2021.

BENZIE, Iris FF; STRAIN, John J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

BLONDI, B.; DEQUIN, S.; QUEROL, A.; LEGRAS, J.L. Genome of *Saccharomyces cerevisiae* and Related Yeast. In **Biology of Microorganisms on Grapes**, in Must and in Wine; König, H., Uden, G., Fröhlich, J., Eds.; Springer: Berlin-Heidelberg, Germany,; p. 362, 2009.

BOFFO, E. F. **Estudo da origem biossintética do ácido acético e determinação da acidez em amostra de vinagre comerciais via RMN de ^2H e ^1H** . Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

BONIFÁCIO, Kennedy Ferreira. **Produção de cerveja artesanal com polpa de sapoti (*Manilkara zapota* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso, Curso de Bacharelado em Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

BRASIL. **Decreto nº 99.066 de 08 de Março de 1990**. Brasília: Imprensa Nacional, 1990.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 16, de 19 de março de 2020**. Altera a IN MAPA nº6, de 3 de abril de 2012 e a IN MAPA nº 34, de 29 de novembro de 2012, para estabelecer a proibição de utilização de açúcar na elaboração do fermentado de fruta que sirva de matéria-prima para a produção de fermentado acético de fruta.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 24, de 8 de setembro de 2005**. Manual de métodos de análises de bebidas e vinagres.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 6, de 3 de abril de 2012**. Estabelecer os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos.

BRASIL. **Lei Nº 7.678 de 08 de Novembro de 1988**. Brasília: Imprensa Nacional, 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018. Estabelecer os parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas e a listagem das frutas e demais quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade. **Diário Oficial da União**. Brasília, D.F. 08 de outubro de 2018.

CAN-CAUICH, César A. et al. Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. **Journal of functional foods**, v. 37, p. 501-506, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.028>

CASTELO. **Indústria de Vinagres Castelo**. 2020. Disponível em: <<http://www.vinagrecastelo.com.br>> Acesso em:18/07/2021.

CAVALCANTE, Andressa Cláudia da Silva Santana. **Desenvolvimento de uma bebida alcoólica fermentada gaseificada do fruto do sapotizeiro (*Manilkara zapota* L.)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2022.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE – CNS. Resolução 466 nº12 de Dezembro de 2012. **Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos.** Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>. Acesso em: 25 out. 2023.

COSTA, C. M.; TAKAHASHI, J.; VILLAMONTE, M.; **Produção de vinagre.** Curso de Engenharia de Alimentos e Engenharia Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

COSTA, L. N.; MORAIS, P. L. D.; LEITE, G. A.; ALMEIDA, M. L. B.; MIRANDA, M. R. A.; 318 FERNANDES, P. L. O. Influência da adubação potássica na qualidade e no potencial antioxidante do sapoti em diferentes estádios de desenvolvimento, **Revista Ceres**, v. 64, 320 n.4, p. 419-425, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201764040011>.

CRUZ, Miguel Antônio Marcelino. **Vinagres comercializados em Portugal: avaliação da capacidade antioxidante e da composição fenólica.** Dissertação de Mestrado, Escola Superior Agrária de Viseu, 2012.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. **Aliment Pharmacol Ther** v.26, p.767–778, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03442.x>.

DAMIANI, Clarissa. **Caracterização e agregação de valor aos frutos do cerrado: Araçá (*Psidium guineensis* SW.) e Marolo (*Annona crassiflora* Mart.).** Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

DANTAS, Beatriz dos Santos. **Efeito dos processos de extração e clarificação na composição química, perfil de ácidos anacárdicos e na adstringência do suco de caju.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

DÁVALOS, A.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 2, p. 325-330, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.030>

DAVIES, Cristina Verónica et al. Blueberry balsamic vinegar: bioactive compounds and antioxidant activity during processing and assessment of diverse evaporation techniques for juice. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.19020>.

DE SOUZA ABUD, Ana Karla; DE FARIAS SILVA, Carlos Eduardo; ARAÚJO, Lucynéi Tenório. Produção de vinagre de laranja ‘Lima’ em vinagreira artesanal. **Scientia Plena**, v. 8, n. 12 (a), 2012.

DRYSDALE, G. S.; FLEET, G. H. The effect of acetic acid bacteria upon the growth and metabolism of yeasts during the fermentation of grape juice. *Journal of applied bacteriology*, v. 67, n. 5, p. 471-481, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb02518.x>

DUTCOSKY, Silvia Deboni. Análise sensorial de alimentos. In: **Análise sensorial de alimentos**. 2011. p. 426-426. Disponível: <https://www.pucpress.com.br/wp-content/uploads/2021/10/Analise_Sensorial_compressed.pdf>.

DUTRA, Juliete Martins. **Produção e caracterização físico-química e microbiológica do vinagre de jambolão (*Syzygium cumini*)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2021.

EBNER, H. Vinegar. In: PRESCOTT, S. C.; DUNN, G. **Industrial microbiology**. 4ed. Westport, AVI, p. 802-34, 1981.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 664 p. 2000.

FERNANDES, A. C. F. **Produção e caracterização de fermentado alcoólico e vinagre de físalis e pitaia como estratégia de aproveitamento tecnológico**. 2016. 108 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016

FLORENTINO, E. R. **Aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Engenharia Química, Natal, 2006.

FLORES, D. Fermentação acética. **Escola Educação**. 2020. Disponível em: <https://escolaeducacao.com.br/fermentacao-acetica/>. Acesso em: 13 dez. 2023.

FONSECA, Antônio Augusto Oliveira et al. Produção, caracterização e avaliação sensorial de fermentado alcoólico de manga (*Mangifera indica* L.) variedade “Carlota”. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 46176-46192, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-301>

FONTAN, R. C. I.; VERÍSSIMO, L. A. A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. **Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia**. Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimento, v. 29, n. 2, p. 203-210, jul./dez. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v29i2.25485>.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. A gelatina e seus benefícios para a saúde humana. N 18, p. 5-64, 2011. Disponível em: <https://revista-fi.com/upload_arquivos/201606/2016060938829001467203691.pdf>. Acesso em: 03 nov 2023.

FORMIGONI, I. A. Exportação de frutas do Brasil inicia 2018 em recuperação. 2018. Disponível em: < <http://www.foodnewsocial.com.br/mercado/exportacao-de-frutas-do-brasil/> >. Acesso em:13/07/2021.

GAMERO, A.; BELLOCH, C.; IBÁÑEZ, C.; QUEROL, A. Molecular Analysis of the Genes Involved in Aroma Synthesis in the Species, *S. cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and *S. bayanus* var. *uvarum* in Winemaking Conditions. PLoS ONE, v. 9, e.97626, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097626>.

GAVA, Altanir J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo, Sp: Nobel,1984. Reimpresso em 2002.

GERARD, Liliana Mabel. **Caracterización de bacterias del ácido acético destinadas a la producción de vinagres de frutas**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universitat Politècnica de València. 2016. DOI: 10.4995/Thesis/10251/59401.

GRAFF, C.C. S; CHAUMEIL, J.-C.;BOY, P. LAI-KUEN, R. Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast. *J. Gen. Appl. Microbiol.* v. 5, p.91–6221–227, 2008. DOI: <https://doi.org/10.2323/jgam.54.221>.

GULLO, M.; GIUDICI, P. Acetic acid bacteria in traditional balsamicvinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, p. 46–53, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.076>.

HADIYANTO; ARIYANTI, D.; AINIA. A. P.; PINUNDIA, D. S. Optimization of Ethanol Production from Whey Through Fed-Batch Fermentation Using *Kluyveromyces marxianus*. **Energy Procedia**, v. 47, p. 108 – 112. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.203>.

HAEHN, H. **Bioquímica de las fermentaciones**. Madri, Aguillar, p. 583-95, 1956.

HAESELER, G. Vinegar. In: ULMANNS, F. **Enciclopedia de química industrial**. Barcelona, Editorial Gustavo Gili, S.A. v. 11, p. 552-85, 1951.

HAZHIZUME, Takuo. Tecnologia do vinho In: AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida. **Biotecnologia industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA., V. 2, 2001.

HOLT, J. M., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. Y; WILLIAMS, S. T. **Genus Acetobacter and Gluconobacter**. In Bergey's manual of determinative bacteriology, Maryland, U.S.A: Williams; Wilkens.v. 9, p. 71-84, 1994.

HUNT, H. E.; RICE, E. W. Microbiological examinations. In: EATON, A.D (ED.) **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21th ed. Washngton; APHA. Part 9000, p.9-1 – 9-169, 2005.

IAL, INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a ed. Brasília – DF: Ministério da Saúde, 2008.

JARA CAMPOS, C. I. **Desarrollo de métodos de biología molecular para el análisis directo de bacterias acéticas de vinagre**. Universitat Rovira i Virgili, 2009.

KELLY, J.; YANG, F.; DOWLING, L.; NURGEL, C.; BEH, A.; DI PROFIO, F.; PICKERING, G.; INGLIS, D.L. Characterization of *Saccharomyces bayanus* CN1 for Fermenting Partially Dehydrated Grapes Grown in Cool Climate Winemaking Regions. **Fermentation**, v. 4, p. 77, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation4030077>.

KÖNIG, H.; CLAUS, H. A Future Place for *Saccharomyces* Mixtures and Hybrids in Wine Making. **Fermentation**, v. 4, p. 67, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation4030067>.

LIM, W. S.; RABETA, M. S.; UTHUMPORN, U. Development of functional beverage from Sapodilla (*Manilkara zapota* L.) fruit. **Food Research**, v. 2, n. 2, p. 163-170, 2018. DOI: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(2\).227](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(2).227).

LIMA, U. A.; AQUARONE, E; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W, Produção de Etanol. In: AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida. **Biotecnologia industrial: Processos Fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA., v. 3, 2001.

LIONG, Monty et al. Specific pathogen detection using bioorthogonal chemistry and diagnostic magnetic resonance. **Bioconjugate chemistry**, v. 22, n. 12, p. 2390-2394, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/bc200490r>

LLAGUNO, C.; POLO, M. C. El Vinagre de Vino. Madrid: Ed. CSIC - Consejo Superior de Investigaciones Científicas, p. 238, 1991.

MAESTRE, K. L. **Estudo de condições de fermentação alcoólica e acética utilizando subproduto lácteo e diferentes leveduras**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo-PR, 2017.

MARQUES, F. P. P.; SPINOSA, W.; FERNANDES, K. F.; CASTRO, C. F. S.; CALIARI, M. **Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 30, supl.1, p. 119-126, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500019>.

MAS, Albert et al. Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. The Scientific World Journal, v. 2014, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/394671>

MATSUSHITA, K.; MATSUTANI, M. Distribution, evolution, and physiology of oxidative fermentation. In K. Matsushita, H. Toyama, N. Tonouchi, & A. Okamoto-Kainuma (Eds.), **Acetic acid bacteria: Ecology and physiology**. Tokyo, Japan: Springer Nature. p. 159–187, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-4-431-55933-7_1.

MATTA, V. M.; FREIRE JUNIOR, M. F.; CABRAL, L. M. C.; FURTADO, A. A. L. Polpa de fruta congelada. **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/114308>

MECCA, F.; ANDREOTTI, R.; VERONELLI, L. **L'Aceto**. Brescia: Edizione AEB, p. 433, 1979.

MERWIN, I.A.; VALOIS, S.; PADILLA-ZAKOUR, O.I. Cider Apples and Cider-Making Techniques in Europe and North America. **Hortic. Rev.**, v.34, p.365–415, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470380147.ch6>.

MILLER GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac60147a030?casa_token=xxtcvXqpJ5YAAAAA:qwB6uXuXqxNQXBmD9FukEHfo4hlsiWq06SHCybvcdQ_LugXkwEPIRTSX7u9yfPJm6dv8AlMnW_hKxwQ

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

- MORAIS, de D. L. P.; LIMA, O. De C. L.; ALVES, E. R.; FILGUEIRAS, C. A. H.; ALMEIDA, S. da A. Alterações físicas, fisiológicas e químicas durante o armazenamento de duas cultivares de sapoti. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v. 41, n. 4, p. 549-554, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000400001>.
- MORETTO, Eliane; ALVES, Roseane Fett; CAMPOS, Célia Maria Teixeira; ARCHER, Rita Maria Battisti; PRUDÊNCIO, Antônio José. **Vinhos e Vinagres: Processamento e Análises**. Florianópolis: Editora da UFSC, p. 168. 1988.
- MURNISYAZWANI, J.; RABETA, M. S. Antioxidant and antimicrobial activity of sapodilla (*Manilkara zapota* L.) fresh, juice and bar. **Food Research**, v. 3, n. 5, p. 400-406, 2019. DOI: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(5\).085](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(5).085).
- NEGRI, C. T.; BERNI, A. R. P.; BRAZACA, C. G. S. Valor nutricional de frutas nativas e exóticas do Brasil. **Biosaúde**, v. 18, n. 2, p. 82-96, 2017. Disponível em: <https://www.uel.br/revistas/uel/index.php/biosaude/article/view/27615>
- NETA, L. S. F.; HABERT, A. C.; BORGES, C. P. Cerveja microfiltrada: Processo e qualidade. **Brazilian Journal Food Technology**, Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: https://bjft.ital.sp.gov.br/especiais/ed_especial/23.pdf
- NEVES, Glenda Antonia da Rocha. **Desenvolvimento de vinagre a partir de frutos de caju-árvore-do-cerrado e sua aplicação em bebidas mistas**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.
- NEVES, M. I. F.; LOPES, J. D. Produção de bebida fermentada e fermento-destillada de sapoti: estudo cinético dos processos e caracterização físico-química dos produtos. In: XXIX Encontro de Iniciação Científica da UFPB, 2021, João Pessoa - PB. **Anais do XXIX Encontro de Iniciação Científica da UFPB**, 2021.
- NITAHARA, A. Municípios campeões em produção agrícola são do Nordeste. 2016. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2016-09/municipios-campeoes-em-producao-agricola-sao-do-nordeste>>. Acesso em: 13/07/2021.
- OLIVEIRA, V. S.; AFONSO, M. R. A.; COSTA, J. M. C. Caracterização físico-química e comportamento higroscópico de sapoti liofilizado. **Revista Ciências Agrônômicas**, v. 42, 365 n. 2, p. 342-348, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000200012>
- ÖZDEMİR, Nilgün et al. Phytochemical content, and antioxidant activity, and volatile compounds associated with the aromatic property, of the vinegar produced from rosehip fruit (*Rosa canina* L.). **LWT – Food Science and Technology**, v. 154, p. 112716, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112716>
- PAIVA, F. F. A.; GARRUTI, D. S.; SILVA NETO, R. M. **Aproveitamento Industrial do caju**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. 88 p. (Embrapa-CNPAT. Documentos, 38).

PALMA, Mauri Sergio Alves; CARVALHO, Lilian F. C. Priosti; GAVÓGLIO, Lilian Cristina, Vinagres, em AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida. **Biotecnologia industrial: Biotecnologia da Produção de Alimentos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA., v. 4, 2001.

PASTEUR, L. M´emoire sur la fermentation a ´etique. Annales Scientifiques de l’Ecole Normale Sup´erieure, v. 1, p. 113–158, 1864.

PAULA, de Breno. **Produção de fermentado de umbu (Spondias tuberosa Arr. Cam.)** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

PAZOS, M.; ANDERSEN, M. L.; MEDINA, I.; LEIF, H. S. Efficiency of natural phenolic compounds regenerating α -tocopherol from α -tocopheroxyl radical. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 9, p. 3661-3666, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf063165l>

PEDERSON, C. S. **Microbiology of food fermentation**. Wesrport, AVI, p. 260-4, 1971.

PEDROSO, Paula Regina Ferraz. **Produção de Vinagre de maçã em biorreator airlift**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

POTHAKOS, V., ILLEGHEMS, K., LAUREYS, D., SPITAELS, F., VANDAMME, P., & DEVUYST, L. Acetic acid bacteria in fermented food and beverage ecosystems. In K. Matsushita, H. Toyama, N. Tonouchi, & A. Okamoto-Kainuma (Eds.), **Acetic acid bacteria: Ecology and physiology**. Tokyo, Japan: Springer Nature. p.73–99, 2016.

PRESCOTT, S.C.; DUNN, C.G. **Industrial microbiology**. 3.ed. Nova York, McGraw-Hill, p. 452-98, 1959.

RAKHUBA, D. V.; KOLOMIETS, E. I.; SZWAJCER DEY, E.; NOVIK, G. I. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. **Polish journal of microbiology**, v. 59, n. 3, p. 145-155, 2010.

RASPOR, Peter; GORANOVIĆ, Dušan. Biotechnological applications of acetic acid bacteria. **Critical reviews in biotechnology**, v. 28, n. 2, p. 101-124, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/07388550802046749>

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. Aging Red Wines in Vat and Barrel: Phenomena Occurring During Aging. In **Handbook of Enology**; Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ, USA,; p. 402, 2006.

ROCHA, M.S.; FIGUEIREDO, R.W.; ARAÚJO, M.A.M; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (*in vitro*) de frutos do cerrado Piauiense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 933-941, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400003>

RODRIGUES, L. A. **Contribuição ao estudo bioquímico de frutas tropicais e exóticas produzidas no Brasil:** pectina, açúcar e proteína. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara - SP, 110 p. 2009.

ROMANOVA, A. et al. Acetic acid bacteria as enantioselective biocatalysts. **Journal of Molecular Catalysis**, n. 17, p. 235–240, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(02\)00013-9](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(02)00013-9)

ROMERO, L. E.; CANTERO, D. Mathematical model for liquid-gas equilibrium in acetic acid fermentations. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 59, n. 3, p. 310-317, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980805\)59:3<310::AID-BIT7>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980805)59:3<310::AID-BIT7>3.0.CO;2-E)

SAIMAITI, Adila et al. Antioxidant capacities and polyphenol contents of kombucha beverages based on vine tea and sweet tea. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, p. 1655, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11091655>

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the anti-radical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)

SANTOS, E. F. et al. Caracterização física e físico-química do fruto Sapoti oriundo de Santa Isabel do Pará. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 35185-35192, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n6-163

SATORA, P.; TUSZYŃSKI, T. Biodiversity of yeasts during plum Węgierka Zwyczajna spontaneous fermentation. **Food Technol. Biotechnol**, v.43, p. 277–282, 2005. DOI: <https://hrcak.srce.hr/110546>

SEBASTIÃO, S. H. A. **Extração e determinação de pectina na forma de pectato de cálcio da polpa do araçá amarelo.** Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, 2015.

SILVA, Gabriel Benício da. **Elaboração e caracterização de vinagre artesanal de acerola.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Gastronomia), Universidade Federal do Ceará, UFC, 2022.

SILVA JUNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; DE MOURA, R. J. M. O sapotizeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 86-99, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-2945-449/13>

SILVA JÚNIOR, Jayme César et al. Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: Chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. **Food Bioscience**, v. 44, p. 101380, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101380>

SIQUEIRA, Ana Elisa Barbosa et al. Elaboration of mangaba vinegar by semi-solid fermentation combined with enzymatic activity: chemical characterization and sensory evaluation. **Ciência Rural**, v. 51, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200638>

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, n. 1, p. 49–55, 1977.

SOARES, Gabriella Greyce Gomes. **Caracterização físico-química das polpas do fruto do sapotizeiro (*Manilkara sapota*, L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100008>

SOUSA, Antonio Manuel. **Bacteriófagos: características gerais, utilidades e aplicações biotecnológicas**. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SOUZA, Rosângela Aparecida de. **Avaliação sensorial de vinagre de kombucha (*Medusomyces gisevii*)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2023.

SPINOSA, W. A. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SUZART, C. A. G.; DIAS, J. C. T. **Desenvolvimento tecnológico de aguardente de soro de queijo**. Projeto Bolsa BITEC, IEL, SEBRAE e CNPQ. 2007.

TABAN, B. M.; SAICHANA, N. Physiology and biochemistry of aceticacid bacteria. In I. Y. Sengun (Ed.), **Acetic acid bacteria: Fundamentals and foodapplications** Boca Raton, FL: CRC Press. p. 71–91, 2017.

TESFAYE, W.; MORALES, M. L.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 12-21, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00023-7)

TORRES, Lucicléia Barros V.; QUEIROZ, Alexandre José de Melo; FIGUEIRÊDO, Rossana Maria Feitosa. Viscosidade aparente da polpa de umbu-cajá concentrada a 10 C. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 5, n. 2, p. 161-168, 2003.

TOSI, E.; AZZOLINI, M.; GUZZO, F.; ZAPPAROLI, G. Evidence of different fermentation behaviours of two indigenous strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum* isolated from Amarone wine. **J. Appl. Microbiol.**, v. 107, p. 210–218, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04196.x>

VERONA, O. **L’aceto**. Gênova, Dante Alighieri, p. 96, 1942.

VIDAL, F. Fruticultura na área de atuação do BNB: produção, mercado e perspectivas. **Caderno Setorial ETENE**. Banco do Nordeste. Ano 5, n. 136, out. 2020. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/documents/80223/8003030/2020_CDS_136.pdf/31e21f07-6dca-edc3-ebe2-69ea17e19434. Acesso em: 20 jul. 2021.

XU, Q.; TAO, W.; AO, Z. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 3, p. 841-849, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.013>

YAMADA, Yuzo et al. Identification of acetic acid bacteria isolated from Indonesian sources, especially of isolates classified in the genus *Gluconobacter*. **The Journal of general and applied microbiology**, v. 45, n. 1, p. 23-28, 1999. DOI: <https://doi.org/10.2323/jgam.45.23>

ZOCHE, Enio Paulo; FIGUEIREDO, Odacir de. **Produção de vinagre de jabuticaba**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira-PR, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A – pH e teor acético do meio SVS

Continua...		
DIA	pH	TEOR ACÉTICO
1	3,4100 ± 0,0100	2,4851 ± 0,0344
3	3,1833 ± 0,0153	2,5248 ± 0,0344
4	3,3567 ± 0,0115	2,4851 ± 0,0344
5	3,2133 ± 0,0153	2,4652 ± 0,0344
6	2,9667 ± 0,0058	2,4453 ± 0,0596
7	3,2067 ± 0,0115	2,5646 ± 0,0596
10	3,3533 ± 0,0058	2,4453 ± 0,0596
11	3,3167 ± 0,0153	2,5447 ± 0,0689
18	3,2200 ± 0,0000	2,1471 ± 0,0596
24	3,3533 ± 0,0153	1,8290 ± 0,0344
31	2,9500 ± 0,0100	1,8887 ± 0,0344
33	2,8567 ± 0,0058	1,9085 ± 0,0596
35	2,8967 ± 0,0058	1,8489 ± 0,0000
38	2,8500 ± 0,0100	1,9284 ± 0,0344
40	2,8100 ± 0,0100	1,8091 ± 0,1377
45	2,7767 ± 0,0115	1,5507 ± 0,0596
47	2,7733 ± 0,0058	1,4910 ± 0,0596
49	3,0700 ± 0,0000	0,9543 ± 0,0000
52	2,8533 ± 0,0058	1,8887 ± 0,0344
53	2,7767 ± 0,0153	1,8887 ± 0,1822
55	2,4200 ± 0,0300	2,8230 ± 0,0689
56	2,8733 ± 0,0058	2,6640 ± 0,0911
59	2,8633 ± 0,0058	1,1531 ± 0,0344
60	3,2433 ± 0,0058	1,4712 ± 0,0344
62	2,8700 ± 0,0100	2,2067 ± 0,0596
66	2,8067 ± 0,0252	2,3857 ± 0,2982
67	3,0967 ± 0,0058	2,6242 ± 0,1578
68	3,1067 ± 0,0058	2,8827 ± 0,0344
69	2,9100 ± 0,0100	3,1212 ± 0,0344
73	2,9200 ± 0,0000	3,8966 ± 0,0344
76	2,9567 ± 0,0058	3,3201 ± 0,1377
79	2,9467 ± 0,0058	3,4195 ± 0,0689
82	3,1500 ± 0,0000	3,7375 ± 0,1242
89	3,1033 ± 0,0252	2,0875 ± 0,0000
93	2,8133 ± 0,0351	2,4055 ± 0,0344
97	2,6633 ± 0,0252	2,7236 ± 0,0344
100	2,7367 ± 0,0115	3,3002 ± 0,1242
103	2,7000 ± 0,0100	3,8767 ± 0,000
107	2,4033 ± 0,0058	4,3538 ± 0,0298
109	3,1333 ± 0,0115	4,1550 ± 0,4315

Término		
DIA	pH	TEOR ACÉTICO
111	$2,5133 \pm 0,0115$	$4,4334 \pm 0,0689$
115	$2,7867 \pm 0,0208$	$4,3737 \pm 0,0911$
118	$3,4967 \pm 0,0115$	$3,3598 \pm 0,0911$
122	$3,3367 \pm 0,0252$	$4,4334 \pm 0,1501$
128	$3,3467 \pm 0,0252$	$4,7316 \pm 0,1242$
142	$3,1800 \pm 0,0000$	$2,9423 \pm 0,0344$
152	$3,1000 \pm 0,0000$	$4,0159 \pm 0,0344$
156	$3,1800 \pm 0,0000$	$5,1689 \pm 0,0344$
170	$2,9600 \pm 0,0000$	$6,2027 \pm 0,1033$
178	$3,0600 \pm 0,0000$	$7,0775 \pm 0,1822$
187	$1,8400 \pm 0,0000$	$5,5467 \pm 0,1033$
193	$3,1200 \pm 0,0000$	$6,0039 \pm 0,1377$
200	$3,1000 \pm 0,0000$	$6,9781 \pm 0,1033$
218	$3,1300 \pm 0,0000$	$7,9125 \pm 0,1377$
227	$3,1800 \pm 0,0000$	$7,6143 \pm 0,0689$
240	$3,0200 \pm 0,0000$	$5,8846 \pm 0,0911$
247	$3,1600 \pm 0,0000$	$7,6540 \pm 0,1242$
256	$3,1400 \pm 0,0000$	$7,7534 \pm 0,1033$
262	$2,9400 \pm 0,0000$	$8,0119 \pm 0,1822$
267	$3,3000 \pm 0,0000$	$7,6143 \pm 0,0689$
330	-	$1,1531 \pm 0,344$
346	$3,1433 \pm 0,0058$	$3,6381 \pm 0,1033$
350	-	$6,1431 \pm 0,7231$
382	$3,8333 \pm 0,0058$	$1,0139 \pm 0,0000$
387	-	$1,2724 \pm 0,0344$
392	-	$1,8688 \pm 0,0689$
395	-	$2,2067 \pm 0,0596$
399	-	$2,5447 \pm 0,0344$
403	-	$2,8628 \pm 0,0596$
407	-	$3,2405 \pm 0,0689$
410	-	$3,1610 \pm 0,1033$
413	-	$2,9622 \pm 0,0911$
417	-	$3,0815 \pm 0,0344$
421	-	$3,3399 \pm 0,0596$
427	-	$3,3399 \pm 0,0596$
431	-	$3,3996 \pm 0,1193$
438	-	$3,6381 \pm 0,0596$
450	-	$3,8171 \pm 0,1033$

APÊNDICE B – Controle do teor acético e pH do isolado de sapoti com fermentado de abacaxi (SVA)

DIA	pH	TEOR ACÉTICO
1	3,6033 ± 0,0058	1,6103 ± 0,0596
4	3,4167 ± 0,0321	1,7097 ± 0,0344
5	3,5100 ± 0,0100	1,8290 ± 0,0344
6	3,3933 ± 0,0153	1,8290 ± 0,0344
7	3,1433 ± 0,0153	1,8887 ± 0,0344
8	3,4200 ± 0,0000	1,8688 ± 0,0344
11	3,3967 ± 0,0058	2,6242 ± 0,0596
12	3,3800 ± 0,0100	2,6044 ± 0,0344
19	3,2667 ± 0,0058	2,8230 ± 0,0911
24	3,3600 ± 0,0100	2,8032 ± 0,1033
31	3,4633 ± 0,0058	2,2266 ± 0,0911
33	3,3800 ± 0,0173	2,4254 ± 0,0689
35	3,4167 ± 0,0058	2,6044 ± 0,0344
38	3,3733 ± 0,0208	3,0616 ± 0,0344
40	3,3067 ± 0,0153	3,3201 ± 0,0344
45	3,2633 ± 0,0153	3,6183 ± 0,1917
47	3,3167 ± 0,0058	3,8171 ± 0,1033
49	3,3333 ± 0,0058	3,7574 ± 0,0000
52	3,2367 ± 0,0058	3,8767 ± 0,0596
53	3,4467 ± 0,0115	2,7833 ± 0,1722
55	3,0367 ± 0,0153	3,7177 ± 0,0344
56	3,3533 ± 0,0058	3,6978 ± 0,0000
59	3,1967 ± 0,0058	4,1550 ± 0,0911
60	3,5967 ± 0,0058	4,3141 ± 0,0911
62	3,2700 ± 0,0100	4,7515 ± 0,0911
66	3,4267 ± 0,0513	3,9761 ± 0,0344
67	3,4433 ± 0,0058	4,2942 ± 0,0596
68	3,4933 ± 0,0153	4,2544 ± 0,0689
69	3,2800 ± 0,0100	4,2743 ± 0,0344

APÊNDICE C – Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L: Automática por motor

	Tempo (h)	pH	Temperatura (°C)	Oxigênio (%)	Motor (rpm)	Teor alcoólico (°GL)	Acidez Total (%)
T0	0	3,4	25,9	106	.	8	2,5733±0,0635
T1	5	3,39	29,6	99	.	8,9	2,8233±0,1328
T2	9	3,38	29,9	98	.	8,8	2,8867±0,1893
T3	13	3,38	30,2	99	.	8,6	2,9500±0,0346
T4	18	3,38	30	100	.	8,6	3,0233±0,0551
T5	23	3,38	29,8	101	.	.	2,9833±0,0635
T6	27	3,38	30	101	.	.	2,7333±0,0981
T7	35	3,38	29,6	98	.	8,4	2,7500±0,0693
T8	45	3,38	29,6	98	164	8	2,7700±0,0917
T9	53	3,38	29,9	98	173	8	3,0433±0,2214
T10	61	3,45	30	100	210	8	2,6767±0,1531
T11	69	3,45	30,1	100	249	8	2,8900±0,0346
T12	75	3,45	30,1	100	263	8	2,8700±0,0693
T13	93	3,45	29,6	98	316	8	2,8500±0,0600
T14	107	3,45	30	99	367	8	2,8667±0,0862
T15	119	3,45	30,3	100	411	.	2,9100±0,0000
T16	131	3,45	30,2	93	109	.	2,9200±0,0693
T17	144	3,45	29,9	93	212	.	2,8420±0,1184
T18	155	3,45	29,8	93	259	.	2,7137±0,0590
T19	169	3,45	29,7	93	300	7,8	2,7727±0,0590
T20	181	3,45	30,2	95	324	.	2,7923±0,0681
T21	195	3,45	30,3	95	352	.	2,8120±0,0341

APÊNDICE D – Fermentação acética no biorreator Tec-bio V7,5L: Automática por válvula

	Tempo (h)	pH	Temperatura (°C)	Oxigênio (%)	Pressão (mm Hg)	Abertura da válvula	Teor alcoólico (°GL)	Acidez Total (%)
T0	0	3,22	29,2	1	-	10,2	8,3	2,77±0,0600
T1	7	3,21	29,9	94	-	1,6	8	2,83±0,0000
T2	20	3,22	28,9	91	-	0,8	7,7	2,75±0,0346
T3	31	3,21	30,1	97	-	18,7	.	2,81±0,0346
T4	44	3,21	29,5	94	-	12,7	.	2,87±0,0346
T5	55	3,2	30,1	98	6	22	.	2,56±0,0334
T6	68	3,17	30,3	95	0	15,3	5,8	2,70±0,1454
T7	81	3,16	30,3	96	0	25,9	-	2,62±0,0334
T8	93	3,13	30,3	97	7	17,9	-	2,75±0,0883
T9	105	3,12	29,7	94	3	15,6	-	2,81±0,0883
T10	120	3,1	30,3	93	5	29,4	0,5	2,93±0,0334
T11	130	3,08	30,3	59	17	100	-	3,08±0,0667
T12	152	3,3	28,6	68	10	27,8	6	2,06±0,0334
T13	167	3,23	30	71	6	51,1	-	2,22±0,0334
T14	177	3,2	29,7	50	13	81,4	-	2,29±0,0883
T15	192	3,17	29,9	55	28	100	0,4	2,41±0,1335
T16	202	3,16	29,8	5	13	49,5	-	2,64±0,0334
T17	217	3,15	30	16	35	100	-	2,74±0,0667
T18	229	3,19	30,2	66	10	50,3	-	2,50±0,0667
T19	256	3,25	30,1	70	66	100	-	2,16±0,1203
T20	262	3,27	30,2	84	6	17,3	-	2,10±0,1203

APÊNDICE E – Acidez total e pH do meio contendo bactérias acéticas da kombucha (KVS2)

Dias	Acidez total (%)	pH
1	0,4175 $\pm$ 0,0000	3,9100 $\pm$ 0,0000
9	1,1730 $\pm$ 0,0344	3,4100 $\pm$ 0,0000
18	3,1212 $\pm$ 0,0344	3,1200 $\pm$ 0,0000
23	3,0815 $\pm$ 0,0344	3,3233 $\pm$ 0,0115
31	4,3936 $\pm$ 0,0911	2,9900 $\pm$ 0,0000
38	4,5129 $\pm$ 0,0911	3,2400 $\pm$ 0,0000
47	4,4334 $\pm$ 0,0689	3,1900 $\pm$ 0,0000
53	4,0556 $\pm$ 0,0596	3,1700 $\pm$ 0,0000
57	3,9363 $\pm$ 0,1789	3,3700 $\pm$ 0,0000
58	2,5248 $\pm$ 0,0344	3,3700 $\pm$ 0,0000
82	1,9483 $\pm$ 0,0344	3,6400 $\pm$ 0,0000
90	3,8767 $\pm$ 0,2066	3,1400 $\pm$ 0,0100
91	3,8966 $\pm$ 0,0344	3,1367 $\pm$ 0,0058
101	3,6779 $\pm$ 0,0911	3,1233 $\pm$ 0,0252
106	5,0894 $\pm$ 0,0911	2,8967 $\pm$ 0,0058

APÊNDICE F – Cinética da fermentação alcoólica de todos os biorreatores

Acidez Total (%)					
DIAS	B1	B2	B3	B4	
T0	0	0,1180±0,0000 _a	0,1377±0,0341 _a	0,1377±0,0341 _a	0,1377±0,0341 _a
T1	2,9375	0,3146±0,0341 _a	0,3146±0,0341 _a	0,2753±0,0341 _a	0,3146±0,0341 _a
T2	4,6667	0,4130±0,0000 _a	0,4719±0,0000 _a	0,4523±0,0341 _a	0,4130±0,0590 _a
T3	5,9375	0,4130±0,0000 _{ab}	0,4326±0,0341 _{ab}	0,3933±0,0341 _a	0,4719±0,0000 _b
T4	6,8542	0,5309±0,0000 _a	0,4326±0,0341 _a	0,4916±0,0341 _a	0,4719±0,0590 _a
T5	7,8542	0,4916±0,0341 _a	0,4916±0,0341 _a	0,5113±0,0341 _a	0,4916±0,0341 _a
T6	8,8646	0,5113±0,0341 _a	0,5309±0,0000 _a	0,5703±0,0341 _a	0,5309±0,0000 _a

DIAS	B1	B2	B3	B4	
T0	0	4,6200±0,0100 _a	5,4167±0,0058 _b	4,7767±0,0115 _c	4,6933±0,0058 _d
T1	2,9375	4,3400±0,0000 _a	4,3633±0,0058 _b	4,3633±0,0058 _b	4,3733±0,0058 _b
T2	4,6667	4,1000±0,0300 _{abc}	4,1633±0,0058 _{ab}	4,0767±0,0473 _{ac}	3,9833±0,0321 _d
T3	5,9375	3,9100±0,0200 _a	3,8433±0,0153 _b	3,8233±0,0058 _b	3,8300±0,0200 _b
T4	6,8542	3,8700±0,0200 _a	3,8967±0,0208 _a	3,8967±0,0306 _a	3,9033±0,0153 _a
T5	7,8542	3,8333±0,0153 _a	3,8633±0,0153 _{ab}	3,8633±0,0153 _{ab}	3,8767±0,0153 _b
T6	8,8646	3,8200±0,0200 _a	3,8200±0,0346 _a	3,8733±0,0473 _a	3,8167±0,0115 _a

SST (°Brix)					
DIAS	B1	B2	B3	B4	
T0	0	23,2	23,2	23,2	23,2
T1	2,9375	14,0	14,0	14,0	13,5
T2	4,6667	8,0	8,5	8,5	8,5
T3	5,9375	5,0	5,0	4,5	5,0
T4	6,8542	2,5	2,0	2,5	2,5
T5	7,8542	1,0	0,5	1,0	1,0
T6	8,8646	0	0	0	0

Teor alcoólico (°GL)					
DIAS	B1	B2	B3	B4	
T0	0	0	0	0	0
T1	2,9375	5,0	5,2	5,2	5,6
T2	4,6667	8,4	8,6	7,5	7,8
T3	5,9375	9,8	10,0	10,1	9,8
T4	6,8542	12,2	12,2	12,2	12,5
T5	7,8542	12,8	12,6	12,6	12,8
T6	8,8646	13,6	13,6	13,4	13,0

Açúcar Redutor (g/L)					
DIAS	B1	B2	B3	B4	
T0	0	214,607±1,6646	223,641±0,8036	211,997±2,2220	206,376±1,2829
T1	2,9375	110,607±2,3760	127,078±8,6621	111,620±4,4464	108,106±2,1213
T2	4,6667	77,428±1,8475	86,872±0,4593	81,671±0,3472	71,724±0,9709
T3	5,9375	57,951±0,1388	54,659±1,2898	57,282±0,3672	56,238±0,7343
T4	6,8542	20,035±0,4041	20,035±0,9815	19,353±0,3055	22,645±1,8000
T5	7,8542	12,768±0,1732	11,403±0,1893	11,102±1,1117	11,403±0,8098
T6	8,8646	6,996±0,3263	6,304±0,2602	6,213±0,2529	5,581±0,0144

APÊNDICE G – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As pesquisas envolvendo seres humanos são norteadas pela Resolução N.º 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS)

PREZADO SENHOR(A)

Esta pesquisa é sobre **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO DE SAPOTI (*Manilkara zapota*)** e está sendo desenvolvida por Maria Cecília Soares Correia, aluna do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Paraíba, Paraíba – PB, sob a orientação da Professora Dra. Julice Dutra Lopes e coorientação do Professor Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa, e tem como objetivo desenvolver e caracterizar um fermentado acético de sapoti, como proposta de novo produto alimentício. Este estudo busca utilizar a tecnologia de produção de vinagre para engrandecer o valor do sapoti, que por ser climatérico, os produtores encontram dificuldades na sua conservação e comercialização. Este fruto ainda é fonte de nutrientes e possui um alto teor de açúcares em sua composição, favorecendo a etapa da fermentação alcoólica na obtenção do vinagre.

Solicito sua permissão para apresentar os resultados deste estudo. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Os pesquisadores estarão a sua disposição para quaisquer esclarecimentos que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

A sua participação na pesquisa é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

Os riscos dessa pesquisa são reações alérgicas por parte dos participantes após a ingestão do produto. O pesquisador prestará assistência integral ao participante da pesquisa no que se refere às complicações, reações adversas a saúde e possíveis danos referentes da pesquisa. Este trabalho terá como serventia observar a qualidade do vinagre de sapoti obtido, com possibilidade de novo produto para o mercado consumidor, o comparando com vinagres comerciais em relação principalmente aos atributos de aroma, aparência e sabor.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma via deste documento.

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do participante da pesquisa

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor contatar a equipe científica no endereço e telefones a seguir:

Universidade Federal da Paraíba, Laboratório de Análises e Pesquisa de Bebidas Alcoólicas (LBA) da Universidade Federal da Paraíba (Bloco C - Centro de Tecnologia). *Campus I* - Lot. Cidade Universitária, João Pessoa- PB, Cep:58051-900

Contatos:

Maria Cecília Soares Correia: ceciliasoares2010@gmail.com / (83) XXXX-XXXX*

Julice Dutra Lopes: julice@ct.ufpb.br / (83) XXXX-XXXX*

Carlos Alberto Bispo de Sousa: carlobispo@gmail.com/ (83) XXXX-XXXX*

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB

Cidade Universitária / Campus I – Bloco Arnaldo Tavares, sala 812.

Fone: (83) 3216-7791

* Números omitidos neste documento, mas presentes nos termos fornecidos aos provadores.

APÊNDICE H – Ficha para o teste de aceitação sensorial e intenção de compra

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

Análise Sensorial de vinagre de sapoti

Nome: _____ Idade: _____

Gênero: () Masculino () Feminino Escolaridade: _____

Você está recebendo duas amostras codificadas. Por favor, deguste uma por vez fazendo uso da água entre uma amostra e outra. Coloque a nota para cada característica de cada amostra de acordo com a escala abaixo:

- (9) Gostei MUITÍSSIMO
 (8) Gostei Muito
 (7) Gostei Moderadamente
 (6) Gostei Ligeiramente
 (5) Nem gostei, Nem Desgostei
 (4) Desgostei Ligeiramente
 (3) Desgostei Moderadamente
 (2) Desgostei Muito
 (1) Desgostei MUITÍSSIMO

ATRIBUTO	NOTA	
Aceitação global		
Aroma		
Cor		
Sabor		
Acidez		

ATITUDE DE COMPRA:

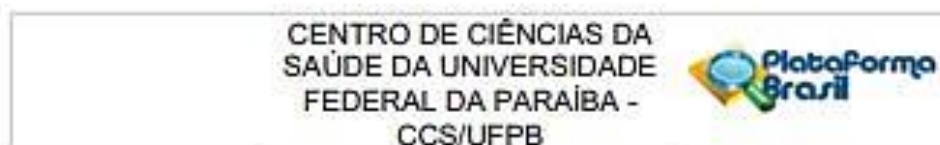
- (5) Compraria
 (4) Possivelmente compraria
 (3) Talvez compraria/ talvez não compraria
 (2) Possivelmente não compraria
 (1) Não compraria

Amostra	Nota

Comentários:

Obrigada!

ANEXO A - Comprovante do envio do projeto para o Comitê de Ética e Pesquisa da UFPB

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO DE SAPOTI (Manilkara zapota)

Pesquisador: Maria Cecília Soares Correia

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 70386523.9.0000.5188

Instituição Proponente: Centro de Tecnologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.133.964

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado "DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO DE SAPOTI (Manilkara zapota)", pertence ao Departamento de Engenharia Química CT/UFPB.

Introdução:

Grande diversidade de frutas vem sendo explorada por meio do cultivo ou da extração, colocando o Brasil na terceira posição no ranking mundial de produção de frutas (VIDAL, 2020). Dentre as frutas comercializadas está o sapoti (Manilkara zapota), que teve sua origem na América Central. No Brasil, este fruto vem sendo cultivado principalmente nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Ceará (SOARES, 2018; SANTOS et al., 2020). O sapoti possui uma polpa dura, esbranquiçada e muito adstringente quando imaturo, e polpa suculenta com coloração castanho-avermelhada, amarelada ou marrom-escura, com sabor adocicado e sem acidez no seu estágio de amadurecimento (SILVA JUNIOR et al., 2014; MORAIS, 2018). A diversificação de culturas de sapoti vem proporcionando um aumento pelo interesse de cultivo e consumo por parte dos consumidores e, consequentemente, das indústrias (SANTOS et al., 2020), pois o sapoti é um fruto que, além de doce e suculento, possui um aroma que pode ser facilmente identificado. Este fruto ainda contém cálcio, fósforo, ferro, as vitaminas A, B1, B2, B5 e C, e ainda um valor calórico

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 6.133.968

de 96 calorias em cada 100 g da fruta (BONIFÁCIO, 2018). Normalmente esse fruto é consumido in natura, mas por possuir alta perecibilidade, ou seja, um rápido amadurecimento, os produtores acabam encontrando dificuldades em mantê-lo conservado para a sua comercialização. Para solucionar esse problema, muitas tecnologias de processamento vêm sendo desenvolvidas para aproveitar o excedente da produção destes frutos (OLIVEIRA et al., 2011; COSTA et al., 2017; BONIFÁCIO, 2018). Uma dessas tecnologias é a produção de vinagre, que aproveita matérias-primas e seus subprodutos inaproveitáveis dos estabelecimentos industriais de frutas e das propriedades rurais, que não poderiam competir no mercado de outra forma (EVANGELISTA, 2000; PEDROSO, 2003; CRUZ, 2012). No mundo inteiro, o vinagre é usado como condimento e conservante de alimento, que pela sua ação nutritiva e biorregulatória, pode ser considerado um complemento necessário à alimentação humana. Os vinagres obtidos de frutas possuem qualidade sensorial e nutricional superior aos provenientes de outras fontes, pois apresentam sabor e aroma próprios. Nutricionalmente, destacam-se a presença de ácidos orgânicos, compostos fenólicos, vitaminas, proteínas e aminoácidos, adquiridos do fruto e da fermentação alcoólica (AQUARONE et al., 2001; MARQUES et al., 2010; FONTAN et al., 2011; ZOCHÉ e FIGUEIREDO, 2014). Esse produto é obtido por dois processos bioquímicos diferentes, resultantes da ação de microrganismos. Primeiro acontece o processo da fermentação alcoólica, pela ação das leveduras sobre as matérias-primas açucaradas e amiláceas, depois ocorre a fermentação acética, pela atuação das bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter* (AQUARONE et al., 2001; TESFAYE et al., 2002). Existem métodos distintos para a fabricação de vinagre. Um deles é o método alemão, ou método rápido, que consiste em passar a mistura do vinagre através de um material com uma elevada superfície exposta, contendo bactérias acéticas imobilizadas e passagem de ar atmosférico em contracorrente (MORETTO et al., 1988; PALMA et al., 2001; COSTA et al., 2006; MAESTRE, 2017). Foi observado que existem poucos trabalhos acerca da matéria-prima sapoti e uma ausência de fontes atuais sobre a produção do vinagre, a qual tem sido resultado da desvalorização de ambos, ou mesmo, da falta de conhecimento sobre suas qualidades sensoriais e nutricionais. Nesses trabalhos, foi possível perceber a busca por novas fontes de matérias-primas para a produção de vinagre, incluindo frutas diversas e o aproveitamento de resíduos alimentícios. Para este estudo, o sapoti foi escolhido como matéria-prima inicialmente por ser um fruto cujo padrão respiratório é climatérico, o que o faz amadurecer mais rapidamente em condições naturais (ARAÚJO-NETO et al., 2001; MORAIS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2011; MORAIS, 2018), tomando difícil a conservação e a comercialização do fruto em questão (MATTA et al., 2005), o que justifica a procura por formas diversas de processamento desse fruto. Quando maduro, o sapoti possui em

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comlidesica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 6.133.966

sua composição um alto teor de açúcar, o que o transforma em um excelente contribuinte para a fermentação alcoólica, facilitando o processo de fabricação do vinagre, pois de acordo com a Instrução Normativa N° 16, de 19 de março de 2020 (BRASIL, 2020), ficou proibida a adição de açúcar na produção de fermentado de fruta que sirva de matéria-prima para produção de fermentado acético de fruta. Como foi citado anteriormente, esse fruto tem sido bastante produzido na região nordeste, sendo a Paraíba um dos estados que mais se destaca nessa produção.

Hipótese:

Qual a percepção e aceitação dos consumidores de vinagre de frutas sobre este novo produto?

Metodologia Proposta:

MATÉRIA-PRIMA Os frutos de sapoti serão adquiridos em feiras livres do município de João Pessoa – PB, em estágio intermediário de maturação, e levados para processamento em laboratório. Os frutos serão deixados em temperatura ambiente (25 °C) até a completa maturação e então serão lavados e sanitizados com uma solução de 50 ppm de hipoclorito de sódio por 5 minutos, enxaguados, colocados em cestas perfuradas por duas horas. **EXTRAÇÃO DO CALDO DE SAPOTI** Para a obtenção do caldo de sapoti será utilizado um sistema de prensa hidráulica de acionamento manual com capacidade de 30 toneladas, marca SKAY. Devido às características do material a ser extraído, serão usados sacos de algodão forrando o interior do cilindro da prensa. Após a extração, o caldo será filtrado, uma parte retirada para realização de análises físico-químicas, o restante acondicionado em garrafas PET e armazenado em freezer, em temperatura de -18 °C, até o momento da realização da fermentação alcoólica. **ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS** Para a obtenção das bactérias acéticas será utilizado o próprio sapoti em estágio avançado de amadurecimento como substrato para que as bactérias possam obter energia e mantenham sua atividade metabólica. Deve-se observar se no fruto em questão não tenha crescimento visível de fungos. O sapoti maduro será colocado em um recipiente que contenha uma mistura de vinagre comercial e vinho de frutas caldo com quantidades iguais de vinagre comercial e vinho (tinto, branco ou de frutas). Este recipiente deve ser bem fechado para impedir a entrada e saída de ar, fazendo com que permaneça lá dentro uma quantidade adequada de ar. **FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA** A fermentação alcoólica do caldo de sapoti será realizada em bioreatores de polietileno, em temperatura ambiente (25 °C), em sistema de batelada, com

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer E-132/06

capacidade de 10 litros cada. As condições iniciais do meio serão controladas com relação à concentração de substrato (EST) em °Brix, concentração da biomassa (*Saccharomyces bayanus*) em g/L e temperatura em °C. Será realizado um acompanhamento cinético do processo fermentativo de cada bioreator. Durante a condução do processo cinético serão determinados a cada três horas, os seguintes parâmetros: sólidos solúveis totais (°Brix), utilizando um refratômetro de campo; pH, utilizando um pHmetro de bancada; acidez total por titulação, utilizando metodologia descrita por IAL (2008); teor alcoólico (°GL), utilizando um ebuliômetro, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e açúcares não redutores, determinados pelo método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Miller (1959) e concentração de biomassa (g/L), utilizando metodologia descrita por Florentino (2006), até que o teor alcoólico dos mostos se estabilize. Finalizado o processo fermentativo os fermentados serão separados da parte sólida por decantação. **FERMENTAÇÃO ACÉTICA** Para a realização da fermentação acética será utilizada uma vinagreira artesanal com aeração, tendo como suporte bagaço de cana estéril. Na vinagreira estará disposto o mosto fermentado de sapoti para receber a inoculação das bactérias acéticas, à temperatura ambiente. Amostras serão recolhidas todos os dias a fim de que seja analisado o teor alcoólico e o teor acético. Por meio de titulometria será determinado o teor acético, tendo o NaOH como solução padrão e fenolftaleína como indicador. O processo estará completo quando o grau alcoólico indicar 1 °GL. Por fim será pasteurizado. **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA** Serão realizadas análises de contagem de coliformes fecais e totais, pelo método descrito por Silva, Junqueira e Silveira (2001), nos vinagres produzidos, antes da análise sensorial. **ANÁLISE SENSORIAL DO VINAGRE** A pesquisa será exploratória fundamentada em modelo quantitativo. Será realizada uma comparação entre as características sensoriais do vinagre de sapoti e de um vinagre comercial. A análise sensorial será realizada utilizando testes de aceitação e intenção de compra com 100 julgadores não treinados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Desenvolver e caracterizar fermentados acéticos do fruto do sapoti (*Manilkara zapota*).

Objetivo Secundário: - Avaliar a redução do teor de pectina do caldo de sapoti, após processo de clarificação; - Obter bactérias acéticas de kombucha e do próprio fruto sapoti; - Caracterizar o

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1ª Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: E.133.964

caldo de sapoti obtido mediante análises físico-químicas previstas na legislação vigente; - Acompanhar cineticamente a fermentação alcoólica do caldo de sapoti; - Desenvolver fermentação acética a partir de fermentados alcoólicos de sapoti, utilizando isolados de kombucha e do fruto sapoti, pelo método rápido; - Caracterizar os fermentados acéticos produzidos mediante análises físico-químicas previstas na legislação vigente; - Avaliar o perfil de compostos fenólicos e dos compostos antioxidantes no caldo e no fermentado acético de sapoti; - Realizar análise sensorial comparando o vinagre obtido de sapoti com um de marca comercial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos potenciais previsíveis e evitáveis. Durante o decorrer da entrevista e da análise sensorial o participante pode se sentir constrangido a responder determinada pergunta ou a não querer proceder com o teste sensorial sendo possível não responder ou deixar o local sem qualquer prejuízo. Será fornecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e método adotado de análise dos dados prevendo procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade dos voluntários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa será exploratória fundamentada em modelo quantitativo. Será realizada uma comparação entre as características sensoriais do vinagre de sapoti e de um vinagre comercial. O trabalho será segmentado em duas etapas: na primeira serão realizadas as análises microbiológicas, e análises físico-químicas, em triplicata, do vinagre de sapoti obtido na pesquisa; na terceira etapa será realizado o recrutamento (n=100) e seleção dos julgadores que irão realizar a análise sensorial de Aceitação e Atitude de compra do vinagre de sapoti.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto de pesquisa encontra-se dentro da Resolução 466/12, e da Normativa Operacional 001/2013

Recomendações:

Recomenda-se aprovar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer 8.133.964

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_2120322.pdf	07/06/2023 16:33:30		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_Maria_Cecilia.pdf	07/06/2023 16:32:15	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Certidao_PPGEQ.pdf	07/06/2023 09:02:32	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	lovepdf_merged.pdf	07/06/2023 09:00:22	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	07/06/2023 09:00:09	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	07/06/2023 08:58:02	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
Outros	Cartas_de_Anuencia.pdf	07/06/2023 08:47:07	Maria Cecília Soares Correia	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de Pesquisa com TCLE e Ficha Sensorial_Maria_Cecilia_Soares_Correia.pdf	07/06/2023 08:43:20	Maria Cecília Soares Correia	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedetica@ccs.ufpb.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



Continuação do Parecer: 6.123.966

JOÃO PESSOA, 21 de Junho de 2023

Assinado por:

Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br