

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

COSME DAMIÃO BARBOSA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VINHO E
VINAGRE DE MANGA (*Mangifera indica* L.):
PARÂMETROS CINÉTICOS DAS FERMENTAÇÕES
ALCOÓLICA E ACÉTICA**

**Belo Horizonte
2014**

COSME DAMIÃO BARBOSA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VINHO E
VINAGRE DE MANGA (*Mangifera indica L.*):
PARÂMETROS CINÉTICOS DAS FERMENTAÇÕES
ALCOÓLICA E ACÉTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Área de Concentração: Ciência de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Evelyn de Souza Oliveira Lopes

Co-orientadora: Profa. Dra. Inayara Cristina Alves Lacerda

Belo Horizonte

2014

B238o Barbosa, Cosme Damião.
 Obtenção e caracterização de vinho e vinagre de manga
(*Mangífera indica L.*): parâmetros cinéticos das fermentações
alcoólica e acética / Cosme Damião Barbosa. – 2014.
 128 f. : il.

 Orientadora: Evelyn de Souza Oliveira Lopes.
 Co-orientadora: Inayara Cristina Alves Lacerda.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência
de Alimentos.

 1. Manga – Teses. 2. *Saccharomyces cerevisiae* – Teses. 3.
Bebidas alcoólicas – Teses. 4. Fermentação – Teses. 5. Vinagre –
Teses. 6. Vinho e vinificação – Teses. 7. Tecnologia de alimentos –
Teses. I. Lopes, Evelyn de Souza Oliveira. II. Lacerda, Inayara
Cristina Alves. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade
de Farmácia. IV. Título.

CDD 664.804



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS -PPGCA

COSME DAMIÃO BARBOSA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VINHO E VINAGRE DE MANGA
(*Mangifera indica* L.): PARÂMETROS CINÉTICOS DA FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA E ACÉTICA**

APROVADA EM 18 DE FEVEREIRO DE 2014

COMISSÃO EXAMINADORA

Carla Alves Lara

Profa. Dra. CARLA ALVES LARA

Evelyn de S. Oliveira Lopes

**Profa. Dra. EVELYN DE SOUZA OLIVEIRA LOPES
(Orientadora e Presidente da Comissão)**

Gecernir Colen

Prof. Dr. GECERNIR COLEN

Renata Adriana Labanca

Profa. Dra. RENATA ADRIANA LABANCA

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, protagonistas desse grande feito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e pelo fortalecimento de meus passos durante essa longa caminhada.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pela luta diária em prol de meus sonhos, pela transmissão de valores, pela presença constante em minha vida pessoal e acadêmica. A vocês tenho que reverenciar e aplaudir de pé.

Aos meus irmãos e irmãs, agradeço pelo apoio, carinho, pela transmissão de boas energias e pelas saudosas lembranças que carrego comigo. Em especial a Elyene Barbosa que me alfabetizou bem antes de meu ingresso na vida escolar.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas, pela constante presença em minha vida, pela oportunidade de contribuir na formação de cada um de vocês. Pelos risos e carinhos inocentes, nos quais me agarrei durante todo esse tempo, principalmente nos momentos difíceis. Nossa ligação foi vital, para que a distância pudesse ser superada e as energias renovadas, com a certeza de estarmos em constante aprimoramento.

A todos os meus familiares pelo apoio e orações constantes.

Às professoras Doutoras: Evelyn de Sousa Oliveira Lopes e Inayara Cristina Alves Lacerda pela orientação, amizade e grande suporte profissional e humanístico durante meu mestrado.

Aos amigos dos Laboratórios de Microbiologia Industrial e Biocatálise (LAMIB) e de Microbiologia de Alimentos (MicroAl): Elaine Cristina, Fernanda Penido, Luciana Faleiro, Denise Sande, Flávia Gonçalves, Andrea Geöcze, Roberta Riquette, Patrícia Amaral, Michelle Capobiango, Carla Lara, Beatriz Silva, Murielle, Vanessa Feldmann, Letícia Alvarenga, Bárbara Matos, Letícia Barbosa, Ana Diolina, Lígia Auad, Raimunda Torres e tantos outros que por ali passaram. Pelo carinho, acolhida, apoio na execução do projeto e pelos inúmeros momentos de descontração e trabalho duro. Nunca me esquecerei

das pausas para a degustação da “infusão de *Coffea arabica*” ou dos almoços no “Bandeijão”. Levá-los-ei sempre comigo.

À Letícia Alvarenga, pela amizade, compartilhamento de linha de pesquisa e pelos conselhos e auxílios dentro e fora do âmbito acadêmico.

À Elaine Cristina e Fernanda Penido, pelas grandes amigas que despretensiosamente se tornaram, pelo “apadrinhamento”, pelos conselhos, pelos inúmeros auxílios, pelas conversas, momentos de descontração e por estarem sempre ao meu lado me proporcionando momentos inesquecíveis e de grande enriquecimento.

À Luciana Faleiro, pela amizade, suporte técnico-científico e pela presença alegre e descontraída. Sempre enxergando o lado positivo das coisas.

Aos professores do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia: Gecernir Colen, Roberto Junqueira, Roseane e todos os demais pela transmissão de conhecimentos e pelo apoio técnico-científico.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Bromatologia da FAFAR: Scheilla Vitorino, Raquel Linhares, Renata Labanca e Ronália, pelo suporte científico e auxílio na realização das análises bromatológicas.

À funcionária e amiga Raimunda Torres pela amizade, suporte técnico e atenção. Em especial pelo suporte na adequação de todo o meu material de pesquisa, etapa decisiva na realização dos meus experimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PPGCA) da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pela oportunidade de realizar o mestrado.

Às secretarias da PPGCA Úrsula e Marilene, pelo apoio administrativo desde a minha chegada ao Departamento de Alimentos da FAFAR.

À professora Doutora Nísia Andrade Villela Dessimoni Pinto, pela amizade, orientação e doutrinação durante minha graduação. Por sempre acreditar em meu potencial despertando em mim o interesse pela Ciência de Alimentos. E por me mostrar que as boas ações nos tornam melhores.

Aos professores Doutores da UFVJM e integrantes do LTBC: Marcela Nery, Daniele Ferreira e Gilmar Vieira pela amizade, pelos valiosos conselhos e pela parceria durante meus anos iniciais na “vida acadêmica”.

Aos professores Gecernir Colen, Renata Adriana Labanca e Carla Lara pelas valiosas colaborações na adequação do presente trabalho.

À Tatiane Marcos de Assis e família, pelo apoio constante e decisivo para minha permanência em BH, agradeço imensamente por todo o carinho e atenção a mim oferecidos.

Aos meus amigos de longa data: Cristielle Costa, Anne Caroline, Viviane, Marcos Vinícius, Mônica Lopes, Tiago DeCoux, Natália, Elaine Leite, Ângela Batista, Fernanda Figueiredo, Melina Calmon, Paulo Afonso, Danilla, Cíntia Xavier, Fernando Pinho, Cayo Almeida, Izabela, Filipe Moura, Bruna Guerra, Letícia Dias, Dirceu Melo, Amanda Miranda, Fabrício Neves e tantos outros. Pela amizade e companheirismo durante todos esses anos. Fico extremamente feliz em saber que todos nós estamos caminhando rumo à concretização de nossos sonhos.

À família Leite e Oliveira: Danielle, Danillo, Magda e Bonifácio pela acolhida em BH, pelo carinho, conselhos e respeitadas brincadeiras.

Ao amigo Rafael Leite, pela parceria, pelos conselhos constantes, pelas caronas entre Diamantina e BH, por todos os momentos em que mostrou que a perseverança é essencial na concretização dos sonhos, além de todos os momentos de descontração.

Aos saudosos amigos de Diamantina: Michelly Cabral, Darliane, Nara Moraes, Irene Cunha, Elaine Leite, Bethânia Moraes, Bárbara Borges, Letícia Costa, Liliane Pereira, e Gilmara Paixão.

Aos amigos de república: Thiago, Cristiano e Leandro pela convivência, respeito, companheirismo e pelos inúmeros auxílios em diversos momentos da minha trajetória, em especial na análise, redação e adequação deste texto.

Aos amigos da Fraternidade Espírita Arcanjo Miguel, pelo carinho, preces e suporte espiritual.

Aos amigos de BH: Eduardo Ribeiro, Renato Penido, Pedro Henrique Diniz, José Paulo Sato, Lavínia e Fátima pela amizade e suporte constante.

À família Soares e Becker (BH/JF): Daniela Soares, Mary Soares, Raquel Becker, Thiago Becker, Clarinha, Bernardo e Cecília pelo carinho, acolhida, suporte e transmissão de boas energias e valores. Serei eternamente grato.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

À FAPEMIG pela concessão de fomentos para a realização do projeto.

A todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram nessa caminhada.

"Não estudamos sapos, cobras e aranhas porque somos bruxos, estudamos porque gostamos de ser cientistas. Não estudamos plantas, fungos e frutos para poções, mas porque gostamos de fazer ciência. E não estudamos células, genes e parasitas porque brincamos com a vida, mas porque gostamos de conhecê-la"

(Izabela Menezes Barata)

Un sourire est souvent l'essentiel. On est payé par un sourire. On est récompensé par un sourire.

(Antoine de Saint-Exupéry)

C'est ce que nous pensons déjà connaître qui nous empêche souvent d'apprendre

(Claude Bernard)

RESUMO

A manga é um dos frutos tropicais mais cultivados. Sua polpa é rica em carboidratos, tornando-se excelente matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas fermentadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar oito linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de vinho de manga e obtenção de vinagre de manga pelo processo lento ou de Orleans. Na primeira parte deste estudo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* proveniente do fermento comercial prensado foi a que apresentou os melhores resultados para os parâmetros fermentativos, tais como, teor alcoólico, rendimento e produtividade em etanol, sendo então utilizada na produção do vinho de manga. Os frutos utilizados neste estudo apresentaram rendimento em polpa superior a 70 % com teor de sólidos solúveis totais de 17°Brix. A polpa de manga a ser fermentada foi previamente hidrolisada com o complexo enzimático Pectinex Ultra SP na concentração de 0,025 g por quilograma de polpa com atividade enzimática de 4000PG. A fermentação alcoólica para a produção do vinho de manga foi conduzida em triplicata em bombonas plásticas com capacidade para cinco litros. Foram utilizadas como inóculo células da levedura *S. cerevisiae* proveniente do fermento comercial prensado a 3 % (p. v⁻¹) em base úmida. Os parâmetros da fermentação alcoólica para obtenção do vinho de manga foram: produtividade de 7,6 g. L⁻¹. h⁻¹, eficiência de 91,5 % e rendimento em etanol de 85 %. O vinho obtido apresentou teor alcoólico médio de 7,6 (g. L⁻¹). Na segunda parte do trabalho foi elaborado o vinagre de manga, para isto primeiramente foi realizada a fermentação alcoólica e em seguida a fermentação acética. O vinho obtido apresentou 7,7 de etanol (g. L⁻¹), obtendo-se na fermentação rendimento em etanol de 90 %, eficiência de 96,7 % e produtividade de 8,03 g. L⁻¹. h⁻¹. A fermentação acética do fermentado de manga foi realizada pelo processo lento ou de “Orleans” utilizado como inóculo 100 mL de vinagre forte não pasteurizado para cada 1 L de vinho. A acetificação foi realizada em triplicata em recipientes plásticos com capacidade para cinco litros e conduzida por 28 dias, sendo retiradas amostras a cada sete dias para determinação da acidez volátil em ácido acético, etanol e pH. O vinagre apresentou valor médio de acidez total de 4 g. 100 mL⁻¹ em ácido acético. A acidez volátil foi de 3,21 em ácido acético estando abaixo do

exigido na legislação brasileira. O rendimento *GK* médio foi de 64 % e os teores de polifenóis ($31,80 \pm 2,00$) foram superiores quando comparados com dados encontrados na literatura para outros vinagres. Portanto, as leveduras provenientes do fermento comercial úmido apresentaram bons resultados nos processos de fermentação testados. O vinho de manga apresentou parâmetros de acordo com os estabelecidos pela legislação brasileira. Desta forma, é possível produzir vinho e vinagre de manga de boa qualidade dentro dos parâmetros exigidos pela legislação utilizando a levedura *S. cerevisiae* proveniente do fermento comercial prensado para a fermentação alcoólica e vinagre forte não pasteurizado para a fermentação acética.

Palavras-chaves: *Saccharomyces cerevisiae*, fermentação alcoólica, fermentação acética, vinho de manga e vinagre de manga

ABSTRACT

The mango is one of the most cultivated tropical fruits. Its pulp is rich in carbohydrates, which make it an excellent raw material for the production of fermented alcoholic beverages. This study aimed to evaluate eight yeast strains for the production of a mango wine and to obtain vinegar using the Orleans' method. With this goal, it was determined the kinetic parameters for alcoholic and acetic fermentation and the produced wine and vinegar were physico-chemically characterized. In the first part of this study, the yeast that showed the best results for the fermentation parameters such as alcohol content, yield and productivity of ethanol was used in the production of mango wine. The fruits used in this study showed pulp yield higher than 70 % with total soluble solids of 17 ° Brix. The mango pulp to fermentation was previously hydrolyzed with enzyme complex Pectinex Ultra SP at a concentration of 0.025 g per kilogram of pulp with enzymatic activity 4000PG. The fermentation to production of mango wine was performed in triplicate in plastic containers with a capacity for five liters. Were used as inoculum cells of *S.cerevisiae* from commercial pressed yeast. The fermentation was conducted in triplicates and cells yeast of *S. cerevisiae* were used as inoculum was the commercial pressed yeast 3 % (p . v⁻¹) on a wet basis. The alcoholic fermentation lasted 48 hours and samples were taken throughout the process. The tumultuous phase lasted for 12 hours. The parameters of the alcoholic fermentation for obtaining the mango wine were: yield close to 7,6 g . L⁻¹ . h⁻¹, efficiency above 91,5 % and yields above 85 %. The wine showed an average alcohol content of 7,6 (g. L⁻¹). In the second part of the study it was first produced the mango vinegar using the alcoholic fermentation and then acetic fermentation was performed. The wine obtained showed 7.7 Ethanol (g. L⁻¹), ethanol yield of 90 %, efficiency of 96.7 % and yield of 8.03 g. L⁻¹ . h⁻¹. The acetic fermentation of mango fermented was performed by slow or "Orleans" process and it was used as inoculum for 100 ml unpasteurised strong vinegar per 1 L of wine. The acetylation was performed in triplicate in plastics containers and conducted for 28 days with samples taken every seven days in order to determinate of volatile acidity in acetic acid, pH and ethanol. Vinegar showed total acidity of 4 g. 100 ml⁻¹ in acetic acid. The volatile acidity was 3.21 in acetic acid being below the required

legislation. The yield (GK) of 64 %. The levels of polyphenols were higher when compared with the data from the production other vinegars. Therefore, the yeasts from the commercial pressed yeast showed good results in biotechnological processes tested. The mango wine presented satisfactory values of the physic-chemical parameters analyzed. Thus, It is possible to make mango wine and vinegar of good quality within the parameters required by the legislation and the quality parameters as observed in other scientific articles from the yeast *S. cerevisiae* from commercial compressed yeast observed in other scientific articles from the yeast *S. cerevisiae* from commercial compressed yeast.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, alcoholic fermentation, acetic fermentation, mango wine and mango vinegar

LISTA DE TABELAS

1 Fermentados alcoólicos produzidos a partir de diferentes matérias-primas descritas na literatura	24
2: Composição Centesimal, mineral e vitamínica de manga Palmer <i>in natura</i> .	30
3. Classificação e denominação dos fermentados acéticos (vinagres)	46
4. Especificações da qualidade do vinagre de vinho e fermentados acéticos de frutas estabelecidas pela Legislação Brasileira	47
5. Morfometria dos frutos: valores médios, máximos e mínimos dos caracteres analisados	70
6. Composição físico-química da polpa de manga Palmer.....	72
7. Parâmetros cinéticos das fermentações obtidas com as diferentes linhagens de leveduras.....	74
8. Parâmetros cinéticos das fermentações com diferentes linhagens de leveduras, calculadas com base no consumo do substrato.....	75
9. Comparação dos parâmetros: etanol, eficiência e rendimento em etanol das fermentações conduzidas com as leveduras UFMG 905, UFMG 1007 e fermento comercial com dados existentes na literatura de fermentação de polpa de banana.....	76
10. Valores médios dos parâmetros cinéticos determinados na fermentação e análises físico-químicas do vinho de manga	86
11. Comparação de parâmetros finais do vinho de manga do presente estudo com dados de diferentes fermentados alcoólicos / vinhos à base de fruta presentes na literatura.....	92
12. Caracterização do vinho de manga utilizado para a obtenção de vinagre	101
13. Valores médios dos parâmetros cinéticos da fermentação acética e análises físico-químicas do vinagre de manga	106

LISTA DE FIGURAS

1. Estrutura da pectina. Baseado em BOOBIO e BOBBIO, 1989 e TAGARANO <i>et al</i> , 1997.....	331
2. Rotas metabólicas das leveduras em condições de anaerobiose e aerobiose. Em condição de anaerobiose a levedura utiliza os açúcares e produz Etanol e gás carbônico como subproduto, já em condição de aerobiose utiliza os açúcares exclusivamente para aumento da biomassa, tendo como subprodutos a água e o gás carbônico. Baseado em AQUARONE <i>et al.</i> ,1983; BASSO, 1996 e LIMA <i>et al.</i> ,2001.	36
3. Via metabólica simplificada da fermentação alcoólica. A glicose é oxidada a piruvato pela levedura, em sequência o piruvato é descarboxilado (acetaldeído) e reduzido a etanol pelo NADH. Baseado em AQUARONE <i>et al</i> , 1983; BASSO, 1996 e LIMA <i>et al.</i> , 2001	37
4. Via metabólica simplificada da fermentação acética. O etanol é convertido a acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase e em sequência o acetaldeído é oxidado a ácido acético pela enzima acetaldeído desidrogenase. Baseado em SPINOSA, 2002 e ZILIOLI, 2011.....	40
5. A: frutos escolhidos pela sanidade e ausência de injúrias. B: frutos imersos em solução de hipoclorito de sódio a 200ppm	49
6. A: Os 22 frutos utilizados na caracterização da matriz. B: Mensuração do diâmetro longitudinal do fruto. C: Mensuração do diâmetro transversal do fruto	51
7. Processamento dos frutos e obtenção da polpa	51
8. Frascos de Erlenmeyer contendo os mostos utilizados nos ensaios de fermentação	56
9. Modelo de fermentador utilizado. Bombonas tipo PET dotadas de mecanismo para a liberação de CO ₂	61
10. Fermentado alcoólico de manga envasado	65
11. Recipiente utilizado para a fermentação do mosto de manga	65
12. Recipientes utilizados no processo de acetificação.....	67
13. Fermentado acético obtido pelo processo lento	69
14. Crescimento celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (fermento prensado) nas fermentações em mosto de manga.	78
15. Aspecto das colônias de <i>S. cerevisiae</i> em Ágar Sabouraud para determinação da viabilidade e curva de crescimento	79

16. Etanol produzido e Açúcares Redutores Totais (ART) nas fermentações com fermento prensado prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga	80
17. Sólidos Solúveis Totais nas fermentações com fermento comercial prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga	81
18. Produtividade em etanol das leveduras durante as fermentações com fermento comercial prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga	81
19. Velocidade de consumo dos ART durante as fermentações com fermento comercial prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga.....	83
20. Comportamento do pH durante as fermentações com fermento comercial prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga	84
21 Comportamento da acidez durante as fermentações com fermento comercial prensado (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) em mosto de manga	86
22. Crescimento celular das leveduras em função do tempo	96
23. Açúcares Redutores Totais (ART) versus produção de etanol durante a fermentação alcoólica de mosto de manga. Onde: quadrado hachurado corresponde a ART e o asterisco (*): Etanol.	96
24. Comportamento dos Sólidos Solúveis Totais em função do tempo	97
25. Comportamento do potencial hidrogeniônico (pH) e da Acidez Total em função do tempo de fermentação.....	98
26. Produtividade em etanol em função do tempo de fermentação	100
27. Velocidade de consumo dos açúcares redutores totais (ART) em função do tempo	100
28. Etanol versus produção de ácido acético durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga	104
29. Comportamento do potencial hidrogeniônico durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga	105
30. Produtividade em ácido acético durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga.	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
ART	Açúcar Redutor Total
ATP	Adenosina Trifosfato
ATT	Acidez Total Titulável
DNP	2-4 dinitrofenol
DNS	Ácido 3-4 dinitrossalícilico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ES	Extrato Seco
ESR	Extrato Seco Reduzido
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
GR	Grau Alcoólico Real
GRAS	Generally Recognized As Safe
HCl	Ácido Clorídrico
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INCT	Instituto Nacional de Frutos Tropicais
IR	Radiação Infravermelha
LC03	Levedura isolada de mosto de cerveja 03
LC06	Levedura isolada de mosto de cerveja 06
LC07	Levedura isolada de mosto de cerveja 07
LC17	Levedura isolada de mosto de cerveja 17
MG	Minas Gerais
N	Normalidade

NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo desidrogenase
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	partes por milhão
SEAGRI	Secretaria de Agricultura
SST	Sólidos Solúveis Totais
TACO	Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USP	Universidade de São Paulo
Y ácido	Rendimento em ácido
Y p/s	Fator de conversão de substrato em produto
YM	Yeast Medium

LISTA DE SÍMBOLOS

° Brix	Graus Brix
t	tonelada
mg	miligrama
g	grama
α	alfa
β	beta
°GL	Graus Gay-Lussac
cm^{-1}	centímetro recíproco (frequência)
mm	milímetro
cm	centímetro
%	porcentagem
Hz	Hertz
°C	Graus Celsius
nm	Nanômetro
g. L^{-1}	Gramas por Litro
g. 100 mL^{-1}	Gramas por cem mililitros
kg	Kilograma
g. h^{-1}	Gramas por Hora
$\text{g. L}^{-1} \cdot \text{H}^{-1}$	Gramas por Litro por Hora
L	Litro
p. v^{-1}	Peso por volume
UFC. mL^{-1}	Unidade Formadora de Colônia por mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVO GERAL	27
2.1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	REVISÃO DE LITERATURA	28
3.1	A MANGA	28
3.1.1.	VARIEDADES DE MANGA	29
3.1.2.	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA MANGA	32
3.2	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E SUA UTILIZAÇÃO EM POLPAS DE FRUTAS	32
3.3	COMPOSTOS FENÓLICOS E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
3.4	O AGENTE BIOLÓGICO DAS FERMENTAÇÕES ALCOÓLICAS: A LEVEDURA <i>SACCHAROMYCES CEREVISAE</i>	35
3.5	BIOQUÍMICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	36
3.5.1	Estequiometria da fermentação alcoólica	38
3.5.2	Condições de estresse para as leveduras	39
3.6	A FERMENTAÇÃO ACÉTICA E AS BACTÉRIAS ACÉTICAS	40
3.6.1	Bioquímica da fermentação acética	40
3.6.2.	Estequiometria da fermentação acética	41
3.7	O VINAGRE	41
3.7.1	Processos utilizados para a produção do vinagre	42
3.7.2	Propriedades biológicas do vinagre	44
3.7.3	Compostos secundários presentes no vinagre	45
3.7.4	Padronização e legislação do vinagre.....	46
3.7.5	Fatores que afetam a qualidade do vinagre	48
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	AQUISIÇÃO DE INSUMOS E PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	49
4.2.	CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS FRUTOS	50
4.3.	PROCESSAMENTO E OBTENÇÃO DA POLPA DE MANGA	51
4.3.1	Caracterização físico-química da polpa	52
4.3.1.1	Acidez Total Titulável (ATT).....	52
4.3.1.2	Sólidos Solúveis Totais (SST).....	52
4.3.1.3	Relação: Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável (SST / ATT) titulável.	52
4.3.1.4	Açúcares Redutores Totais (ART)	53
4.3.1.5	Potencial Hidrogeniônico (pH)	53
4.3.1.6	Perda de compostos voláteis a 105 °C	53
4.3.1.7	Teor de Cinzas ou Resíduo Mineral Fixo	53
4.3.1.8	Teor de Nitrogênio Total ou Proteína Bruta.....	54
4.3.1.9	Teor de Fibra Alimentar total.....	54
4.4	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA	54
4.5.2	Constituição do mosto	55

4.5.3.2	Ensaio para determinação do potencial fermentativo das linhagens de leveduras.....	56
4.5.3.3	Métodos analíticos	57
4.5.3.4	Cálculo dos parâmetros cinéticos.....	58
I)	Rendimento em etanol (%)	58
II)	Eficiência	59
III)	Produtividade em etanol	59
IV)	Fator de conversão de substrato em produto (Y p/s)	59
V)	Velocidade de consumo do Substrato.....	59
VI)	Conversão de substrato (ART)	60
4.6	PRODUÇÃO DO VINHO DE MANGA COM A LINHAGEM DE LEVEDURA SELECIONADA NOS TESTES DE FERMENTAÇÃO.....	60
4.6.1	Preparação do mosto	60
4.6.2	Fermentação	61
4.6.2.1	Acompanhamento do crescimento celular durante a fermentação	62
4.6.4	Tratamento final do vinho de manga.....	65
4.7	PRODUÇÃO DO VINAGRE DE MANGA.....	66
4.7.1	Fermentação alcoólica.....	66
4.7.1.1	Caracterização do fermentado alcoólico de manga	67
4.7.2	Fermentação acética	67
4.6.2.1	Acompanhamento da fermentação acética	68
4.6.3.2	Tratamento final e caracterização do vinagre	69
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS FRUTOS.....	70
5.2	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE MANGA PALMER.....	73
5.3	SELEÇÃO DAS LINHAGENS MAIS PROMISSORAS PARA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO MOSTO DE MANGA	75
5.3.1.	Parâmetros cinéticos das fermentações com as diferentes linhagens de leveduras.....	75
5.4.	ACOMPANHAMENTO DA FERMENTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO VINHO DE MANGA.....	78
5.5	PRODUÇÃO DO VINAGRE DE MANGA	95
5.5.1	Crescimento Celular e Acompanhamento da Fermentação Alcoólica	95
5.5.2	Acompanhamento da fermentação acética	103
5.5.3.	Caracterização físico-química do vinagre de manga.....	107
6.	CONCLUSÃO	112
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

1 INTRODUÇÃO

Bebidas fermentadas de frutas constituem produtos industrializados promissores devido a tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (SANDHU e JOSHI, 1995).

O mercado consumidor tem se tornado crescentemente exigente quanto à qualidade dos produtos, exercendo uma pressão positiva sob a indústria no que diz respeito à adequação e melhoria dos produtos. A busca por melhorias pode ser evidenciada também nas pesquisas que buscam aprimorar linhagens de leveduras com o intuito de tornar o processo fermentativo mais eficaz e produtivo.

O melhoramento genético de linhagens baseado em técnicas genéticas clássicas, como, a mutagênese e a hibridização aliado à biologia molecular, tem aumentado significativamente as possibilidades de modificar leveduras industriais em função das características desejáveis. Recentemente o desenvolvimento de diferentes linhagens de *S. cerevisiae* está focado na melhoria do desempenho fermentativo e simplificação do processo. Além do aumento da qualidade do produto e da melhoria das características sensoriais (VILANOVA *et al.*, 2000; DEQUIN, 2001).

As leveduras empregadas no processo fermentativo para obtenção de bebidas alcoólicas devem apresentar algumas características essenciais, como: bom rendimento, alta tolerância ao etanol, rápida fermentação para evitar contaminações por outros micro-organismos, produção balanceada de compostos secundários e ser removida com facilidade ao final da fermentação (OLIVEIRA, 2001).

Basso e Amorim (1996) afirmaram que o desempenho fermentativo está intimamente ligado a linhagem de levedura, o que afeta significativamente o processo. OLIVEIRA *et al.* (2004), avaliaram diferentes linhagens de leveduras para a produção de cachaça. A partir de suas observações, constatou-se que existem diferenças significativas entre o potencial fermentativo entre linhagens

de leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* e que o rendimento em etanol é o parâmetro mais importante para a diferenciação das linhagens. Soares *et al.* (2011), acompanharam o processo de fermentação para a produção de cachaça utilizando diferentes isolados de *S.cerevisiae*. Os autores concluíram que as linhagens apresentam características distintas na fermentação de caldo de cana.

O Brasil figura como o maior produtor mundial de frutos. Nesse contexto a região Nordeste do país tem se destacado. A região Norte do estado de Minas Gerais produziu 41.951 toneladas de mangas, sendo essa produção composta pelas variedades: Palmer e Tommy Atkins (Banco do Nordeste, 2010). No entanto vários fatores têm atuado negativamente no escoamento e destinação eficaz da produção. Devido a esses entraves as perdas pós-colheita representam uma parcela significativa dessa produção. Várias técnicas têm sido desenvolvidas e utilizadas a fim de aumentar a vida pós-colheita desses frutos, assim como para permitir o seu aproveitamento integral. Dentre essas técnicas destaca-se a fermentação, como uma alternativa bastante viável para a elaboração de novos produtos e agregação de valor. É uma tecnologia eficiente e de baixo custo, tornando-se uma das alternativas para o aproveitamento de frutos, representando um novo ramo para a fruticultura industrial e para a elaboração de novas bebidas fermentadas (CHITARRA e CHITARRA, 1990; SILVA *et al.*, 2007; ASQUIERI *et al.*, 2008; BANCO DO NORDESTE, 2010).

A Legislação Brasileira, por meio do Decreto nº 6.871, de 4 de Junho de 2009, define bebida alcoólica fermentada de fruta como o produto obtido pela fermentação alcoólica do mosto de frutas sãs, frescas e maduras. Podendo ser adicionada de açúcares, e/ou água. Deve apresentar graduação alcoólica de 4 a 14 % (v. v⁻¹) a 20°C. Sendo denominado fermentado da fruta que deu origem (seguido do nome da fruta que deu origem) (BRASIL, 2009).

Para que o fermentado alcoólico ou vinho seja considerado de qualidade é necessário que suas características físicas e físico-químicas estejam enquadradas no preconizado pelas legislações vigentes devendo apresentar

limpidez, ausência de corpos estranhos ou em suspensão, com teor alcoólico adequado e ausência de corantes e aromatizantes artificiais (BRASIL, 2008).

Vários autores têm utilizado diferentes matérias-primas para produção de bebidas fermentadas, bem como, a utilização de diferentes linhagens de leveduras (Tabela 1).

Tabela 1 Fermentados alcoólicos produzidos a partir de diferentes matérias-primas descritas na literatura

Matéria-prima	Referência
Ata	MUNIZ <i>et al.</i> , 2002
Bagaço de maçã	NOGUEIRA <i>et al.</i> , 2005; PAGANINI <i>et al.</i> ; 2005
Banana	ALVARENGA, 2011; LARA, 2007
Baru	RIBEIRO <i>et al.</i> , 2011
Batata doce	ABUJAMRA, 2009
Cajá	DIAS <i>et al.</i> , 2003
Caju	SILVA, 2004
Camu-camu	MAEDA e ANDRADE, 2003
Cana-de-açúcar	CLETO e MUTTON, 2003; DORNELLES <i>et al.</i> , 2009
Ciriguela	MUNIZ <i>et al.</i> , 2002
Fruto do mandacaru	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2006
Jabuticaba	ASQUIERI <i>et al.</i> , 2004; CHIARELLI <i>et al.</i> , 2005; SILVA, 2008
Jaca	ASQUIERI <i>et al.</i> , 2008; ASSIS NETO <i>et al.</i> , 2010
Laranja	CORAZZA, 2001; CLETO e MUTTON, 2003; TESSARO <i>et al.</i> , 2010
Mandioca	FERREIRA <i>et al.</i> , 2005
Manga	ALVARENGA, 2006
Mangaba	MUNIZ <i>et al.</i> , 2002
Melancia	FONTAN <i>et al.</i> , 2011
Morango	VILLELA <i>et al.</i> , 2009
Pseudofruto do caju	TORRES NETO <i>et al.</i> , 2006
Pupunha	ANDRADE <i>et al.</i> , 2003
Umbu	DE PAULA <i>et al.</i> , 2012
Uva	CLETO e MUTTON, 2003; MAMEDE e PASTORE, 2007

O vinagre é um produto fermentado conhecido há milhares de anos sua origem está intimamente relacionada à do vinho. O químico Lavoisier (1743-1794) enfatizou que o vinagre era resultado da acetificação do vinho em contato com o oxigênio, sendo apenas um processo químico. Gay-Lussac em 1815 desenvolveu a equação estequiométrica da fermentação, contudo, foi Louis Pasteur (1822-1895) quem determinou as bases científicas da fabricação de vinagre, sendo o primeiro a relacionar a formação de ácido por ação de micro-organismos, mais especificamente pelas bactérias acéticas. A partir de 1900, as enzimas foram relacionadas com as reações ocorrentes na conversão de açúcar em etanol (AQUARONE; RIZZON e MENEGUZZO, 2001).

A utilização de mangas da variedade Palmer para a obtenção de vinho e de vinagre é importante por apresentar uma disponibilidade durante todo o ano, inclusive no período da entressafra, além de apresentar menor quantidade de fibras e maior teor de sólidos solúveis totais em relação às outras variedades. O emprego do processo lento para produção de vinagre de fruta baseia-se na baixa velocidade de acetificação, sendo ainda um processo que apresenta boa reprodutibilidade em laboratório e baixo custo.

A manga da variedade Palmer foi escolhida como matéria-prima por conter alto teor de açúcares e poucas fibras. O trabalho justifica-se por possibilitar a utilização de excedentes de frutos na produção de bebidas fermentadas, bem como, vinagres. Podendo assim diminuir possíveis perdas pós-colheita, além de agregar valor ao produto final.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial fermentativo de linhagens da levedura *S. cerevisiae* e determinar os parâmetros cinéticos das fermentações alcoólica e acética visando a produção de vinho e vinagre de manga pelo método lento, também conhecido como método de Orleans.

2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar morfometricamente a matéria-prima (manga Palmer);
- b) Determinar as características físico-químicas da polpa de manga Palmer;
- c) Avaliar e comparar em escala laboratorial o desempenho fermentativo de oito linhagens de *S. cerevisiae*.
- d) Acompanhar a fermentação alcoólica e determinar os parâmetros cinéticos e físico-químicos;
- e) Produzir vinho de manga empregando a linhagem de levedura que apresentar os melhores resultados de cinética fermentativa.
- f) Acompanhar a fermentação acética e determinar os parâmetros cinéticos e físico-químicos.
- g) Produzir um vinagre pelo processo de acetificação lenta, a partir do vinho de manga;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A manga

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é uma frutífera originária da Índia pertencente à família botânica *Anacardiaceae* que foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI. A mangicultura se estabeleceu de forma expressiva na região Nordeste e Sudeste do país devido às condições edafoclimáticas dessas regiões. Essa frutífera pode ser propagada por sementes ou enxertia e apresenta longo período juvenil com distinção entre variedades. A primeira frutificação dá-se três anos após o plantio. A época de colheita obedece ao estágio de maturação e a finalidade dos frutos, como por exemplo, para a exportação, os frutos devem ser colhidos antes de completarem a maturação (TORENZAN, 2000; CARVALHO, *et al.*, 2004; EMBRAPA, 2012; SEAGRI, 2012).

A manga se apresenta como uma drupa carnosa, de polpa amarela intensa ou avermelhada com uma semente central monoembriônica e comprida. É o segundo fruto tropical mais importante cultivado no mundo, porém sua curta vida pós-colheita dificulta seu escoamento para centros distantes. É um fruto climatérico podendo completar a maturação depois de colhido, porém seu amadurecimento não ocorre adequadamente se colhido em um estágio de desenvolvimento pouco avançado pois compromete a qualidade do fruto. O processo de maturação dá-se início ao término do crescimento, ocorrendo diversas alterações na composição do fruto. Após alcançar seu crescimento máximo inicia-se a fase de maturação do fruto denominada amadurecimento, com predominância de processos deteriorantes. Nessa fase ocorrem transformações físicas, químicas e bioquímicas, como o desenvolvimento das sementes; a liberação de enzimas; a desidratação da pectina e da parede celular; síntese de etileno; aumento da atividade respiratória; degradação de pigmentos; formação de compostos aromáticos e modificação na textura do fruto, dentre outros. Pode ser consumido *in natura* ou é largamente utilizado na produção de alimentos processados na forma de refrescos, geleias, doces, compotas, purês, polpas congeladas e também em

outras finalidades, por exemplo, na produção de bebidas fermentadas e vinagres (CUNHA *et al.* 1994; CHITARRA, 1998; MATOS, 2000; CARVALHO, *et al.*, 2004; HOJO *et al.*, 2009; SEAGRI, 2012; EMBRAPA, 2012).

Bally(2011) afirmou que novas tecnologias não invasivas tem sido desenvolvidas para determinar o estágio de maturação de mangas. Elas baseiam-se em técnicas com emprego de infravermelho, espectroscopia, determinação de fluorescência da clorofila, dentre outros. A composição em substâncias voláteis da manga pode sofrer variações significativas, o perfil dos voláteis pode ser influenciado por diversos fatores, como a variedade, as condições edafoclimáticas da região de cultivo, o estágio de maturação e ainda condições de conservação. A biossíntese de compostos voláteis é fortemente afetada durante o amadurecimento e até mesmo no período de pós-colheita dos frutos, períodos nos quais ocorrem diversas mudanças bioquímicas e fisiológicas nos frutos LALEL *et al.* (2003 a, b).

Bernades-Silva *et al.* (2003) avaliaram a evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. Os autores concluíram que não existe um padrão identificável entre as variedades de manga em relação ao metabolismo de amido-sacarose. Durante o desenvolvimento do fruto ocorre grande síntese de amido. O aumento de açúcares solúveis na manga, ou seja, seu adoçamento ocorre com o fruto ainda ligado a planta, continuando após a colheita.

A manga é um fruto rico em água, carboidratos, sais minerais, ácidos orgânicos, proteínas, vitaminas e pigmentos (Tabelas 1 e 2), (INCT, 2012; USP, 2012).

3.1.1. Variedades de manga

As variedades de manga são classificadas em dois grupos quanto à presença ou ausência de fibras na polpa e em três grupos em relação à aptidão para uso culinário. As variedades consumidas *in natura* são: Haden, Tommy

Atkins, Keity, Van Dick, Palmer, Ruby e Zill. Para a preparação de compota em calda: Imperial, Carlota, Nom Plus Ultra, São Quirino, Haden, Palmer, Kent e Zill. Também são agrupadas aquelas consideradas excelentes para fabricar néctar: Sensation, Palmer, Carlota, Manga D'água (DONADIO, 1982; MEDINA, 1981 apud CAMARGO FILHO *et al.*, 2004).

As variedades mais indicadas para cultivo são as que apresentam alta produtividade, regularidade de produção, resistência a doenças e ao manuseio no transporte, coloração atraente do fruto, elevado teor de açúcares (° Brix) na polpa e a redução ou ausência de fibras. Existem diferentes variedades do fruto, muitas delas desenvolvidas em laboratório e introduzidas no Brasil a partir da década de 70, dentre elas: Tommy Atkins, Palmer, Keitt, Van Dyke e Handen (EMBRAPA, 2012; SEAGRI, 2012).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/ EMBRAPA Cerrados), no ano de 1988 lançou duas variedades de manga, a saber, a Alfa e a Roxa. Ambas apresentam resistência a doenças, como por exemplo, a antracnose, além da alta produtividade e qualidade dos frutos (PINTO, 2002).

A variedade Palmer foi desenvolvida na Flórida. Seus frutos são de tamanho médio, ovalados, possuem casca com coloração variável de roxa a vermelha dependendo do grau de maturação. Sua polpa é amarelada de consistência firme e doce com cerca de 21° Brix, com pouca ou nenhuma fibra (CAMARGO FILHO *et al.*, 2004; CARVALHO, *et al.*, 2004).

Na Tabela 2 visualiza-se a composição centesimal, o perfil de minerais e vitaminas presentes na manga da variedade Palmer *in natura*.

Tabela 2. Composição Centesimal, mineral e vitamínica de manga Palmer *in natura*

Carboidratos por fração	Valor por 100g
Umidade (%)	79,7
Cinzas (g)	0,3
Proteínas (g)	0,4
Lipídios totais (g)	0,2
Açúcares disponíveis totais (g)	9,79
Glicose (g)	0,59 ± 0,06
Frutose (g)	2,79 ± 0,91
Sacarose (g)	6,41 ± 0,21
Amido Total (g)	1,58 ± 0,21
Fibra alimentar insolúvel (g)	0,81 ± 0,05
Fibra alimentar solúvel (g)	0,16 ± 0,10
Fibra alimentar total (g)	0,97
Carboidratos Totais (g)	19,4
Energia (kcal)	72,0
Manganês (mg)	0,05
Fósforo (mg)	14,0
Ferro (mg)	0,1
Sódio (mg)	2,0
Potássio (mg)	157
Cobre (mg)	0,09
Zinco (mg)	0,1
Tiamina (mg)	0,09
Riboflavina (mg)	0,03
Piridoxina (mg)	Traços
Niacina (mg)	Traços
Vitamina C (mg)	65,5

Fonte: TACO (2011), USP (2012)

3.1.2. Importância econômica da manga

A manga figura como um dos mais importantes frutos tropicais cultivados, assim como a banana, o melão, a melancia, o mamão, a acerola, o abacate e o abacaxi. A produção mundial média de manga, em toneladas (t.) no período de 2006 a 2010 foi liderada pela Índia (13.916.560 t.), China (4.055.044,6 t.), Tailândia (2.358.206 t.), Indonésia (1.820.538 t.) e México (1.790.848 t.) de acordo com dados registrados pela FAO (2012).

No Brasil, a produção no ano de 2010 foi de 1.188.911 toneladas. Entre as regiões produtoras do país, destacam-se as regiões Nordeste (846.530 t.) e Sudeste (325.116 t.), seguidas pelo Sul (9.645 t.), Norte (3.875 t.) e Centro-Oeste (3.745 t.) (IBGE, 2012; FAO, 2012).

3.2 Hidrólise enzimática e sua utilização em polpas de frutas

A pectina é um polissacarídeo com cerca de 150 a 500 unidades de ácidos galacturônicos parcialmente estereificados com grupos metoxilícos, unidos por ligações glicosídicas α - 1,4 em uma longa cadeia molecular (figura 1). Está largamente presente nos vegetais em quantidades variadas, em especial em frutos, como a laranja e a maçã (BOBBIO e BOBBIO, 1989; TURQUOIS *et al.*, 1999).

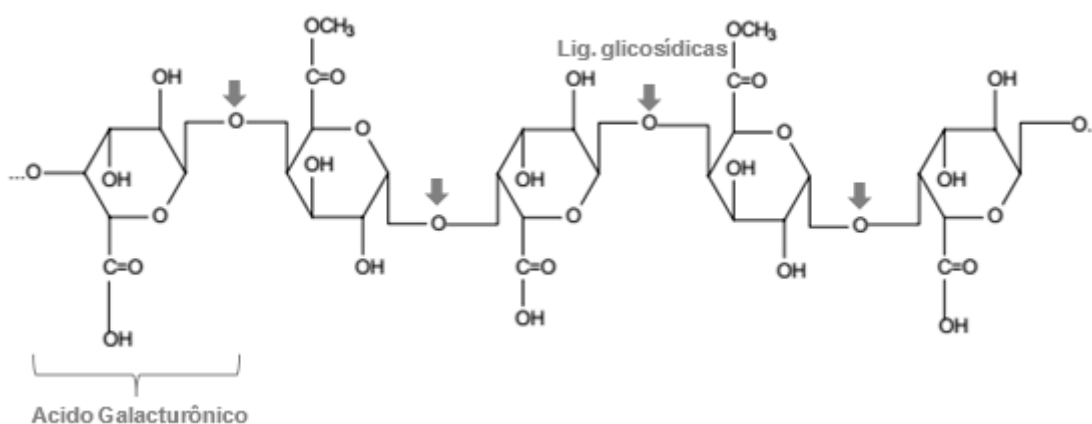


Figura 1. Estrutura da pectina. Baseado em BOOBIO E BOBBIO (1989) e TAGARANO *et al.* (1997)

O tratamento enzimático da polpa com o uso de pectinases diminui a viscosidade da polpa e aumenta o rendimento em etanol na fermentação alcoólica, por degradar os polissacarídeos da parede celular liberando compostos solúveis fermentescíveis (GRASSIN e FAUQUEMBERGUE, 1996; ALVARENGA, 2006; LARA, 2007).

As pectinases compreendem um grupo de enzimas que degradam substâncias pécticas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. Comumente o preparado enzimático contém no mínimo seis enzimas que hidrolisam o polímero de pectina em distintos sítios são produzidas por vegetais, fungos filamentosos, leveduras e bactérias. São classificadas de acordo com o ponto de ataque no polímero de pectina, dividindo-se em: pectinesterases e despolimerases. O último grupo divide-se ainda em hidrolases e liases. As pectinesterase desesterifica as unidades de metil-D-galacturonados da pectina, resultando em ácido poligalacturônico, metanol e íons de hidrogênio. Já as despolimerases catalisam a clivagem da cadeia péctica através de hidrólise pelas pectinases ou via β -eliminação pelas liases. As pectinesterases e poligalacturonases quando combinadas, tem sua ação baseada na clivagem da molécula de pectina, enquanto a pectina liase degrada a molécula de pectina altamente ramificada, sem a necessidade da ação de outras enzimas. As pectinases são largamente utilizadas na indústria de alimentos para a produção de sucos (clarificação e diminuição da viscosidade), em processos fermentativos (obtenção de chá e chocolate), extração de óleos, tratamento de fibras, dentre outras aplicações (BOOBIO e BOBBIO 1989; TAGARANO *et al.*, 1997; OLIVEIRA 2000; CAMARGO *et al.*, 2005; ALVARENGA, 2006; UENOJO e PASTORE, 2007; ALVARENGA, 2011).

As técnicas de hidrólise enzimática são bastante difundidas, sendo empregadas para a produção de sucos, além da extração de pectina ou para outros fins, por exemplo, a obtenção de substâncias para formulação de meios de cultura.

3.3 Compostos Fenólicos e sua atividade antioxidante

Os compostos fenólicos são substâncias que pertencem à classe que inclui uma diversidade de estruturas simples ou complexas, com pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Sua origem biossintética está relacionada a duas vias metabólicas: a via do ácido chiquímico e a via do acetato-malato. São classificados de acordo com o seu esqueleto principal, ou seja, seu anel benzênico e sua cadeia substituinte ou ainda pela sua ocorrência no reino vegetal. Em relação a sua ocorrência nas plantas eles podem ser classificados como amplamente distribuídos e de ocorrência restrita. Dentre os compostos de ampla ocorrência, citam-se os compostos derivados do ácido benzoico, ácido cinâmico, dos flavonoides, de polímeros como os taninos e ligninas dentre outros. Já entre os de ocorrência restrita estão as antroquinonas e as xantonas (MANN, 1996; SIMÕES *et al.*, 2000).

Os radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons não pareados em seu orbital mais externo, essa condição os torna extremamente reativos. As espécies reativas de oxigênio (EROS) estão envolvidas em vários processos biológicos, desde a etiologia de diversas doenças humanas ao processo de obtenção de energia. Entretanto, desempenham importantes papéis fisiológicos, como o controle da pressão sanguínea, na sinalização celular, no processo de apoptose, na fagocitose de agentes patogênicos, dentre outros.

Quando a produção excessiva de EROS, por algum processo fisiopatológico, excede a capacidade protetora do organismo, resulta em um quadro denominado estresse oxidativo, podendo causar danos às membranas celulares e a outras biomoléculas, tais como, proteínas, molécula de ácido desoxirribonucléico (DNA) e lipídios. Como estratégia de impedir as reações oxidativas, o organismo dispõe de dois sistemas antioxidantes denominados: sistema enzimático e o sistema não enzimático. Ambos auxiliam o mecanismo de defesa no controle dos danos causados pelos radicais livres, quelando, desativando ou estabilizando as moléculas reativas. O sistema antioxidante enzimático é endógeno e dispõe de algumas enzimas fundamentais na

proteção do organismo, sendo elas: a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR). O sistema antioxidante não enzimático é composto pela glutathiona (GSH), ubiquinona ou coenzima Q (CoQ) e do ácido úrico, que são produzidas *in vivo*, e por substâncias obtidas via alimentação, tais como vitamina E, Vitaina C, β -caroteno, selênio e os polifenóis (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; CAO *et al.*, 1999; MAZZANTI *et al.*, 2003; MOSKAUG *et al.*, 2003, 2007; MOURA, 2006; RODRIGUES *et al.*;2003; DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006; JARDINI *et al.*, 2007; ROESLER *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

3.4 O agente biológico das fermentações alcoólicas: a levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae é um fungo unicelular, eucarioto, heterotrófico, aeróbio ou anaeróbio facultativo. Ocorre na natureza, em especial na superfície de plantas. Em relação a sua demanda nutricional, requerem uma fonte de carbono, vários minerais na forma reduzida, fontes de nitrogênio e vitaminas. O gênero *Saccharomyces* apresenta células esféricas ou helicoidais. Pertencem a esse gênero: *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, dentre outras (BAMFORTH, 2005).

Essa levedura é conhecida da humanidade há milhares de anos, sendo rotineiramente utilizada em muitos processos biotecnológicos tradicionais, como por exemplo, a produção de pães e vinhos. É considerado um micro-organismo GRAS (do inglês *Generally Recognized as Safe*), “status” determinado pelo FDA (*Food and Drug Administration*), em que se considera uma série de parâmetros, tais como a não produção de substâncias nocivas, a possibilidade de controle do processo, bem como, o crescimento populacional. Com isso seu emprego na área tecnológica ultrapassou as barreiras da produção de alimentos. Atualmente *S. cerevisiae* é empregada na produção em larga escala de biomassa, vitaminas, enzimas, fármacos e outros, além de estudos de melhoramento genético de linhagens de leveduras em relação a tolerância a altas concentrações de etanol, açúcares e ainda para a obtenção

de maiores índices de produtividade e rendimento (HENSING *et al.*, 1995; SAGT *et al.*, 2000; BEKATOROU *et al.*, 2006; CHEMLER *et al.*, 2006; GALAO *et al.*, 2007; RO *et al.*, 2006;).

3.5 Bioquímica da fermentação alcoólica

Durante a fermentação alcoólica os micro-organismos fermentadores utilizam os açúcares e outros substratos convertendo-os a etanol, com liberação de gás carbônico (CO₂) e formação de compostos secundários, muitos deles necessários para a incorporação de sabor a bebida. A conversão dos açúcares ocorre em nível de citoplasma, onde várias enzimas participam de 12 reações distintas. Cada enzima age de uma forma específica, podendo ser afetada por diversos fatores, dentre eles: minerais, nutrientes, pH, temperatura, metabólitos da própria célula, vitaminas e outros. Essas alterações podem afetar o desempenho do processo fermentativo.

A levedura *S. cerevisiae* apresenta uma peculiaridade em relação a seu metabolismo, que pode ocorrer tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas. Na condição de aerobiose, ocorre proliferação celular significativa, onde o açúcar é transformado em biomassa e sub-produtos, como CO₂ e H₂O. Em anaerobiose ocorre a conversão do açúcar em etanol e CO₂, com pouca formação de massa celular. Neste caso a levedura fermenta (figura 2). Como substrato para a fermentação a levedura pode utilizar os carboidratos endógenos (glicogênio e trealose) ou os ofertados, presentes no meio fermentativo, como glicose, frutose e sacarose. O etanol, glicerol e o CO₂ são alguns dos subprodutos do metabolismo da levedura em anaerobiose, que utiliza do processo para geração de ATP para garantir a manutenção da célula (AQUARONE *et al.*, 1983; CARDOSO, 2001; LIMA *et al.*, 2001).

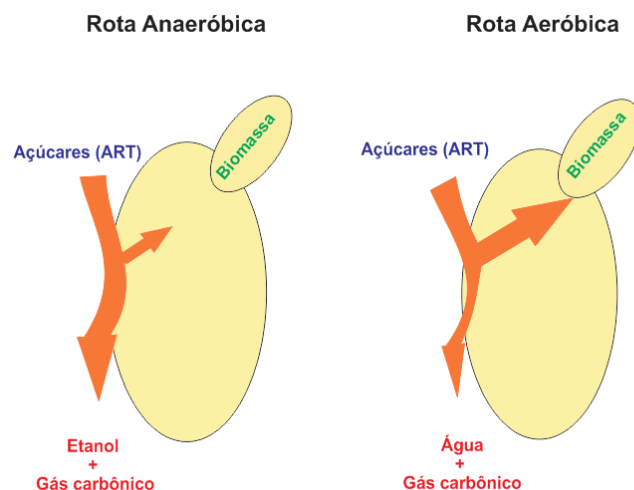


Figura 2. Rotas metabólicas das leveduras em co

ndições de anaerobiose e aerobiose. Em condição de anaerobiose a levedura utiliza os açúcares e produz etanol e gás carbônico como subproduto, já em condição de aerobiose utiliza os açúcares exclusivamente para aumento da biomassa, tendo como subprodutos a água e o gás carbônico. Baseado em AQUARONE *et al.*,1983; BASSO, 1996 e LIMA *et al.*,2001.

Denomina-se fermentação alcoólica o processo anaeróbio e exotérmico de conversão de açúcares fermentescíveis em etanol, sendo característico de um grupo de micro-organismos, como, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactéria *Zymomonas mobilis*. A utilização de *S. cerevisiae* como agente de fermentação baseia-se na seguridade do micro-organismo, considerado GRAS e na técnica de fermentação amplamente conhecida e utilizada (AQUARONE *et al.*, 2001).

O processo de fermentação em batelada pode ser dividido em três etapas (CLETON e MUTTON, 2004):

- **1ª etapa, fase premilinar ou pré-fermentação:** período de adaptação da levedura ao meio (mosto) e início da multiplicação celular.
- **2ª fase, fase intermediária, tumultuosa ou fermentação:** caracterizada pelo intenso desprendimento de gás, aumento da temperatura e produção de etanol. Essa fase tornar-se essencial para a obtenção de uma bebida fermentada de qualidade.

- **3ª fase, fase complementar ou pós-fermentação:** caracteriza-se pela diminuição abrupta da fermentação, uma vez que praticamente todo o substrato já foi convertido.

Os compostos voláteis presentes nas bebidas alcoólicas fermentadas podem ser provenientes da matéria-prima, da atividade fermentativa dos micro-organismos ou formadas durante o processo de envelhecimento ao final da etapa de fermentação. Dentre os compostos voláteis formados durante a fermentação, os álcoois superiores são os mais abundantes. Entretanto, inúmeros outros compostos presentes em pequenas quantidades também exercem um papel importante no sabor das bebidas, dentre estes se podem citar os ésteres, aldeídos, ácidos.

3.5.1 Estequiometria da fermentação alcoólica

Louis Joseph Gay-Lussac (1778-1850) foi um físico e químico francês que teve grande contribuição para a Lei dos Gases. Desenvolveu também a Lei Volumétrica, que baseia-se na reação entre oxigênio e hidrogênio, sendo usada como medida de volume de álcool, em especial em bebidas alcoólicas, é expressa em graus Gay-Lussac (° GL) (Figura 3).

Determinou a estequiometria da reação da fermentação, em que 1 g de glicose origina 0,511g de etanol.

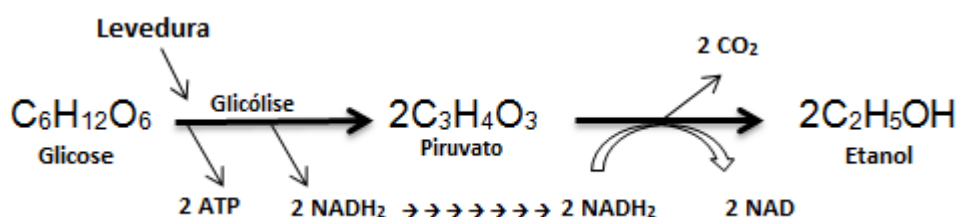


Figura 3. Via metabólica simplificada da fermentação alcoólica. A glicose é oxidada a piruvato pela levedura, em sequência o piruvato é descarboxilado

(acetaldeído) e reduzido a etanol pelo NADH. Baseado em AQUARONE *et al.*, 1983; BASSO, 1996 e LIMA *et al.*, 2001

3.5.2 Condições de estresse para as leveduras

Durante a fermentação alcoólica as leveduras podem sofrer diferentes tipos de estresses (BASSO *et al.*, 2011) causados por:

- a) Excesso de açúcar no mosto (estresse osmótico): afeta diretamente na função da membrana citoplasmática, além de promover aumento da produção de glicerol com conseqüente diminuição no rendimento em etanol.

- b) Excesso de etanol (estresse alcoólico): o excesso de etanol no meio exerce um papel inibitório na levedura *S. cerevisiae*. O processo ainda não foi completamente elucidado, porém, sabe-se que esse álcool age sobre a membrana citoplasmática das leveduras, em especial na porção lipídica, alterando sua fluidez com conseqüentes alterações na permeabilidade da membrana. Além de participar da inativação de enzimas importantes para manutenção da viabilidade desses micro-organismos.

- c) Alteração do pH (estresse ácido): apesar das leveduras suportarem condições de pH mais ácidos. A alteração do pH do meio de fermentação, seja pela adição de sulfito (para controlar a contaminação bacteriana) ou pela presença de ácidos orgânicos não dissolvidos no meio, podem acarretar alteração no carregamento de íons e influenciar na funcionalidade da membrana.

3.6 A fermentação acética e as bactérias acéticas

A fermentação acética refere-se a uma reação exotérmica de oxidação do etanol para a produção de ácido acético com a incorporação de oxigênio e liberação de energia, sendo realizadas pelas bactérias ácido-acéticas, principalmente dos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*, sendo de interesse industrial: *Acetobacter aceti*, *A. xylinoides*, *A. curvum*, *A. acetigenum*, *A. orleanense*, *A. schuetzenbachii*, e *A. rances* (PALMA *et al.*, 2001). As bactérias ácido-acéticas são bastonetes elipsoidais flagelados não formadores de esporos. Podem ocorrer sozinhos, agrupados em pares ou apresentar-se em grandes cadeias. São bactérias gram-negativas ou gram-variáveis, estritamente aeróbias, em testes bioquímicos são catalase positiva e oxidase negativa. O pH ótimo para crescimento compreende a faixa de 5 a 6,5 , entretanto, podendo crescer em ambientes mais ácidos com pH entre 3 e 4 (YAMADA e YUKPHAN, 2008 *apud* ZILIOLI, 2011).Essas bactérias apresentam grande interesse econômico pela capacidade de produzir ácido acético e pelas alterações que provocam nos alimentos (HOFFMANN, 2006 *apud* IVANOV, 2011).

3.6.1 Bioquímica da fermentação acética

A oxidação do etanol a ácido acético dá-se por duas reações sequenciais, sendo catalisadas por enzimas associadas à membrana, são elas: álcool desidrogenase (ADH) e aldeído desidrogenase (ALDH). A primeira enzima é responsável pela conversão do etanol a acetaldeído pela retirada de átomos de hidrogênio. A segunda enzima é responsável pela conversão do acetaldeído a ácido acético pela incorporação de átomos de oxigênio. As ubiquinonas desempenham o papel de aceptores intermediários de elétrons do processo (ZILIOLI, 2011).

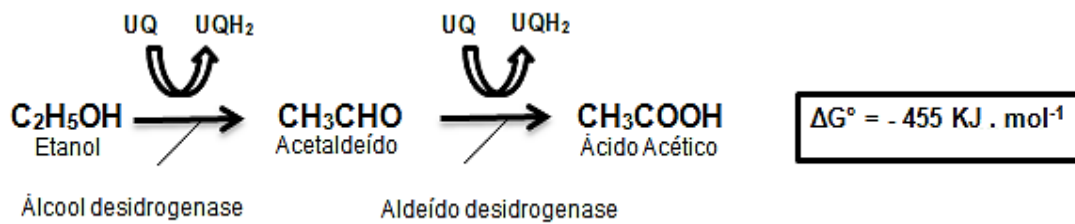


Figura 4 Via metabólica simplificada da fermentação acética. O etanol é convertido a acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase e em sequência o acetaldeído é oxidado a ácido acético pela enzima acetaldeído desidrogenase. Baseado em SPINOSA, 2002 e ZILIOLI, 2011.

3.6.2. Estequiometria da fermentação acética

Estequiometricamente tem-se que 1 g de etanol após a acetificação dará origem a 1,036g de ácido acético com liberação de água. Durante o processo ocorre aumento do volume total devido à liberação de água no sistema. A partir dessa relação pode-se realizar cálculos de rendimento para determinar a concentração de ácido acético do produto. Desprezando-se as perdas por evaporação e sobreoxidação tem-se que a soma da concentração do etanol (v . v⁻¹ %) e do ácido acético (% p. v⁻¹) é igual a concentração total ou GK (*Gesammte Konzentration*), sendo constante durante todo o processo (ADAMS, 1985 *apud* SPINOSA, 2002).

3.7 O vinagre

O vinagre é um produto fermentado conhecido há milhares de anos. Seu nome provém do francês *vinaigre* ou vinho azedo. É obtido por duas etapas sucessivas, sendo que na primeira etapa ocorre a fermentação alcoólica onde os açúcares fermentescíveis presentes no mosto são convertidos a etanol, por ação de leveduras, principalmente a *S. cerevisiae*. Na segunda etapa, o etanol é oxidado a ácido acético durante a fermentação acética promovida pelas bactérias ácido-ácéticas do gênero *Acetobacter* ou *Gluconobacter* (AQUARONE e ZANCANARO, 2001).

Originalmente, o vinagre era obtido exclusivamente do vinho de uvas e da cerveja por fermentação espontânea. No entanto atualmente qualquer alimento fonte de amido ou glicídios pode originar vinagre, sendo necessário um processo prévio de hidrólise enzimática quando são utilizadas fontes de amido, tais como os grãos. Cada tipo de vinagre apresenta um sabor particular, pois no processo de fermentação acética, muitas substâncias aromáticas das matérias-primas originais são preservadas e tantas outras formadas, tornando distinto o seu “*flavour*” (ZANCANARO, 1983; AQUARONE, 2001; AQUARONE e ZANCANARO, 2001; PALMA, 2001; SPINOSA, 2002;).

Através da fermentação acética já foram desenvolvidos vinagres à base de frutos, vegetais e outras fontes, como por exemplo, kiwi (BORTOLINI *et al.*, 2001, PAZ *et al.*, 2007), caqui (MARANGON *et al.*, 2011); laranja (SPINOSA, 2002; TESSARO *et al.*, 2010), manga (OLIVEIRA *et al.*, 1989; SPINOSA, 2002), folhas de videira (GRANADA *et al.*, 2000; MENDONÇA *et al.*, 2002).

3.7.1 Processos utilizados para a produção do vinagre

Atualmente são conhecidos três principais processos de obtenção do vinagre por conversão microbiológica do etanol presente no vinho: o processo lento também conhecido como método de Orleans ou ainda método Francês ou de superfície, o processo rápido também denominado de método alemão ou ainda *Boerhave* e o processo submerso.

- Processo Lento, Orleans, Francês ou em superfície

Consiste no processo mais antigo para a obtenção do vinagre. Baseia-se no avinagramento do vinho acondicionado em recipientes semicheios e que permaneciam em contato com o ar. Nesse processo ocorre naturalmente disponibilidade de oxigênio o que promove o crescimento das bactérias acéticas ocorrendo como consequência a conversão do etanol a ácido acético.

Esse método foi aperfeiçoado, após a elucidação da relação área / volume adequada. As modificações adotadas permitiram um maior contato do vinho com o ar pela acomodação dos recipientes para a posição horizontal; pelo aumento no número de aberturas feitas ao longo dos recipientes sendo protegidas dos insetos e a adoção de um suporte para as bactérias acéticas. Pelo fato do vinho permanecer em repouso ocorre a formação de uma estrutura primordialmente constituída por polímeros de α -celulose produzidos naturalmente pelas bactérias acéticas através dos açúcares presentes no vinho. Essa estrutura denomina-se zoogleia ou “mãe do vinagre”. Para uma produção semi-contínua utiliza-se da prática de reposição do vinho a ser acetificado em quantidade e tempo determinados. Os vinagres produzidos por esse processo possuem qualidade superior quando comparados aos demais processos, uma vez que a maturação ocorre naturalmente, levando a formação de compostos que realçam as características organolépticas do vinagre, tais como o “flavour” (MORETTO *et al.*, 1988; AQUARONE e ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1996, 2002; AQUARONE *et al.* 2001; RIZZON e MENEGUZZO, 2001).

- Processo Rápido, Alemão ou Schützenback Boerhave

Esse processo foi introduzido na Alemanha em 1832 por Schützenback. Baseia-se na passagem da mistura de vinho / vinagre por uma grande superfície exposta ao ar que pode ser conseguida pela adição de carvão, bagaço de cana ou milho, madeira dentre outros materiais no qual as bactérias acéticas estarão aderidas. Esse equipamento é conhecido como gerador ou vinagreira, sendo composto por três partes: porção superior (responsável por distribuir a mistura em acetificação sobre o material de enchimento), porção intermediária (contêm o material de enchimento) e a porção inferior (reservatório do líquido). Esse método é muito susceptível à infestação por insetos e moscas, como por exemplo, a *Drosophyla melanogaster* ou por nematoides, além da reprodução exacerbada de bactérias produtoras de polímeros que comprometem a circulação da mistura (vinho / vinagre) dentro

do cilindro central onde as bactérias estão aderidas (MORETTO *et al.*, 1988; AQUARONE; ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1999, 2002; AQUARONE *et al.*, 2001).

- Processo submerso

Processo desenvolvido na década de 50 e patenteado pela Heinrich Frings-Bonn. Para se produzir vinagre por esse método é necessário que as bactérias acéticas estejam imersas na mistura (mosto) a ser fermentada e complementada com nutrientes específicos, dentre eles o Acetozim® Frings. As bactérias acéticas retiram energia da reação de oxidação do etanol a ácido acético para tal é necessário um fornecimento contínuo e adequado de oxigênio. O equipamento utilizado é denominado acetificador (*Acetator Frings*) equipado com alcóografo para registro contínuo de etanol degradado. O vinagre é então retirado apresentando ainda pequena porcentagem de álcool, pois o consumo total do álcool pode comprometer a qualidade final do vinagre, uma vez que as bactérias irão degradar o ácido acético produzido. O restante do vinagre deixado no tanque pode ser utilizado como inóculo para iniciar um novo processo a partir da adição do mosto. Esse processo caracteriza-se pela alta produtividade e redução no tempo de produção de vinagre, porém apresenta alguns inconvenientes, tais como, alto custo de investimento inicial, mão-de-obra e manutenção especializadas, a adoção de uma produção constante, aeração contínua e interrupta, além do turvamento do vinagre necessitando de filtração e clarificação (AQUARONE e ZANCANARO, 1990; SPINOSA, 1996, 2002; AQUARONE *et al.* 2001).

3.7.2 Propriedades biológicas do vinagre

A literatura cita diversos benefícios relacionados à utilização do vinagre, tais como, atividade antimicrobiana, propriedades cicatrizantes, antioxidante,

além de sua utilização na conservação de alimentos. Cada tipo de vinagre possui uma particularidade de acordo com a matéria-prima que a originou.

Em seu estudo para avaliar a atividade antimicrobiana do vinagre em cortes dianteiros de bovinos embalados a vácuo OLIVEIRA *et al.*, (2006) indicaram a utilização de vinagre de álcool como conservante de carne *in natura* por não alterar as características sensoriais de cor, odor e aparência geral, além de reduzir a contagem microbiana e aumentar a vida-de-prateleira em associação com a embalagem a vácuo.

Pinto *et al.* (2008) em seu estudo para avaliar o vinagre como agente antimicrobiano no controle de *Candida spp.* em dentaduras, evidenciou que a completa imersão das dentaduras em soluções a 10 % de vinagre durante a noite reduziu a contagem de *Candida spp.* na saliva e a indução de estomatites na população estudada.

Utyama (2003) avaliou a atividade antimicrobiana e citotóxica *in vitro* de vinagre e ácido acético. Seus resultados evidenciaram que o ácido acético apresenta citotoxicidade em concentrações superiores a 0,125 %. Tanto o vinagre quanto o ácido acético mostraram-se eficientes como antimicrobianos em diferentes tipos de cepas microbianas, porém, é necessário que se utilize a concentração correta para que o efeito desejado seja alcançado.

Zandim *et al.* (2004), evidenciaram a contribuição positiva do vinagre, em especial o balsâmico ao estudar a influência do vinagre na exposição de túbulos dentários.

Por suas propriedades o vinagre tem sido amplamente utilizado, dentre suas aplicações destacam-se como: condimento, antisséptico, cosmético, conservante, agente de limpeza, veículo ou solvente, mordente, germicida, dentre outras (AQUARONE e ZANCANARO, 2001).

3.7.3 Compostos secundários presentes no vinagre

Durante as fermentações alcoólica e acética ocorre a formação de compostos que irão conferir sabor e aroma ao vinagre. A escolha de matéria-prima de boa qualidade e a maturação do vinagre são fatores fundamentais para a formação desses compostos. Durante a fermentação acética ocorre a

produção de ésteres, como o acetato de etila, formado pelas esterases intracelulares presentes nas bactérias do gênero *Acetobacter*. A formação de ésteres nas bactérias acéticas difere do processo que ocorre nas leveduras, uma vez que o processo é catalisado pela enzima álcool acetiltransferase e tem como substratos o álcool e acetil CoA. As bactérias acéticas do gênero *Acetobacter* resistem a altas concentrações de álcool e ácido acético. Dentre os compostos que compõem o aroma de vinagres, destacam-se três grupos de compostos: ácidos, álcoois e ésteres (TRONCOSO e GUSMÁN, 1987; KASHIMA *et al.*, 1998; 2000; CHARLES *et al.*, 2000;).

3.7.4 Padronização e legislação do vinagre

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da Instrução Normativa nº. 36, de 14 de outubro de 1999 estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos (BRASIL, 1999).

De acordo com a legislação brasileira o fermentado acético ou vinagre é definido como o produto proveniente da fermentação acética do fermentado alcoólico de mosto de frutas, cereais, de vegetais, da mistura de vegetais, de mel ou ainda de mistura hidroalcoólica, devendo o álcool ser potável e de origem agrícola. Sua acidez volátil mínima deve ser de 4 % (g. 100 mL⁻¹) expressa em ácido acético, o grau alcoólico não deve ultrapassar 1 °GL, devendo ser obrigatoriamente pasteurizado. Pode ser adicionado de corantes e/ou aromatizantes naturais ou condimentos. O fermentado acético é classificado de acordo com a matéria-prima que o originou, sendo designados de fermentados acéticos ou vinagres, seguidos do nome da matéria-prima de origem. O fermentado acético ou vinagre que apresentar acidez volátil superior a 7,9 % (g. 100 mL⁻¹) deve ser utilizado para diluição (BRASIL, 1999).

Na Tabela 3, estão descritas as classificações e denominações de vinagres obtidos por diferentes fontes.

Tabela 3. Classificação e denominação dos fermentados acéticos (vinagres)

Composição ou Forma de obtenção	Classificação	Denominação	
		Fermentado Acético	Vinagre
Fermentação acética do fermentado alcoólico de mistura hidroalcoólica originária do álcool etílico potável de origem agrícola;	de álcool	Fermentado Acético de Álcool	Vinagre de Álcool
Fermentação acética do fermentado alcoólico de uma ou mais frutas	de fruta	Fermentado Acético de fruta	Vinagre de fruta
Fermentação acética do fermentado alcoólico de um ou mais cereais;	de cereal	Fermentado Acético de cereal	Vinagre de cereal
Fermentação acética do fermentado alcoólico de um ou mais vegetais;	de vegetal	Fermentado Acético de vegetal	Vinagre de vegetal
Fermentação acética do fermentado alcoólico de duas ou mais das seguintes matérias-primas: fruta, cereal e vegetal;	misto	Fermentado Acético misto de vegetais	Vinagre misto de vegetais
Fermentação acética do fermentado alcoólico de mel de abelha;	de mel	Fermentado Acético de Mel	Vinagre de Mel
Fermentado acético adicionado de suco de fruta ou suco de vegetal ou de mel de abelha, em conjunto ou separadamente;	Composto	Fermentado Acético de (nome genérico do fermentado acético) Composto	Vinagre de (nome genérico do vinagre) Composto
Fermentado acético adicionado de condimento;	Condimentado	Fermentado acético de (nome genérico do fermentado acético) condimentado	Vinagre de (nome genérico do vinagre) condimentado
Fermentado acético de fermentado alcoólico com acidez volátil superior a oito gramas de ácido acético por cem mililitros do produto;	duplo	Fermentado Acético Duplo	Vinagre Duplo
Fermentado acético de fermentado alcoólico com acidez volátil superior a doze gramas de ácido acético por cem mililitros do produto;	triplo	Fermentado Acético Triplo	Vinagre Triplo

Fonte: Instrução Normativa nº 36 de 14 de Outubro de 1999 / Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A legislação brasileira estabelece especificações da qualidade para o vinagre de vinho e fermentado acético de frutas como indicados na Tabela 4.

Tabela 4. Especificações da qualidade do vinagre de vinho e fermentados acéticos de frutas estabelecidas pela Legislação Brasileira.

Variável	Limites	
	Mínimo	Máximo
Ácido volátil, em ácido acético g/100 mL	4,0	-
Álcool (% v/v) a 20 °C	-	1,0
Extrato seco reduzido (g/L)		
Sulfato de potássio (g/L)	-	1,0
Dióxido de enxofre total	-	200
Corantes artificiais	Neg.	-

Fonte: BRASIL (1997).

3.7.5 Fatores que afetam a qualidade do vinagre

A alteração do vinagre pode ocorrer por três fatores distintos: microbiológico, macrobiológico e químico.

- **Fator microbiológico:** caracteriza-se pela produção de polímeros por determinadas espécies de bactérias acéticas em especial a *Acetobacter xylinum*, elevando os níveis de viscosidade do vinagre (AQUARONE e ZANCANARO, 1983)

- **Fator macrobiológico:** caracteriza-se pela infestação por nematóides proveniente de matéria-prima de baixa qualidade e pela alteração das características do vinagre pelo aumento da viscosidade causado pela ação da poeira do ar (AQUARONE e ZANCANARO, 1983; CAMOCHENA e FERREIRA, 2006).

- **Fator químico:** caracteriza-se pela reação do vinagre com metais, tais como ferro e cobre. Essa interação dos metais com os constituintes do vinagre ocasiona turvamento (AQUARONE e ZANCANARO, 1983; CAMOCHENA e FERREIRA, 2006).

Outros fatores que afetam a qualidade do vinagre destacam-se: tipo de processo fermentativo empregado, controle do processo fermentativo, qualidade da matéria-prima utilizada, excesso ou carência de nutrientes, presença de contaminantes, pasteurização inadequada, utilização de embalagens inadequadas, dentre outros fatores (AQUARONE e ZANCANARO, 1990).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de fermentação foram realizados nos Laboratórios de Microbiologia Industrial e Biocatálise (UFMG) e as análises de caracterização físico-química da polpa e vinho de manga no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

4.1 Aquisição de insumos e preparo da matéria-prima

Foram adquiridos aproximadamente 11 quilogramas (22 frutos) de mangas (*Mangifera indica L.*) variedade Palmer no comércio local de Belo Horizonte (MG), sendo escolhidas pela sanidade e ausência de injúrias. Os frutos foram submetidos à lavagem, seguida de higienização por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos em seguida foram enxaguados em água destilada com a finalidade de eliminar possíveis resíduos de cloro e acondicionados à temperatura ambiente para completar a maturação (Figura 5).



Figura 5. A: frutos escolhidos pela sanidade e ausência de injúrias. **B:** frutos imersos em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm

4.2. Caracterização morfométrica dos frutos

Os 22 frutos foram submetidos às seguintes análises físicas: determinação dos diâmetros longitudinais e transversais com a utilização de paquímetro analógico Digimess (0 a 200 mm) com precisão de 0,05 mm e expressos em centímetros (cm). A medição longitudinal foi realizada do pedúnculo até a extremidade oposta do fruto (Figura 6_b) e medição transversal faces laterais do fruto (Figura 6_c). Aferição da massa do fruto e das frações polpa, epicarpo (casca) e endocarpo (semente) por gravimetria em balança semianalítica (BEL Engineering modelo 1300) com precisão de 0,01 g expressas em gramas (g). Com base nos dados obtidos foram calculados o rendimento em polpa, a relação polpa/epicarpo e as porcentagens das frações. O rendimento em polpa dos frutos foi expresso em porcentagem (%) e calculado utilizando-se a proporção de massa da polpa em relação à massa total do fruto. A relação polpa / epicarpo foi obtida através da razão das massas das frações polpa e epicarpo.



Figura 6. A: Os 22 frutos utilizados na caracterização da matriz. B: Mensuração do diâmetro longitudinal do fruto. C: Mensuração do diâmetro transversal do fruto

4.3. Processamento e obtenção da polpa de manga

Após a obtenção das dimensões e massas das frações dos frutos, os mesmos foram novamente lavados e higienizados em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos e enxaguados em água destilada. Os frutos foram descascados manualmente, a polpa cortada em cubos e inicialmente triturada em liquidificador industrial em aço inox Poli (modelo LB-15, com frequência de 60 Hz) durante 10 minutos e finamente triturada em liquidificador doméstico (Walita) por 5 minutos. Sendo envasada em sacos plásticos de polietileno com capacidade para 2 litros e armazenada em freezer a -18°C até a execução das análises e também para o preparo do mosto para a realização das fermentações (Figura 7).



Figura 7. Processamento dos frutos e obtenção da polpa

4.3.1 Caracterização físico-química da polpa

A polpa foi caracterizada em triplicata quanto a:

4.3.1.1 Acidez Total Titulável (ATT): determinada por titulometria com NaOH a 0,1 mol . L⁻¹. O método de determinação da acidez titulável total consiste na neutralização dos ácidos totais presentes na amostra pela utilização de uma base. Para o cálculo da acidez total titulável foi utilizada a equação 1(figura 8) os valores foram expressos em g de ácido cítrico por 100 mL de polpa de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

$$A = \frac{Vt \times fc \times N \times Eq}{10 \times Va} \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

A: acidez total titulável expressa em g de ácido cítrico em 100 mL de amostra;

Vt: volume gasto (mL) de solução de NaOH 0,1mol . L⁻¹;

N: normalidade da solução de NaOH 0,1 mol . L⁻¹;

Fc: fator de correção da solução de NaOH;

Eq: equivalente grama do ácido cítrico (192,00)

Va: volume da amostra

10: volume total de água

4.3.1.2 Sólidos Solúveis Totais (SST): por leitura direta em refratômetro manual Instrutemp com escala de 0 a 32 °Brix e precisão de 0,2 °Brix. Essa determinação consiste na medida do índice de refração das soluções e sua conversão a sólidos solúveis totais expressos em °Brix, segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL 2008).

4.3.1.3 Relação: Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável (SST / ATT): Essa relação foi determinada pela relação direta dos valores de sólidos solúveis e acidez titulável.

4.3.1.4 Açúcares Redutores Totais (ART): determinados por método espectrofotométrico com DNS (ácido 3-5 dinitrosalicílico) descrito por MILLER (1959). Devido à presença de grande quantidade de sacarose tornou-se necessário que as amostras fossem previamente hidrolisadas para inversão da sacarose dando origem aos açúcares redutores (glicose e frutose). Para realizar a hidrólise dos açúcares não redutores tomou-se uma alíquota de 2 mL da amostra em um tubo de ensaio de tampa rosqueada adicionada de 2 mL de HCl 2 mol . L⁻¹. As amostras foram colocadas em Banho-Maria a 70 °C por 30 minutos, em seguida resfriadas e neutralizadas com 2 mL de NaOH 2 mol . L⁻¹. Retirou-se uma alíquota de 1 mL do hidrolisado e procedeu-se a diluição em balão volumétrico de 25 mL, seguida de agitação para homogeneizar a amostra. Com as amostras diluídas utilizou-se a alíquota de 1 mL para a determinação dos açúcares redutores, sendo acrescida de 2 mL de DNS em tubo de ensaio de tampa rosqueada e submetida a banho-maria a 100 °C por 5 minutos. Em seguida resfriados e adicionados de 20 mL de água destilada. As amostras foram novamente homogeneizadas e retiradas alíquotas de 0,2 mL e transferidas para microplacas. Para a determinação espectrofotométrica foi utilizado espectrofotômetro tipo Leitor de Microplaca Thermo Plate (Tp-reader) a 540 nm. As leituras foram feitas em triplicatas e os valores foram expressos em g. L⁻¹.

4.3.1.5 Potencial Hidrogeniônico (pH): determinado por leitura direta em potenciômetro digital previamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0 de acordo com a metodologia descrita pela a AOAC (2007).

4.3.1.6 Perda de compostos voláteis a 105 °C: determinado por gravimetria por secagem em estufa com circulação forçada a 105 °C até peso constante, segundo a metodologia da AOAC (2007).

4.3.1.7 Teor de Cinzas ou Resíduo Mineral Fixo: determinado gravimetricamente por incineração em forno tipo mufla a 550 °C com posterior pesagem até peso constante (AOAC, 2007).

4.3.1.8 Teor de Nitrogênio Total ou Proteína Bruta: determinado pelo método de Kjeldahl, que consiste em três etapas: digestão da amostra, destilação e titulação (AOAC, 2007).

4.3.1.9 Teor de Fibra Alimentar total: determinado gravimetricamente. Porém primeiramente foi necessário que amostra sofra uma digestão ácida com posterior secagem de amostra em estufa e aferição da massa (AOAC, 2007).

4.4 Hidrólise enzimática da polpa

A polpa foi hidrolisada utilizando o complexo enzimático Pectinex Ultra SP ® (Novozymes) com atividades de pectinase, celulase e hemicelulase. Adicionou-se a cada kilograma de polpa de manga 0,025 g do complexo enzimático com atividade de 4000 PG. A polpa adicionada do complexo enzimático foi submetida à agitação em incubadora com rotação tipo “shaker” no binômio 30 °C por 70 minutos a 150 rpm. Para a inativação da enzima a polpa foi submetida a Banho-Maria em 90 °C por 5 minutos e em seguida realizado o choque térmico em banho de gelo como descrito por Lara, (2007) e Alvarenga (2003). Sendo então utilizada em todas as fermentações alcólicas subsequentes.

4.5. Fermentação alcoólica

4.5.1. Micro-organismos

Para condução das fermentações em frascos de Erlenmeyers foram utilizadas oito linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, sendo uma isolada de fermento comercial prensado e as demais identificadas pelo Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Sendo as linhagens provenientes de mosto de cana-de-açúcar para a produção de cachaça codificadas como: UFMG 905, UFMG 1007, UFMG 1031 e as

provenientes de mosto para a produção de cerveja como: LC03, LC06, LC07 e LC017.

As células de levedura de *S. cerevisiae* provenientes de fermento comercial prensado da marca Itaiquara foram também utilizadas uma vez que apresentaram bons resultados de fermentação em mostos de frutas, como, banana (Lara, 2007; Alvarenga, 2011) e manga (Alvarenga, 2006; 2013) em trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Microbiologia Industrial e Biocatálise – LAMIB.

Nas fermentações para produção do vinho de manga e do fermentado alcoólico utilizado na fermentação acética para obtenção do vinagre foi utilizado o fermento comercial prensado da marca Itaiquara.

4.5.2 Constituição do mosto

O mosto foi constituído de uma mistura 1:1 (água e polpa hidrolisada) com o teor de sólidos solúveis totais (SST) ajustado para 18 °Brix utilizando-se sacarose comercial e pH inicial de 4,5, sendo em seguida pasteurizados em Banho-Maria (TE 054 MG) a 65 °C por 30 minutos e resfriados em banho de gelo. Após os mostos atingirem 20 °C foram determinadas suas respectivas densidades (equação 2) utilizando-se da pesagem de balões volumétricos de 100 mL previamente pesados com água destilada a 20 °C em balança analítica de precisão (Gehaka, modelo AG 200) com precisão de 0,001 g.

$$d = \frac{m}{v} \quad (\text{equação 2})$$

Onde: d: densidade do mosto; m: massa do mosto; v: volume do mosto;

4.5.3 Seleção das linhagens mais promissoras para a fermentação alcoólica do mosto de manga

4.5.3.1 Preparo dos inóculos

Para o preparo e a padronização dos inóculos as 8 linhagens foram semeadas por esgotamento em estrias na superfície do meio de cultura extrato de malte – extrato de levedura - YM (extrato de malte 0,3 %, extrato de levedura 0,3 %, peptona 0,5 %, glicose 1,0 %, ágar 2,0 %), contendo 0,02 % de clorafenicol contidos em placa de Petri. Após a incubação a 30 °C por 48 horas o cultivo semelhante foi resuspenso em solução salina 0,85 %.

Para a padronização do número inicial de células, utilizou-se como parâmetro a turbidez dos inóculos, sendo determinados por absorbância por leitura em espectrofotômetro (Femto) a 600 nm. As suspensões foram preparadas assepticamente, retirando-se alçadas das colônias, sendo progressivamente diluídas na solução salina devendo as mesmas apresentar absorbância de 0,7 u.a o que correspondeu a 10^8 células. mL⁻¹.

4.5.3.2 Ensaio para determinação do potencial fermentativo das linhagens de leveduras

Os inóculos utilizados no teste de fermentação foram adaptados progressivamente em mostos de manga com concentrações de açúcar correspondentes a 7, 12 e 18 °Brix, sendo acondicionado em incubadora orbital tipo “shaker” a 30°C por 12 horas sob agitação de 150 rpm. Os ensaios foram realizados em triplicata em frascos Erlenmeyer de 250 mL de capacidade, contendo 100 mL de mosto e inoculados com 10 mL dos mostos a 18 °Brix, como citados acima. Para a realização das fermentações cada linhagem foi inoculada em três frascos, sendo protegidos por tampões de algodão (Figura 8) e incubados em estufa microbiológica Fanem (modelo A-LT) a 30 °C por 24 horas sem agitação. Nos fermentados foram analisados a concentração de

açúcares redutores totais (ART), teor alcoólico (° GL), acidez total titulável (ATT), pH, viabilidade celular e calculados os parâmetros de produtividade, eficiência e rendimento em etanol das fermentações. Estes ensaios tiveram por objetivo selecionar as linhagens com melhor potencial de fermentação do mosto de manga para a obtenção de vinho de manga e do fermentado alcoólico para posterior fermentação acética para obtenção do vinagre de manga.



Figura 8. Frascos de Erlenmeyer contendo os mostos utilizados nos ensaios de fermentação

4.5.3.3 Métodos analíticos

Para a realização das análises, foram retiradas amostras dos mostos logo após a inoculação e dos mostos fermentados, sendo centrifugadas a 1006 g por 15 minutos em centrífuga Janetzki (modelo T23) e logo após analisadas quanto:

I) Açúcares Redutores Totais (ART): determinados de acordo com o item 4.3.1.4

II) pH: determinado de acordo com a metodologia descrita pela a AOAC (2007) como no 4.3.1.5.

III) Acidez Total Titulável (ATT): determinada por titulometria de acordo com o item 4.3.1.1.

IV) Dosagem de Etanol: para a determinação do grau alcoólico real as amostras foram previamente destiladas por arraste em vapor em

Microdestilador de Álcool Tecnal (modelo Te-012). As concentrações de etanol foram determinadas pelo método espectrofotométrico com dicromato de potássio modificado (SALIK e POVOH, 1993). Em meio ácido, o etanol é oxidado a ácido acético e a solução torna-se de tonalidade verde, sendo proporcional à concentração de etanol na amostra. O íon bicromato de cor amarela é reduzido a íon cromoso, de cor verde, que absorve a 600 nm. A intensidade da absorção é proporcional à concentração de íon cromoso formado e do etanol oxidado (CROWELL, 1961). Os resultados foram expressos em gramas de etanol por litro de mosto.

4.5.3.4 Cálculo dos parâmetros cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos das fermentações com o emprego das diferentes linhagens de leveduras, foram calculados: rendimento em etanol (%), eficiência da levedura, produtividade ($\text{g. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), fator de conversão do substrato em produto ($Y_{p/s}$), velocidade de consumo de substrato (g. h^{-1}) e taxa de conversão de ART (%).

I) Rendimento em etanol (%)

Determinado pela quantidade de etanol formada em relação à quantidade teórica, através da conversão dos açúcares presentes no mosto. Obedece a estequiometria em que a quantidade de etanol esperado é calculada considerando-se que 1 g de açúcares redutores totais produzem 0,511 g de etanol (equação 4). O rendimento em etanol é expresso em porcentagem.

$$R (\%) = \frac{EP}{EE} \times 100 = EP \frac{EP (\text{g.L}^{-1})}{ART_0 \times 0,511} \times 100 \quad (\text{equação 4})$$

Onde:

R: rendimento em etanol;

EP: quantidade de etanol produzido;

EE: quantidade de etanol esperada;

ART_0 = Açúcares redutores totais no tempo inicial;

0,511 = Fator determinado pela estequiometria da reação;

II) Eficiência

A eficiência da fermentação expressa a produção de etanol em relação àquela teórica segundo o teor de açúcar determinado no mosto, determina a eficiência da levedura na conversão de açúcares fermentescíveis (ART) em etanol (equação 5), sendo expressa em porcentagem.

$$E(\%) = \frac{EP (g.L^{-1})}{(ART_0 - ART_f) \times 0,511} \times 100 \text{ (equação 5)}$$

Onde:

R: rendimento em etanol;

EP: quantidade de etanol produzido;

ART₀ = Açúcares redutores totais no tempo inicial;

ART_f = Açúcares redutores totais ao final da fermentação;

0,511 = Fator determinado pela estequiometria da reação;

III) Produtividade em etanol

A produtividade em etanol da fermentação expressa a massa de etanol produzida (g) por volume (L) de meio em fermentação por unidade de tempo (h).

IV) Fator de conversão de substrato em produto (Y p/s)

É a relação entre a formação do produto e o consumo do substrato, tem como princípio a estequiometria da reação, onde 1 g de açúcar originará 0,511 g de etanol.

V) Velocidade de consumo do Substrato

Determina a velocidade em que o açúcar é consumido pela levedura para a produção de biomassa e subprodutos, como por exemplo, o etanol. É expressa em gramas de açúcar consumido por unidade de tempo ($\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$).

VI) Conversão de substrato (ART)

Determina a quantidade de açúcares redutores consumidos em relação ao total de açúcares disponível no meio fermentativo. É expresso em porcentagem (%).

4.6 Produção do vinho de manga com a linhagem de levedura selecionada nos testes de fermentação

A linhagem de *S. cerevisiae* que apresentou os melhores resultados para os parâmetros fermentativos nos ensaios de frascos Erlenmeyer foi selecionada para a obtenção do vinho de manga

4.6.1 Preparação do mosto

O mosto destinado a produção do vinho foi constituído de uma mistura 1:1 (água esterelizada e polpa hidrolisada) com o teor de sólidos solúveis totais (SST) ajustado para 18 °Brix utilizando-se sacarose comercial e pH inicial de 4,5. A densidade foi determinada como descrito na equação 2.

O mosto foi adicionado de 200 mg de metabissulfito de sódio com 99 % de pureza (VETEC) e permaneceu por repouso por 2 horas, sendo em seguida filtrado em peneira e pasteurizado a 65 °C por 30 minutos.

4.6.2 Fermentação

A fermentação do mosto foi realizada em triplicata, utilizando-se um sistema semi-fechado, constituído de bombonas plásticas com capacidade para 5 litros, dotadas de mecanismo para promover a liberação do CO₂ (Figura 9). Cada bombona foi sanitizada com solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos, sendo enxaguada e preenchida com 3 litros de mosto a 18 °Brix, inoculado com 3 % (p . v⁻¹) de células de *Saccharomyces cerevisiae* em base úmida, provenientes de fermento comercial prensado Itaiquara® com 70 % de umidade.



Figura 9. Modelo de fermentador utilizado. Bombonas tipo PET dotadas de mecanismo para a liberação de CO₂

A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente (variando entre 25 e 28 °C) por 48 horas. Ao longo da fermentação foram retiradas amostras, assepticamente, em um intervalo de 12 horas (T₀, T₁, T₂, T₃ e T₄) totalizando cinco pontos amostrais. As amostras destinadas a determinação da viabilidade e do número de células para a construção da curva de crescimento foram processadas logo após a retirada. As demais amostras foram centrifugadas a 1006 g por 15 minutos em centrífuga Janetzki (Modelo T23), retirados os

sobrenadantes e imediatamente congeladas em freezer a -18°C para posterior determinação dos parâmetros cinéticos.

4.6.2.1 Acompanhamento do crescimento celular durante a fermentação

Durante a fermentação foi quantificada a concentração de células viáveis a cada 12 horas (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 e T_4) em triplicata pela inoculação de alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-4} a 10^{-8} por espalhamento em superfície de Ágar Sabouraud (Difco), com auxílio de alça. As placas foram incubadas por 48 horas a $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$, após esse período realizou-se a contagem das colônias, sendo consideradas as placas que continha número de colônias entre 30 e 300. Os valores foram expressos em UFC. mL^{-1} . O número de células foi determinado pelo cálculo de Unidade Formadora de Colônia (UFC) de acordo com a equação 3.

4.6.2.2 Cálculo dos parâmetros cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos da fermentação, foram calculados: rendimento em etanol (%), eficiência da levedura, produtividade em etanol ($\text{g. L}^{-1}. \text{h}^{-1}$), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$), velocidade de consumo de substrato (g. h^{-1}) e taxa de conversão de ART (%) como descrito no item 4.5.3.4.

4.6.3 Caracterização do vinho de manga

- I) Sólidos Solúveis Totais:** de acordo com a metodologia descrita em IAL (2008) no item 4.3.1.2.

- II) Acidez Total Titulável (ATT):** de acordo com a metodologia descrita em IAL (2008) no item 4.3.1.1.

- III) Acidez Volátil:** obtida por destilação de arraste a vapor e posterior titulação com NaOH 0,1mol . L⁻¹, segundo metodologia do IAL (2008).
- IV) Acidez Fixa:** obtida pela diferença entre os valores da acidez total titulável e da acidez volátil, de acordo com a metodologia do IAL(2008).
- V) Potencial Hidrogeniônico (pH):** de acordo com o item 4.3.1.5.
- VI) Açúcares Redutores Totais (ART):** de acordo com a metodologia descrita por MILLER (1959) no item 4.3.1.4.
- VII) Dosagem de etanol:** de acordo com a metodologia descrita por SALIK & POVOH (1993) no item 4.5.3.3 (IV).
- VIII) Teor de Cinzas (Resíduo Mineral):** de acordo com a metodologia da AOAC (1995) descrita no item 4.3.1.7.
- IX) Teor de Nitrogênio Total (Proteína Bruta):** de acordo com o item 4.3.1.8.
- X) Extrato Seco:** determinou-se pela evaporação da amostra em estufa a 105 °C até peso constante (IAL, 2008).
- XI) Extrato Seco Reduzido (ESR):** determinado pela diferença do valor do extrato seco e da quantidade de açúcar no fermentado (IAL, 2008).
- XII) Relação Álcool / Extrato Seco Reduzido:** determinou-se de acordo com MORETTO *et al.* (1988) pela equação:

$$\frac{GR \times 8}{ESR} \text{ (equação 6)}$$

Onde:

GR: Grau Alcoólico Real (°GL)

ESR: Extrato Seco Reduzido (g. L⁻¹)

XIII) Carotenoides Totais: os teores de carotenoides totais foram analisados por espectrofotometria. As amostras foram diluídas em hexano, álcool isopropílico e água foram colocadas em funis de separação e lavadas sucessivamente por quatro vezes com intervalos de 30 minutos para descanso da amostra, a cada lavagem a porção aquosa foi descartada, mantendo-se o volume do hexano no funil. Após as lavagens, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, dotado de funil com uma camada de algodão hidrófilo acrescido de 100mg de sulfato de sódio anidro, com o intuito de realizar um sistema anidro. Após a transferência dos volumes, os funis foram submetidos a duas novas lavagens com 4 mL de hexano por vez e 5 mL de acetona. O volume foi completado para 50 mL com hexano, o conteúdo homogeneizado. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Femto 700S) a 450 nm. Os teores de carotenoides foram calculados a partir da equação 7. Segundo a metodologia descrita pela AOAC (2007).

$$C = \frac{A \times 100}{(250 \times L \times W)} \text{ (equação 7)}$$

Onde:

C - concentração de carotenoides em mg .100 mL⁻¹ da amostra original.

A - absorvância

L - comprimento da célula em cm (≅ 1)

W - quantidade da amostra original (ml), no volume final da diluição

XIV) Análise dos compostos fenólicos totais

Para a determinação de fenólicos totais utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, descrito por ZIELISKI & KOZLOWSKA (2000). Foi utilizado o reagente Folin-Ciocalteu (Cinética) e solução saturada de carbonato de sódio preparada de acordo com o procedimento descrito pela *Association of Official*

Analytical Chemists (AOAC, 2007). Como padrão utilizou-se a catequina (Sigma Saint Louis, EUA).

Alíquotas de 2,0 mL de vinho foram diluídas a 10 mL com água destilada em balão volumétrico, seguida por homogeneização. Retirou-se uma alíquota de 0,1 mL dessa diluição e adicionou-se em um tubo de ensaio rosqueável com 8,4 mL de água destilada e 0,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu, agitou-se; exatamente três minutos após, adicionou-se 1,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio. A solução foi deixada em repouso por uma hora e logo após determinou-se absorvância em comprimento de onda de 750 nm em espectrofotômetro (Femto). Foi feita uma prova em branco utilizando água destilada em substituição às amostras. As análises foram feitas em triplicata.

4.6.4 Tratamento final do vinho de manga

O vinho foi decantado, filtrado em gaze e envasado em garrafas transparentes de vidro com capacidade para 1000 mL (Figura 10).



Figura 10. Vinho de manga envasado

4.7 Produção do vinagre de manga

Para a obtenção do vinagre de manga realizou-se primeiramente uma fermentação alcoólica e em seguida a fermentação acética.

4.7.1 Fermentação alcoólica

A fermentação do mosto de manga foi realizada em balão de vidro de fundo chato com capacidade de 6 litros (Figura 11). O recipiente foi preenchido com 4 litros de suco de manga previamente hidrolisado como descrito no item 4.5.2 a 17° Brix. A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente por 48 horas, ao longo da fermentação foram retiradas amostras, assepticamente, em intervalos de tempo de 2 horas no início da fermentação, de 6 horas na fase intermediária e de 4 horas no tempo final de fermentação (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 ... T_{10}) perfazendo 11 pontos de amostragem. As amostras foram divididas para a determinação da viabilidade celular para a construção da curva de crescimento, àquelas destinadas as demais análises foram logo após a retirada foram centrifugadas a 1006 g por 15 minutos em centrífuga Janetzki (Moedlo T23) e os sobrenadantes imediatamente congelados em freezer a -18°C para posteriores análises e determinação dos parâmetros cinéticos. A determinação do número de células viáveis foi realizada com 0, 2, 4, 12, 15, 18, 20, 24, 36, 40 e 48 horas de fermentação por plaqueamento em superfície como descrito no item 4.5.3.1.



Figura 11 Recipiente utilizado para a fermentação do mosto de manga

O fermentado alcoólico de manga foi decantado e filtrado em gaze para a realização da fermentação acética.

4.7.1.1 Caracterização do fermentado alcoólico de manga

O fermentado alcoólico de manga a ser utilizado como mosto para a fermentação acética foi caracterizado quanto seus parâmetros físico-químicos, como descrito no item 4.6.3.

4.7.2 Fermentação acética

A acetificação lenta foi realizada em triplicata, utilizando-se vinagreiras construídas em material PVC (Figura 12) com capacidade para 5 litros. O fermentado alcoólico de manga produzido na etapa anterior foi utilizado como calda para a produção do vinagre de manga. Em cada recipiente foram adicionados 1 L de calda com grau alcoólico próximo de 7 % (g. L⁻¹), sendo

acrescidas de 0,2 g de fosfato de amônia ((NH₄)₂HPO₄), 0,04 g de fosfato de potássio (K₂HPO₄), 0,03 g de sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO₄·7H₂O), 0,07 g de bitartarato de potássio (KC₄H₅O₆) e 1,0 g de glicose (C₆H₁₂O₆) como recomendado por ZILIOLI (2011) e SUMAN (2012). Como inóculo utilizou-se vinagre forte não pasteurizado proveniente de uma indústria de vinagre de álcool localizada na região Metropolitana de Belo Horizonte com acidez inicial de 8 % (g. L⁻¹) em ácido acético. As caldas receberam 100 mL de inóculo cada uma, sendo em seguida determinada a acidez do meio. Os recipientes foram cobertos em sua superfície superior com uma manta de algodão para evitar contaminação por moscas, principalmente drosophilas e outros (Figura 12).

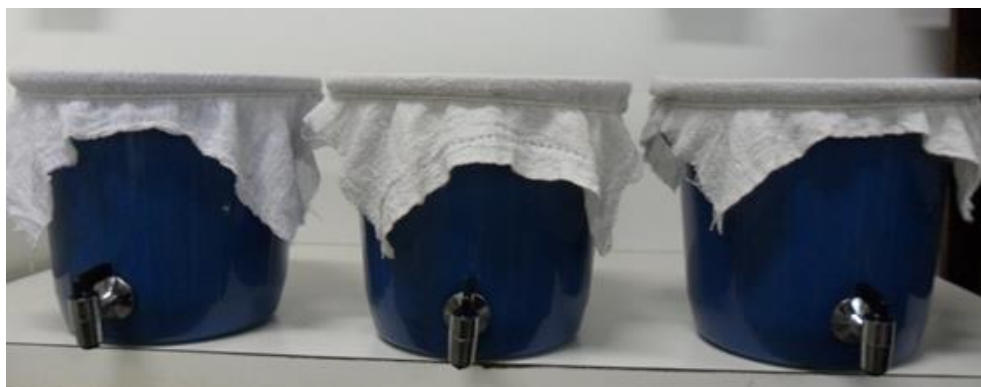


Figura 12. Recipientes utilizados no processo de acetificação

4.6.2.1 Acompanhamento da fermentação acética

Os recipientes permaneceram em temperatura ambiente por 28 dias, sendo retiradas alíquotas a cada sete dias para a realização das análises. Durante o processo de acetificação foram analisados a acidez total, acidez volátil, acidez fixa, o teor alcoólico e o potencial hidrogeniônico de acordo com o item 4.6.3.

4.6.3.2 Tratamento final e caracterização do vinagre

Ao final do período de acetificação o vinagre foi filtrado para a retirada de sólidos em suspensão, envasado em frascos de vidro com capacidade para 500 mL, pasteurizados a 65 °C por 30 minutos e identificados com as respectivas codificações (Figura 13).



Figura 13 Vinagre obtido pelo processo lento

O vinagre foi caracterizado quanto à acidez total, acidez volátil, acidez fixa, teor alcoólico, potencial hidrogeniônico, carotenoides totais, sólidos solúveis totais, teor de cinzas e compostos fenólicos totais de acordo com o item 4.6.3.

O rendimento GK (*Gesammte Konzentration*) foi calculado pela eficiência da fermentação expressa pela soma da concentração de etanol (% v . v⁻¹) e ácido acético (% p . v⁻¹) no início e final da fermentação. Sendo aplicada para calcular a eficiência com a qual o etanol foi convertido a ácido acético pela equação 9.

$$\text{Rend. Gk} = \left(\frac{GK_{final}}{GK_{inicial}} \right) \times 100 \text{ (equação 9.1)}$$

O rendimento em ácido $Y_{\text{ácido}}$ foi calculado segundo LIMA *et al.* (2001) a partir da equação:

$$Y_{\text{ácido}} = \frac{\% \text{acidez do produto}}{\% \text{CT da calda}} \quad (\text{equação 9.2})$$

Onde:

Y ácido: rendimento em ácido

% acidez produto: concentração de ácido produzido (%)

%CT: concentração total da calda (%(v/v) de etanol + %(p/v) de ácido acético).

A produtividade em ácido acético foi calculada considerando-se a quantidade produzida de ácido acético produzida no volume total em relação ao volume e tempo ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

4.8 Análise Estatística

Os dados relacionados a comparação entre as linhagens de leveduras foram analisados por estatística univariada (ANOVA) utilizando a comparação múltipla de médias através do Teste de Tukey a 5 % de probabilidade pelo software SPSS Statistic 19[®]. Os demais dados apresentados na forma de valores médios com seus respectivos desvios padrões. Os gráficos foram construídos utilizando-se o software Origin 8.0[®].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização morfométrica dos frutos

Os resultados da caracterização morfométrica da matriz por meio da avaliação dos caracteres físicos dos frutos: diâmetro longitudinal (comprimento), diâmetro transversal, massas das frações: epicarpo (casca),

polpa e endocarpo (semente), bem como, o rendimento em polpa e a relação polpa e epicarpo podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 Morfometria dos frutos: valores médios, máximos e mínimos dos caracteres analisados

Parâmetros								
	DL ¹ (cm)	DT ² (cm)	MF ³ (g)	MEp ⁴ (g)	MP ⁵ (g)	ME ⁶ (g)	RP ⁷ (%)	R p/ep ⁸
Média	12,9	8,1	481,6	47,3	365,8	60,5	75,8	7,9
	± 0,8	± 0,5	± 61,9	± 8,5	± 62,2	± 8,0	± 7,3	± 1,6
Máximo	14,5	8,7	593,4	60,8	480,5	78,0	96,0	11,9
Mínimo	11,8	6,5	388,1	33,9	208,2	44,3	53,5	5,1

1: Diâmetro longitudinal. 2: Diâmetro transversal. 3: Massa do Fruto. 4: Massa do epicarpo (casca). 5: Massa da polpa. 6: Massa do endocarpo (semente). 7: Rendimento em polpa. 8: relação polpa/epicarpo.

O valor médio para massa dos frutos foi de $481,6 \pm 61,9$ g, sendo inferior ao relatado por Silva *et al.* (2009) que analisaram 15 variedades de mangas da Zona da Mata Mineira. As mangas da variedade Palmer apresentaram massa média de 678,6 g. Ainda em relação à massa dos frutos, Silva *et al.* (2012) relataram massa média de 562,4 g para as mangas da mesma variedade estudada, em seu ensaio sobre caracterização de cultivares de manga em São Manoel - SP. Já Galli *et al.* (2011) relataram valores de massa para os frutos de 384,50 g estudando diferentes variedades provenientes de cultivo orgânico. Carvalho *et al.* (2004) analisando diferentes cultivares de manga, encontraram valores de massa do fruto de $426,3 \pm 38,2$ g para variedade Palmer.

Os frutos apresentaram diâmetros longitudinal e transversal de $12,9 \pm 0,8$ cm e $8,1 \pm 0,5$ cm, respectivamente. Os dados são corroborados pelos encontrados por SILVA *et al.* (2012) com 13,7 cm (diâmetro longitudinal) e 8,7 cm (diâmetro transversal) e Carvalho *et al.* (2004) que relatam valores de $11,9 \pm 0,4$ cm e $7,7 \pm 0,2$ cm para diâmetro longitudinal (comprimento) e diâmetro transversal (largura) para frutos da variedade Palmer. Os valores máximos e mínimos registrados foram de 14,5 cm e 11,8 cm para diâmetro longitudinal e

de 8,7 cm e 6,5 cm para o diâmetro transversal. Os dados de dimensão dos frutos ainda são sustentados pelos relatados por Galli *et al.* (2011) que encontraram valores de 11,6 cm para diâmetro longitudinal e 6,9 cm para diâmetro transversal.

As massas das frações epicarpo (casca), polpa e (endocarpo) semente do presente estudo representaram aproximadamente 9,8 %, 76 % e 12,6 % da massa total do fruto. Esses valores são corroborados pelos encontrados por Silva *et al.* (2009; 2012) e Galli *et al.* (2011), em que o endocarpo apresentou 8,9 %, 9,9 % e 8,2 %, o epicarpo 10,4 %, 7,5 % e 7,9 % e as polpas representaram 80,6 %, 82,6 % e 83,9 % do peso total dos frutos. Em relação aos valores descritos por Carvalho *et al.* (2004) que relatam a massa das frações epicarpo, polpa e endocarpo de $9,5 \pm 0,4$ g, $81,8 \pm 0,8$ g e $8,8 \pm 0,6$ g respectivamente.

De acordo Chitarra e Chitarra (2005) *apud* Rufini *et al.* (2011) a relação polpa/endocarpo é importante em frutas como a manga, pois maiores índices da relação polpa/endocarpo caracteriza o fruto para fins industriais por apresentarem maior rendimento em polpa.

O rendimento em polpa foi de $75,8 \pm 7,3$ (%), valor próximo dos encontrados por Silva *et al.* (2009) e Galli *et al.* (2011) em que as mangas apresentaram rendimento em polpa de 80,6 % e 83,9 %. O rendimento em polpa é um parâmetro muito importante e utilizado na seleção de cultivares para a agroindústria. O alto rendimento da fração polpa é uma característica desejável nos processos tecnológicos para obtenção de produtos. A partir desse parâmetro os frutos podem ser escolhidos de acordo com a finalidade tecnológica, na fabricação de geleias, sucos, néctares e outros produtos, além do consumo in natura. Para tanto os frutos devem apresentar rendimentos em polpa superiores a 60 % (FOLEGATTI *et al.*, 2002).

Os frutos utilizados no presente estudo apresentaram valores satisfatórios em relação aos caracteres avaliados na análise morfométrica da matriz, principalmente em relação ao rendimento em polpa, uma vez que essa fração é de grande relevância na indústria.

5.2 Composição físico-química da polpa de manga Palmer

A caracterização físico-química da polpa de manga e os valores médios podem ser visualizados na Tabela 6.

Tabela 6 Composição físico-química da polpa de manga Palmer

Polpa de Manga (Palmer) - 100g	
Caracteres	Presente estudo
Umidade ¹	82,80 ± 0,07
Cinzas ²	0,32 ± 0,00
Proteína ³	1,60 ± 0,40
SST ⁴	17,00 ± 0,02
ATT ⁵	0,30 ± 0,01
SST/ATT ⁶	56,70 ± 0,1
ART ⁷	16,05 ± 1,02
pH ⁸	4,30 ± 0,0
Fibras ⁹	1,00 ± 0,02

Onde: **1:** Umidade (%). **2:** Teor de Cinzas ou Resíduo Mineral Fixo (%). **3:** Proteína Bruta (%). **4:** Sólidos Solúveis Totais (°Brix). **5:** Acidez Total Titulável (% em g de ácido acético). **6:** Rácio (SST/ATT). **7:** Açúcares Redutores Totais (g. L⁻¹). **8:** Potencial Hidrogeniônico. **9:** Fibras (%).

A polpa de manga *in natura* apresentou alto teor de umidade (82, 80 %) valor próximo ao relatado por Marques *et al.* (2010) que encontrou 82,11 % de umidade em polpa de manga variedade Tommy Atkins. Ainda em relação à umidade, o valor do presente estudo foi superior ao relatado pela TACO (2011) que atribuiu 79,7 % de umidade a uma porção de 100 g de manga variedade Palmer.

O valor médio para resíduo mineral fixo ou cinzas (0,32 %) foi próximo ao relatado pela Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos - TACO (2011) (0,3 %) e inferior quando comparado ao valor descrito por Carvalho *et al.* (2004) de 0,52 %.

O valor para teor protéico (proteína bruta) foi superior aos relatados por Marques *et al.* (2010), Carvalho *et al.* (2004) e pela TACO (2011) que relataram

valores de proteína bruta para polpa de manga Palmer de 0,44; 0,16 e 0,40 % respectivamente.

O teor de sólidos solúveis totais (17 °Brix) corresponderam a 16,05 g. L⁻¹ de açúcares redutores totais, estando próximo ao encontrado por Carvalho *et al.* (2004) que obtiveram 17,9 °Brix na polpa de manga. A acidez total da polpa foi de 0,30 g. 100 mL⁻¹ expressa em ácido cítrico, valor próximo do encontrado por Carvalho *et al.* (2004) (0,35 %).

A relação Sólidos Solúveis e Acidez Total (SST / ATT ou r tio) foi bastante representativa (56,70 ± 0,1) sendo próximo do valor relatado por Carvalho *et al.* (2004) de 51,7 ± 9,9. O r tio (SST / ATT)   a rela o entre os sólidos solúveis totais e a acidez total titulável do fruto. Esse parâmetro   indicativo de sabor determinado pelo balanço entre os ácidos e os a u ares presentes no fruto. Quanto menor essa rela o, mais ácido   o fruto, enquanto que uma maior rela o indica a doçura (TH  *et al.* 2001; COCOZZA, 2003).

O valor de pH de 4,3 apresentado pela polpa está dentro da faixa de pH ótimo para a condu o da fermenta o que corresponde ao intervalo de 4,0 a 4,5 (Lopes e Silva, 2006). Carvalho *et al.* (2004) descreve valores de pH para a polpa de manga de 4,16 ± 0,02.

O teor de fibra alimentar total foi de 1,0 ± 0,02 g, sendo inferior aos citados por Carvalho *et al.* (2004), Marques *et al.* (2010) e TACO (2011) que atribuem valores de 1,71 ± 0,22 g; 3,28 ± 0,28 g e 1,6 g respectivamente, sendo o segundo valor referente a polpa de manga da variedade Tommy Atkins.

A fra o centesimal que apresentou a maior porcentagem em rela o   fra o polpa foi a umidade, seguida pelos teores de ART, proteína bruta, fibra alimentar total. A polpa de manga Palmer mostrou-se um excelente meio para a produ o de bebidas alcoólicas, pois apresenta expressiva quantidade de a u ares fermentescíveis, pH favorável para a fermenta o pelas leveduras, além de baixo teor de fibras, fatores esses que contribuem para uma fermenta o bem sucedida. A polpa de manga apresentou valores satisfatórios

em relação a sua composição físico-química estando em concordância com a literatura.

5.3 Seleção das linhagens mais promissoras para a fermentação alcoólica do mosto de manga

5.3.1. Parâmetros cinéticos das fermentações com as diferentes linhagens de leveduras

Após o término das fermentações realizadas em frascos Erlenmeyers pelas diferentes leveduras os fermentados foram caracterizados quanto aos parâmetros analíticos e determinados os parâmetros cinéticos das fermentações (Tabela 7).

Tabela 7 Parâmetros cinéticos das fermentações obtidas com as diferentes linhagens de leveduras

Linhagens	Etanol¹	ART f²	Rend.³	Efic.⁴	Prod.⁵
LC03	2,16 ^{bc}	10,71 ^a	25,70 ^c	74,80 ^{abc}	0,09 ^{bc}
LC06	2,00 ^c	10,62 ^a	24,12 ^c	71,90 ^{abc}	0,08 ^c
LC07	2,33 ^{bc}	10,81 ^a	27,27 ^{bc}	77,90 ^{abc}	0,10 ^{bc}
LC17	2,20 ^{bc}	11,63 ^a	25,60 ^c	83,84 ^{ab}	0,09 ^{bc}
UFMG 1007	2,93 ^b	6,11 ^{bc}	35,23 ^b	56,50 ^{bc}	0,12 ^b
UFMG 905	2,21 ^{bc}	7,34 ^b	26,50 ^c	48,95 ^c	0,09 ^{bc}
UFMG1031	2,60 ^{bc}	7,00 ^b	31,12 ^{bc}	55,05 ^{bc}	0,10 ^{bc}
Fermento Comercial	5,81 ^a	3,94 ^c	70,20 ^a	92,90 ^a	0,24 ^a

Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade. Onde: **1:** Etanol formado(g. L⁻¹). **2:** Teor de açúcares redutores totais finais (g. L⁻¹). **3:** Rendimento em etanol (%). **4:** Eficiência (%). **5:** Produtividade em etanol (g. L⁻¹. h⁻¹).

As fermentações conduzidas com as diferentes linhagens de *S. cerevisiae*, exceto o proveniente do fermento comercial prensado,

apresentaram baixos valores para os parâmetros analisados, com exceção da eficiência que não foi estatisticamente diferente do fermento comercial para as linhagens LC 03, LC06, LC07 e LC17 (Tabela 7). Uma vez que as leveduras não foram capazes de consumir integralmente os açúcares fermentescíveis convertendo-os à etanol, todos os demais parâmetros que são baseados na conversão de substrato (açúcar) presente no mosto em produto (etanol) foram comprometidos, como pode-se observar na Tabela 8.

A fermentação conduzida com a levedura proveniente do fermento comercial prensado diferiu das linhagens de *S. cerevisiae* analisadas, apresentando os maiores valores para teores de etanol (5,81 g. L⁻¹), rendimento em etanol (70,20 %), eficiência (92,90 %), produtividade em etanol (0,24 g. L⁻¹. h⁻¹) (Tabela 13), além de conversão do ART (78,60 %) e velocidade de consumo (0,51 g. h⁻¹) ao nível de significância de 5 % (Tabela 8). Os valores obtidos foram próximos aos relatados por ALVARENGA (2011) que analisou o potencial de diferentes linhagens de *S. cerevisiae* para a fermentação da polpa de banana.

Tabela 8 Parâmetros cinéticos das fermentações com diferentes linhagens de leveduras, calculadas com base no consumo do substrato.

Linhagens	Y p/s ¹	V. C ²	C. ART ³	ATT _f ⁴	pH _f ⁵
LC03	0,38 ^{abc}	0,24 ^c	34,85 ^c	0,28 ^c	3,93 ^a
LC06	0,39 ^{abc}	0,23 ^c	34,72 ^c	0,26 ^d	3,86 ^b
LC07	0,40 ^{abc}	0,25 ^c	35,50 ^c	0,27 ^d	3,71 ^d
LC17	0,43 ^{ab}	0,22 ^c	30,83 ^c	0,17 ^f	3,69 ^d
UFMG 1007	0,29 ^{bc}	0,42 ^{ab}	62,43 ^{ab}	0,23 ^e	3,60 ^e
UFMG 905	0,25 ^c	0,38 ^b	55,05 ^{ab}	0,34 ^a	3,77 ^c
UFMG1031	0,28 ^{bc}	0,38 ^b	56,90 ^b	0,29 ^c	3,87 ^b
Fermento Comercial	0,47 ^a	0,51 ^a	78,60 ^a	0,31 ^b	3,69 ^d

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade. Onde: **1:** fator de conversão do substrato em produto (g. g⁻¹). **2:** velocidade de consumo do substrato (g. h⁻¹). **3:** Taxa de conversão de açúcares redutores totais (ART) expressa em porcentagem (%). **4:** Acidez total titulável final (% g de ácido acético). **5:** ph final

A fermentação conduzida com a levedura proveniente do fermento comercial prensado não diferiu estatisticamente das linhagens LC03, LC06, LC07 e LC17 quanto à taxa de conversão de substrato em produto. A velocidade de consumo de ART ($0,51 \text{ g. h}^{-1}$) diferiu estatisticamente das demais linhagens, exceto em relação a linhagem UFMG 1007, já em relação a conversão de ART não existe diferença estatística entre as linhagens UFMG 1007, UFMG 905 e a levedura proveniente do fermento comercial, como observado na Tabela 8.

As linhagens UFMG 905 e UFMG 1007 também foram estudadas por ALVARENGA (2011) para a fermentação de polpa de banana. Os valores encontrados no presente estudo foram inferiores aos relatados pela autora (Tabela 9).

Tabela 9 Comparação dos parâmetros: etanol, eficiência e rendimento em etanol das fermentações conduzidas com as leveduras UFMG 905, UFMG 1007 e fermento comercial com dados existentes na literatura de fermentação de polpa de banana

PARÂMETROS						
LINHAGENS	Etanol (g. L^{-1})		Eficiência (%)		Rendimento em etanol (%)	
	Polpa de Banana	Polpa de Manga	Polpa de Banana	Polpa de Manga	Polpa de Banana	Polpa de Manga
UFMG 905	5,64	2,21	76,82	48,95	73,69	26,46
UFMG 1007	5,68	2,93	76,53	56,74	73,90	35,23
Fermento Comercial	7,84	5,81	96,41	92,89	94,06	70,17

Em geral, tanto neste estudo quanto no realizado por ALVARENGA (2011) nas fermentações de polpa de banana com as linhagens de leveduras (UFMG 905 e UFMG 1007) os parâmetros analisado foram inferiores quando comparados ao fermento comercial.

Deve-se ressaltar que a eficiência leva em consideração o teor de etanol produzido em relação a quantidade de ART consumido, enquanto o rendimento é calculado pela relação entre o etanol obtido e o etanol esperado,

considerando o teor de ART inicial no mosto. O que explica porque os valores de eficiência são maiores do que os valores de rendimento.

Os parâmetros de produção de etanol, eficiência e rendimento em etanol das fermentações conduzidas com as linhagens UFMG 905 e UFMG 1007 do presente estudo foram inferiores ao relatados por ALVARENGA (2011). O que pode ser devido também a diferença entre os mostos, visto que a autora utilizou nos seus testes mosto de banana enquanto no presente estudo foi utilizado o mosto de manga. Entretanto a fermentação conduzida com leveduras de fermento comercial prensado apresentou valores próximos aos relatados pela autora.

A produtividade baseia-se na quantidade de etanol produzido por hora, refletindo diretamente na eficácia da levedura em transportar os carboidratos presentes no mosto (glicose, frutose, sacarose e outros) para o interior de sua célula. ALVARENGA (2011) ressalta que a produtividade é excelente aspecto para seleção de leveduras, quanto maior forem os valores, mais apta será a levedura para o processo fermentativo.

As linhagens de leveduras provenientes de mosto de cana-de-açúcar e de cerveja no presente estudo apresentaram baixo desempenho fermentativo quando inoculadas em mosto de manga, não contemplando os critérios de escolha para culturas fermentativas, tais como produtividade, eficiência, rendimento em etanol e produção de etanol. A partir dos resultados observa-se que a levedura do fermento comercial prensado apresenta maior adaptabilidade no mosto de manga, o que não foi observado para as demais leveduras. Devido a esse fato a levedura do fermento comercial foi selecionada para a obtenção do vinho de manga.

5.4. Acompanhamento da fermentação para obtenção do vinho de manga

Os resultados do número de células viáveis, produção de etanol e consumos de açúcares redutores totais – ART em função do tempo de fermentação para os experimentos realizados com fermento comercial

pressado (*Saccharomyces cerevisiae*) para obtenção do vinho de manga são apresentados nas Figuras 14 e 16. Determinou-se também os sólidos solúveis totais (SST), pH, e acidez total titulável em função do tempo de fermentação

Na Figura 14 pode-se observar o crescimento da levedura *S.cerevisiae* durante a fermentação do mosto de manga para obtenção do vinho de manga.

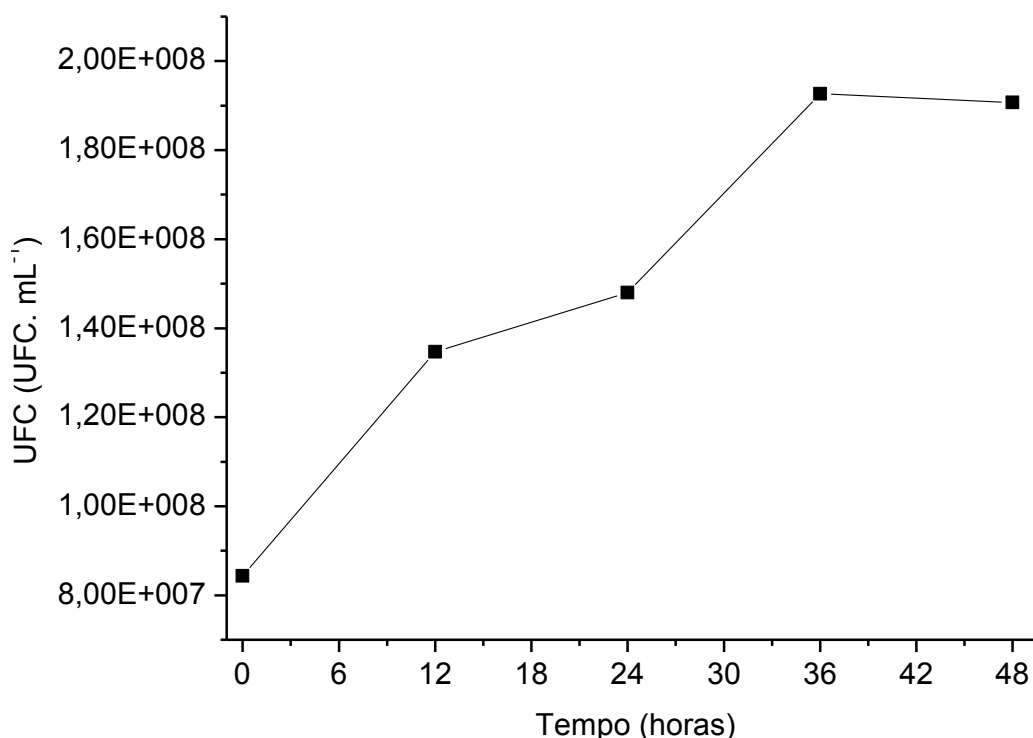


Figura 14 Crescimento celular de *Saccharomyces cerevisiae* (fermento comercial pressado) nas fermentações em mosto de manga.

O número inicial de células do meio fermentativo foi próximo de 10^8 células. mL⁻¹. Nota-se uma fase de crescimento exponencial bastante acentuada, ocorrendo até 36 horas de fermentação. Após esse período o número de células viáveis permanece constante estabilizando a população e apresentando um estágio de crescimento estacionário até o tempo final analisado correspondente a 48 horas. A fase estacionária pode ser explicada pela indisponibilidade de substrato para a produção de biomassa, como se verifica nos gráficos das figuras 16 e 17 que ilustram a concentração de açúcares redutores totais (ART) e sólidos solúveis totais (SST) do meio ao

longo da fermentação. Após 36 horas a concentração de ART é mínimo, o que impossibilita a continuidade do crescimento celular.

A Figura 15 representa o aspecto das colônias da levedura empregada no ensaio fermentativo. As colônias apresentaram-se com coloração branca e opaca, aspecto liso e leitoso/pastoso e bordas lisas e regulares.

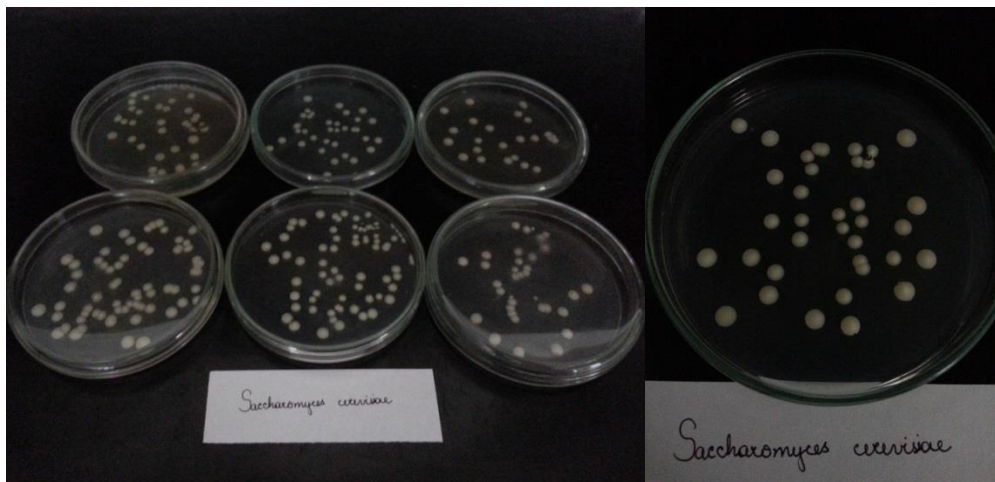


Figura 15 Aspecto das colônias de *S. cerevisiae* em Ágar Sabouraud para determinação da viabilidade e curva de crescimento

Durante o processo fermentativo foram monitorados o consumo dos açúcares redutores totais (ART) e a formação de etanol em função do tempo (Figura 16). Determinou-se também os sólidos solúveis totais (SST), pH, e acidez total titulável em função do tempo de fermentação.

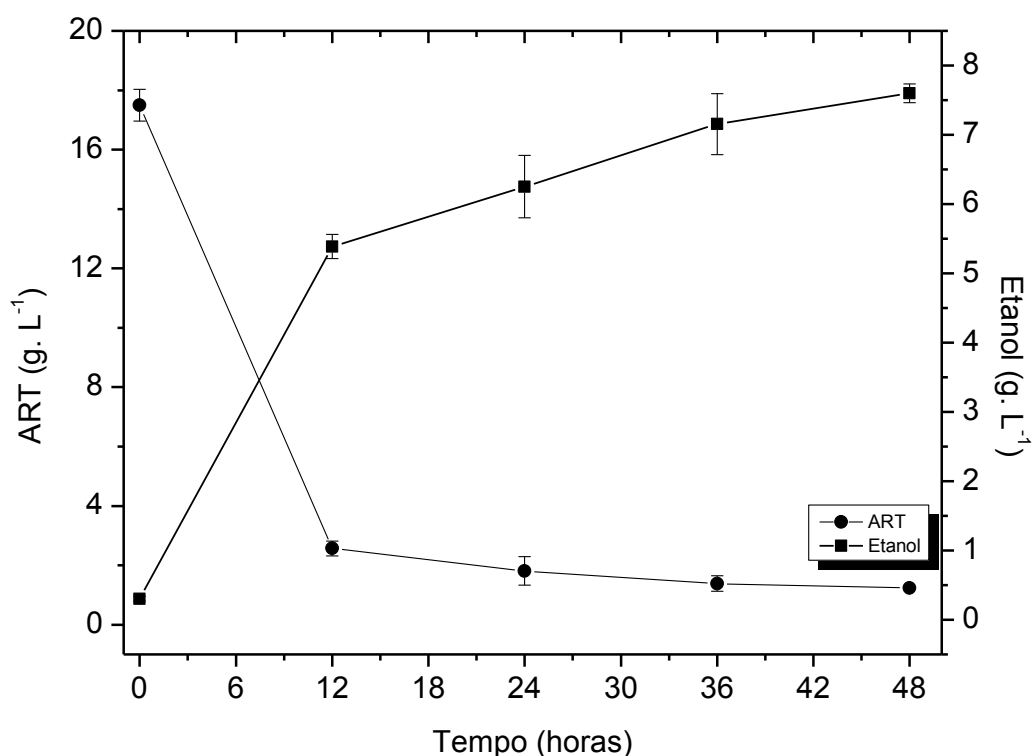


Figura 16 Etanol produzido e Açúcares Redutores Totais (ART) nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

Os açúcares redutores totais (ART) presentes no mosto foram praticamente metabolizados nas 12 primeiras horas de fermentação, indicando que a fase tumultuosa do processo fermentativo deu-se nesse período. A rápida fermentação ocorrida pode estar relacionada ao elevado teor de açúcares fermentescíveis, bem como, a alta viabilidade celular e alta concentração de células. No mesmo intervalo de tempo observa-se a formação do etanol, sendo formados cerca de 6 g. L⁻¹ de etanol. A produção de etanol aumentou discretamente após 12 horas de fermentação atingindo o máximo de 7,6 g. L⁻¹. Após o período de 12 horas foi possível verificar a tendência do sistema a estabilização. Os valores de etanol produzidos foram próximos aos valores de etanol teórico de 8,7 g. L⁻¹.

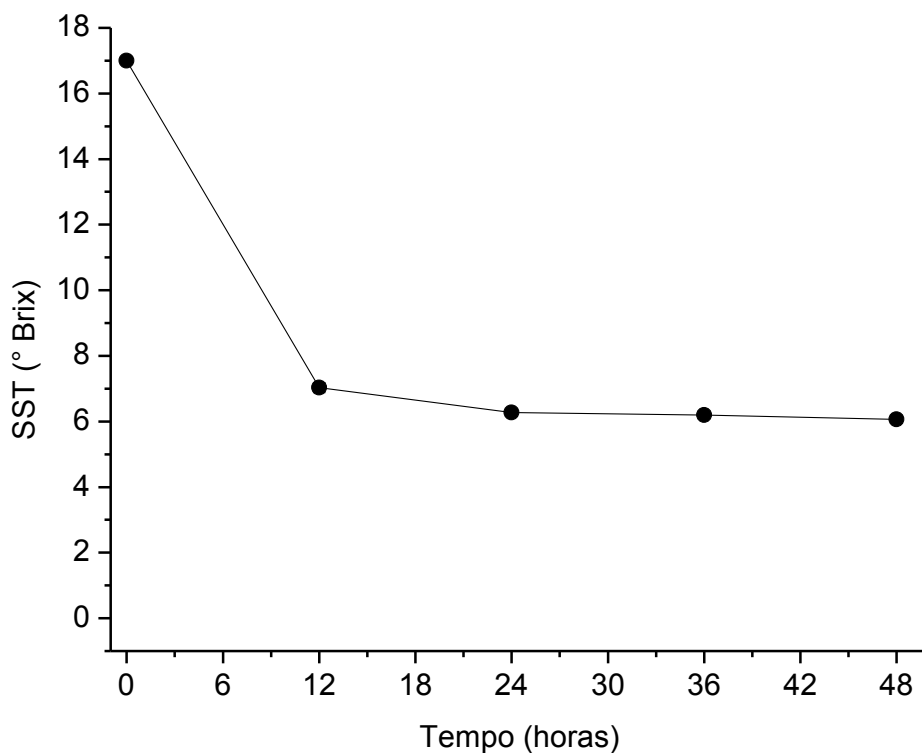


Figura 17 Sólidos Solúveis Totais nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

O comportamento dos teores de sólidos solúveis totais (SST) ao longo da fermentação do mosto de manga (Figura 17) revelou um brusco decréscimo nas 12 primeiras horas de fermentação. Após esse período ocorreu uma estabilização dos teores de sólidos solúveis totais, comportamento semelhante ao observado no consumo de ART. A estabilização dos teores de SST pode ser explicada pela presença de açúcares não fermentescíveis no mosto interferindo no índice de refração registrado pelo refratômetro. Uma vez que o referido aparelho não faz a diferenciação entre os sólidos na amostra. A rápida utilização dos sólidos solúveis totais indica alta concentração de açúcares fermentescíveis no mosto.

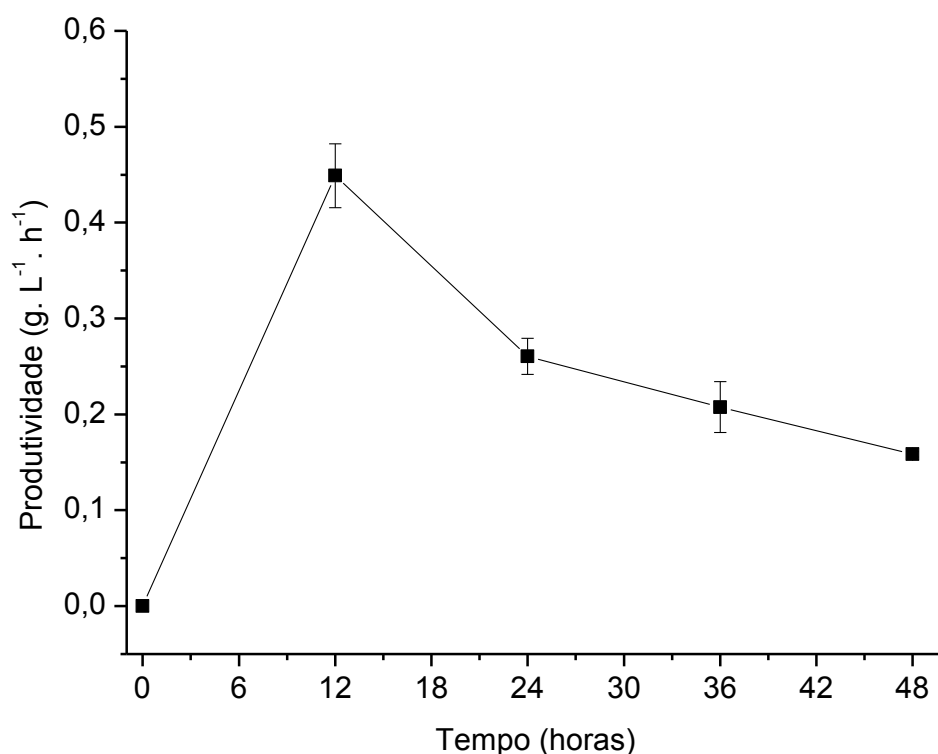


Figura 18 Produtividade em etanol das leveduras nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

A produtividade em etanol das células de leveduras provenientes do fermento comercial (Figura 18) aumentou de forma exponencial até 12 horas de fermentação, com um aumento contínuo e discreto até por volta de 0,45 g. L⁻¹. h⁻¹. A produtividade é um dos principais parâmetros para a escolha de leveduras para os processos fermentativos. A produtividade é um parâmetro que reflete diretamente a eficiência da levedura em transportar os açúcares, sejam eles, dissacarídeos (sacarose) ou monossacarídeos (glicose e frutose), bem como, a atuação das enzimas invertases. A conversão dos açúcares fermentescíveis em etanol ocorre a nível citoplasmático, portanto o transporte dos carboidratos para o citoplasma é de vital importância para o processo (ALVARENGA, 2011).

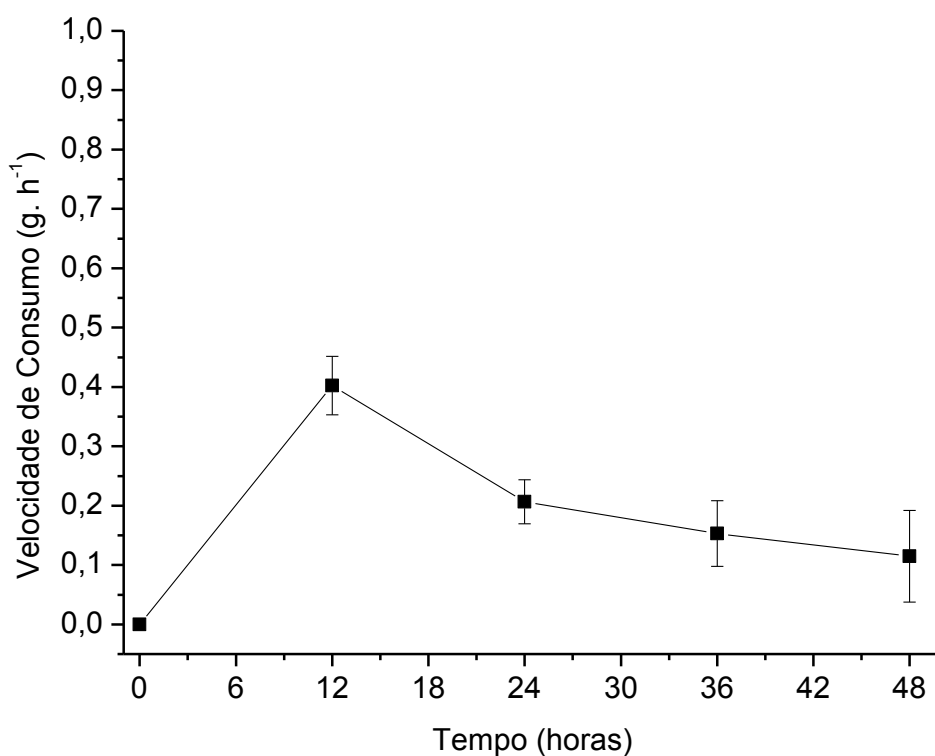


Figura 19 Velocidade de consumo dos ART nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

As leveduras consumiram rapidamente o açúcar do meio, ocorrendo nas primeiras 12 horas. A velocidade de consumo de ART (Figura 19) está intimamente relacionada à produtividade, pois exprime a taxa em que os açúcares fermentescíveis são transportados para o interior da levedura. Esse parâmetro relaciona-se com eficiência de transporte e de conversão metabólica das leveduras. O rápido consumo dos açúcares fermentescíveis é importante, pois impede a instalação de contaminações por outras espécies microbianas, além de tornar o processo mais viável.

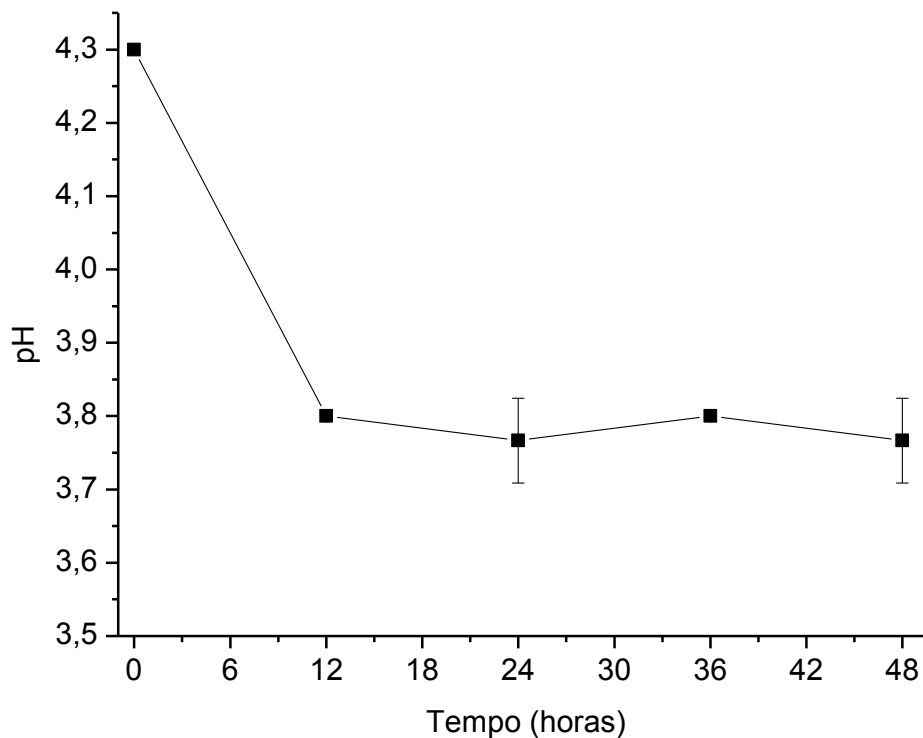


Figura 20 Comportamento do pH nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

O pH do mosto apresentou decréscimo acentuado de cerca de 4,3 para 3,8. Durante a fermentação o pH tende a diminuir pois ocorre a formação de íons de hidrogênio característicos do crescimento e multiplicação dos micro-organismos. Nos vinhos, o pH é um parâmetro de relevante importância para sua estabilidade. O pH possui grande influência sob diversos fatores durante a fermentação, tais como: solubilidade de proteínas, crescimento de bactérias indesejáveis, efetividade do dióxido de enxofre, além de reações de escurecimento (STARZAK *et al.*, 1994; BOULTON *et al.*, 1995).

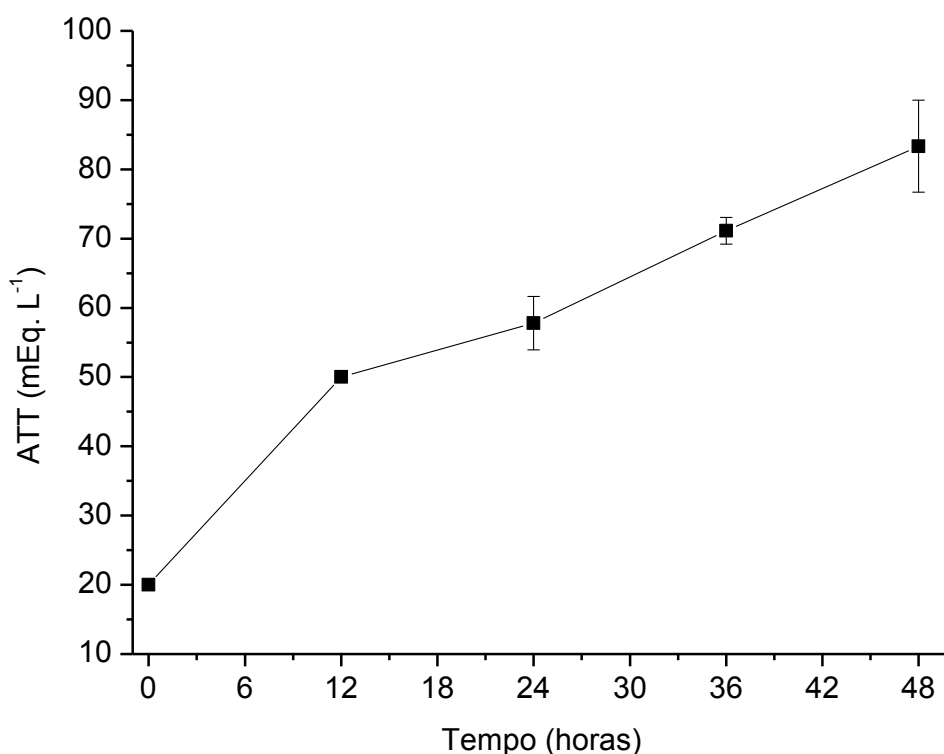


Figura 21 Comportamento da acidez nas fermentações com fermento comercial prensado (*Saccharomyces cerevisiae*) em mosto de manga

Em uma fermentação o pH e a acidez total titulável (ATT) se comportaram de formas distintas, ocorrendo uma diminuição do pH com concomitante aumento da acidez, contudo uma acidez muito elevada ou um pH muito ácido pode indicar contaminação do meio. A acidez total está relacionada com a formação de ácidos orgânicos, tais como: ácido acético, láctico e succínico. Sua variação durante a fermentação exerce grande influência na estabilidade físico-química e microbiológica das bebidas fermentadas (AQUARONE e BORZANI, 1983; RIZZON *et al.*, 1994).

A fermentação do mosto de manga do presente estudo apresentou uma curta e rápida fase *lag*, no período de 1 hora após a inoculação das leveduras foi possível observar o aumento da temperatura, bem como, o desprendimento de CO₂. A fase tumultuosa, a que apresentou a maior duração, ocorreu até 12 horas de fermentação, sendo caracterizada por intenso desprendimento de CO₂. De modo geral, a partir dos parâmetros analisados pode-se afirmar que a fase tumultuosa da fermentação foi bastante rápida encerrando-se por volta de

12 horas de fermentação. Esse fato pode ser explicado pela qualidade dos açúcares presentes na matéria-prima utilizada, bem como, a alta concentração de células viáveis e a eficiência das leveduras na conversão do açúcar durante o processo.

Os valores médios dos parâmetros cinéticos durante o processo fermentativo e as análises físico-químicas realizadas no vinho de manga podem ser visualizados na Tabela 10.

Tabela 10 Valores médios dos parâmetros cinéticos determinados na fermentação e análises físico-químicas do vinho de manga

Parâmetro	Valores médios
Densidade ¹	0,99 ± 0,00
pH ²	3,73 ± 0,05
Acidez Total ³	83,34 ± 6,65
Acidez Fixa ⁴	54,50 ± 1,8
Acidez Volátil ⁵	29,00 ± 1,2
Cinzas ⁶	1,3 ± 0,02
Proteína Bruta ⁷	0,19 ± 0,05
Etanol ⁸	7,61 ± 0,13
Extrato Seco ⁹	96,75 ± 1,72
ESR ¹⁰	95,51
GR/ESR ¹¹	0,64
Carotenoides ¹²	17,33 ± 1,97
Fenolicos Totais ¹³	24,6 ± 0,01
ART _i ¹⁴	17,50 ± 0,53
ART _f ¹⁵	1,24 ± 0,04
C. ART ¹⁶	92,91
Veloc. de Consumo ¹⁷	0,17 ± 0,04
Y p/s ¹⁸	0,470
Produtividade ¹⁹	0,23 ± 0,02
Eficiência ²⁰	91,50
Rendimento ²¹	85,00

1: Densidade (g. cm⁻³). 2: Potencial hidrogeniônico. 3: Acidez total do vinho (mEq. L⁻¹ expresso em ácido acético). 4: Acidez volátil (mEq. L⁻¹ expresso em ácido acético). 5: Acidez fixa (mEq. L⁻¹ expresso em ácido tartárico). 6: Cinzas (g. L⁻¹). 7: Proteína Bruta (%). 8: Etanol (g. L⁻¹). 9: Extrato Seco (g. L⁻¹). 10: Extrato Seco Reduzido (g. L⁻¹). 11: Grau alcoólico real/ extrato seco reduzido. 12: Teor de carotenoides

(mg . 100mL⁻¹). **13:** Teor de fenólicos totais (mg de catequina .100 mL⁻¹). **14:** Teor de açúcares redutores iniciais (g. L⁻¹). **15:** Teor de açúcares redutores finais (g. L⁻¹). **16:** taxa de conversão de ART (%). **17:** Velocidade de consumo de ART(g . h⁻¹) **18:** fator de conversão do substrato em produto (g . g⁻¹). **19:** Produtividade em etanol (g. L⁻¹. h⁻¹). **20:** Eficiência (%). **21:** Rendimento em etanol (%).

Em geral, a fermentação do mosto de manga apresentou bons resultados quanto à produção de etanol, consumo de açúcares, taxa de transformação em etanol, velocidade de consumo dos açúcares, produtividade, eficiência e rendimento em etanol.

A densidade do vinho de manga foi de 0,99 g. cm³ ⁻¹. Durante a fermentação a densidade tende a diminuir devido ao consumo de açúcares e a formação de etanol, uma vez que a densidade do produto (etanol: 0,79 g. cm³ ⁻¹) é inferior a do substrato (açúcares) (RIZZON *et al.*, 2002).

O pH determinado no vinho de manga do presente estudo foi em média 3,73, sendo inferior ao relatado por Asquieri *et al.* (2008) para fermentado de jaca (3,9) e superior quando comparado aos resultados de De Paula *et al.* (2012) para fermentado de umbu (2,4), ainda em relação ao pH, outros valores são relatados por Araujo *et al.* (2009) para fermentado de abacaxi variedade Pérola (3,68), Silva e Silva *et al.* (2011) para fermentado de manga variedade Rosa (3,4 ± 0,56) . Asquieri *et al.* (2004) afirmam que baixos valores de pH conferem características de frescor nas bebidas, além de impedir a deterioração por micro-organismos contaminantes e manter a estabilidade do produto.

A concentração de acidez total apresentada pelo vinho de manga 83,34 ± 6,65 mEq. L⁻¹, está em conformidade com relação aos padrões estabelecidos pela legislação para vinhos de uvas, em que a acidez total de estar entre 55,00 e 130,00 mEq. L⁻¹ (BRASIL, 2008).

São estabelecidos limites de acidez volátil em vinhos, pois este parâmetro indica a presença de organismos deteriorantes após a elaboração, particularmente por bactérias ácido-acéticas do gênero *Acetobacter*. (Amerine e Ough, 1976 apud Paz *et al.*, 2007). O vinho de manga apresentou considerável concentração de ácidos voláteis (29,00 ± 1,2 mEq . L⁻¹) estando acima do limite máximo estabelecido pela legislação para fermentados de uvas

(20 mEq . L⁻¹) (BRASIL, 2008). Asqueiri *et al.* (2008) relataram valor de acidez volátil em fermentado de jaca na ordem de 6,00 mEq. L⁻¹ e De Paula *et al* (2012) de 7,27 para fermentado de umbu.

A acidez fixa é determinada pela diferença entre a acidez total e a acidez volátil, portanto, representa o grupo de ácidos não voláteis contidos no vinho, tais como, o ácido succínico, málico, tartárico, láctico, cítrico, dentre outros. O vinho de manga apresentou valores de acidez fixa de 54,50 ± 1,8 mEq. L⁻¹ estando em conformidade com o limite mínimo estabelecido pela legislação que determina uma acidez fixa superior a 30 mEq. L⁻¹. A acidez fixa quantificada no vinho de manga neste estudo é inferior ao relatada por Asquiere *et al.* (2004, 2008) sendo de 99,00 mEq. L⁻¹ e 94,00 mEq. L⁻¹ para fermentados de jabuticaba e jaca respectivamente e superior ao relatado por De Paula *et al.* (2012) em fermentado de umbu (42,80 mEq. L⁻¹).

O teor de cinzas de um vinho representa a matéria inorgânica restante após a evaporação e incineração do vinho. Por meio de sua quantificação é possível a determinação de fraudes no produto, como por exemplo, a adição de água (Paz *et al.*, 2007). O vinho de manga apresentou valor médio para teor de cinzas ou resíduo mineral fixo de 1,3 g . L⁻¹ valores inferiores dos relatados por Asquiere *et al.* (2008) em fermentado de jaca (3,4 g. L⁻¹), Paz *et al.* (2007) em fermentado obtido a partir de soro de leite (3,06 g. L⁻¹), em fermentado de umbu (2,36 g. L⁻¹) De Paula *et al.* (2012). O baixo teor de cinza do vinho de manga pode ser explicado pela necessidade de diluição e adição de açúcar para a constituição do mosto.

A produção de etanol durante a fermentação do mosto de manga (7,60 g. L⁻¹) foi próximo ao relatado por Silva e Silva *et al.*, 2011 na fermentação de manga “rosa” que obteve o teor alcoólico de 7,06 (g. L⁻¹). Kumar *et al* (2012) relataram teores alcoólicos de vinho de diferentes variedades de manga variando de 7,8 a 10,3 (g L⁻¹). O teor alcoólico da bebida está em conformidade com a legislação brasileira vigente (MAPA, 2008), porém, está um pouco abaixo do preconizado pela legislação de vinhos de mesa, que determina teores alcoólicos variando entre 8,6 a 14 % (BRASIL, 1986).

O extrato seco representa as substâncias não voláteis do vinho (Asquieri *et al.*, 2004). O valor encontrado para extrato seco do vinho de manga foi de $96,75 \pm 1,72 \text{ g. L}^{-1}$, sendo similar quando comparado com outros fermentados, tais como, o fermentado doce de jabuticaba ($96,26 \text{ g. L}^{-1}$) e de fermentado de jaca ($96,8 \text{ g. L}^{-1}$) e superior ao relatado para vinho tinto seco de jabuticaba ($39,8 \text{ g. L}^{-1}$) (Asquieri *et al.* 2004; 2008). De acordo com Asquieri *et al.* (2008) elevados valores de extrato seco podem estar relacionados com a caramelização dos açúcares da amostra no processo de secagem, o que pode interferir na completa evaporação.

De acordo com Aquarone *et al.* (1983), o teor de extrato seco reduzido determina o corpo do fermentado, sendo que fermentados com valores de extrato seco reduzido abaixo de 20 g. L^{-1} são considerados leves ou doces, já aqueles que possuem valores acima de 25 g. L^{-1} são considerados encorpados. O vinho de manga do presente estudo apresentou $95,51 \text{ g. L}^{-1}$, sendo bastante elevado, se comparado com o fermentado de jaca ($89,52 \text{ g. L}^{-1}$) e o fermentado doce de jabuticaba ($23,26 \text{ g. L}^{-1}$) elaborados por Asquieri *et al.* (2008). Sendo, portanto, considerado fermentado encorpado.

A relação (teor alcoólico/extrato seco reduzido) encontrada para o vinho de manga foi de 0,640. Asquieri *et al.*, (2008) relata valor de 1,16 para o fermentado de jaca. Como a relação trata-se de uma razão, altos valores de extrato seco reduzido, como os encontrados no presente estudo, originará baixos valores para essa relação. A legislação brasileira vigente não estabelece um mínimo de extrato seco reduzido, contudo, estabelece um valor máximo para a relação álcool em peso/extrato seco reduzido para vinhos de mesa brancos, que é de 6,5 (BRASIL, 1988).

O teor de carotenoides encontrado no vinho de manga foi de $17,33 \pm 1,97 \text{ mg. L}^{-1}$, sendo superior dos relatados por Silva e Silva *et al.* (2011) para fermentado de manga "Rosa" ($9,8 \pm 0,26$).

Em relação ao teor de fenólicos totais o vinho de manga apresentou valor de 24,6 mg de catequina por 100 mL. O valor obtido no presente estudo está dentro da faixa de valores relatados por Kumar *et al.* (2012) de 100 a 530 mg. L^{-1} para vinhos produzidos a partir de diferentes variedades de manga. A

presença desses compostos no fermentado são importantes, uma vez que sabe-se que esse grupo de substâncias desempenham função antioxidante no organismo, prevenindo o aparecimento de doenças e combatendo a formação de radicais livres (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000).

Os açúcares redutores totais residuais quantificados no vinho de manga ($1,24 \text{ g. L}^{-1}$) foram inferiores a 5 g. L^{-1} , sendo, portanto classificado como fermentado seco de acordo com a legislação brasileira para vinhos (BRASIL, 1986).

A conversão de açúcares redutores foi bastante satisfatória, o que ressalta a influência de um ambiente anaeróbico para a fermentação alcoólica, pois de todo o açúcar fermentescível disponível cerca de 93 % foi convertido em etanol, o restante utilizado pelas leveduras para a manutenção fisiológica das células e produção de compostos secundários.

O fator de conversão de substrato (açúcares) em produto (etanol) o $Y_{p/s}$, baseia-se na estequiometria da reação de fermentação alcoólica, onde 1 g de açúcar dará origem a 0,511 g de etanol, portanto, o valor ideal para o $Y_{p/s}$ é 0,511. A fermentação do presente estudo apresentou valor de $Y_{p/s}$ de 0,470, isso indica que a fermentação foi bastante eficiente, outros dados corroboram com essa afirmativa, tais como a eficiência e o rendimento em etanol do processo. O valor encontrado no presente estudo é superior aos citados por Almeida *et al.* (2006) em fermentado do fruto do mandacaru (0,461), Silva *et al.* (2004) quantificou um rendimento em produto de 0,300 para fermentação de caju. Andrierra e Stuppiello (1990) que verificaram valores de 0,445, ambos os autores ao analisarem a fermentação alcoólica de caldo de cana.

Oliveira *et al* (2004) analisaram a capacidade fermentativa de diferentes linhagens de leveduras em meio sintético contendo glicose na concentração de 150 g. L^{-1} . No referido estudo as leveduras foram classificadas em grupos distintos de acordo com os parâmetros analisados, tais como: rendimento em etanol (%), taxa de conversão de ART (%), Eficiência (%), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$) dentre outros. Em relação ao $Y_{p/s}$ os autores classificaram as leveduras em três grupos, sendo as leveduras com nível de conversão classificado como muito altos as que apresentaram valores de 0,491

- 0,510 g.g⁻¹, as que compreendiam a faixa de valores de 0,451- 0,490 g.g⁻¹ eram consideradas de alto nível e as de médio nível de conversão as que apresentassem Y p/s de 0,420 -0,450 g.g⁻¹. De acordo com essa classificação o Y p/s das leveduras do presente estudo (0,470) é considerado alto.

A produtividade em etanol do processo fermentativo em 48 horas foi de 0,23 g. L⁻¹. h⁻¹, sendo inferior a vários resultados relatados na literatura, tais como, Almeida *et al.* (2006) que obtiveram produtividade de 1,75 g. L⁻¹. h⁻¹ em fermentação do fruto de mandacaru, Bortoloni *et al.* (2001) (0,74 a 2 g. L⁻¹. h⁻¹), Silva *et al.* (2004) que observou produtividade de 0,78 g. L⁻¹. h⁻¹ para fermentado de caju e por Alvarenga (2006) que obteve valores de produtividade de 3,48 a 5,11 g. L⁻¹.h⁻¹ para fermentação de polpa de manga.

A eficiência de conversão do substrato em etanol pela levedura foi de 91,5 % superior aos relatados por Almeida *et al.* (2006) para fermentado do fruto do mandacaru (90,2 %) e por Silva *et al.*, (2004) que relataram uma eficiência de 55,67 % para fermentado de caju. A eficiência da fermentação do presente estudo encontra-se dentro dos intervalos relatado por Alvarenga (2006) na fermentação de polpa de manga para a produção de aguardente (variação de 84,20 a 93,09 %) e por Bortoloni *et al.*, (2001) que relataram valores de eficiência variando de 75,6 a 92,4 % ao analisar diferentes arranjos para fermentação de kiwi. Ainda em relação à eficiência da fermentação do mosto de manga do presente estudo (91,5%) é superior ao relatado por Alvarenga *et al.*, (2013) para fermentação dos mostos de manga (84,2%) e banana (78,2 %). De acordo com a classificação proposta por Oliveira *et al.*, (2004) as leveduras do presente trabalho estão inclusas no intervalo de 88,1-95,0 % para eficiência fermentativa, portanto são consideradas como leveduras de alto nível de eficiência.

Rendimento em etanol da fermentação foi de 85 % valor superior aos relatados por Alvarenga *et al* (2013) em fermentação de mosto de manga (82,9 %) e banana (77,2 %). Baseado na classificação proposta por Oliveira *et al.* (2004) as leveduras do presente trabalho provenientes de fermento comercial prensado apresentaram rendimento em etanol classificado como médio, compreendido na faixa de 83,1-87,0 %. Fontan *et al.* (2011) relata um

rendimento de 94% para a fermentação do mosto de melancia na produção de vinho.

O vinho obtido não foi caracterizado quanto aos compostos voláteis e álcoois superiores exigidos pela legislação brasileira, tais como: acetato de etila, álcool isobutílico, álcool isoamílico, metanol, propanol e butanol.

É possível observar na Tabela 11 a comparação dos valores obtidos em diferentes fermentados de fruta com o fermentado de manga (vinho) obtido no presente estudo.

Tabela 11 Comparação de parâmetros finais do vinho de manga do presente estudo com dados de diferentes fermentados alcoólicos / vinhos à base de fruta presentes na literatura

Matriz	G.A¹	SST²	ATT³	pH	ART⁴	Referência
Manga	7,60	6,0	5	3,73	1,24	Presente estudo
Manga “Rosa”	7,6	5,5	3,7	3,4	-	Silva e Silva <i>et al.</i> , 2011
Abacaxi (Pérola)	11,2	-	4,77	3,68	0,31	Araújo <i>et al.</i> , 2009
Abacaxi (Smooth cayenne)	10,9	-	6,55	3,47	0,30	Araújo <i>et al.</i> , 2009
Ata	8,4	5,36	0,31	4,12	0,41	Muniz <i>et al.</i> , 2002
Cajá	12	-	0,29	3,5	-	Dias <i>et al.</i> , 2003
Caju+ umbu-cajá	10,7	5,90	-	4,0	0,33	Leite <i>et al.</i> , 2013
Calda de abacaxi	12,30	-	0,45	3,10	7,60	Oliveira <i>et al.</i> , 2012
Camu Camu	11,00	4,50	0,49	2,70	-	Maeda <i>et al.</i> , 2003
Ciriguela	10,00	5,76	0,34	3,06	0,16	Muniz <i>et al.</i> , 2002
Figo-da-Índia	6,05	2,02	4,50	3,31	-	Lopes e Silva., 2006
Figo-da-Índia (fruto)	6,10	2,02	4,50	3,30	-	Lopes e Silva, 2006
Figo-da-Índia (polpa)	5,50	3,62	5,00	4,00	-	Lopes e Silva, 2006
Fruto Mandacaru	10,40	5,50	0,30	3,89	0,27	Almeida <i>et al.</i> , 2006
Jabuticaba (polpa)	10,00	3,90	3,30	4,00	-	Asquieri <i>et al.</i> , 2004
Jabuticaba (casca)	13,00	8,70	7,80	3,30	-	Asquieri <i>et al.</i> , 2004
Jaca	13,00	-	0,10	3,91	8,20	Asquieri <i>et al.</i> , 2008
Kiwi	8,20	-	1,18	3,28	2,99	Paz <i>et al.</i> , 2007
Laranja	10,60	7,00	8,07	3,20	-	Corazza <i>et al.</i> , 2001
Mangaba	9,80	6,26	0,74	3,21	0,32	Muniz <i>et al.</i> , 2002
Melancia	10,00	6,00	4,45	4,10	-	Fontan <i>et al.</i> , 2011
Morango	9,97	4,90	0,45	3,32	5,76	Villela <i>et al.</i> , 2009
Pseudofruto do caju	11,50	3,60	7,20	3,50	-	Torres Neto <i>et al.</i> , 2006
Umbu	11,20	5,5	0,37	3,4	-	Silva e Silva <i>et al.</i> , 2011

Onde: 1: Grau alcoólico (°GL). 2: Sólidos Solúveis Totais Finais (°Brix). 3: Acidez Total Titulável Final (g. 100 mL⁻¹). 4: Açúcares redutores Totais Finais (g. L⁻¹)

O vinho de manga do presente estudo apresentou valores de teor alcoólico, sólidos solúveis totais, acidez e pH próximos dos relatados por Silva e Silva *et al.*, 2011 na obtenção de vinho de manga variedade Rosa. Em relação ao teor alcoólico, o vinho do presente estudo apresentou valor superior ao obtido por Silva e Silva *et al.* (2011). Teor alcoólico próximo dos relatados por Paz *et al.* (2007), Muniz *et al.* (2002) e inferiores a todos os demais relacionados na Tabela 17. Vale ressaltar que os tempos de fermentação das bebidas (Tabela 11) foram distintos, compreendendo intervalos de 2 até 25 dias de fermentação versus 2 dias de fermentação da polpa de manga no presente estudo. Ainda apresentou teor alcoólico superior aos relatados por Lopes e Silva (2006) em fermentado de Figo-da-Índia obtido pelo fruto integral (6,05 %), pela polpa (6,10 %) e por combinação das frações polpa e casca (5,50) respectivamente e ainda Silva e Silva *et al.* (2011) encontraram teor alcoólico de 7,6 % em fermentado de manga “Rosa”.

Ainda em relação ao teor alcoólico o vinho de manga do presente estudo apresentou valor de etanol inferior aos relatados por Araújo *et al.* (2009) na obtenção de fermentado de abacaxi das variedades “Pérola” (11,2 %) e “Smooth cayenne” (10,9 %), por Dias *et al.* (2003) que produziram um fermentado alcoólico de cajá (12 %), Muniz *et al.* (2002) obtiveram 9,8 % e 10 % de etanol em fermentados alcoólicos de mangaba e ciriguela respectivamente, ainda em relação ao teor alcoólico de diferentes fermentados citados na literatura, Torres Neto *et al.* (2006) relataram teor alcoólico de 11,5 % em fermentado alcoólico obtido do pseudofruto do caju. Asquiere *et al.* (2004, 2008) obtiveram 10 % e 13 % de etanol em fermentados de jabuticaba das frações polpa e casca e de jaca respectivamente. Maeda *et al.* (2003) relatam teor alcoólico de 11 % em fermentado de camu-camu, Almeida *et al.* (2006) encontraram 10,4 % de etanol em fermentado do fruto do mandacaru, Corazza *et al.* (2001) produziram um fermentado de laranja no qual obtiveram teor alcoólico de 10,6 %, Fontan *et al.* (2011) relataram teor de etanol de 10 % em fermentado de melancia. Leite *et al.* (2013) produziu um fermentado misto de

cajá e umbu-cajá com teor alcoólico de 10,7 % , já Silva e Silva *et al.* (2011) produziram fermentado de umbu com 11,2 % de etanol.

5.5 Produção do vinagre de manga

Para a obtenção do vinagre de manga foi necessário a realização de duas etapas distintas, a primeira delas a fermentação alcoólica do mosto de manga por leveduras *Saccharomyces cerevisiae* de fermento comercial prensado e a segunda etapa caracterizada pela acetificação do vinho de manga obtido pela ação de bactérias ácido-acéticas provenientes de vinagre forte não pasteurizado. Os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica foram determinados, assim como o crescimento celular em função do tempo de fermentação, determinando também os parâmetros cinéticos da fermentação acética.

5.5.1 Crescimento Celular e Acompanhamento da Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica para a obtenção do fermentado alcoólico foi acompanhada durante 48 horas para a determinação da viabilidade celular inicial e o comportamento de multiplicação das leveduras.

A Figura 22 ilustra o crescimento celular das leveduras durante a fermentação do mosto de manga.

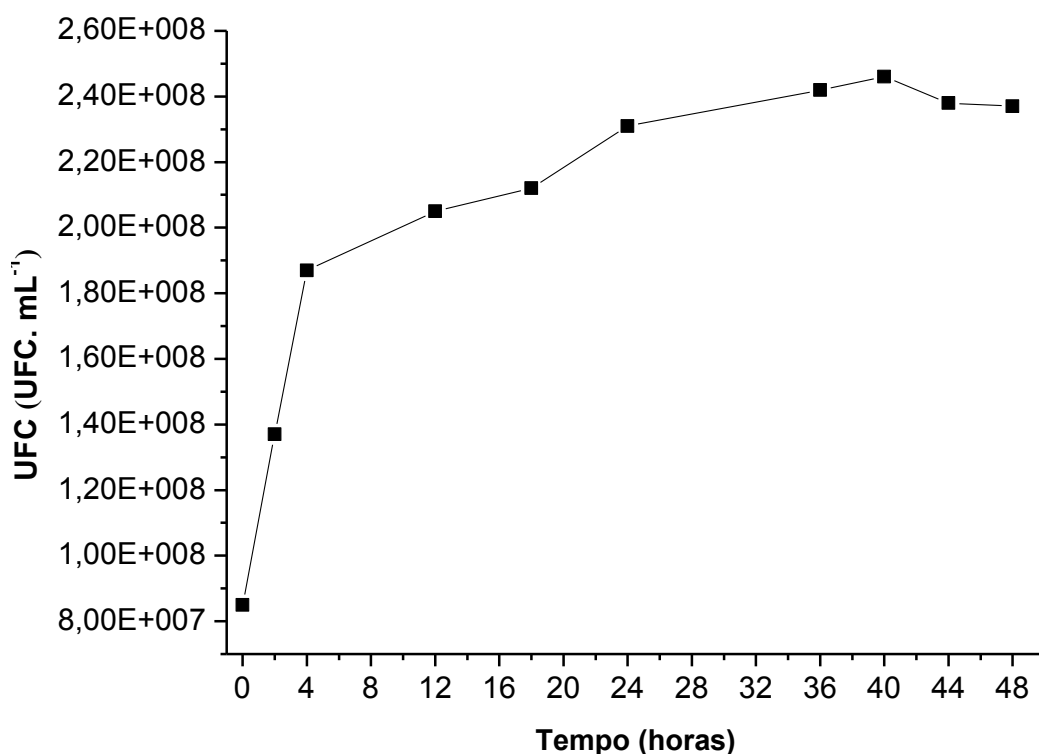


Figura 22 Crescimento celular das leveduras durante a fermentação alcoólica do mosto de manga destinado à acetificação

Observa-se que a fermentação iniciou-se com uma população viável de células de aproximadamente 10^7 UFC. mL⁻¹. Ocorreu crescimento exponencial acentuado nas primeiras 4 horas de fermentação, após esse período a população continuou crescendo até próximo a 40 horas, logo em seguida verifica-se um ligeiro decréscimo populacional.

Durante a fermentação do mosto de manga destinado à produção de vinagre de manga determinou-se os parâmetros de ART, etanol, SST, ATT e pH.

Na Figura 23 observa-se o comportamento dos açúcares redutores totais e do etanol ao longo da fermentação alcóolica do mosto de manga destinado à produção de vinagre.

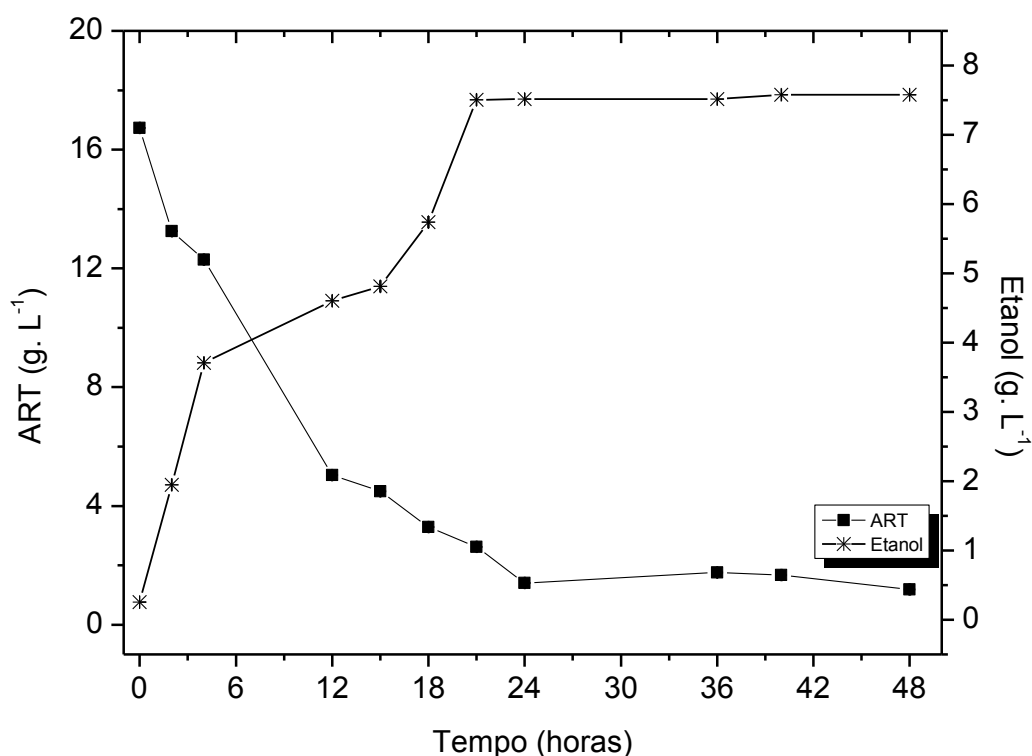


Figura 23 ART versus produção de etanol em fermentação alcoólica de mosto de manga.

Os açúcares redutores totais (ART) foram consumidos rapidamente, com maior destaque para o intervalo de tempo até 12 horas de fermentação, quando aproximadamente 2/3 do teor total de açúcares fermentescíveis já haviam sido consumidos. Após 24 horas os teores de ART tenderam a estabilização, estando por volta de 1, 2 g. L⁻¹. Em contrapartida a formação do etanol ocorreu de forma expressiva até 20 horas de fermentação, alcançando teor alcoólico próximo a 7,5 (g. L⁻¹). Em 4 horas de fermentação cerca de 3,5 % de etanol já havia sido formado. O teor de etanol foi estabilizado após 20 horas de fermentação, tal fenômeno pode ser explicado pela baixa quantidade de ART disponíveis após esse período, inviabilizando assim o aumento do teor alcoólico.

Na Figura 24, pode-se observar o comportamento dos sólidos solúveis totais durante a fermentação alcoólica do mosto de manga.

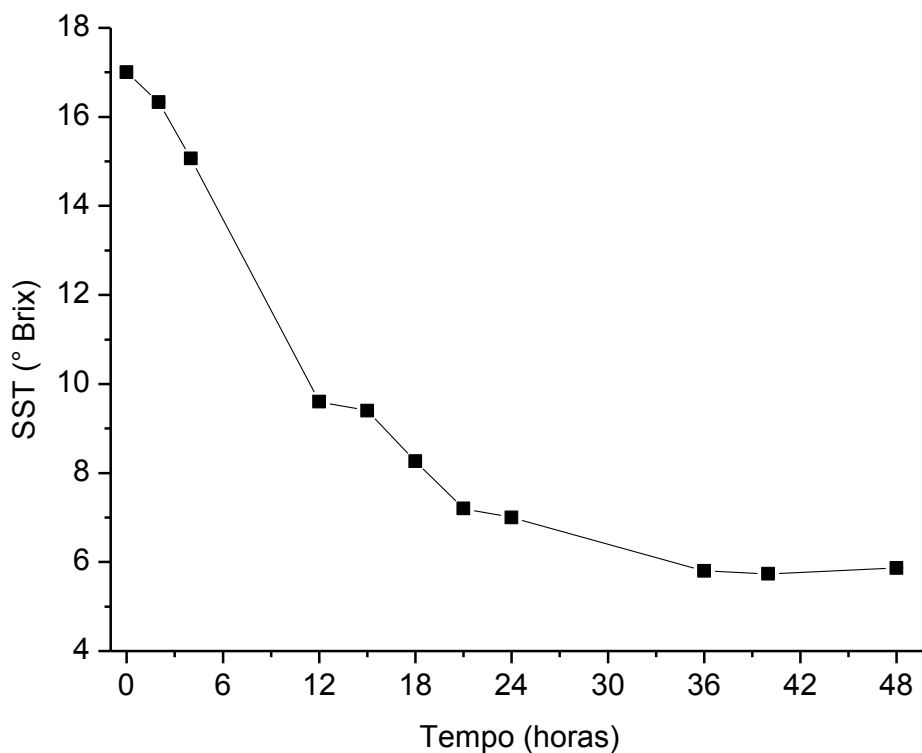


Figura 24 Comportamento dos Sólidos Solúveis Totais durante a fermentação de mosto de manga destinado à acetificação

A fermentação iniciou-se com o mosto apresentando 17 °Brix, em 12 e 24 horas de fermentação respectivamente cerca de 7 e 10 °Brix já haviam sido consumidos. Após 36 horas de fermentação os teores de sólidos solúveis totais se estabilizaram, esse fato pode ser explicado pela presença de outros componentes no mosto que não fossem capazes de serem convertidos para servirem de substrato na fermentação.

O comportamento do pH e da acidez do mosto de manga, bem como, a produtividade horária e a velocidade de consumo de ART ao longo da fermentação podem ser verificados nas Figuras 25, 26 e 27

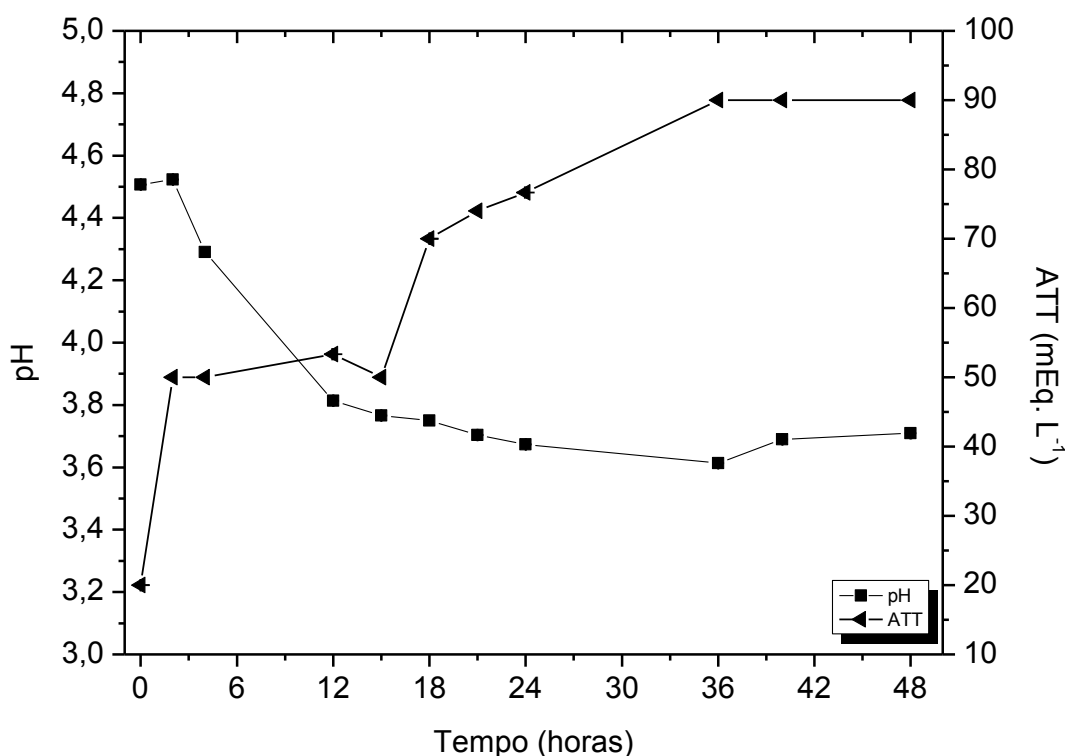


Figura 25 Comportamento do potencial hidrogeniônico (pH) e da Acidez Total em função do tempo de fermentação

O pH decresceu de 4,5 até valores próximos de 3,2. A acidez aumentou em função do tempo acompanhando a tendência de decréscimo do pH. O aumento da acidez pode ser explicado pela formação de ácido orgânicos oriundos do metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo, como por exemplo, o ácido succínico, ácido málico, ácido acético, ácido butírico, dentre outros, já o decréscimo nos valores de pH pode ser explicado pela multiplicação celular o que acarreta a produção de íons H^+ alterando o potencial hidrogeniônico do meio. Como verifica-se na figura 25 no intervalo até 12 horas de fermentação ocorre o decréscimo mais acentuado nos valores de pH o que pode ser explicado pelo crescimento das leveduras (Figura 22) na qual o crescimento exponencial também compreende esse intervalo de tempo.

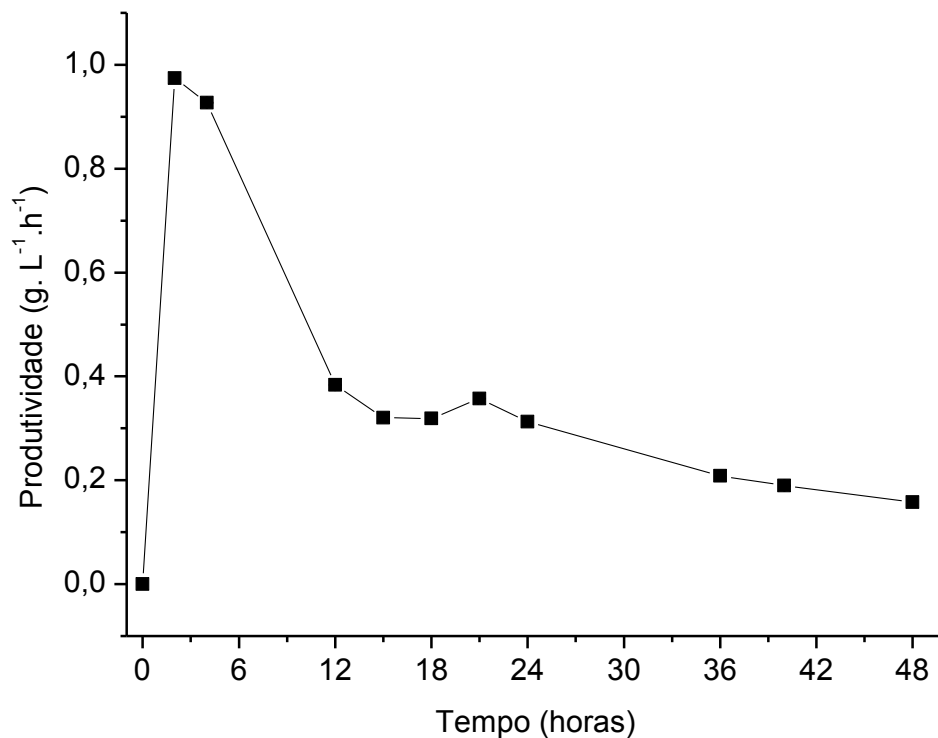


Figura 26 Produtividade em etanol em função do tempo de fermentação

A produtividade aumentou exponencialmente até aproximadamente 20 horas de fermentação, após esse período ocorreu a estabilização do sistema. No intervalo de 4 horas de fermentação a produtividade em etanol aproximou-se de $1,0 \text{ g. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

A produtividade é uma dos aspectos mais importantes para a seleção de leveduras nas fermentações alcoólicas, pois exprimem a capacidade de conversão de açúcares fermentescíveis disponíveis no meio em etanol (ALVARENGA, 2011).

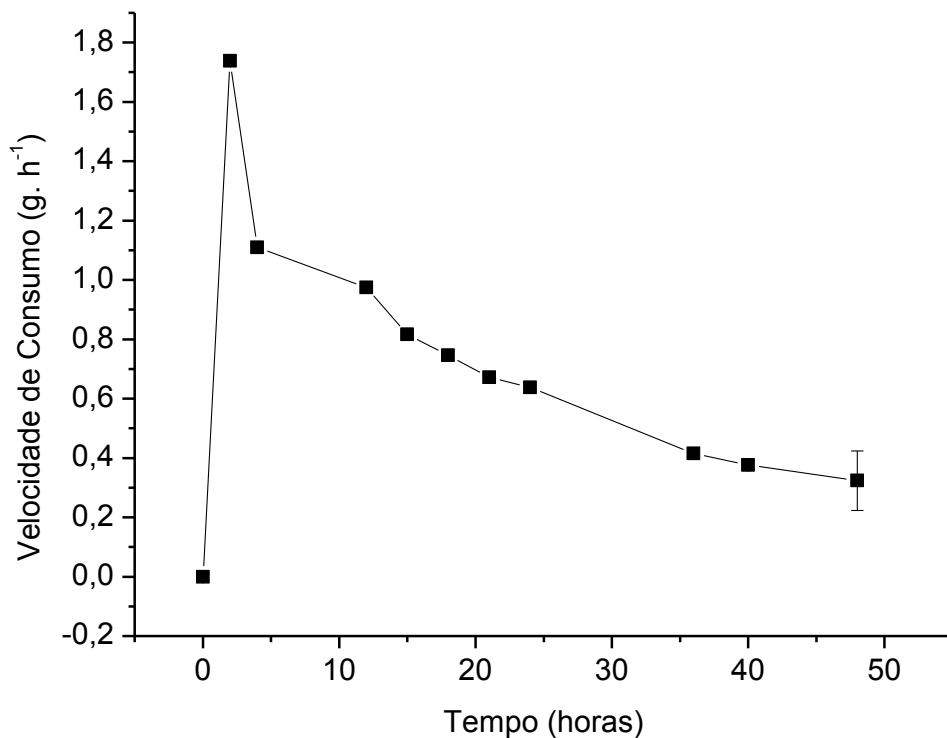


Figura 27 Velocidade de consumo dos açúcares redutores totais (ART) em função do tempo

A análise do gráfico da velocidade de consumo dos açúcares redutores totais, ou seja, dos açúcares fermentescíveis disponíveis no mosto de manga corrobora os dados de consumo de ART, formação de etanol e produtividade, pois a velocidade de consumo está diretamente ligada aos demais parâmetros citados. Em apenas 2 horas de fermentação pode-se observar que a velocidade de consumo estava próxima de $1,4 \text{ g. h}^{-1}$ decrescendo ao longo da fermentação até o intervalo de 12 horas quando a velocidade de consumo de ART registrada foi de aproximadamente $1,0 \text{ g. h}^{-1}$. Após esse período a velocidade diminui gradativamente até $0,3 \text{ g. h}^{-1}$ no tempo final de 48 horas.

Na Tabela 12 pode-se observar os valores médios para os parâmetros cinéticos da fermentação do mosto de manga e a caracterização do vinho de manga

Tabela 12 Caracterização do vinho de manga utilizado para a obtenção de vinagre.

Parâmetro	Valores Médios
pH ¹	3,5 ± 0,03
Densidade ²	0,99 ± 0,001
Acidez Total ³	90,00 ± 0,54
Acidez Volátil ⁴	20,05 ± 0,32
Acidez Fixa ⁵	69,95 ± 0,5
Cinzas ⁶	1,5 ± 0,03
Proteína Bruta ⁷	2,00 ± 0,12
Etanol ⁸	7,70 ± 0,004
Extrato seco ⁹	95,00 ± 1,2
Extrato Seco Reduzido ¹⁰	93,90
ESR/GR ¹¹	0,65
Carotenoides ¹²	18,0 ± 0,80
Fenólicos Totais ¹³	24,56 ± 5,45
ART_{inicial} ¹⁴	16,73 ± 0,16
ART_{final} ¹⁵	1,13 ± 0,01
Conversão de ART ¹⁶	93,00
Velocid. de consumo ¹⁷	0,37
Y p/s ¹⁸	0,494 ± 0,01
Produtividade ¹⁹	0,38 ± 0,02
Eficiência ²⁰	96,70
Rendimento ²¹	90,00

1: potencial hidrogeniônico (pH). **2:** densidade (g. cm³⁻¹). **3:**Acidez Total (mEq. L⁻¹ de ácido acético (mEq. L⁻¹ de ácido acético). **4:** **5:** **6:** Cinzas (g. L⁻¹). **7:** Proteína Bruta (%). **8:** etanol (% v.v⁻¹). **9:** Extrato Seco (g. L⁻¹). **10:** Extrato Seco Reduzido (g. L⁻¹). **11:** Grau alcoólico real/ extrato seco reduzido. **12:** Teor de carotenoides (mg . 100mL⁻¹). **13:** Fenolicos totais em mg de catequina . 100mL⁻¹. **14:** teor de açúcares redutores iniciais (g. L⁻¹). **15:** teor de açúcares redutores finais (g. L⁻¹). **16:** taxa de conversão (%) dos açúcares redutores totais (ART). **17:** velocidade de consumo(g. h⁻¹) dos açúcares redutores totais (ART). **18:** fator de conversão do substrato em produto (g de substrato/g de produto). **19:** Produtividade em etanol (g. L⁻¹.h⁻¹). **20:** Eficiência (%). **21:** Rendimento em etanol (%).

O vinho de manga obtido como descrito anteriormente e destinado para a obtenção do vinagre de manga, apresentou os valores médios dos parâmetros analisados próximos aos encontrados por SILVA e SILVA *et al.* (2011) na obtenção de fermentado alcoólico de manga “Rosa”.

O vinho apresentou pH de 3,5, densidade de 0,99 g. cm⁻³, teor protéico de 2,00 ± 0,12 %, extrato seco de 95,00 ± 1,2 g. L⁻¹, extrato seco reduzido de 93,90, a razão ERS / GR de 0,65, teores de carotenoides e fenólicos totais de 18,00 ± 0,008 mg . 100 mL⁻¹ e 24,56 ± 5,45 mg. 100 mL⁻¹ respectivamente, esses parâmetros apresentam valores próximos aos relatados no presente estudo na obtenção de vinho de manga utilizando leveduras provenientes de fermento comercial prensado. A conversão dos açúcares redutores totais foi de 93 %, a produtividade de 0,38 g. L⁻¹. h⁻¹, o rendimento em etanol de 90 %, a produção de etanol de 7,70 % (v. v⁻¹), a conversão de substrato em produto foi de 0,494 ± 0,01, valor próximo do considerado ideal que corresponde a 0,511 ou seja, o fator de conversão de açúcares em etanol.

5.5.2 Acompanhamento da fermentação acética

Nas Figuras 28, 29 e 30 observa-se o comportamento do pH, do etanol e da acidez na calda de manga submetida a acetificação lenta ou Orleans.

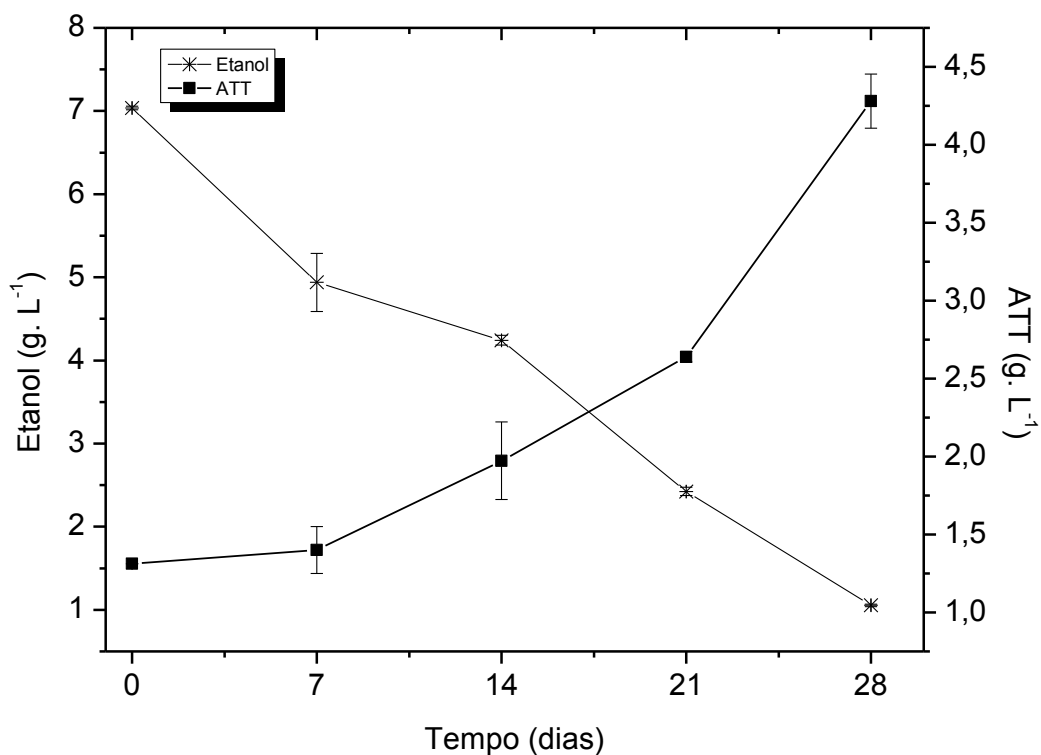


Figura 28 Etanol versus produção de ácido acético durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga

A calda destinada a obtenção do vinagre de manga apresentou teor alcoólico inicial próximo a 7 % de etanol, sendo reduzido a cerca de 1 % em 28 dias de acetificação. Em sete dias de acetificação aproximadamente 1,0 % de etanol havia sido consumido concomitantemente a formação de cerca de 1,25 % de acidez. O etanol foi consumido ao longo dos 28 dias, o vinagre ao final do processo de acetificação apresentou acidez de 4 g. 100 mL⁻¹.

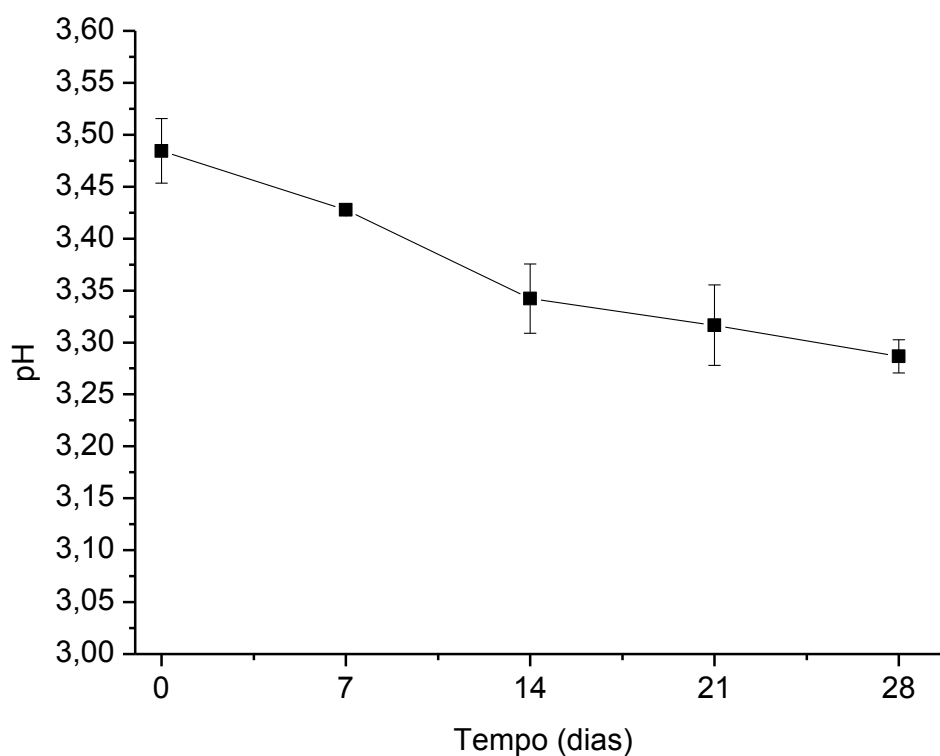


Figura 29 Comportamento do potencial hidrogeniônico durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga

Os valores de pH do vinagre decresceram em função do tempo, fenômeno que ocorre concomitantemente ao aumento da acidez na calda durante o processo de acetificação lenta.

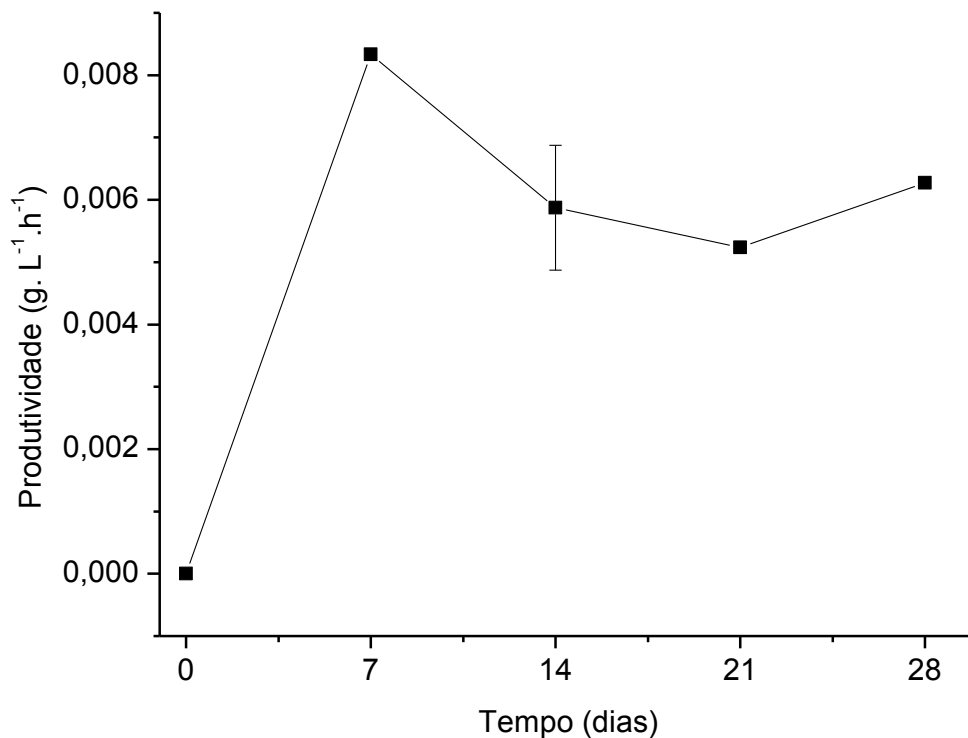


Figura 30 Produtividade em ácido acético durante a fermentação acética lenta na obtenção de vinagre de manga.

A produtividade do processo de acetificação apresentou valor médio mais expressivo em sete dias de fermentação alcançando valores médios próximos de $0,008 \text{ g. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. De uma forma geral a produtividade oscilou ente 7 e 28 dias de acetificação. A produtividade reflete a eficiência das bactérias acéticas em converterem o etanol a ácido acético na presença de oxigênio. Os valores apresentados são baixos, pois além de serem referentes a uma fermentação lenta (onde a aeração disponível é apenas àquela que compreende a área do recipiente até a superfície do líquido a ser acetificado) representa a produtividade horária de ácido acético.

5.5.3. Caracterização físico-química do vinagre de manga

Na Tabela 13, pode-se observar os valores médios dos parâmetros físico-químicos e cinéticos analisados durante a fermentação acética da calda de manga e no vinagre de manga.

Tabela 13 Valores médios dos parâmetros cinéticos da fermentação acética e análises físico-químicas do vinagre de manga.

Parâmetro	Valores médios
Densidade ¹	1,02 ± 0,01
pH ²	3,28 ± 0,03
Cinzas ³	1,5 ± 0,02
Extrato Seco ⁴	11,33 ± 0,12
ES/Cinzas ⁵	7,55 ± 0,10
Carotenoides ⁶	12,67 ± 1,14
Fenólicos Totais ⁷	31,80 ± 2,00
Acidez Total ⁸	4,21 ± 0,11
Acidez Fixa ⁹	0,98 ± 0,17
Acidez Volátil ¹⁰	3,23 ± 0,07
Etanol _{inicial} ¹¹	7,04 ± 0,10
Etanol _{final} ¹²	1,05 ± 0,01
Prod.-média ¹³	0,005 ± 0,001
Rendimento GK ¹⁴	64,00 ± 5,04
Y _{ácido} ¹⁵	0,799 ± 0,01

Onde: 1. Densidade (g.cm³⁻¹). 2. Potencial Hidrogeniônico. 3. Cinzas (%). 4. Extrato Seco. 5. Extrato Seco/ Cinzas (g. L⁻¹- % Cinzas.). 6. Carotenoides (mg. 100mL). 7. Fenólicos Totais (mg . 100 mL⁻¹). 8. Acidez total (g. 100 mL⁻¹ de ácido acético). 9. Acidez Fixa (g. 100 mL⁻¹ de ácido tartárico). 10. Acidez Volátil (g. 100 mL⁻¹ de ácido acético). 11. Etanol inicial (g. L⁻¹). 12. Etanol final (g. L⁻¹). 13. Produtividade média (g. L⁻¹. h⁻¹). 14. Rendimento Gesamte Konzentration - GK (%). 15. Rendimento em ácido (g.g⁻¹).

A densidade do vinagre (1,02 ± 0,01) aumentou, uma vez que o etanol que possui a densidade de 0,79 g.cm³⁻¹ foi convertido a ácido acético que possui densidade de 1,05 g.cm³⁻¹. O valor médio obtido é próximo aos relatados por Marques *et al.* (2010) para vinagre de manga (1,0123 ± 0,000 g.

mL⁻¹), vinagre de laranja (1,0198 ± 0,000 g. mL⁻¹), vinagre de arroz (1,0124 ± 0,00 g. mL⁻¹), vinagre de kiwi (1,0113 ± 0,001 g. mL⁻¹), vinagre de maracujá (1,0089 ± 0,000), vinagre de maçã (1,0109 ± 0,000) e vinagre de tangerina (1,0104 ± 0,000) em seu estudo sobre os padrões de identidade e qualidade de vinagres oriundo de frutas e vegetais.

O valor de pH do vinagre de manga foi de 3,28 ± 0,03, sendo próximos ao relatado por Marques *et al.*(2010) para vinagre de laranja (3,40), vinagre de maracujá (3,33 ± 0,006), vinagre de maçã (3,10 ± 0,017) e vinagre de tangerina (3,51 ± 0,023) e inferiores quando comparados com o vinagre de manga (2,65 ± 0,015), vinagre de arroz (2,89 ± 0,025) e vinagre de kiwi (2,97 ± 0,006). Ainda em relação ao pH dos vinagres, Zilioli (2011) cita valores de pH entre 2,65 e 3,41.

De acordo com White (1971) citado por Schmoeller e Balbi (2010) vinagres que apresentam acidez em torno de 5 %, devem possuir intervalos de pH em torno de 2,46 a 3,18. Entretanto, esses valores são dependentes do tipo de vinagre a ser analisado, como por exemplo, vinagres provenientes de destilados, vinagres de vinho, vinagre de frutas, dentre outros.

O valor médio para teor de cinzas ou resíduo mineral fixo do vinagre de manga foi 1,5 ± 0,02 g. L⁻¹, valor inferior ao relatado por Marques *et al.* (2010) para vinagre de manga (2,25 ± 0,073), vinagre de laranja (3,65 ± 0,008), vinagre de tangerina (2,93 ± 0,03) e vinagre de arroz (3,75 ± 0,115) em contrapartida próximo aos encontrados para vinagre de kiwi (1,66 ± 0,019), vinagre de maracujá (1,45 ± 0,024) e vinagre de maçã (1,49 ± 0,024). Já Zilioli (2011) relatou valores de cinzas de 0,29 a 4,04 g. L⁻¹, sendo o vinagre de milho (0,29), de arroz e cana (0,48), de kiwi (4,04), laranja (2,91), uva (1,65), maracujá (3,84), carambola (1,52), maçã (1,90), mel (0,91) e toranja (2,76). De acordo com Palma (2001) o teor de cinzas varia em função do processo e da matéria prima utilizada.

O extrato seco foi de 11,33 ± 0,12, sendo superior aos vinagres de maracujá (9,3 ± 0,222) e de maçã (8,9 ± 0,311). Quando comparado a outros vinagres o vinagre do presente estudo apresenta valor de extrato seco inferior aos vinagres de manga (14,8 ± 0,302), de laranja (38,3 ± 0,675), de arroz (14,3

$\pm 0,378$) e de kiwi ($14,1 \pm 0,298$). Zilioli (2011) determinou em seus vinagres diferentes valores para extrato seco (g. L^{-1}) compreendendo valores de 1,20 a 24,99 g. L^{-1} , sendo os vinagres de arroz (1,20) e maracujá (24,99) os que apresentaram o menor e maior valor de extrato seco respectivamente. A legislação brasileira vigente estabelece que vinagres provenientes de álcool apresentem extrato seco máximo de 1,0 g. L^{-1} , já os de frutas o máximo é de 6,0 g. L^{-1} . Os valores encontrados no presente estudo estão acima do estabelecido pela legislação, portanto, em relação a esse critério encontra-se em desacordo (BRASIL, 1999).

A relação extrato seco e teor de cinzas (ES/Cinzas) foi de $7,75 \pm 0,10$. Segundo Troncoso; Guzmán, 1988 *apud* Artilles *et al.* (1993) essa relação pode fornecer sobre a adição de açúcares no meio, uma vez que causará interferência nos teores de extrato seco, entretanto, sem causar alteração no teor de minerais, essa relação compreende o intervalo de 3 a 8. O vinagre de manga do presente estudo está dentro dos limites estabelecidos para essa relação.

O teor de carotenoides encontrado no vinagre de manga foi de $12,67 \pm 1,14 \text{ mg. } 100 \text{ mL}^{-1}$ valor superior aos citados por Silva e Silva *et al.* (2011) que relataram valor correspondente a $9,8 \pm 0,26 \text{ mg}$ em fermentado alcoólico de manga “Rosa”. De acordo com Machado *et al.* (2006), os carotenoides são pigmentos sensíveis a altas temperaturas, portanto o processo de pasteurização empregado no vinagre pode reduzir seus teores.

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais o vinagre apresentou $31,80 \pm 2,00 \text{ mg}$ de catequina em 100mL de amostra. Marques *et al.* (2010) determinaram o conteúdo de polifenóis totais ($\text{mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) de vinagres provenientes de diferentes fontes vegetais, relatando valores de $22,61 \pm 0,218$ para vinagre de maçã, $17,61 \pm 0,055$ para vinagre de kiwi, $28,83 \pm 0,397$ em vinagre de laranja, $9,79 \pm 0,247$ para vinagre de maracujá e para vinagre proveniente de vinho tinto ($31,86 \pm 1,503$) e vinho branco ($9,53 \pm 0,308$). O teor de polifenóis totais no vinagre de manga do presente estudo foi superior aos relatados pelos autores para vinagre de manga ($16,80 \pm 0,734$). Verifica-se que o vinagre de manga do presente trabalho apresenta valor médio de compostos

fenólicos totais mais elevados que os demais vinagres citados na literatura, tornando-se uma boa alternativa para a obtenção desses compostos e sua possível associação para a melhoria e manutenção da saúde.

A acidez total foi de $4,21 \pm 0,11$ inferior aos valores relatados por Zilioli (2011) ao estudar a composição de vinagres produzidos por diferentes fontes, os vinagres apresentaram acidez total expressa em g. mL^{-1} , sendo : vinagre de arroz (8,68), vinagre de cana (6,70), vinagre de milho (7,78), vinagre de mel (5,42), vinagre de carambola (6,18), vinagre de kiwi (7,14), vinagre de laranja (6,40), vinagre de maçã (5,78), vinagre de maracujá (4,94), vinagre de toranja (5,49) e vinagre de uva (8,76).

Zilioli (2011) cita valores entre 0,24 e 1,14 g. 100 mL^{-1} para acidez fixa de seus vinagres, entretanto, as caldas utilizadas na acetificação foram provenientes dos substratos destilados de suas matérias-primas (teor alcoólico superior a 96 °GL) sendo todo o seu conteúdo acético característico do ácido acético. O valor encontrado no presente estudo pode ser justificado pelo fato de que utilizou-se como calda para o processo de acetificação o vinho obtido diretamente da polpa de manga.

A acidez volátil do vinagre de manga expressa em g. mL^{-1} ($3,23 \pm 0,07$) foi similar a acidez volátil encontrada em vinagre de laranja ($2,74 \pm 0,07$) e próximo aos vinagres de manga ($3,28 \pm 0,215$), de arroz ($3,70 \pm 0,325$), kiwi ($3,10 \pm 0,07$), maracujá ($3,91 \pm 0,107$), maçã ($4,17 \pm 0,041$) e tangerina ($4,01 \pm 0,07$) relatados por Marques *et al.* (2010). Os vinagres produzidos por Zilioli (2011) pelo processo rápido apresentaram valores de acidez volátil superiores ao encontrado no presente estudo, o autor relatou valores de acidez dos vinagres em gramas por 100 mL de vinagre, sendo: vinagre de arroz (8,32), cana (6,22), milho (7,50), mel (4,52), carambola (5,64), kiwi (6,90), laranja (5,84), maçã (3,75), maracujá (4,27), toranja (4,35) e uva (8,02).

O valor para acidez volátil está abaixo do estabelecido pela legislação brasileira, que determina uma acidez mínima de $4,0 \text{ g. 100 mL}^{-1}$ expressa em ácido acético (BRASIL, 1999).

O teor final de etanol (% v. v⁻¹) do vinagre encontra-se no limite máximo de 1 g. L⁻¹ determinado pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 1999). Contudo, superior aos citados por Zilioli (2011) que encontrou teores alcoólicos finais nos vinagres entre 0,1 e 0,8 % (v. v⁻¹) no processo de acetificação rápida ou método alemão.

O rendimento GK do processo de acetificação foi inferior quando comparados aos dados da literatura. O rendimento leva em consideração a razão das somatórias inicial e final dos teores de etanol e acidez. De acordo com White (1971) apud Marques *et al.* (2010) um processo de acetificação é considerado eficiente quando a conversão de etanol em ácido acético é de 70 %, contudo podendo chegar a valores bem mais expressivos, entre 90 e 98 %. O vinagre de manga apresentou rendimento de 64% entretanto, abaixo do considerado como um bom rendimento.

O rendimento em ácido $Y_{\text{ácido}}$ do vinagre foi de $0,799 \pm 0,01$ expresso em porcentagem de acidez do produto sobre a porcentagem da concentração total da calda. Esse valor é próximo dos relatados por Zilioli (2011) em processo de acetificação rápida para vinagre de arroz (0,79), mel (0,78), kiwi (0,75), laranja (0,75), maçã (0,74), maracujá (0,73) e uva (0,73). Ainda em relação ao rendimento em ácido da fermentação acética o valor encontrado foi superior aos vinagres de cana (0,61), milho (0,71), carambola (0,64), e toranja (0,54) decritos por Zilioli (2011).

6. CONCLUSÃO

A linhagem de levedura *S. cerevisiae* proveniente do fermento comercial prensado apresentou os maiores valores médios para os parâmetros analisados, tais como, produção de etanol, velocidade de consumo de ART, taxa de conversão de produto em substrato, produtividade e rendimento nos ensaios em frascos de Erlenmeyer. Sendo então selecionada para realizar a fermentação da polpa de manga na obtenção do vinho de manga e do fermentado alcoólico para produção do vinagre.

Os parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica na produção do vinho de manga com a levedura selecionada foram considerados muito bons. O vinho de manga apresentou valores satisfatórios em relação aos parâmetros físico-químicos analisados.

O método de acetificação lenta utilizando como inoculo vinagre forte não pasteurizado mostrou-se eficaz para a obtenção de vinagre de manga.—O vinagre obtido apresentou teores significativos de fenólicos totais e carotenoides.

Torna-se necessário o desenvolvimento de mais estudos em relação ao método de acetificação lenta no intuito de aumentar a produtividade e a eficiência do processo, bem como, minimizar as perdas por evaporação, diminuir as chances de contaminação e possibilitar o aumento do teor de ácido acético na obtenção de vinagre.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUJAMRA, L. B. **Produção de destilado alcoólico a partir de mosto fermentado de batata-doce**. 2009. 135 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Departamento de Faculdade De Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2009.

ADAMS, M.R. Vinegar. In: WOOD, B.J.B. **Microbiology of fermented foods**. London: Elsevier Applied Science, 1985. V.1, p. 1-47.

ALMEIDA, Mércia Melo de *et al.* Cinética da produção do fermentado do fruto do mandacaru. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p.35-42 2006.

ALVARENGA, Letícia Mendonça. **Efeito do tratamento enzimático da polpa na produção de aguardente de manga**. 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

ALVARENGA, Raquel Mendonça. **Avaliação de parâmetros da fermentação e da destilação para adequação dos teores de compostos secundários em aguardente de banana**. 2011. 157 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

ALVARENGA, L. M. *et al.* Avaliação de aguardente de banana e manga. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v.24, n.2, p. 195-201, abr./jun. 2013.

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Analisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1976.

ANDRADE, J. S *et al.* Melhoria do rendimento e do processo de obtenção da bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, supl, p. 34-38, 2003.

ANDRIETTA, S. R.; STUPIELLO, J. P. Simulação e modelagem para processo de fermentação alcoólica (I) batelada alimentada. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 8, p. 36-40, 1990.

AQUARONE, E.; ZANCANARO J., O. Vinagres. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo, ed. Edgard Blücher, 1990.

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

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

ARAUJO, K. G. L *et al.* Utilização de abacaxi (*Ananas comosus L.*) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos - estudo da composição química e aceitabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(1): 56-61, jan.-mar. 2009.

ARTILES, A. A. *et al.* Caracterization físicoquímica de diferentes tipos de vinagres: determination de algunos parâmetros de naturaliza volátil. **Alimentaria**, v. 11, p. 105 – 107, 1993

ASQUIERI, E. R. *et al.* Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. **Alimentaria** (Madrid), Espanha, v. 355, n. 355, p. 97-109, 2004.

ASQUIERI, E. R. *et al.* Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p.881-887, 8 out. 2008.

ASSIS NETO, E. F. de *et al.* ELABORAÇÃO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE JACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 4, n. 2, p.186-197, 2010.

Association Of Official Analytical Chemists (AOAC). 2007. **Official Methods of Analysis**. 18 th ed. Gaithersburg, M.D, USA.

BALLY, I. S. E. Advances in research and development of mango industry. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. especial E, p.57-63, out, 2011.

BAMFORTH, C. W. **Food. Fermentation and micro-organisms**. California-CA. Blackwell Science, 1 ed. 2005.

BANCO DO NORDESTE. Informações estaduais do Norte de Minas. Disponível em: http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/perfil_norte_mg_2012_censo.pdf. Acessado em 11 de nov. 2013.

BASSO, L. C; AMORIM, H.V. Habilidade fermentativa de leveduras isoladas do processo industrial. **Relatório Anual de Pesquisa em Fermentação Alcoólica**, n.1, p. 52-76, 1996.

BASSO, L. C; *et al.* Ethanol Production in Brazil: The Industrial Process and Its Impact on Yeast Fermentation. **Biofuel Production-Recent Developments and Prospects**. Dr. Marco Aurelio Dos Santos Bernardes (Ed.), 596 p, In Tech. 15 set. de 2011

BEKATOROU A. *et al.* Production of food grade yeasts. **Food Technology and Biotechnology**.44:407-415, 2006.

BERNARDES-SILVA, A. P. F. *et al.* Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p.116-120, dez., 2003.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução a Química de Alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 231p, 1989.

BORTOLINI, F. *et al.* Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p.236-243, maio 2001.

BOULTON, R. B *et al.* **Principles and practices of winemaking**. New York: The Chapman & Hall Enology Library, 1995. 604 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.36, de 14 de outubro de 1999. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de outubro de 1999, Seção 1, p. 76.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria n. 229, de 25 de outubro de 1988. **Complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 24 Set 2013.

Brasil. Ministério da Agricultura. Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. **Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 nov. 1986.

BRASIL. Portaria n. 64 de 23 de abril de 2008. **Aprovam os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê.** Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008.

CAMARGO FILHO *et al.* Mercado de manga no Brasil: contexto mundial, variedades e estacionalidade. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 24, n. 5, p.60-68, maio 2004.

CAMARGO, L. A. *et al.* Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de *Aspergillus sp.* **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 153-156, abr./jun. 2005.

CAMOCHENA, S.; FERREIRA, E. S. **Avaliação de vinagre comercial por medidas de condutância.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná, p. 332, 2006.

CAO, G. *et al.* Hyperoxia-induced changes in antioxidant capacity and the effect of dietary antioxidants. **Journal of Applied Physiology**,86:1817-1822, 1999.

CARDOSO, Maria das Graças. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar.** 1 ed. Lavras: ed UFLA, 2001. 264 p.

CARVALHO, C. R. L. *et al.* Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo instituto agrônomo de campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p.264-271, 8 ago. 2004.

CHARLES, M. *et al.* Potent aroma compounds of two red wine vinegars. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.48, n.1, p. 70-77, 2000.

CHEMLER, J. A. *et al.* Biosynthesis of isoprenoids, polyunsaturated fatty acids and flavonoids in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbial Cell Factories**. 23:20, 2006.

CHIARELLI, R. H. C *et al.* Fermentados de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): Processos de Produção, Características Físico-químicas e Rendimento. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 8, n. 4, p.277-282, out/dez. 2005.

CHITARRA, M. I. F e CHITARRA A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE. 1990. 320 p.

CHITARRA, M. I. F. **Fisiologia e Qualidade de Produtos Vegetais**. Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Poços de Caldas- MG. 1 – 80 p, 1998.

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

COCOZZA, F. **Maturação e conservação de manga Tommy Atkins submetida a aplicação pós colheita de metilciclopropeno**. Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola. Faculdade de Engenharia Agrícola, UNICAMP. Campinas, 2003. 198p.

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

CUNHA, G. A. P., *et al.* **Manga para exportação: aspectos técnicos da produção**. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. – Brasília: EMBRAPA – SPI. 1994, 35 p.

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

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 5-6, p. 577- 588, 2001.

DIAS, D. R *et al.* Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p.342-350, set. 2003.

DONADIO, L. C.; *et al.* Características de algumas variedades de mangueira cultivadas no Estado de São Paulo. São Paulo: **CATI**, 1982. 16p. (CATI. Boletim Técnico, 171).

DORNELLES, A. S *et al.* Aceitação e perfil sensorial das cachaças produzidas com Kefir e *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p.518-522, jul/set, 2009.

DORNELLES, A. S; RODRIGUES, S. Fermentação Alcoólica de Caldo de Cana utilizando grãos de Kefir. **Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 3, p. 386-390, 2006.

DUARTE - ALMEIDA J. M. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; 26: 446-452, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. **Cultivo da manga**. 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira>>. Acesso em: 01 set. 2013.

FARIA, J. B. *et al.* **Cachaça, Pisco e Tequila**. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). *Fermented beverage production*. 2 ed. New York: Klumer Academic / Plenum Publishers, cap. 15, p. 335-363, 2003.

FERREIRA, A; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 43: 61-68, 1997.

FERREIRA, G. B. *et al.* Caracterização do processo de obtenção de uma aguardente de mandioca. **Brazilian Journal Food Technology**: 5º SIPAL, Campinas, v. 29, n. 1, mar. 2005.

FOLEGATTI, M. J *et al.* **Processamento e produtos**. In: GENÚ, P.J.C.; PINTO, A.C. de Q. (Eds.) A cultura da mangueira. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p.407-43.

FONTAN, R. Da C. I. *et al.* Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 29, n. 2, p.203-210, jul/dez, 2011.

FONTAN, R da C. I. Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 203-210, jul./dez. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. United Nations. Production quantities by country . Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/#VISUALIZE_BY_DOMAIN>. Acesso em: 09 set 2013.

FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S. **Potential Uses of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)**. In: Food Processing and Engineering In: F. Columbus (Ed.) Advances in Food Engineering, Nova Publishers, New York, 2010, p. 1-47.

GALAO R. P. *et al.* *Saccharomyces cerevisiae*: a versatile eukaryotic system in virology. **Microbial Cell Factories**. 6:32, 2007.

GALLI, J.A. *et al.* Características físico-químicas de variedades de manga cultivadas em sistema orgânico. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, Dez 2011.

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

GRASSIN, C; FAUQUEMBERGUE, F. Fruit juice. In: GODFREY, Tony; WEST, Stuart, F. **Industrial Enzymology**. 2.Ed. Stockton Press, 1996. p. 225-264.

HENSING, M. C. *et al.* Physiological and technological aspects of large-scale heterologous-protein production with yeasts. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 67: 261- 279, 1995.

HOJO, E. T. D. *et al.* Avaliação da qualidade de manga 'palmer' tratada com 1-metilciclopropeno e armazenada sob refrigeração e condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p.28-38, 1 mar. 2009.

IBGE. Censo Agropecuário. Apresenta dados de produção e consumo de frutos. Disponível em www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=4&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1. Acesso em: 09 set.2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**: métodos químicos e físicos para alimentos. 4. ed. São Paulo, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE FRUTOS TROPICAIS. **Frutos Tropicais: Valor Nutricional**. Disponível em: <www.frutostropicais.com.br/inct_nutricional.html>. Acesso em: 09 set.2013.

IVANOV, R. C. Fermentação Acética: Abordando Transformações Químicas e Bioquímicas. 2011. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

JARDINI FA, MANCINI JF. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**; 43:137-147, 2007.

KASHIMA, Y *et al.* Purification and characterization of intracellular esterases related to ethylacetate formation in *Acetobacter pasteurianus*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Tokyo, v. 85, n. 6, p. 584-588, 1998.

KASHIMA, Y *et al.* Role of intracellular esterases in the production of esters by *Acetobacter pasteurianus*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Tokyo, v. 89, n. 1, p. 81-83, 2000.

KUMAR, I, S *et al.* Evaluation of antioxidant and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) wine. **CyTA – Journal of Food**. Vol. 10, No. 1, p. 12–20, Feb. 2012,

LALEL, H. J. D. *et al.* The role of ethylene in mango fruit aroma volatiles biosynthesis. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. Ashford Kent, Reino Unido, v. 78, p.485–496. 2003a.

LALEL, H. J. D. *et al.* Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 27, n.3, p. 323-336. 2003b.

LARA, Carla Alves. **Produção de aguardente de banana: emprego de enzimas pectinolíticas e efeito de fontes de nitrogênio e quantidade de inóculo na formação de álcoois superiores**. 2007. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

LEITE, C. A. *et al.* Processamento e avaliação físico-química do fermentado de caju + umbu-cajá . **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. Mossoró, v. 8, n. 1, p. 98 - 103, jan/mar de 2013

LIMA, U. A. Aguardentes. In: AQUARONE, E. *et al.* (Coord.) **Biotechnologia Industrial: alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo, ed. Edgard Blücher, v. 4, 2001, p. 145 – 182.

LOPES, R. de V. V., SILVA, F. L. H. Elaboração de fermentados a partir do figo-da-Índia. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. V. 6, n.02, 2006.

MACHADO, C. M. M. *et al.* **Aproveitamento das raspas geradas na produção de minicenouras**. Comunicado Técnico, Brasília, DF, 2006.

MAEDA, R. N; ANDRADE, J. S. Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dubia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. **Acta Amazonica**, v. 33, n. 3, p.489 - 498, 2003.

MAMEDE, M. E. O *et al.* Evaluation of an aroma similar to that of sparkling wine: Sensory and gas chromatography analyses of fermented grape musts. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p.63-68, jan. 2005.

MAMEDE, M. E. O; PASTORE, G. M. Avaliação de mosto de uva fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p.281-284, abr./jun., 2007.

MARANGON, A. L. P.; SILVA, P. H. A. da; MENDES, G. L. **Produção de Vinagre de Caqui**. Departamento de Tecnologia de Alimentos: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011. 5 p.

MARQUES, A *et al.* Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica L.*) cv. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1206-1210, Dez. 2010.

MATOS, Aristóteles Pires de (Org.). **Manga. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa, 2000. 63 p. (3).

MAZZANTI C. M. *et al.* Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Ciência Rural**; 33:1061-1065, 2003.

MENDONÇA, C. R. B. *et al.* Vinagres alternativos: características físicas, químicas e sensoriais. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, 13, 35-47, 2002.

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

MORETTO, Eliane *et al.* **Vinhos & Vinagres: Processamento e Análises**. Florianópolis: UFSC, 1988. 167 p.

MORRISON, R; BOYD R. SILVA M. A (trad). **Química Orgânica**. 7ª ed. Fundação Calouste Gulbenkian. 1973.

MOSKAUG J. *et al.* Polyphenols and glutathione synthesis regulation. **American Journal of Clinical Nutrition**; 81: (suppl.) 277S-283S, 2005.

MOURA, M. D. **Papel do flavonóide diocleína no desenvolvimento da aterosclerose em camundongos deficientes no gene que codifica a apolipoproteína E**. 2006. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, 2006.

MUNIZ, C. R. *et al.* Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.

NOGUEIRA, A. *et al.* Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 187-194, abr./jun. 2005.

OLIVEIRA, José Agobar Peixoto *et al.* Produção de vinagre de manga (*Mangífera indica*, L.) e verificação da viabilidade técnica e econômica do projeto. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 7, n. 1, p.45-52, jan./jul,1989.

OLIVEIRA, E. S. **Utilização de enzimas em processos industriais**. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 12-14, 2000, (apostila).

OLIVEIRA, Evelyn de Souza. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais**. 2001. 135 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Departamento de Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas, 2001.

OLIVEIRA, E. S. *et al.* Fermentation characteristics as criteria for selection of cachaça yeast. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 20, n.1, p.19-24, Feb, 2004.

OLIVEIRA, Fernanda De. **Avaliação da atividade antimicrobiana do vinagre em cortes de dianteiro bovino embalado a vácuo**. 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Departamento de Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

OLIVEIRA, L. A. *et al.* . Elaboração de bebida fermentada utilizando calda residual da desidratação osmótica de abacaxi (*Ananas comosus* L.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v.06, n.01, 702-712, 2012.

PAGANINI, C. *et al.* Aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p.1231-1238, nov. 2005.

PALMA, M. S. A.; CARVALHO, L. F. C. P.; GAVÓGLIO, L. C. Vinagres. In: AQUARONE, E. *et al.* **Biotechnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 183-208.

PAZ, M. F. da *et al.* Produção e Caracterização do Fermentado Alcoólico de Actinidia deliciosa Variedade Bruno Produzido em Santa Catarina. IN: XVI **Simpósio Nacional de Bioprocessos, SINAFERM 2007 – Anais – CD Room.** Curitiba, 29 de julho a 1º de Agosto de 2007.

PINTO, Alberto Carlos de Queiroz. A produção, o consumo e a qualidade da manga no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p.597-796, dez. 2002.

PINTO, Telma Maria Silva *et al.* Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida spp.* in complete denture wearers. **Journal of Applied Oral Science**, v. 16, n. 6, p.385-390, 2008.

RIBEIRO, A. E. C. *et al.* Aplicação da metodologia de superfície de resposta para a seleção de uma bebida alcoólica fermentada de polpa de baru. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v.2, n.1, p.57–72, 2011.

RIBEIRO, C. A; HORII, J. Potencialidades de linhagens de levedura *Sacharomyces cerevisiae* para a fermentação do Caldo de Cana. **Scientia Agricola**, v.56, n.2, p. 255-263, 1999.

RIZZON, L. A. *et al.* **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade.** Documentos 12. EMBRAPA Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 1994.

RIZZON, L. A; MENEGUZZO, J. **Elaboração de vinagre.** Documentos 36. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves – RS, 1ªed., 2001.

RO D. K. *et al.* Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. **Nature**, 440: 940-943, 2006.

RODRIGUES H. G. *et al.* Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeitos da rutina na concentração de colesterol – HDL. **Revista de Nutrição**,16:315-320, 2003.

RODRIGUES, J. A. S. **Comportamento de dez variedade de mangas (*Mangifera indica* L) em Viçosa e Visconde do Rio Branco-MG.** 1977. 35p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1977.

ROESLER R, *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27: 53-60, 2007.

RUFINI, J.C. M. *et al.* Caracterização biométrica e físico-química dos frutos de acessos de manga 'ubá'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 2, p. 456-464, Jun. 2011.

SAGT C. M. *et al.* Introduction of an N-glycosylation site increases secretion of heterologous proteins in yeasts. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66: 4940-4944, 2000.

SALIK, F. L. M.; POVOH, N. P. Método espectrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB 5, Águas de São Pedro. **Anais Piracicaba: STAB**, 1993. p. 262-266.

SANDHU, D. K; JOSHI, V. K. Technology, quality and scope of fruit wines especially Apple beverages. **Indian Food Industry**, v.14, n.1, 1995.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition**, 130: 2073S - 2085S, 2000.

SCHMOELLER, R. K ; BALBI, M.E. Caracterização e controle de qualidade de vinagres comercializados na região metropolitana de Curitiba/PR. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.2, Jul. - Dez.2010.

Secretaria de Agricultura Irrigação e Reforma Agrária. **Cultura da manga**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Manga.htm>>. Acesso em: 16 jul. 2012.

SILVA, A. C Da. *et al.* Caracterização e correlação física e química dos frutos de cultivares de mangueira em São Manuel, São Paulo. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 24, n. 1, p. 15-26, jan./mar. 2012.

SILVA, D. F. P. *et al.* Caracterização de frutos de 15 cultivares de mangueira na Zona da Mata mineira. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n.6, p. 783-789, nov/dez, 2009.

SILVA, D.J. da. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1981. 166p.

SILVA e SILVA, N. et al. Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir do suco de manga rosa (*Mangifera indica L.*) **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa, v.05, n.01. 367-378 p,2011.

SILVA, M. E. **Estudos cinéticos da fermentação alcoólica da produção de vinho e da fermentação acética de produção de vinagre de vinho de caju**. 2004. 137 p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande- PB.

SILVA, M. E. *et al.* Cashew wine vinegar production: alcoholic and acetic fermentation. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, v. 24, n. 2, p.163-169, abr. 2007.

SILVA, P. H. A Da. *et al.* Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p.595-600, 2008.

SILVA, P. H. A. da *et al.* Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p.100-106, jan. 2009.

SILVERSTEIN, M. R.; WEBSTER, F. X.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora, 1998. 490 p.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed da UFSC, 2000,821 p.

SOARES, T. I, *et al.* Acompanhamento do processo de fermentação para produção de cachaça através de métodos microbiológicos e físico-químicos com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 31(1): 184-187, jan.-mar. 2011.

SPINOSA, Wilma Aparecida. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre**. 2002. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos,

Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas- Unicamp, Campinas, 2002.

SPINOSA, Wilma, Aparecida. **Utilização do amido de quirera de arroz na produção de vinagre**. 1996. 93f. Dissertação (Mestrado)- Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1996.

STARZACK, M. *et al.* Macroapproach kinetics of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: experimental studies and mathematical modelling. **The Chemical Engineering Journal**, v. 54, p. 221-240, 1994.

SUMAN, Priscila Aparecida. **Processo de obtenção de vinagre de gengibre**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado)- Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2012.

TESSARO, D. *et al.* Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 32, n. 2, p.201-205, 2010.

THÉ, P. M. P. *et al.* Efeito da temperatura de armazenamento e do estágio de maturação sobre a composição química do abacaxi cv. *Smooth cayenne* L.. **Ciência Agrotécnica.**, Lavras, v.25, n.2, p.356-363, mar./abr., 2001.

TOREZAN, Gabriela Aparecida Pompeu. **Tratamento enzimático em suco de manga (*Mangifera indica* L. cv. Keitt) par redução dos teores de sacarose e glicose e obtenção de geléia através de processo contínuo**. 2000. 158 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas- Unicamp, Campinas, 2000.

TORRES NETO, A. B. T. *et al.* Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 489 - 492, 2006.

TROCONSO, A. M, GUZMÁN, M. **Volatile componentes in Andalusian vinegars**. *Z. Lebensm Unters Forsh*, 185: 130-133, 1987.

TURQUOIS, T. *et al.* Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. **Food Hydrocolloids**, v.13, p.255-262, 1999.

UENOJO, Mariana; PASTORE, Glaucia Maria. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.388-394, 2007.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de estudos e Pesquisas em Alimentos. Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO). 2011. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf>. Acesso em 09 set. 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. **Tabela de Composição de Alimentos**. 1998. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela>>. Acesso em: 09 set. 2013.

UTYAMA, Iwa Keiko Aida. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica *in vitro* do vinagre e do ácido acético: perspectivas na terapêutica de feridas**. 2003. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Enfermagem, Departamento de Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

VASCONCELOS S. M. L, *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**; 30:1323-1338, 2007.

VILANOVA, M. *et al.* Use of PGU1 recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain in oenological fermentations. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 876 - 883, 2000.

VILLELA, P. *et al.* Processo de elaboração de fermentado alcoólico de morango com leveduras imobilizadas. In: **XI Jornada Científica e Tecnológica da UFVJM**, 2009, Diamantina-MG. XI Jornada Científica e Tecnológica da UFVJM. Diamantina-MG: UFVJM, 2009. p. 1-1.

WHITE, J. Vinegar quality: legal and commercial standards. **Process Biochemistry**, p. 21-25, 1971.

ZANDIM, D. L. *et al.* The influence of vinegars on exposure of dentinal tubules: a SEM evaluation. **Brazilian Oral Research**, v. 18, n. 1, p.63-68, 2004.

ZILIOLI, Estêvão. **Composição química e propriedades funcionais no processamento de vinagres**. 2011. 84 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência

de Alimentos, Departamento de Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

YAMADA, J. I; YUKPHAN, P. Genera and species in acetic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 125, p. 15-24, 2008.

ZIELISKI, H.; KOZOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 48, p. 2008-2016, 2000.