

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS MEDIANEIRA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ENIO PAULO ZOCHÉ
ODACIR DE FIGUEREDO

PRODUÇÃO DE VINAGRE DE JABUTICABA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2014

ENIO PAULO ZOCHE
ODACIR DE FIGUEREDO

PRODUÇÃO DE VINAGRE DE JABUTICABA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Câmpus Medianeira, como um dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Tecnólogo em Alimentos.

Professora Orientadora: Msc. Rosana Aparecida da Silva Buzanello.

Professora Coorientadora: Dra. Eliane Colla.

MEDIANEIRA

2014

TERMO DE APROVAÇÃO

ENIO PAULO ZOCHE

ODACIR DE FIGUEREDO

PRODUÇÃO DE VINAGRE DE JABUTICABA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito essencial à obtenção do Grau Superior de Tecnólogo, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira, pela comissão formada pelos professores:

Profa. Msc. Rosana A. da Silva
Buzanello
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Orientadora)

Profa. Dra. Eliane Colla
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Coorientadora)

Profa. Dra. Carolina Castilho Garcia
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Convidada)

Profa. Cleonice M. P. Sarmiento
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Convidada)

Prof. Msc. Fábio A. BublitzFerreira
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Coordenador TCC)

O termo de aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso.

MEDIANEIRA
2014

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos aos professores, especialmente a professora Rosana Aparecida da Silva Buzanello e Eliane Colla pelo empenho oferecido durante a orientação. Agradecemos também aos colegas das turmas que convivemos especialmente ao grupo “caveira” por ter se tornado uma turma especial, com capacidade e senso crítico sem esquecer a ternura. Agradecemos ainda a coordenação do curso de Tecnologia em Alimentos pela forma brilhante em que conduziu o mesmo.

Agradecemos a Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus de Medianeira, por nos ter acolhido e dado a oportunidade de desenvolver trabalhos científicos em suas dependências.

Por fim, mas não com menor importância, agradecemos também nossos familiares, amigos e amigas que nos apoiaram direto ou indiretamente nos momentos bons e difíceis da trajetória do curso.

“A juventude envelhece, a imaturidade é superada, a ignorância pode ser educada e a embriaguez passa, mas a estupidez é eterna.”
(Aristófanes, 447 a.C. -385 a.C.)

ZOCHE, E.P.; FIGUEREDO, O. **Produção de vinagre de jabuticaba**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014. Orientadora: Profa. Msc. Rosana Aparecida da Silva Buzanello e Coorientadora: Profa. Dra. Eliane Colla.

RESUMO

O vinagre é um alimento muito popular utilizado como condimento e conservante, entretanto, as indústrias tem produzido vinagre a partir de matérias-primas inferiores, não sendo atribuída a devida importância a este produto. A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é um fruto conhecido no Brasil, mas, devido a sua vida útil reduzida, sua comercialização *in natura* é restrita. Como a jabuticaba apresenta valores consideráveis de sólidos solúveis totais, vitamina C e compostos fenólicos, a sua utilização na produção de vinagre seria uma alternativa para seu aproveitamento, resultando em um produto de maior valor agregado. O objetivo deste estudo foi produzir vinagre de jabuticaba por fermentação espontânea e fermentação controlada variando as condições de fermentação: concentração de açúcar e proporção água/jabuticaba no mosto, avaliando a influência destas no fermentado obtido. As fermentações foram acompanhadas pela determinação de pH, acidez, sólidos solúveis totais (SST) e açúcares redutores em glicose. Fermentados acéticos com teor de acidez superior a 4% foram submetidos às análises de caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. Na fermentação espontânea, após estabilização do SST foi determinado o teor de etanol. Os teores de etanol obtidos variaram de 2,1 a 10,7%, resultados semelhantes aos encontrados para a fermentação controlada, que variou de 2,1 a 9,3%, após 72 h de fermentação. A adição de açúcar apresentou efeito positivo na produção de etanol e o aumento da proporção água/jabuticaba apresentou efeito negativo, ambos significativos ($p < 0,05$), nos dois tipos de fermentação estudados. Na fermentação espontânea, os ensaios com maiores concentrações de etanol (7,8 e 10,7%) resultaram em produtos de menor acidez. Já os pontos centrais (5,2 a 5,7% de etanol) apresentaram maiores teores de acidez (~3% ácido acético), sugerindo uma possível inibição das bactérias acéticas naturalmente presentes no mosto, em concentrações superiores a 5% de etanol. Na fermentação controlada, as formulações com 9,3% (F2) e 8,4% (F4) atingiram acidez superior a 4%, confirmando que fermentados alcoólicos com teores de etanol inferiores a 10% e superiores a 7% são adequados para produção de vinagre. As amostras apresentaram-se de acordo com os padrões microbiológicos e físico-químicos, com exceção da F2 que apresentou teor de etanol final e resíduo mineral fixo superior ao previsto pela legislação. No teste de escala hedônica não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em relação a todos os atributos, com exceção do odor que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que a formulação 2 apresentou diferença significativa entre as formulações. Os vinagres avaliados sensorialmente F2 e F4 apresentaram índice de aceitabilidade superior a 70% indicando que os mesmos seriam bem aceitos no mercado. O teste de comparação pareada de preferência não indicou diferença quanto à preferência entre as amostras avaliadas.

Palavras-chave: Fermentado acético. Fermentado alcoólico. Vinagre de Fruta. Análise sensorial.

ZOCHE, E.P.; FIGUEREDO, O. **Production of jabuticaba vinegar**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014. Orientadora: Profa. Msc. Rosana Aparecida da Silva Buzanello e Co-orientadora: Profa. Dra. Eliane Colla.

ABSTRACT

Vinegar is a very popular food used as a condiment and preservative, however, manufacturers have produced vinegar from raw materials of low quality and without economic value, not being given importance to this product. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) is a fruit known in Brazil, but due to their limited shelf life, the marketing of the raw fruit is restricted. As jabuticaba presents considerable amounts of soluble solids, vitamin C and phenolic compounds, its use in the production of vinegar would be an alternative, resulting in a product with higher added value. The aim of this study was to produce vinegar from jabuticaba by spontaneous fermentation and controlled fermentation changing evaluating the fermentation conditions: concentration of sugar and ratio water/jabuticaba, their influence on fermented. Product fermentations were monitored by determination of pH, acidity, total soluble solids (TSS) and reducing sugars in glucose. The fermented acetic with more than 4% acidity were physico-chemically, microbiologically and sensory characterized. After stabilization of TSS the ethanol content was determined, in the products obtained by spontaneous fermentation. The ethanol content obtained ranged from 2.1 to 10.7%, and similar results to those found for the controlled fermentation ranging the process from 2.1 to 9.3%, after 72 h of fermentation. The addition of sugar had a positive effect on ethanol production and the increase of ratio water/jabuticaba had negative effect, both significant ($p < 0.05$), in both types of fermentation studied. In spontaneous fermentation, assays with higher ethanol concentrations (7.8 and 10.7%) resulted in products with lower acidity. Nevertheless, the central points (5.2, 5.7% ethanol) presented higher levels of acidity (~ 3% acetic acid), suggesting a possible inhibition of acetic bacteria naturally present in the must, at concentrations of ethanol above 5%. In controlled fermentation, the formulations with ethanol concentration of 9.3% (F2) and 8.4% reached more than 4% acidity, confirming that alcoholic fermentation with ethanol contents of less than 10% and greater than 7% are suitable for vinegar production. The vinegar samples were according with microbiological and physico-chemical standards, with the exception of F2, which showed final ethanol content and fixed mineral residue higher than values required by the legislation. The hedonic scale test did not present significant difference ($p > 0.05$) to all the attributes, except the smell that presented a significant difference ($p < 0.05$), vinegars sensory evaluated F2 and F4 presented acceptance index higher than 70%, indicating that they would be well accepted in the market. The paired comparison test did not present differences to the preference of the evaluated samples.

Keywords: Acetic fermented. Alcoholic Fermented. Fruit Vinegar. Sensory Analysis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
2 OBJETIVOS	6
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1.1 Fermentação alcoólica	7
3.1.2 Fermentação acética.....	9
3.1.3 Tratamento final do vinagre.....	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.2.1 Preparo do mosto.....	16
4.2.2 Fermentação espontânea.....	16
4.2.3 Fermentação controlada.....	18
4.2.4 Determinação da concentração de etanol.....	19
4.2.5 Caracterização do vinagre de jabuticaba	20
4.2.6 Análises microbiológicas	20
4.2.7 Análise sensorial	20
4.2.8 Análise estatística	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1.1 Fermentação alcoólica	22
5.1.2 Acompanhamento da fermentação	25
5.1.3 Caracterização físico-química dos vinagres obtidos	27
5.2.1 Fermentação alcoólica	28
5.2.3 Caracterização físico-química dos vinagres obtidos	33
5.4.1 Teste de Escala Hedônica.....	34
5.4.2 Teste de comparação pareada de preferência.....	36
6 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXO	42
APÊNDICES	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros do fermentado acético de frutas.....	12
Tabela 2. Níveis reais e codificados das variáveis concentração de açúcar e proporção água/jabuticaba.....	17
Tabela 3. Matriz dos ensaios com valores reais e codificados e percentuais de etanol produzido ao término da fermentação alcoólica.....	23
Tabela 4. Efeitos estimados e p valores para a concentração de etanol.....	23
Tabela 5. Análise de variância para a concentração de etanol.....	24
Tabela 6. Açúcares consumidos, etanol produzido e teórico e resultados de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.....	27
Tabela 7. Caracterização físico-química dos vinagres com maior acidez produzidos.....	28
Tabela 8. Matriz dos ensaios com valores reais e codificados e percentuais de etanol produzido ao término da fermentação alcoólica.....	29
Tabela 9. Efeitos estimados e p valores para a concentração de etanol.....	29
Tabela 10. Análise de variância para a concentração de etanol.....	30
Tabela 11. Açúcares consumidos, etanol produzido e teórico e resultados de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.....	31
Tabela 12. Caracterização físico-química dos vinagres com maior acidez produzidos.....	33
Tabela 13. Análises microbiológicas para as amostras de vinagre de jabuticaba.....	34
Tabela 14. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo cor.....	35
Tabela 15. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo odor.....	35
Tabela 16. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo sabor.....	35
Tabela 17. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo impressão global.....	35
Tabela 18. Valores médios para o teste de escala hedônica.....	36

1 INTRODUÇÃO

O vinagre é um produto que apresenta um mercado estabelecido e bem aceito, sendo considerado um produto simples e básico da cultura brasileira.

Dois processos bioquímicos são responsáveis pela produção do vinagre, sendo eles, a fermentação alcoólica, por ação de leveduras sobre matérias-primas açucaradas e amiláceas, e a fermentação acética, na qual as soluções alcoólicas produzidas pela fermentação alcoólica sofrem ação de bactérias aeróbias produzindo ácido acético (AQUARONE et al., 2001; PEDROSO, 2003).

O vinagre pode ser obtido a partir de diferentes sistemas de produção. Tradicionalmente, utilizam-se culturas de bactérias acéticas em uma interface entre o líquido e o ar. Os recipientes são preenchidos em até dois terços de sua capacidade, e são mantidos em contato com o ar exterior mediante diferentes tipos de abertura. Os vinagres produzidos pelas técnicas tradicionais apresentam qualidade superior em função de sua complexidade sensorial (MAS et al., 2014).

No Brasil, assim como ocorre em outros países com culturas similares, não é atribuída importância à qualidade dos vinagres produzidos, sendo considerado apenas um condimento azedo subestimando-se suas propriedades nutritivas, sanitizantes, sensoriais e medicinais. Esse tipo de comportamento provoca a indução de produções a partir de matérias-primas mais baratas utilizando-se de processos cada vez mais produtivos, sendo assim obtida apenas uma simples substância ácida (AQUARONE et al., 2001). Em contrapartida, vinagres finos são produzidos utilizando-se frutos, cereais, mel, dentre outros, obtendo-se assim vinagres de elevado grau de desenvolvimento e com valor agregado.

Os vinagres de frutas apresentam qualidade sensorial e nutricional superior quando comparados com vinagres obtidos de outras fontes, apresentando sabor e aroma próprios. Em relação ao aspecto nutricional, destacam-se a presença de ácidos orgânicos, vitaminas, compostos fenólicos, proteínas e aminoácidos, provenientes do fruto e da fermentação alcoólica (AQUARONE et al., 2001; MARQUES et al. 2010; FONTAN et al., 2011).

Segundo Oliveira et al. (2003) a jabuticaba é um fruto nativo do Brasil, originária do Centro-Sul, podendo ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio

Grande do Sul. As maiores produções concentram-se nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo.

Embora seja muito popular no Brasil, a jabuticaba não apresenta valor comercial muito elevado, por ser muito perecível, contudo sua venda é assegurada. Após sua colheita, a vida útil do fruto é de até três dias, o que prejudica sua comercialização. Portanto, observa-se o consumo de jabuticaba na forma de geleias, doces ou vinhos (LIMA et al., 2008).

A jabuticaba é um fruto com características relevantes para a fermentação, uma vez que apresenta um elevado conteúdo de sólidos solúveis totais favorecendo o processo fermentativo, resultando em vinagre de qualidade superior. Além disso, a fruta contém quantidades significativas de vitamina C e polifenóis (LIMA et al., 2008). Assim, a utilização da jabuticaba como matéria-prima para a produção de vinagre, possibilitaria a obtenção de um produto com qualidade superior, sendo que, as condições de fermentação deste produto precisam ser verificadas.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi produzir vinagre de jabuticaba através de fermentação espontânea e fermentação controlada, variando as condições de fermentação, e avaliar a qualidade dos vinagres obtidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir vinagre de jabuticaba por meio de fermentação espontânea e controlada, variando as condições de fermentação e avaliar a qualidade dos vinagres obtidos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir fermentado alcoólico de jabuticaba por fermentação espontânea e controlada;
- Avaliar a influência da concentração de açúcar e da proporção água/jabuticaba na fermentação alcoólica;
- Caracterizar o vinagre de jabuticaba mediante análises físico-químicas previstas pela legislação vigente;
- Avaliar microbiologicamente e sensorialmente a qualidade dos vinagres obtidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FERMENTAÇÃO

A fermentação pode apresentar diferentes significados apresentando-se, num sentido geral, como qualquer processo de cultivo microbiológico que ocorre na presença ou ausência de ar (FIORIO e DALPOSSO, 2011).

No contexto tecnológico, a fermentação se caracteriza como um processo em que atuam micro-organismos sobre substratos orgânicos, através de suas enzimas, produzindo substâncias úteis para o homem. Os produtos de fermentação vão desde alimentos modificados e bebidas alcoólicas, a outros produtos industriais, tais como ácidos orgânicos, solventes, ésteres, aminoácidos, enzimas, polissacarídeos, vitaminas, antibióticos e hormônios (CUNHA, 2010; FIORIO e DALPOSSO, 2011).

Dentre os processos fermentativos destacam-se três, sendo eles, os principais: fermentação alcoólica, acética e láctica. Estes processos tem como base a quebra do substrato em piruvato que posteriormente será convertido em outro produto, como o etanol, ácido acético, ácido láctico, dentre outros.

3.1.1 Fermentação alcoólica

O processo de fermentação alcoólica consiste na oxidação anaeróbica parcial da glicose pela ação de leveduras, produzindo etanol e gás carbônico, dentre outros produtos secundários (FIORIO e DALPOSSO, 2011).

Segundo Aquarone et al. (2001) neste tipo de fermentação ocorre uma reação exotérmica onde, temperaturas em torno de 25 a 30°C contribuem para que ocorra menor perda de álcool e também um maior rendimento de álcool, devido à fermentação ocorrer de forma mais completa.

O processo de obtenção de vinho a partir da uva utiliza processos bioquímicos complexos envolvendo leveduras, bactérias lácticas e bactérias acéticas (ANDORRA et al., 2010), de modo que o metabolismo destes micro-organismos contribuem significativamente para a formação de compostos aromáticos e de sabor do produto final.

Andorra et al. (2010) estudaram o efeito da temperatura (13° C e de 25° C) no crescimento da população microbiana durante o processo de fermentação alcoólica da uva para obtenção do vinho. O estudo foi realizado em virtude de que baixas temperaturas (~ 15°C) estariam relacionadas à redução do crescimento de bactérias lácticas e acéticas, o que viria a causar a acetificação do vinho e, ao mesmo tempo, esta faixa de temperatura é capaz de melhorar o perfil aromático de vinhos.

Os mesmos autores verificaram que, como as fermentações foram realizadas espontaneamente e sem inoculação prévia, não ocorreu um rápido domínio de *Sacharomyces cerevisiae*, uma das espécies fermentativas mais efetivas, o que ocasionou altos níveis de bactérias acéticas. Nas condições de trabalho, a temperatura de fermentação mostrou uma influência limitada sobre a diversidade e distribuição dos diferentes micro-organismos de vinho. Estes resultados demonstram a grande versatilidade do crescimento de bactérias acéticas.

A fermentação alcoólica é a etapa mais importante na fabricação do vinho, sendo distinguidas três fases principais. A primeira consiste em uma fase preliminar ou pré-fermentação, onde a cultura tenta adaptar-se ao meio; a segunda trata-se de uma fase tumultuosa ou fermentação principal e; por fim, a fase complementar que se baseia no término da fermentação. Essas fases compreendem um conjunto de reações controladas enzimaticamente, onde, uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples liberando energia. O processo inicia-se com a ativação da glicose, que recebe em reações sucessivas dois fosfatos energéticos, fornecidos por duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato) que se transforma em ADP (adenosina difosfato). Então, a glicose transforma-se em gliceraldeído 1,3-difosfato. Cada gliceraldeído formado, no final, é transformado em ácido pirúvico e com o rendimento de duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose utilizada (CORAZZA, RODRIGUES, NOZAKI, 2001; ALCARDE, 2011; FIORIO, DALPOSSO, 2011).

A etapa de fermentação preliminar inicia-se com a adição do mosto ao levedo (fermento inativo). Nesta fase, quando a quantidade de inóculo é pequena ocorre baixa multiplicação de leveduras e, conseqüentemente, menor consumo de açúcares e lenta produção de álcool. Assim, é importante a adição de uma quantidade ideal de leveduras de rápida multiplicação, já que o processo de produção de álcool requer alta produtividade. Ocorrendo o aumento da produção de

álcool, evidenciado pela produção de gás carbônico, tem-se o final desta fase e o início da fase de fermentação principal ou tumultuosa (ALCARDE, 2011).

Na fase principal ou tumultuosa as principais características são a intensa produção de álcool e liberação de CO₂, aumento da temperatura, que deve ser controlada por resfriamento, aumento progressivo de espumas e elevação da acidez do mosto. A fermentação principal cessa quando diminui a liberação de gás e a turbulência característica do mosto. A etapa de pós-fermentação ou fermentação complementar pode ser constatada pela diminuição da temperatura do vinho, elevação da acidez e diminuição da atividade de fermentação da levedura em virtude do acúmulo de determinadas substâncias, dentre elas toxinas dos contaminantes e o esgotamento dos carboidratos (ALCARDE, 2011; FIORIO e DALPOSSO, 2011).

3.1.2 Fermentação acética

A fermentação acética consiste, basicamente, na transformação do etanol (álcool etílico) em ácido acético por meio de bactérias acéticas.

Conforme Hoffmann (2006) as bactérias acéticas encontram-se dentro de um grupo de micro-organismos de amplo interesse econômico, tanto em função da produção do ácido acético, quanto pelas alterações provocadas em alimentos e bebidas.

Dentre as espécies de bactérias acetificadoras destacam-se as espécies do gênero *Acetobacter*, apresentando-se na forma de cocos e bastonetes, formando correntes e filamentos, tolerantes a até 11 % v/v de álcool a até 10 % v/v de ácido acético. Como são micro-organismos aeróbicos multiplicam-se estritamente na presença de oxigênio, podendo ser observada sua multiplicação na superfície do líquido. Quanto à temperatura, o melhor rendimento pode ser obtido entre 25 e 30 °C, apesar de suportar temperaturas mínimas de 4 a 5 °C e máxima de 43 °C. Entretanto, mesmo suportando grande variação de temperatura, temperaturas de 15 °C e superiores a 35 °C reduzem a atividade bacteriana ocasionando uma fermentação muito lenta, não sendo interessante do ponto de vista produtivo (GULLO e GIUDICI, 2008; HOFFMAN, 2006).

Segundo Bartowysky e Henschke (2008) as bactérias acéticas são organismos presentes em ampla variedade de ambientes e que se adaptam bem a

ambientes ricos em açúcar e etanol. Sua capacidade de converter etanol em ácido acético é uma das características que tornaram seu uso popular na fabricação de vinagres e, ao mesmo, serem considerados micro-organismos de deterioração em vinhos.

Algumas espécies do gênero *Gluconobacter*, semelhantes em muitos aspectos às bactérias acéticas, também são destacadas na fermentação acética, contudo, são consideradas contaminantes nocivas por serem menos produtivas e acumularem subprodutos inadequados e pelo fato de provocarem a oxidação do ácido acético formado (AQUARONE et al., 2001).

Para a quantificação de bactérias acéticas Aquarone et al. (2001) apresenta dois meios sólidos típicos, sendo eles, o G.Y.C (g/L de água destilada): extrato de levedura (10,0), glicose (50,0), carbonato de cálcio (30,0) e ágar (25,0); e, o meio etanólico (g/L de água destilada): extrato de leveduras (10,0), carbonato de cálcio (20,0), etanol (20,0), ágar (20,0), pH 6,0. Além disso, caldas industriais obtidas a partir de frutos, cereais, mel, dentre outros, normalmente apresentam a maioria dos nutrientes necessários para o desenvolvimento de bactérias acéticas, diferente do mosto obtido por diluição de açúcar ou de etanol, que necessitaria de uma complementação nutritiva.

3.2 VINAGRES

São denominado “vinagre” todos os produtos oriundos da fermentação acética de diversos substratos alcoólicos, adicionado ao nome do vinagre o nome do substrato correspondente. É necessário que os vinagres contenham quantidades determinadas de ácido acético, além de poderem apresentar ingredientes opcionais tais como, ervas, especiarias, sal dentre outros, em quantidades suficientes para conferir um aroma e sabor peculiares (BRASIL, 2012; BRASIL, 2014).

Segundo o decreto n.º 6.871 (BRASIL, 2009) que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, o fermentado acético, também denominado vinagre, pode ser definido como o produto com acidez volátil mínima de 4 g.mL^{-1} , expressa em ácido acético, obtido da fermentação acética do fermentado alcoólico de mosto oriundo de fruta,

cereal, outros vegetais, mel, mistura de vegetais, mistura hidro alcoólica, podendo ser adicionado opcionalmente de vegetal, partes de vegetal, de extrato vegetal aromático, de suco, de aroma natural, de condimento ou da mistura de um ou mais destes produtos já definidos como opcionais.

As denominações: “fermentado acético” e “vinagre” são consideradas equivalentes, contudo, mutuamente excludentes (BRASIL, 2012), ou seja, deve-se optar pela utilização de uma das denominações apenas, não sendo necessária a utilização destas duas denominações.

Ao contrário do que ocorre na fermentação alcoólica, na fermentação acética é importante que não sejam utilizadas culturas puras. Geralmente se emprega uma microflora mista de *Acetobacter* contendo diferentes espécies ou variedades dessa bactéria, considerada a mais eficiente, onde os produtos finais formados apresentam qualidade superior. Além disso, dentre os processos industriais utilizados na produção de vinagre, o mais difundido é o que utiliza a cultura submersa através de forte aeração (AQUARONE et al. 2001).

Quanto maior a aeração, mais rápida a obtenção do produto final, sendo este o objetivo da indústria. Pedroso (2003) afirma que, pelo vinagre ser considerado um produto de baixo valor agregado, seria interessante encontrar novas tecnologias que acelerem a produção dos mesmos, de modo a minimizar os custos de produção com a utilização de equipamentos que ocupem menos espaço e que sejam de fácil limpeza.

Ainda, segundo Pedroso (2003) a fermentação alcoólica seguida da acética ocorre espontaneamente sobre qualquer substrato açucarado exposto ao pó e aos insetos que transportam leveduras e bactérias.

A obtenção de um vinagre de qualidade depende de alguns fatores, dentre eles, a linhagem e a seleção do micro-organismo; a matéria-prima utilizada; a concentração do álcool; a temperatura de fermentação; a quantidade de oxigênio; o pH ótimo entre 5 e 6; a maturação e a conservação; além da clarificação, envase e pasteurização (AQUARONE et al., 2001).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros que os fermentados acéticos obtidos a partir de frutas devem apresentar.

Tabela 1. Parâmetros do fermentado acético de frutas.

Parâmetro	Valor	
	Mínimo	Máximo
Acidez volátil em ácido acético (g/100mL)	4,00	-
Álcool (% v/v) a 20°C	-	1,0
Cinzas (g/L)	1,00	5,00
Extrato seco reduzido (g/L)	6,00	-
Sulfatos, expressos em g/L de sulfato de potássio	-	1,00
Aspecto	Ausência de elementos estranhos à sua natureza e composição	
Cheiro	Característico	
Sabor	Ácido	
Cor	De acordo com a matéria-prima de origem e composição	

Fonte: BRASIL (2012).

Segundo Netto (2008) os vinagres brasileiros, em geral, vêm sendo produzidos a partir do álcool etílico (etanol), constituindo uma solução de ácido acético a 4%, sendo essa concentração ácida a mínima exigida pela legislação, com a adição de um antioxidante que atua como estabilizante.

A produção de vinagres mediante diluições de ácido acético de origem não fermentativa é vetada no Brasil. Para os vinagres concentrados, vigorarão as mesmas características, respeitadas as proporções de concentração (AQUARONE et al., 2001; BRASIL, 2012).

3.1.3 Tratamento final do vinagre

Após a obtenção do vinagre o mesmo necessita passar por alguns tratamentos antes de ser comercializado. Esses tratamentos visam o aumento da estabilidade do produto final. Dentre as principais etapas destacam-se os processos de clarificação, filtração, envelhecimento, estabilização e envase.

O vinagre recém-obtido necessita ser removido do ambiente de fermentação (vinagreira) e ser acondicionado em um recipiente na ausência de oxigênio, para inativação das bactérias acéticas, em virtude de as mesmas não terem mais álcool para metabolizar e, com isso, iniciem o processo de oxidação do ácido acético, prejudicando, assim a qualidade do vinagre (PEDROSO, 2003).

A etapa de clarificação pode ser realizada por meio de processo espontâneo (autoclarificação); físico-química, química ou desmetalização, mecânica, mediante o uso de substâncias orgânicas e inorgânicas que atuam como agentes clarificantes, tais como, argilas, albumina, caseína, dentre outras (AQUARONE et al., 2001; PEDROSO, 2003).

O processo de filtração visa obter um vinagre límpido e brilhante. Segundo Aquarone et al. (2001) isso pode ser conseguido com a ajuda de algum tipo de material filtrante, tais como, a utilização de filtração a cartucho; filtração com extrato filtrante; membrana filtrante; filtro rotativo a vácuo e filtração por meio de fibras vegetais.

O processo de envelhecimento dos vinagres possibilita o desenvolvimento de reações de esterificação, causando o desenvolvimento de sabores e aroma agradáveis e mais suaves que o vinagre recém-obtido, minimizando sua aspereza. Em função da matéria-prima utilizada o tempo de envelhecimento é variável, em alguns casos, pode chegar a um ano (AQUARONE et al., 2001; PEDROSO, 2003).

Com o intuito de manter as características sensoriais e físico-químicas do vinagre realiza-se a etapa de estabilização, que consiste na aplicação de métodos físicos, como a pasteurização e a ultrafiltração ou métodos químicos, como a utilização de dióxido de enxofre num teor máximo de $0,02 \text{ g.mL}^{-1}$ (BRASIL, 2012).

Os métodos que se baseiam na pasteurização consistem em submeter o vinagre a um tratamento a temperaturas variáveis de 50 a 80 °C de modo a destruir os micro-organismos e desativar as enzimas que provocariam a oxidação do ácido acético e, conseqüentemente, comprometer a qualidade do vinagre (AQUARONE et al., 2001). Conforme Pedroso (2003) a pasteurização do vinagre pode ser rápida (ou alta), na qual o produto é submetido ao tratamento térmico à temperaturas de 75 a 80° C por 30 a 40 segundos, ou baixa (ou lenta), sob temperatura de 50 a 65°C por 20 a 30 minutos.

3.3 JABUTICABA

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) é uma árvore frutífera que pertence à família *Myrtaceae* apresentando ocorrência espontânea em diversas regiões do Brasil. Os frutos oriundos desta planta apresentam baga globosa de até 3 cm de diâmetro e casca avermelhada quase preta, além de polpa agridoce, esbranquiçada mucilagínosa, muito saborosa, apresentando geralmente, apenas uma única semente, podendo chegar a apresentar até quatro sementes (LIMA et al., 2008).

Segundo Oliveira et al. (2003) a jabuticaba é um fruto nativo do Brasil, originária do Centro-Sul, podendo ser encontrada desde o estado do Pará até o Rio Grande do Sul. As maiores produções concentram-se nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo.

Embora seja muito popular no Brasil, a jabuticaba não apresenta valor comercial muito elevado, por ser muito perecível, contudo sua venda é assegurada. Após sua colheita, a vida útil do fruto é de até três dias, o que prejudica sua comercialização. Portanto, observa-se o consumo de jabuticaba na forma de geleias, doces ou vinhos. Quando utilizadas para a fabricação de geleias, geralmente suas cascas e sementes são desprezadas (o que representa quase 50% do fruto) e, estas porções, ricas em pigmentos, precisariam ser levadas em consideração no fabrico de produtos derivados (ANDERSEN, ANDERSEN 1989; SCHULTZ, 1963; LIMA et al., 2008).

Oliveira et al. (2003) avaliaram as características físico-químicas de jabuticaba “Sabará” proveniente de diferentes regiões do estado de São Paulo. Foram determinados o teor de umidade, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, pH, índice de maturação, vitamina C e carboidratos solúveis. Dentre os resultados obtidos, destacam-se os teores de sólidos solúveis totais, que variaram de 11,5 a 17,9 °Brix para a polpa do fruto. Esses valores mostraram-se elevados indicando excesso de açúcares no fruto, o que favorece o processo de fermentação. O teor de vitamina C também apresentou resultado significativo, variando de 14,86 a 24,67 mg de ácido ascórbico por 100 g da polpa, valores considerados elevados e de grande importância nutricional.

Esses resultados demonstram que a jabuticaba apresenta potencial para utilização em processos fermentativos visando a obtenção de fermentados alcoólicos e acéticos de qualidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

As jaboticabas (*Myrciaria cauliflora*) utilizadas como matéria-prima para fabricação do vinagre foram cultivadas em uma propriedade localizada na cidade de São Miguel do Iguçu-PR e colhidas no mês de março e setembro de 2014, de forma manual com grau de maturação uniforme. Açúcar cristal, da marca Colombo, e água potável previamente fervida e resfriada foram utilizados na etapa de preparação do mosto.

Para etapa de fermentação acética controlada foi utilizado *Acetozyn* (Frings do Brasil Engenharia e Comércio Ltda), que consiste em uma mistura de sais pré-preparada de uso comercial e que contém os nutrientes necessários para o crescimento das bactérias acéticas.

Os reagentes utilizados nas determinações apresentaram grau analítico.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Preparo do mosto

As jaboticabas foram lavadas com água potável e mantidas a temperatura de refrigeração até o seu processamento. Os frutos foram utilizados integralmente (casca, polpa e sementes), esmagados manualmente e acondicionados em recipientes de vidro com capacidade de 3 litros e adicionados de água potável e de açúcar, estes utilizados conforme planejamento experimental.

4.2.2 Fermentação espontânea

Foi realizado o processo de fermentação alcoólica espontânea, ou seja, sem a adição de leveduras, com o intuito de avaliar a fermentação mediante crescimento

das leveduras presentes na fruta. Para tanto, os frascos de vidro foram vedados acoplando-se uma mangueira com saída de ar para um recipiente contendo água, denominado de batoque, para evitar a entrada de oxigênio e facilitar a saída de CO₂ e mantidos sobre uma bancada à temperatura ambiente (aproximadamente 28°C). A fermentação foi controlada pelo desprendimento de gás do batoque e pela determinação de pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais e açúcares redutores em glicose, seguindo os procedimentos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). No término da fermentação foi determinado o conteúdo de etanol obtido com o intuito de avaliar a fermentação alcoólica.

A concentração de açúcar do mosto e a proporção de água/jabuticaba foram variadas com o intuito de avaliar a melhor condição experimental, aplicando-se um Planejamento Fatorial Completo 2², com triplicata no ponto central, totalizando 07 ensaios. Os valores reais e codificados das variáveis estudadas podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2. Níveis reais e codificados das variáveis concentração de açúcar e proporção água/jabuticaba.

Fatores		Níveis reais e codificados		
		-1	0	+1
x ₁	Concentração de açúcar (% _{m/m})	0	5	10
x ₂	Proporção água/jabuticaba (m/m)	0,5	1,25	2,0

Ao término da fermentação alcoólica foi calculado o rendimento, a eficiência e a produtividade da reação conforme apresentado nas Equações 1, 2 e 3. Dentre essas determinações, a primeira relaciona os valores de etanol produzido com os açúcares consumidos, a segunda a relação entre o álcool produzido e o álcool teórico, este último determinado a partir dos açúcares consumidos x 0,5111 e, a terceira, o etanol produzido em relação ao tempo de fermentação (AQUARONE et al. 2001; BORTOLINI et al., 2001).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{P_{exp}}{C_{conc}} \times 100 \quad (1)$$

Em que: P_{exp} representa a concentração experimental de etanol (%); C_{conc} representa a concentração de açúcares consumidos (%).

$$Eficiência (\%) = \frac{P_{teo}}{P_{exp}} \times 100 \quad (2)$$

Em que: P_{teo} representa a concentração teórica de etanol (%); P_{exp} representa a concentração experimental de etanol (%).

$$Produtividade (\%) = \frac{P_{exp}}{t} \times 100 \quad (3)$$

Em que: P_{exp} representa a concentração experimental de etanol (%); t representa o tempo de fermentação (h).

A fermentação acética também foi conduzida de forma espontânea, avaliando a acetificação realizada por bactérias presentes naturalmente no mosto. Para tanto, os frascos contendo o fermentado alcoólico foram abertos e cobertos por uma flanela, previamente higienizada e presa ao frasco com elástico, para permitir a entrada de ar para acetificação e, ao mesmo tempo, evitar contaminação por insetos. Os frascos foram mantidos no mesmo local, a temperatura ambiente, e a fermentação foi controlada pela determinação de pH, acidez titulável e sólidos solúveis totais segundo o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Ao término da fermentação os vinagres foram pasteurizados a 68°C por 20 min utilizando um banho termostático (Solab, modelo SL157) com o auxílio de um termômetro para acompanhar a temperatura interior do vinagre.

4.2.3 Fermentação controlada

A fermentação controlada foi realizada seguindo-se o mesmo planejamento experimental descrito na Tabela 2.

Preparou-se o mosto sendo também acondicionado em frascos de vidro com capacidade de 3 litros e foram avaliados os parâmetros de acidez, pH, açúcares redutores em glicose e sólidos solúveis totais (°Brix), conforme já descrito no item 4.2.2. Contudo, após a preparação do mosto foi inoculada cultura de levedura liofilizada do gênero *Sacharomyces cerevisiae* para fermentação alcoólica controlada. Os frascos foram vedados com uma tampa com batoque e incubados a 28°C por 72 horas em BOD (Nova Técnica, modelo NT705).

Após as 72 horas de fermentação constatou-se o término de desprendimento de gás do batoque. Então, as amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada (Hettich, modelo rotina 420 R) a 9500 rpm por 15 min a temperatura de

10°C para separação da levedura e em seguida, determinou-se o teor alcoólico seguindo o procedimento descrito no item 4.2.4 e os parâmetros físico-químicos previamente descritos, bem como o rendimento, a eficiência e a produtividade da reação conforme já apresentado nas Equações 1, 2 e 3.

Após as determinações físico-químicas os fermentados alcoólicos foram submetidos a fermentação acética pela adição de cultura de bactérias ácido-acéticas provenientes de vinagre de jabuticaba não pasteurizado (vinagre forte ou mãe-do-vinagre) produzidas espontaneamente em fermentações acéticas preliminares. Para tanto, foi inoculada mãe-do-vinagre a uma concentração de 11% (m/m) em relação ao conteúdo total de fermentado acético. Ainda, com o intuito de ativar a cultura foi adicionado *Acetozyn* na concentração de 0,1%. Os frascos foram mantidos a temperatura ambiente, dentro dos próprios recipientes de vidro utilizados para a fermentação alcoólica, contudo mantidos abertos, sendo protegidos com uma flanela, previamente limpa e presa com o auxílio de um elástico, permitindo a entrada de oxigênio e evitando a contaminação por insetos. A fermentação foi controlada pela determinação de pH, acidez titulável e sólidos solúveis totais segundo o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Ao término da fermentação os vinagres foram pasteurizados a 68°C por 20 min utilizando um banho termostatizado (Solab, modelo SL157) com o auxílio de um termômetro para acompanhar a temperatura interior do vinagre.

4.2.4 Determinação da concentração de etanol

A concentração de etanol foi determinada em Cromatógrafo Líquido de Ultra-alta pressão (UPLC) (DIONEX, Modelo U3000) equipado com detectores de Índice de Refração e de Arranjo de Diodos, utilizando a metodologia proposta por Aguiar et al. (2005), com algumas modificações. As amostras foram filtradas em membrana Millipore 0,45 µm e injetadas em coluna Rezex ROA-OrganicAcid H+ (8%). A fase móvel foi constituída de H₂SO₄ 5mM mantida sob fluxo de 0,6 mL.min⁻¹. Manteve-se a temperatura do sistema a 30°C e a detecção foi realizada por índice de refração, sendo o volume de amostra injetado igual a 20 µL. Um padrão de etanol (Sigma) foi utilizado na curva de referência para cálculo da concentração de etanol das amostras. As análises foram realizadas em triplicata

para cada uma das formulações e as concentrações de etanol foram determinadas a partir de curva de calibração.

4.2.5 Caracterização do vinagre de jabuticaba

A caracterização dos fermentados acéticos com percentual de acidez próximo a 4% foi realizada com o intuito de comparar os valores com os previstos pelo Padrão de Identidade e Qualidade de Fermentados Acéticos (BRASIL, 2012). Assim, foi realizada determinação do extrato seco reduzido, resíduo mineral fixo, acidez em % ácido acético, seguindo as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) e determinação de etanol por oxidação de dicromato de potássio, seguindo metodologia descrita pela AOAC (1998).

4.2.6 Análises microbiológicas

Para comprovar a segurança microbiológica dos vinagres que foram submetidos à análise sensorial foi realizada a determinação de coliformes totais e termotolerantes pelo método do número mais provável (NMP) e a determinação da presença ou ausência de *Salmonella* sp. segundo metodologias descritas por Silva et al. (2007). Para a determinação de coliformes totais foi utilizado caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e para *Salmonella* sp. foi utilizado água peptonada tamponada, caldos de enriquecimento Rappaport e Tetracionato, sendo semeada em placas com agar *Salmonella-Shigella* (SS) e agar de Hektoen. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

4.2.7 Análise sensorial

Após a caracterização dos vinagres que atingiram a acidez requerida (4%) e análise microbiológica, foi realizada a análise sensorial de duas formulações que apresentaram conformidade com os padrões microbiológicos e físico-químicos.

Para realização da análise sensorial o projeto foi submetido à avaliação e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Faculdade Integrado de Campo Mourão-PR, conforme Anexo I. Foram realizados os testes de escala hedônica e o teste de comparação pareada de preferência com 50

provadores não treinados. As amostras foram apresentadas aos provadores seguindo ordem casualizada e aleatorizada conforme Apêndice A. As fichas utilizadas para análise, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido estão disponíveis nos Apêndices C e B, respectivamente.

O teste de escala hedônica avalia o quanto um produto é gostado ou apreciado e o teste de comparação pareada de preferência avalia, dentre as amostras apresentadas, qual é a preferida.

Os testes foram realizados simultaneamente sendo que, para o teste de escala hedônica, foram avaliados os atributos de cor e odor do vinagre produzido, utilizando-se de tubos de ensaio com tampa, com capacidade de 10 mL e o atributo de sabor e impressão global, onde os provadores realizaram a avaliação do vinagre oferecido, com folhas de alface cortadas (BORTOLINI; SANT'ANNA; TORRES, 2001). Para tanto, utilizou-se de uma escala estruturada de 9 pontos, com o valor máximo correspondendo a "gostei muitíssimo", o médio a "indiferente" e o mínimo a "desgostei muitíssimo". No teste pareado de preferência foi solicitado aos provadores que marcassem com um círculo qual a amostra de sua preferência.

Os dados do teste de escala hedônica foram analisados considerando um delineamento inteiramente casualizado, determinou-se a ANOVA (Análise de Variância) e realizou-se o teste de Tukey de comparação de médias. Os dados do teste pareado de preferência foram analisados utilizando estatística não paramétrica, onde se determinou o número de respostas obtidas para cada amostra e o valor foi comparado com uma tabela bilateral a 5% de significância (DUTCOSKY, 2011).

4.2.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados utilizando o *software* Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fermentados obtidos apresentaram aspecto característico e coloração intensa, diferenciando-se de outros tipos de vinagres de fruta comerciais.

Cada um dos planejamentos experimentais desenvolvidos foi analisado e discutido separadamente e, quando necessário, os mesmos foram comparados, conforme segue.

5.1 FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

A fermentação espontânea em todos os ensaios foi conduzida em condições ambientais similares. Mediante observação das condições físicas foi possível determinar o término aproximado da fermentação alcoólica após 15 dias de fermentação, percebido inicialmente pela ausência de desprendimento de gás do batoque dos frascos e, posteriormente, confirmado a partir das determinações de açúcares redutores e sólidos solúveis totais.

Após abertura dos frascos a etapa de fermentação acética foi iniciada. As amostras permaneceram sob fermentação até completar 40 dias de fermentação, contados desde o início dos experimentos.

5.1.1 Fermentação alcoólica

A Tabela 3 apresenta a matriz dos ensaios com os valores reais e codificados e as respostas de concentração de etanol. O processo de fermentação alcoólica consiste na oxidação anaeróbia parcial da glicose pela ação de leveduras, produzindo etanol e gás carbônico, dentre outros produtos secundários (FIORIO; DALPOSSO, 2011). A eficiência de produção de etanol é fundamental para a obtenção de um vinagre de qualidade.

Tabela 3. Matriz dos ensaios com valores reais e codificados e percentuais de etanol produzido ao término da fermentação alcoólica.

Ensaio	Concentração de açúcar (% _{m/m})	Proporção de água/jabuticaba (m/m)	Etanol (%)
1	-1 (0)	-1 (0,5)	4,47 ± 0,03
2	+1 (10)	-1 (0,5)	10,74 ± 0,01
3	-1 (0)	+1 (2,0)	2,06 ± 0,01
4	+1 (10)	+1 (2,0)	7,79 ± 0,02
5	0 (5)	0 (1,25)	5,74 ± 0,02
6	0 (5)	0 (1,25)	5,21 ± 0,01
7	0 (5)	0 (1,25)	5,36 ± 0,03

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicaram que maiores concentrações de açúcar possibilitaram obter maiores teores de etanol. Esses resultados comprovaram que, mesmo em condições em que não houve adição de açúcar (F1 e F3) ocorreu produção de etanol, indicando a riqueza de compostos fermentáveis presentes na jabuticaba.

Contudo, segundo Rizzon et al. (1992) para obtenção de fermentados acéticos com maiores rendimentos recomenda-se o uso de fermentados alcoólicos com 7 a 10% de etanol, pois valores abaixo de 7% ou acima de 10% resultam, respectivamente, em vinagres fracos e susceptíveis a deterioração ou, inibem o desenvolvimento das bactérias acéticas.

Comparando o resultado do ponto central (F5, F6 e F7) observa-se que os resultados são semelhantes, variando de 5,21 a 5,74, indicando que houve boa repetibilidade.

Os efeitos das variáveis estudadas sobre a resposta de etanol podem ser visualizados na Tabela 4. É possível verificar que a proporção de água/jabuticaba apresentou efeito negativo na produção de etanol, enquanto que, a adição de açúcar apresentou efeito positivo, sendo ambos significativos a 95% de confiança.

Tabela 4. Efeitos estimados e *p* valores para a concentração de etanol.

Fatores	Efeitos	Erro padrão	$t_{\text{Calc}}(4)$	<i>p</i> -valor
Média	5,91	0,22	26,42	<0,0001
(x_1) Concentração de açúcar (% _{m/m})	5,95	0,59	10,04	0,0005
(x_2) Proporção água/jabuticaba (m/m)	-2,65	0,59	-4,47	0,0110

Como os efeitos lineares da concentração de açúcar (x_1) e proporção água/jabuticaba (x_2) foram significativos a 95% de confiança, determinou-se a equação do modelo para previsão do percentual de etanol produzido nas condições de fermentação estudadas, sendo apresentada na Equação 4.

$$\text{Etanol (\%)} = 5,91 + 2,97x_1 - 1,32x_2 \quad (4)$$

A análise de variância para a resposta de concentração de etanol é apresentada na Tabela 5. Pode-se perceber que o valor de $F_{\text{calculado}}$ é superior ao de F_{tabelado} , indicando, portanto, que o modelo é válido para predizer a resposta de concentração de etanol considerando-se as faixas estudadas para as variáveis.

Tabela 5. Análise de variância para a concentração de etanol.

Fonte de regressão	SQ	GL	QM	F_{cal}	F_{tab}	p-valor
Regressão	42,425	2	21,2125	60,45*	6,94	0,0010
Resíduos	1,4036	4	0,3509			
Total	168,63	6				$R^2 = 96,80\%$

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{cal} : $F_{\text{calculado}}$, F_{tab} : F_{tabelado} .

A Figura 1 apresenta a superfície de resposta e a curva de contorno para a resposta de concentração de etanol. Os resultados demonstraram que a variação da proporção água/jabuticaba e concentração de açúcar resultaram em teores etanólicos consideráveis para a produção de vinagre, mesmo partindo de uma fermentação espontânea.

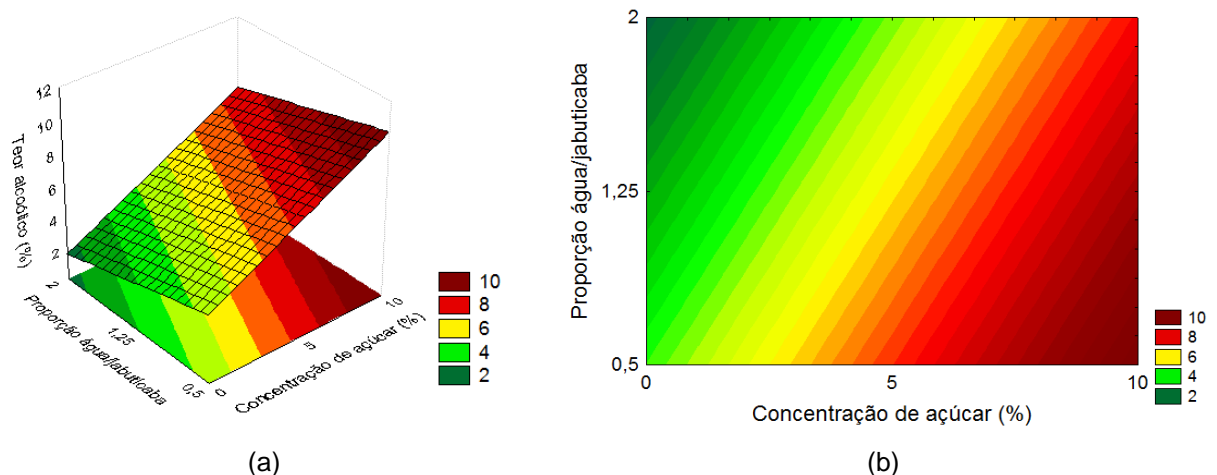


Figura 1. Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para a concentração de etanol.

5.1.2 Acompanhamento da fermentação

A Figura 2 apresenta o acompanhamento da acidez em % de ácido acético e pH. A Figura 3, o teor de sólidos solúveis totais e de açúcares redutores, determinados ao longo de toda a fermentação espontânea.

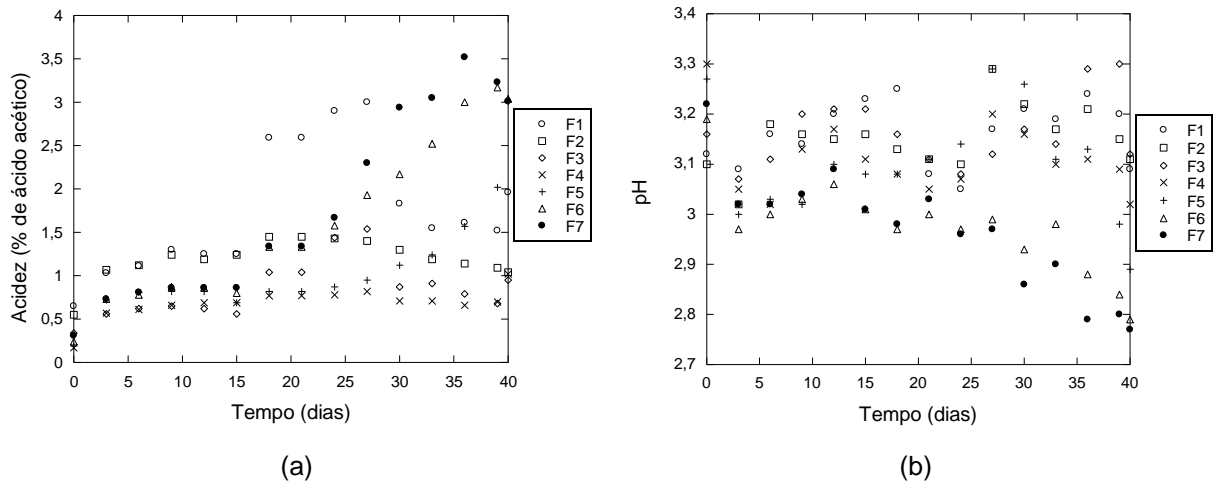


Figura 2. Acompanhamento do teor de acidez em % de ácido acético (a) e pH (b) durante a fermentação espontânea do mosto de jabuticaba.

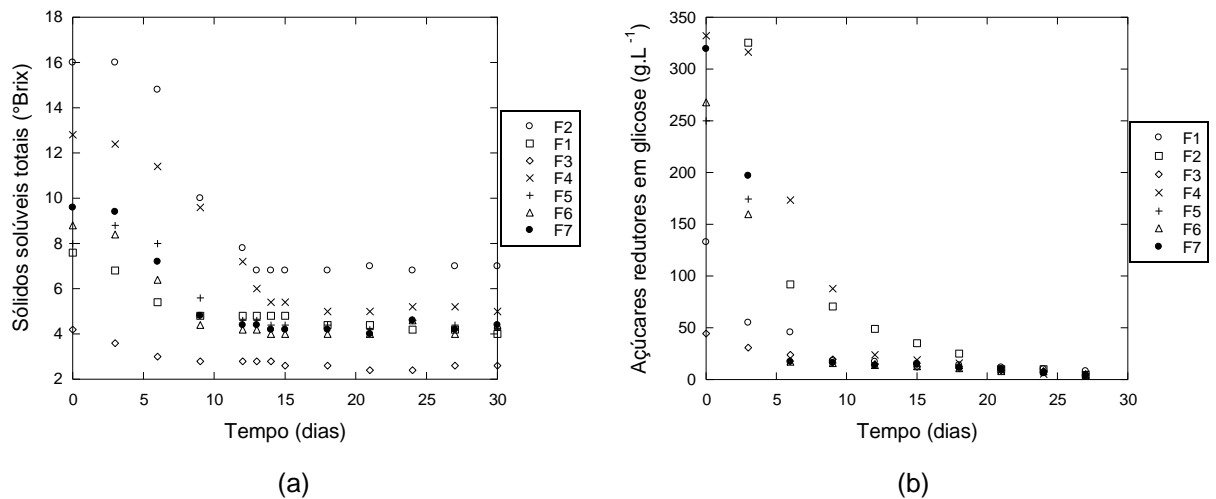


Figura 3. Acompanhamento da concentração de sólidos solúveis totais em °Brix (a) e de açúcares redutores em glicose em g.L^{-1} (b) durante a fermentação espontânea do mosto de jabuticaba.

Após 15 dias de fermentação verificou-se aumento do teor de acidez da maioria das formulações, o que indicou o início da fermentação acética (Figura 2(a)).

Os valores de pH variaram com maior intensidade durante todo o processo fermentativo. Após cerca de 40 dias de fermentação o pH variou de 2,77 até 3,12

dentre as diferentes formulações. Segundo Mas et al. (2014) durante a etapa de fermentação, além da oxidação do etanol, compostos adicionais são formados a partir de outros mecanismos de reação, como a formação de ésteres. Isso pode justificar a oscilação de pH durante toda a fermentação.

As formulações F1 e F3 apresentaram redução da acidez considerável quando se aproximaram os 30 dias de fermentação e aumento do pH. Essas alterações foram acompanhadas de mudanças do aspecto visual do produto, indicando possível contaminação. Isso pode ter ocorrido em virtude da baixa concentração de etanol produzida nas duas formulações, inferior a 5%, não tendo sido capaz de inibir as bactérias deteriorantes.

As formulações em que ocorreu maior produção de etanol, F2 (10,7%) e F4 (7,8%), apresentaram valores de acidez inferiores a 1%. Isso pode indicar que as bactérias acéticas presentes naturalmente nos frutos não conseguiram tolerar a concentração de etanol, sugerindo a caracterização e identificação destas bactérias.

Já as formulações F5, F6 e F7 (pontos centrais), com teores de etanol entre 5,2 e 5,7% apresentaram os maiores valores de acidez em % de ácido acético, apesar de ainda estarem abaixo do previsto pela legislação (4%). Isso pode ser atribuído ao crescimento de bactérias acéticas do gênero *Acetobacter* que, segundo Mas et al. (2014) são encontradas em fermentados com baixos teores de ácido acético. De acordo com Rizzon e Meneguzzo (2006) a graduação alcoólica de um vinho adequada para posterior fermentação acética não deve ser inferior a 5%, assim, estas condições dos pontos centrais estudadas foram propícias para o desenvolvimento de bactérias acéticas.

Segundo Aquarone et al. (2001) a existência de compostos não fermentáveis no meio pode ser visualizada pela consequente estabilização do teor de açúcares. É o que pode ser observado na Figura 3 (a), onde, após cerca de 15 dias de fermentação, os sólidos solúveis totais foram estabilizados para todas as formulações, concluindo que a fermentação alcoólica havia terminado. O mesmo pode ser verificado para a Figura 3 (b) para a concentração de açúcares redutores.

A Tabela 6 apresenta os valores de açúcares consumidos, etanol produzido e etanol teórico, bem como, os resultados de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.

Tabela 6. Açúcares consumidos, etanol produzido e teórico e resultados de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.

Formulações	Açúcares consumidos (%m/v)	Etanol experimental (%m/v)	Etanol teórico (%m/v)	Produtividade (g/L.h)	Rendimento da fermentação (%)	Eficiência da fermentação (%)
F1	12,5	4,5	6,4	0,01	36,1	70,6
F2	43,7	10,7	22,3	0,03	24,5	47,9
F3	4,0	2,1	2,0	0,01	52,4	102,5
F4	32,7	7,8	16,7	0,02	23,8	46,6
F5	24,4	5,7	12,5	0,02	23,4	45,7
F6	26,4	5,2	13,5	0,01	19,7	38,5
F7	31,6	5,4	16,1	0,02	17,1	33,4

Com exceção da F3, as demais formulações produziram quantidades de etanol inferiores aos valores teóricos previstos (Tabela 6). Isso pode ser justificado pela elevada concentração de açúcares apresentados nas demais formulações, superiores a 20%, que apesar de produzir quantidades superiores de etanol, prejudicaram a obtenção de produções eficientes deste composto. Bortolini, Sant'anna e Torres (2001) comentam que teores elevados de açúcares podem interferir no crescimento de leveduras e com isso, prejudicar a eficiência da fermentação.

A produtividade dos fermentados alcoólicos variou de 0,01 a 0,03 g/L.h, sendo esses valores inferiores aos encontrados na literatura, como era esperado, em virtude do processo ser conduzido em condições espontâneas. Almeida et al. (2006) estudaram a fermentação do fruto mandacaru, obtendo uma produtividade de 0,74 g/L.h e Silva (2004) verificou uma produtividade de 0,78 g/L.h na elaboração de fermentado de caju.

5.1.3 Caracterização físico-química dos vinagres obtidos

Como nenhuma das formulações atingiu o teor de acidez mínimo de 4% em ácido acético previsto pela legislação foram analisadas as três formulações com valores mais próximos do previsto, sendo então selecionadas as formulações 5, 6 e 7.

A Tabela 7 apresenta os resultados da caracterização físico-química realizada. Conforme mencionado anteriormente, o teor de acidez apresentou-se

abaixo do previsto pela legislação (BRASIL, 2012). Contudo, os valores obtidos para o teor alcoólico, extrato seco reduzido e resíduo mineral fixo encontraram-se dentro dos limites preconizados.

Tabela 7. Caracterização físico-química dos vinagres com maior acidez produzidos.

Características físico-químicas	F5	F6	F7	Padrões (BRASIL, 2012)
Acidez (% ácido acético)	2,98 ± 0,30	3,02 ± 0,01	3,04 ± 0,02	Mínimo 4
Teor alcoólico (% v/v)	0,25 ± 0,00	0,37 ± 0,02	0,12 ± 0,02	Máximo 1
Extrato seco reduzido (g.L ⁻¹)	11,54 ± 0,63	15,14 ± 0,02	16,72 ± 0,23	Mínimo 6
Resíduo mineral fixo (g.L ⁻¹)	2,25 ± 0,51	2,35 ± 0,50	1,99 ± 0,11	Mínimo 1 Máximo 5

5.2 FERMENTAÇÃO CONTROLADA

5.2.1 Fermentação alcoólica

Após 72 horas de fermentação controlada foram obtidos os fermentados alcoólicos. A Tabela 8 apresenta a matriz dos ensaios com os valores reais e codificados e a concentração de etanol obtida em cada um dos ensaios. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados para a fermentação espontânea, variando de 2,11 a 9,34%. Assim como foi observado para a fermentação espontânea, maiores concentrações de açúcar resultaram em maiores teores de etanol.

Observou-se também que os valores de etanol obtidos no ponto central (F5, F6 e F7) apresentaram boa repetibilidade, assim como obtido para o planejamento espontâneo.

Tabela 8. Matriz dos ensaios com valores reais e codificados e percentuais de etanol produzido ao término da fermentação alcoólica.

Ensaio	Concentração de açúcar (% _{m/m})	Proporção de água/jabuticaba (m/m)	Etanol (%)
F1	-1 (0)	-1 (0,5)	4,03 ± 0,01
F2	+1 (10)	-1 (0,5)	9,34 ± 0,06
F3	-1 (0)	+1 (2,0)	2,11 ± 0,02
F4	+1 (10)	+1 (2,0)	8,37 ± 0,09
F5	0 (5)	0 (1,25)	5,54 ± 0,003
F6	0 (5)	0 (1,25)	5,73 ± 0,002
F7	0 (5)	0 (1,25)	5,31 ± 0,007

As amostras F2 e F4 atingiram a concentração de etanol considerada ideal para produção de fermentados acéticos segundo Rizzon et al. (1992), sendo superiores a 7% e inferiores a 10% de etanol.

A Tabela 9 apresenta a análise de efeitos estimados para a concentração de etanol dos fermentados alcoólicos obtidos.

Tabela 9. Efeitos estimados e *p* valores para a concentração de etanol.

Fatores	Efeitos	Erro padrão	<i>t</i> _{Calc} (4)	<i>p</i> -valor
Média	5,78	0,15	38,14	<0,0001
(<i>x</i> ₁) Concentração de açúcar (% _{m/m})	5,79	0,40	14,46	0,0001
(<i>x</i> ₂) Proporção água/jabuticaba (m/m)	-1,45	0,40	-3,62	0,0224

Semelhante ao observado na fermentação espontânea, a fermentação controlada também apresentou efeitos lineares da concentração de açúcar (*x*₁) e proporção água/jabuticaba (*x*₂) significativos a 95% de confiança. Foi determinada a equação do modelo para previsão do percentual de etanol produzido nas condições de fermentação estudadas, apresentada na Equação 5.

$$\text{Etanol (\%)} = 5,78 + 2,90x_1 - 0,72x_2 \quad (5)$$

A análise de variância para a resposta de concentração de etanol é apresentada na Tabela 10. O valor de *F*_{calculado} foi superior ao de *F*_{tabelado}, indicando que o modelo é válido para prever a resposta de concentração de etanol considerando-se as faixas estudadas para as variáveis.

Tabela 10. Análise de variância para a concentração de etanol.

Fonte de regressão	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	p-valor
Regressão	35,68	2	17,84	111,50*	6,94	0,0003
Resíduos	0,64	4	0,16			
Total	36,32	6			R ² = 0,98	

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{calc}: F calculado, F_{tab}: F tabelado.

A Figura 4 apresenta a superfície de resposta e a curva de contorno para a resposta de concentração de etanol. Semelhante ao observado durante a análise da fermentação espontânea, os resultados demonstram que a variação da proporção água/jabuticaba e concentração de açúcar resultaram em teores etanólicos consideráveis para a produção de vinagre. Sendo que quanto menor a proporção água/jabuticaba maior será a produção de etanol.

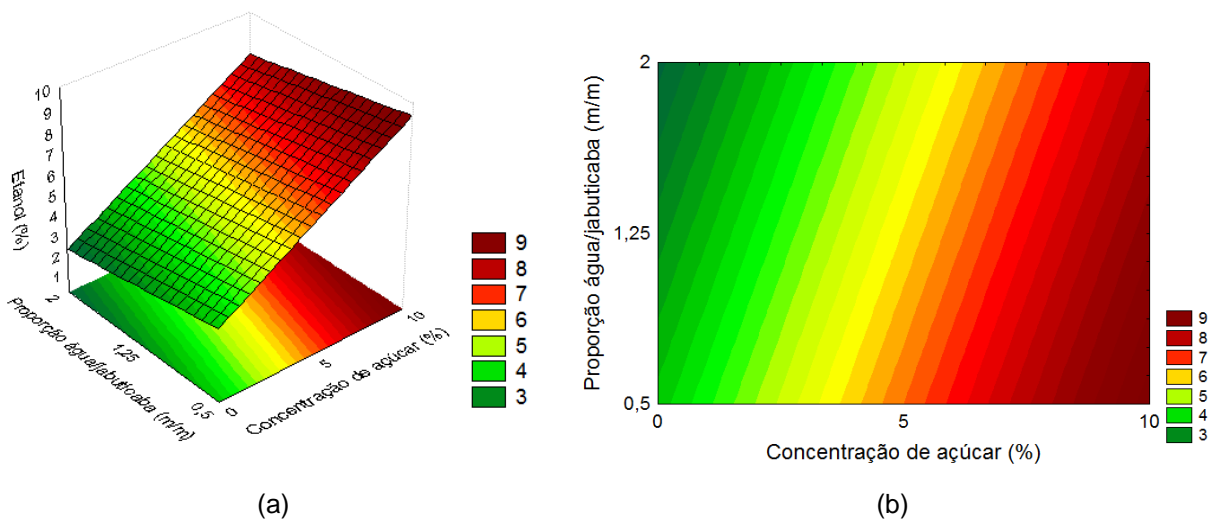


Figura 4. Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para a concentração de etanol.

A Tabela 11 apresenta os valores de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.

Os valores de produtividade variaram de 0,29 a 1,30 g/L.h. Bortolini, Sant'anna e Torres (2001) obtiveram valores de rendimento superiores para o vinagre de kiwi, variando de 0,74 a 2 g/L.h. As amostras F2 e F4 apresentaram maiores produtividades, 1,30 e 1,16 g/L.h, respectivamente, sendo estas as que apresentaram maior produção de etanol e, conseqüentemente, maior conteúdo de açúcares consumidos. Os resultados obtidos para os pontos centrais foram

semelhantes entre si e foram próximos aos resultados encontrados por Almeida et al. (2006) e Silva (2004) citados anteriormente.

Tabela 11. Açúcares consumidos, etanol produzido e teórico e resultados de produtividade, rendimento e eficiência de fermentação.

Formulações	Açúcares consumidos (% m/v)	Etanol experimental (% m/v)	Etanol teórico (% m/v)	Produtividade (g/L.h)	Rendimento da fermentação (%)	Eficiência da fermentação (%)
F1	11,8	4,0	6,0	0,56	34,2	66,8
F2	38,2	9,3	19,5	1,30	24,5	47,9
F3	6,0	2,1	3,0	0,29	35,5	69,4
F4	15,6	8,4	8,0	1,16	53,6	104,9
F5	14,6	5,5	7,5	0,77	38,0	74,3
F6	11,8	5,7	6,0	0,80	48,7	95,2
F7	11,1	5,3	5,7	0,74	47,8	93,5

O rendimento da fermentação variou de 24,5% a 53,6% e, a eficiência da fermentação variou de 47,9 a 104,9%, sendo que a F4 obteve rendimento e eficiência superior (104,9%). A variação do rendimento e da eficiência pode estar relacionada à concentração inicial de açúcares, onde concentrações superiores a 20% de açúcares podem interferir no crescimento de leveduras e prejudicar a eficiência da fermentação (BORTOLINI, SANT'ANNA, TORRES, 2001). É o caso da F2 que apresentou concentração inicial de 39,3% de açúcares redutores em glicose e apresentou eficiência de 24,5%. Já a F4 apresentou concentração inicial de açúcares redutores em glicose de 17,0% e eficiência de 104,9%.

Para o vinagre de kiwi produzido por Bortolini, Sant'anna e Torres (2001) os rendimentos variaram de 38,6% a 47,2%, com eficiências que corresponderam de 75,6 a 92,4%, quando concentrações de açúcares variaram de 9 a 20% de açúcares redutores em glicose, sendo semelhantes aos encontrados neste estudo. Os resultados também foram semelhantes aos encontrados por Xavier et al. (2001) que produziram vinagre de fisalis e obtiveram um rendimento de 84,7%, fermentando mostos com aproximadamente 15°Brix.

5.2.2. Fermentação acética

Os fermentados alcoólicos obtidos foram submetidos à fermentação acética controlada e a mesma foi acompanhada pelas determinações de pH, acidez e sólidos solúveis totais. Essas determinações são apresentadas nas Figuras 5 e 6.

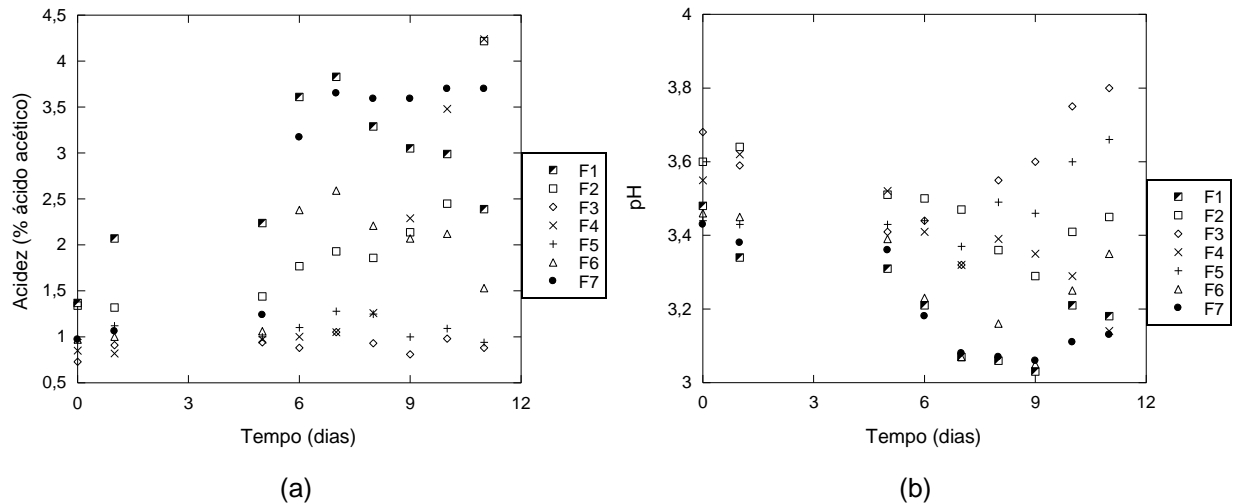


Figura 5. Acompanhamento do teor de acidez em % de ácido acético (a) e pH (b) durante a fermentação acética.

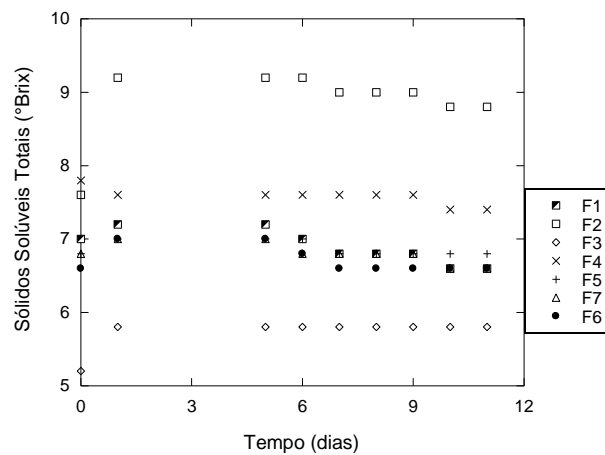


Figura 6. Acompanhamento da concentração de sólidos solúveis totais em °Brix durante a fermentação acética.

Como pode ser verificado na Figura 5 (a), dentre as formulações estudadas apenas a F2 e F4 atingiram a acidez superior a 4%. Esses resultados confirmam a recomendação do uso de fermentados alcoólicos com teores de etanol entre 7 e 10% para obtenção de vinagres (RIZZON et al., 1992). Os resultados foram diferentes dos encontrados para a fermentação espontânea em virtude das próprias condições de fermentação. Nesse caso, as bactérias acéticas provenientes da mãe-de-vinagre de fermentações anteriores podem ter apresentado melhores condições de desenvolvimento no substrato avaliado pelo cultivo prévio em meio fermentado. Além disso, a adição de *Acetozyn* contribuiu para o seu crescimento.

As amostras F2 e F4 foram submetidas às análises para caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. Os valores de pH apresentaram variabilidade durante a fermentação, sendo relacionado aos compostos voláteis formados durante essa etapa.

Na Figura 6 pode ser observado que os valores de sólidos solúveis totais apresentaram pouca variabilidade durante a fermentação acética.

5.2.3 Caracterização físico-química dos vinagres obtidos

A Tabela 12 apresenta a caracterização físico-química dos vinagres com os valores de acidez próximos a 4%.

A amostra F4 apresentou todas as características em acordo com a legislação (BRASIL, 2012), contudo a F2 apresentou teor de etanol e de resíduo mineral fixo superior ao previsto pela legislação, 1,01% e 6,05g/L⁻¹, respectivamente. Xavier et al. (2001) produziram vinagre de fisalis e obtiveram teor de resíduo mineral fixo de 5,30 g.L⁻¹, sendo também superior ao recomendado.

Tabela 12. Caracterização físico-química dos vinagres com maior acidez produzidos.

Características físico-químicas	F2	F4	Padrões (BRASIL, 2012)
Acidez (% ácido acético)	4,26 ± 0,19	4,34 ± 0,01	Mínimo 4
Teor alcoólico (% v/v)	1,01 ± 0,04	0,20 ± 0,05	Máximo 1
Extrato seco reduzido (g.L ⁻¹)	18,65 ± 0,24	14,58 ± 0,66	Mínimo 6
Resíduo mineral fixo (g.L ⁻¹)	6,05 ± 0,09	3,86 ± 0,08	Mínimo 1 Máximo 5

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos na análise microbiológica. Os resultados apresentaram-se de acordo com RDC nº 12 (BRASIL, 2001), observando a ausência de *Salmonella* e uma contagem inferior a 3 UFC/mL para a determinação de coliformes termotolerantes.

Tabela 13. Análises microbiológicas para as amostras de vinagre de jabuticaba.

Amostras	Coliformes Termotolerantes (UFC/mL)	<i>Salmonella sp.</i>
F2	$\leq 3,0 \times 10^0$	Ausência
F4	$\leq 3,0 \times 10^0$	Ausência
Legislação (BRASIL, 2001)	<10	Ausência

5.4 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi realizada com 50 provadores não treinados sendo estes alunos e professores dos cursos de Tecnologia em Alimentos, Engenharia de Alimentos, Engenharia Elétrica, Química e Manutenção Industrial, selecionados de forma aleatória.

5.4.1 Teste de Escala Hedônica

Para cada atributo avaliado no teste de escala hedônica foi determinada a análise de variância considerando os tratamentos e os provadores como fontes de variação, apresentadas nas Tabelas 14, 15, 16 e 17. Para todos os atributos verificou-se que a fonte de variação dos provadores apresentou um valor de $F_{calculado}$ superior ao tabelado, indicando que houve diferença significativa em relação aos julgamentos realizados ($p < 0,05$) concluindo-se assim que não houve similaridade nas respostas apresentadas. Isso é esperado quando se utilizam testes afetivos, uma vez que a preferência de cada consumidor é particular.

Em relação à fonte de variação de tratamentos, para os atributos cor, sabor e impressão global o valor de $F_{calculado}$ foi inferior ao tabelado, indicando que as formulações F2 e F4 não diferiram significativamente ($p > 0,05$) quanto à preferência sensorial dos atributos avaliados. Contudo, para o atributo odor houve diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$), sendo realizado o teste de Tukey para comparação de médias. Os resultados obtidos nesse estudo foram diferentes dos encontrados por Bortolini, Sant'anna e Torres (2001) para o vinagre de kiwi, onde os atributos impressão geral e sabor apresentaram diferença sensorial significativa e a cor e o odor não foram diferentes no teste sensorial aplicado.

Tabela 14. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo cor.

Fonte de regressão	SQ	GL	QM	F _{cal}	F _{tab}	p-valor
Tratamentos	0,16	1	0,16	0,11 ^{ns}	4,12	0,7459
Provadores	200,56	49	4,09	2,71*	1,71	0,0003
Resíduos	73,84	49	1,51			
Total	274,56	99				

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{cal}: F calculado, F_{tab}: F tabelado.

Tabela 15. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo odor.

Fonte de regressão	SQ	GL	QM	F _{cal}	F _{tab}	p-valor
Tratamentos	8,41	1	8,41	5,08*	4,12	0,0287
Provadores	273,25	49	5,57	2,71*	1,71	<0,0001
Resíduos	81,09	49	1,65			
Total	274,56	99				

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{cal}: F calculado, F_{tab}: F tabelado.

Tabela 16. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo sabor.

Fonte de regressão	SQ	GL	QM	F _{cal}	F _{tab}	p-valor
Tratamentos	1,96	1	1,96	1,05 ^{ns}	4,12	0,3094
Provadores	186,00	49	3,04	2,04*	1,71	0,0069
Resíduos	91,04	49	1,86			
Total	279,00	99				

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{cal}: F calculado, F_{tab}: F tabelado.

Tabela 17. ANOVA para o teste de escala hedônica: atributo impressão global.

Fonte de regressão	SQ	GL	QM	F _{cal}	F _{tab}	p-valor
Tratamentos	0,36	1	0,36	0,43 ^{ns}	4,12	0,3094
Provadores	181,00	49	3,69	4,45*	1,71	0,0069
Resíduos	40,64	49	0,829			
Total	222,00	99				

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, QM: quadrados médios, F_{cal}: F calculado, F_{tab}: F tabelado.

As médias de todos os tratamentos e atributos estão apresentadas na Tabela 18. Para todos os atributos avaliados a amostra F4 apresentou notas superiores que a F2. Analisando a impressão global e convertendo-a em índice de aceitabilidade pode ser observado que o índice foi de 71,4% para a F2 e de 72,6% para a F4, ambas superiores a 70%, sendo assim consideradas bem aceitas pelos consumidores.

Tabela 18. Valores médios para o teste de escala hedônica.

Tratamentos	Cor*	Odor*	Sabor*	Impressão global*
F2	6,84 ± 1,71 ^a	6,06 ± 2,04 ^b	6,96 ± 1,83 ^a	7,14 ± 1,62 ^a
F4	6,92 ± 1,64 ^a	6,64 ± 1,75 ^a	7,24 ± 1,52 ^a	7,26 ± 1,38 ^a

*Valores médios e desvio padrão obtidos para cada atributo. Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

5.4.2 Teste de comparação pareada de preferência

Para o teste de comparação pareada de preferência constatou-se que a amostra F4 foi julgada como preferida 26 vezes e, a amostra F2, 24 vezes. Consultando tabela bilateral com o número mínimo de respostas significativas ($p < 0,05$) observou-se que para 50 provadores o número mínimo de julgamentos para haver diferença significativa quanto a preferência das amostras deveria ser 33. Desta forma, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as formulações 2 e 4, tendo ambas apresentado preferência similar pelos provadores.

6 CONCLUSÃO

Para os vinagres obtidos por fermentação espontânea constatou-se que as leveduras naturalmente presentes no fruto mostraram-se eficientes na fermentação alcoólica espontânea obtendo-se fermentados com até 10,7% de etanol. Os valores de etanol obtidos na fermentação controlada foram semelhantes às condições espontâneas, tendo como máximo 9,37%.

A proporção água/jabuticaba apresentou efeito negativo e a concentração de açúcar apresentou efeito positivo para a produção de etanol em ambas as fermentações, indicando que menores proporções de água/jabuticaba e maiores concentrações de açúcar resultaram em fermentados com maiores concentrações de etanol.

Contudo, as bactérias acéticas presentes naturalmente no fruto não se mostraram eficientes para produção de elevados teores de acidez no fermentado espontâneo, obtendo-se fermentados com aproximadamente 3% de acidez em ácido acético, estando abaixo do que preconiza a legislação brasileira, sugerindo a presença predominante de espécies do gênero *Acetobacter*.

Para a fermentação acética controlada as amostras F2 e F4 atingiram a percentagem de acidez recomendada pela legislação, sendo esta atribuída ao teor de etanol obtido, estando dentro da faixa tolerável pelas bactérias acéticas de interesse na produção de vinagres. Essas formulações foram bem aceitas sensorialmente e a F4 destacou-se por apresentar parâmetros físico-químicos mais próximos aos que são previstos pela legislação.

REFERÊNCIAS

ALCARDE, A. R. **Fermentação**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_105_22122006154841.html#topoPagina> Acesso em: 25 fev. 2014.

AGUIAR, A.; NASCIMENTO, R. A. A.; FERRETTI, L. P.; GONÇALVES, A. R. **Determination of Organic Acids and Ethanol in Commercial Vinegars**. Brazilian Journal of Food Technology, 5º SIPAL, p. 51-56, 2005.

ALMEIDA, M. M.; TAVARES, D. P. S. A.; ROCHA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. C.; SILVA, F. L. H.; MOTA, J. C. **Cinética da produção do fermentado do fruto mandacaru**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 8, n. 1, p. 35-42, 2006.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. Globo, São Paulo, p. 130-135. 1989.

ANDORRA, I. A.; LANDI, S.; MAS, A.; ESTEVE-ZARZOSO, B.; GUILLAMÓN, J. M. **Effect of fermentation temperature on microbial population evolution using culture-independent and dependent techniques**. Food Research International, v. 43, p. 773-779, 2010.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 16. ed. United States of America: AOAC International, v. 2, 16 ed., 1998.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotechnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Ed. Blucher, v. 4, 1. ed., 2001, 523 p.

BARTOWYSKY, E. J.; HENSCHKE, P. A. **Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine - A review**. International Journal of Food Microbiology, v. 125, p. 60-70, 2008.

BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S., TORRES, R. C. **Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição de mostos e métodos de fermentação acética**. Ciências Tecnológicas de Alimentos, v. 21, n. 2, maio-ago, p. 236-243, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em 20 out. 2014.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 4 de junho de 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm> Acesso em: 24 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n.º 6 de abril de 2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 4 de abril de 2012. Disponível em: <<http://anav.com.br/legislacao.php?id=29>> Acesso em: 24 fev. 2014.

BRASIL. Decreto n.º 8.198, de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei no 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de fevereiro de 2014. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2014/Decreto/D8198.htm#art5> Acesso em: 25 fev. 2014.

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

CUNHA, M. A. A. **Tecnologia das Fermentações**. Apostila (Curso de Graduação em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2010.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 3 ed. Champagnat: Curitiba, 2011, 426 p.

FIORIO; J. L.; DALPOSSO, P. V. **Caracterização e fermentação alcoólica de uva-do-japão (*Hoveni dulcis* T.) visando produção de vinagre**. (Trabalho de Conclusão de Curso), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curso de Bacharelado e Licenciatura em Química, Pato Branco, PR, 2011. 55 p.

FONTAN, R. C. I.; VERÍSSIMO, L. A. A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. **Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia**. Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimento, v. 29, n. 2, p. 203-210, jul./dez. 2011.

GULLO, M.; GIUDUCI, P. **Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection**. International Journal of Food Microbiology, v. 125, p. 46-53, 2008.

HOFFMANN, A. Embrapa Uva e vinho. **Sistema de produção de Vinagre**. Bento Gonçalves, Ago. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/publica/sprod/Vinagre/legislacao.htm>> Acesso em: 25 fev. 2014.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4 ed., 1. ed. digital, 2008, 1020 p.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C. A.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. **Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Órgano Oficial de La Sociedad Latinoamericana de Nutrición, v. 58, n. 4, 2008.

MARQUES, F. P. P.; SPINOSA, W.; FERNANDES, K. F.; CASTRO, C. F. S.; CALIARI, M. **Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais**. Ciência Tecnologia Alimentos, p. 119-126, 2010.

MAS, A.; TORIJA, M. J.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. **Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar**. The Scientific World Journal, v. 2014, p. 6.

NETTO, C. G. **Vinagre brasileiro ainda está distante do padrão de qualidade internacional**. Jornal da Unicamp, Campinas, Ago. 2006. Disponível em: <http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/jornalPDF/ju332pg09.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2014.

OLIVEIRA, A. L. O.; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, R. **Caracterização tecnológica de jabuticabas 'sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 25, n. 3, p. 397-400, 2003.

PEDROSO, P. R. F. **Produção de vinagre de maçã em biorreator *airlift***. 2003. 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Bioquímica). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

RIZZON, A. L.; GUERRA, C. C.; SALVADOR, G.L. **Elaboração de vinagre na propriedade agrícola**. Circular Técnica Nº 15, EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 1992.

RIZZON, L.; MENEGUZZO, J. **Sistema de produção de vinagre. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves**. Dez. 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/acetificacao.htm>>. Acesso em: 23 jul. 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M, H.; SANTOS, R. F. S. S.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed., São Paulo: Varela, 2007, 533 p.

STATSOFT. **STATISTICA for Windows: computer program manual**. Versão 8.0. Tulsa: Software Inc., 2007.

SCHULTZ, A.R. 1963. **Introdução ao estudo da botânica sistemática**. Globo, Porto Alegre, p. 288.

XAVIER, D.; IVANOV, R. C.; CUNHA, M. A. A.; PEREIRA, E. A. **Produção e caracterização de vinagre de *fisalis***. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, v. 2, n. 1; p. 27-32, jan./jun., 2011.

ANEXO

ANEXO I – Parecer consubstanciado do CEP.

CENTRO INTEGRADO DE
ENSINO SUPERIOR DA
FACULDADE INTEGRADO DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRE DE JABUTICABA

Pesquisador: Rosana Aparecida da Silva Buzanello

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30870214.7.0000.0092

Instituição Proponente: CEI - Centro Educacional Integrado Ltda.

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 638.734

Data da Relatoria: 07/05/2014

Apresentação do Projeto:

O vinagre é um alimento muito popular no consumo como condimento. Tem sido utilizado como aditivo ou como conservante de determinados produtos alimentícios. Em virtude de seu baixo valor comercial, as indústrias objetivam a produção do mesmo a partir de matérias-primas inferiores, não sendo atribuída a devida importância ao vinagre. Contudo, sabe-se que vinagres oriundos da fermentação de frutos caracteriza-se como um produto de qualidade superior e com potenciais benéficos à saúde. A Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é um fruto conhecido no Brasil, mas, em virtude de sua vida útil reduzida, a sua comercialização in natura é restrita. Como a jabuticaba apresenta teor de sólidos solúveis totais consideráveis para a fermentação, teor de vitamina C considerável e presença de compostos fenólicos, a sua utilização na produção de vinagre seria uma alternativa para seu aproveitamento, proporcionando um maior valor agregado ao produto. Assim, o objetivo deste estudo será produzir vinagre de jabuticaba, variando as condições de fermentação, observando a influência das variáveis: concentração de açúcar e proporção de jabuticaba e água do mosto, na fermentação alcoólica induzida e espontânea e, caracterizar o fermentado acético obtido.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Produzir vinagre de jabuticaba por meio de fermentação espontânea e controlada, variando as condições de fermentação e avaliar a qualidade dos vinagres obtidos.

Endereço: Avenida Irmãos Pereira, 670

Bairro: Centro

CEP: 87.901-010

UF: PR

Município: CAMPO MOURAO

Telefone: (44)3518-2500

Fax: (44)3518-2551

E-mail: cep@grupointegrado.br

ANEXO I – Parecer consubstanciado do CEP (continuação).

CENTRO INTEGRADO DE
ENSINO SUPERIOR DA
FACULDADE INTEGRADO DE



Continuação do Parecer: 638.734

Objetivo Secundário: Pesquisar na literatura científica as características físico-químicas e nutricionais da Jabuticaba; Produzir fermentado alcoólico de Jabuticaba por fermentação espontânea e controlada; Avaliar a influência da concentração de açúcar e da proporção Jabuticaba/água na fermentação alcoólica; Produzir fermentado acético a partir de fermentado alcoólico espontâneo e controlado com a utilização de cultura de bactérias ácido-acéticas de vinagre forte de Jabuticaba previamente obtida; Caracterizar o vinagre de Jabuticaba mediante análises físico-químicas previstas pela legislação vigente; Avaliar microbiologicamente e sensorialmente a qualidade dos vinagres obtidos; Determinar a atividade antioxidante do vinagre produzido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A análise sensorial não apresentará riscos aos provadores, uma vez que o produto a ser submetido a análise será avaliado quanto aos padrões microbiológicos e físico-químicos segundo legislação vigente.

Benefícios: O desenvolvimento do produto demonstra a importância do uso de diferentes frutas no preparo de vinagres. Os resultados físico-químicos e microbiológicos, juntamente com os resultados da análise sensorial, possibilitará a avaliação dos métodos de obtenção do vinagre e permite identificar qual a melhor metodologia de obtenção a ser aplicada. Além disso, caso comprovado o potencial antioxidante do produto for comprovado,

será maior um fator a ser considerado e avaliado para a produção e consumo do vinagre de Jabuticaba em escala industrial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os resultados obtidos serão avaliados mediante análise estatística utilizando o software Statistica 7.0, sendo submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem considerações.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Avenida Irmãos Pereira, 670
Bairro: Centro CEP: 87.901-010
UF: PR Município: CAMPO MOURAO
Telefone: (44)3518-2500 Fax: (44)3518-2551 E-mail: cep@grupointegrado.br

ANEXO I – Parecer consubstanciado do CEP (continuação).

CENTRO INTEGRADO DE
ENSINO SUPERIOR DA
FACULDADE INTEGRADO DE



Continuação do Parecer: 628.734

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

CAMPO MOURAO, 07 de Maio de 2014

Assinado por:

Simone Jurema Ruggeri Chicuhetta Collil
(Coordenador)

Endereço: Avenida Imilce Pereira, 870

Bairro: Centro

CEP: 87.901-010

UF: PR

Município: CAMPO MOURAO

Telefone: (44)3518-2500

Fax: (44)3518-2551

E-mail: cep@grupointegrado.br

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela de ordem casualizada de apresentação de amostras e codificação aleatorizada para análise sensorial.

Provador	Codificação Aleatorizada		Provador	Codificação Aleatorizada		Provador	Codificação Aleatorizada	
1	A	B	21	B	A	41	A	B
	862	245		368	946		611	145
2	B	A	22	B	A	42	A	B
	458	396		797	295		784	681
3	B	A	23	B	A	43	A	B
	522	498		756	954		829	614
4	B	A	24	B	A	44	B	A
	298	665		266	174		547	869
5	A	B	25	A	B	45	A	B
	635	113		496	133		742	822
6	B	A	26	B	A	46	B	A
	917	365		759	488		554	448
7	B	A	27	B	A	47	B	A
	332	896		854	187		813	976
8	A	B	28	B	A	48	A	B
	314	688		228	824		959	714
9	A	B	29	A	B	49	A	B
	468	663		881	549		912	646
10	A	B	30	A	B	50	B	A
	712	585		169	122		873	397
11	B	A	31	A	B			
	351	847		919	293			
12	B	A	32	A	B			
	223	398		874	289			
13	B	A	33	B	A			
	183	765		452	544			
14	B	A	34	B	A			
	369	163		459	984			
15	B	A	35	B	A			
	743	593		127	711			
16	A	B	36	B	A			
	252	581		445	793			
17	A	B	37	A	B			
	355	542		734	855			
18	A	B	38	A	B			
	691	537		121	885			
19	A	B	39	A	B			
	222	746		595	152			
20	A	B	40	A	B			

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido na forma de convite para equipe de provadores do vinagre de jabuticaba.

AValiação Sensorial de Vinagre de Jabuticaba

Pesquisadores envolvidos:

- Enio Paulo Zoche, residente em São Miguel do Iguçu, PR, telefone: (45) 9924 3139.
- Odacir de Figueredo, residente em Missal, PR, telefone: (45) 8408 2534.
- Eliane Colla, residente em Medianeira, PR, telefone: (45) 3240 8101.

Pesquisador Responsável:

- Rosana A. da Silva Buzanello, residente na Rua Pernambuco, nº 1131, Medianeira, PR, telefone: (45) 99026613. RG: 9.402.425.0.

Local da pesquisa:

- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira, Laboratório de Análise Sensorial, Avenida Brasil, 4232, Caixa Postal 271. Parque Independência, Medianeira – PR. Telefone: (45) 3240 8000.

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa “**Avaliação sensorial de vinagre de jabuticaba**”,

realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira. O objetivo da pesquisa é verificar a aceitação dos consumidores quanto ao consumo de vinagre de jabuticaba. A sua participação é muito importante e você participará como integrante de uma equipe que vai consumir o vinagre de jabuticaba e avaliar os atributos cor, odor, sabor e impressão global, utilizando um escala de nove pontos (9 = gostei extremamente e 1 = desgostei extremamente) e em seguida, vai avaliar qual das amostras é a sua preferida. O vinagre de jabuticaba foi produzido seguindo as boas práticas de fabricação e foram avaliadas suas características físico-químicas e microbiológicas. O teste sensorial não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil, apresentando um tempo de análise estimado de 10 minutos. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é voluntária, podendo recusar-se a participar. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta

pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os benefícios esperados são o desenvolvimento de um vinagre de jaboticaba com boa aceitação sensorial. Informamos que você não pagará nem será remunerado por sua participação.

Medianeira, ____ de _____ de 2014.

Eu, _____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

RG: _____ Data de Nascimento: ____/____/____ Telefone: _____

Endereço: _____

_____ CEP:

_____ Cidade: _____ Estado: _____

Assinatura:

Data: ____/____/____

Assinatura

pesquisador:

Data: ____/____/____

(ou seu representante)

Nome completo: _____

Caso de dúvidas ou necessite de esclarecimentos pode nos contatar (Profa. Rosana A. da Silva Buzanello, UTFPR, Câmpus Medianeira, rosanaapsilva@yahoo.com.br, (45) 3240-8109, ou procurar o **Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR.**

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Endereço do CEP para recurso ou reclamações do sujeito pesquisado

CEP - Comissão de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR

Sede: Av. Irmãos Pereira, 670 centro – CEP: 87301-010 – Campo Mourão-PR –

Fone/Fax: (44) 3518-2500

Campus: Rod. BR 158 Km 208 – CEP: 87309-650 – Campo Mourão-PR – Fone/Fax: (44) 3518-2551

E-mail: secretaria@grupointegrado.br

APÊNDICE C – Ficha sensorial.

TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Nome: _____

Data: ____/____/____

Você está recebendo **duas** amostras codificadas de **vinagre de jabuticaba**. Por favor, avalie as amostras da esquerda para a direita, quanto à cor e ao odor das amostras visualizando e abrindo os tubos e, em seguida, prove cada uma das amostras, também da esquerda para a direita, servida com alface e avalie cada uma quanto ao sabor e impressão global, utilizando a escala de valores abaixo:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei muito
- (7) Gostei moderadamente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei moderadamente
- (2) Desgostei muito
- (1) Desgostei extremamente

Observando a escala de valores acima, marque na tabela o número que representa o quanto você gostou ou desgostou do produto:

Amostra	Cor	Odor	Sabor	Impressão Global

Comentários:

TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA DE PREFERÊNCIA

Você está recebendo **duas** amostras codificadas de **vinagre de jabuticaba**. Por favor, avalie as amostras codificadas da esquerda para a direita e indique com um **círculo** qual a amostra de sua preferência.

Amostra	Amostra

Comentários:
