

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DANIEL DANTAS CAMPELO

**SACARIFICAÇÃO SIMULTÂNEA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO  
TAMARINDO**

LONDRINA  
2017

DANIEL DANTAS CAMPELO

**SACARIFICAÇÃO SIMULTÂNEA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO  
TAMARINDO**

Dissertação de mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Lyssa Setsuko Sakanaka  
Co-orientador: Prof. Dr. Wilma Aparecida Spinosa

LONDRINA  
2017

## TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

C193s Campelo, Daniel Dantas  
Sacarificação simultânea a fermentação alcoólica do tamarindo / Daniel Dantas  
Campelo. - Londrina : [s.n.], 2017.  
67 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profª Drª Lyssa Setsuko Sakanaka  
Coorientadora: Profª Drª Wilma Spinosa  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2017.  
Bibliografia: f. 52-65.

1. Tamarindo. 2. Bebidas fermentadas. 3. Álcool. 4. Leveduras. 5. Enzimas  
I. Sakanaka, Lyssa Setsuko, orient. II. Spinosa, Wilma, coorient. III. Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia  
de Alimentos. V. Título.

CDD: 664

Ficha catalográfica elaborada por Cristina Benedeti Guilhem - CRB: 9/911

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Título da Dissertação n. \_\_\_\_

**SACARIFICAÇÃO SIMULTÂNEA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO  
TAMARINDO**

por

**Daniel Dantas Campelo**

Esta dissertação foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de **MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos**, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Londrina às 08h de 11 de setembro de 2017. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta por:

---

Prof. Dra. Lyssa Setsuko Sakanaka  
UTFPR - Londrina  
Orientador

---

Prof. Dra. Margarida Masami Yamaguchi  
UTFPR - Londrina  
Membro Examinador Titular

---

Prof. Dr. Cláudio Takeo Ueno  
UTFPR - Londrina  
Membro Examinador Titular

---

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho.  
(Coordenador do PPGTAL)

A folha de aprovação assinada encontra-se arquivada na secretaria do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos

Dedico esse trabalho a todos que direta  
ou indiretamente contribuíram com a  
minha educação e formação acadêmica.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tem me concedido, a Ele agradeço do fundo do meu coração por todos os dias que esteja presente em minha vida.

A família Rodrigues e Dona Elioteria Campelo porque sem eles não teria chegado até aqui, pelo apoio, preocupação e zelo durante a minha formação pessoal e acadêmica

A prof. Dr. Lyssa Setsuko Sakanaka por aceitar o pedido de orientação para o mestrado e pela atenção e orientação durante o desenvolvimento desse trabalho. A você muito obrigado!!!

A prof. Wilma Spinosa por ter a paciência em responder os mais diversos questionamentos e curiosidades durante a pesquisa, por se deixar disponível para qualquer dúvida.

Agradeço aos colegas do PPGTAL por todas as trocas de informação pelo companheirismo ao longo das sextas e sábados de aula.

Aos professores do programa pela dedicação e pela transmissão de conhecimento.

A Japonesa Padrão Classe A++ Me. Erika Watanabe, por todos os socorros durante a pesquisa, pelo sci-hub, pelas conversas culinárias e paciência. O meu muitíssimo obrigado!!

Aos membros assíduos e temporários do LAB A 302, pelas conversas, trocas de informações, colaborações e aprendizado contínuo a todos o meu muito obrigado pela hospitalidade.

As minha Colaboradora Jr. Beatriz Sella e Sofia Denipote pela ajuda e disponibilidade.

A UTFPR-Londrina por meio do PPGTAL e DAALM pelo espaço e equipamentos disponibilizados.

A FAPEMA pela bolsa concedida.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

“O maior erro na vida é o de ter sempre  
medo de errar.”  
(HUBBARD, Elbert, 1900)

## RESUMO

CAMPELO, Daniel Dantas. **SACARIFICAÇÃO SIMULTÂNEA A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO TAMARINDO**. 2017. 67f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

O tamarindo é um fruto originário da África equatorial e da Índia, cultivado em regiões de clima quente ou temperado. É uma cultura ideal para regiões semiáridas, especialmente nas áreas com eminência de seca prolongada. Destaca-se por apresentar excelentes qualidades nutricionais e pelo seu agradável aroma e sabor ácido-doce. O uso de tamarindo para fermentação é pouco investigado. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da temperatura ( $X_1$ ), concentração das enzimas ( $X_2$ ) e de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae* ( $X_3$ ) sobre o teor alcoólico ( $Y$ ) de fermentados de tamarindo *in natura*. Para avaliar esses fatores, foi utilizado o delineamento experimental fatorial com ponto central associado à metodologia de superfície de resposta (MSR). A equação polinomial de primeira ordem, que representa o modelo ajustado para a variável resposta investigada, considerou os fatores estudados significativos para explicar a produção de álcool, com  $R^2 = 0,98$  e  $p_{\text{valor}} < 0,05$ . As condições otimizadas para as variáveis ( $X_1$ ), ( $X_2$ ) e ( $X_3$ ) pela MSR foram respectivamente de 30 °C, 250 mg/L e 15 g/L. O teor alcoólico obtido nestas condições foi de 38 ml/L, com pH de 2,76 e açúcares redutores residuais de 0,49 g/L. Os fermentados apresentaram compostos fenólicos na concentração de 246 mg EAG/L. A polpa de tamarindo se mostrou propícia para a fermentação alcoólica mesmo sem a necessidade de correção do pH do mosto, tendo a sua fermentação dependente da variação da temperatura empregada no processo.

**Palavras-chave:** Enzimas. *Saccharomyces*. Composição proximal. Fruta exótica.



## ABSTRACT

CAMPELO, Daniel Dantas. **Simultaneous saccharification and alcoholic fermentation of tamarind** (2017). 67f. Dissertation (Professional Master in Food Technology) - Federal Technological University of Parana. Londrina, 2017.

Tamarind is a fruit originated from equatorial Africa and India, grown in regions with hot or temperate climates. It is an ideal crop for semi-arid regions, especially in areas with prolonged drought. It stands out for presenting excellent nutritional qualities and for its pleasant acid-sweet aroma and flavor. The use of tamarind for fermentation is poorly investigated. The objective of this work was to evaluate the influence of temperature ( $X_1$ ), concentration of enzymes ( $X_2$ ) and yeasts of the genus *Saccharomyces cerevisiae* ( $X_3$ ) on the alcoholic content (Y) of fermented tamarind in an acid medium. To evaluate these factors, a factorial design with a central point associated with the response surface methodology (RSM) was used. The first order polynomial equation, which represents the adjusted model for the investigated response variable, considered the studied factors significant to explain alcohol production, with  $R^2 = 0.98$  and  $p$ -value  $< 0.05$ . The conditions optimized for variables ( $X_1$ ), ( $X_2$ ) and ( $X_3$ ) by RSM were 30 °C, 250 mg/L and 15 g/L, respectively. The alcohol content obtained under these conditions was 38 mL/L, with a pH of 2.76 and residual reducing sugars of 0.49 g/L. The phenolic compounds in the fermented products were 246 mg EAG/L. The tamarind pulp showed to be suitable for alcoholic fermentation without any additive or correction of pH of the must, with its fermentation depending on the temperature used in the process.

**Keywords:** Enzyme. Saccharomyces. Proximal composition. Exotic fruit

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Árvores, flores, frutos e sementes de tamarindo.....	16
Figura 2 – Diagrama do catabolismo das leveduras do gênero <i>S. cerevisiae</i> ....	21
Figura 3 – Curva de Contorno (a) e superfícies de resposta (b) da interação entre a temperatura e concentração enzimática, com levedura fixado no ponto central 10g/L.....	43
Figura 4 - Curva de Contorno (a) e superfícies de resposta (b) da interação entre a temperatura e concentração de levedura com enzimas fixadas no ponto central 500mg/L.....	44
Figura 5 - Curva de Contorno (a) e superfícies de resposta (b) da interação entre a concentração de levedura e concentração de enzimas com temperatura fixadas no ponto central 35 °C.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição nutricional e mineral da polpa de tamarindo e seus valores de referência.....	18
Tabela 2 – Fatores e suas variáveis empregados no planejamento experimental fatorial fracionado $2^{3-1}$ .....	32
Tabela 3 – Matriz do delineamento experimental fracionado com ponto central, com seus valores codificados e reais para as variáveis temperatura ( $X_1$ ), concentração de enzimas ( $X_2$ ) e de levedura ( $X_3$ ) .....	32
Tabela 4 - Composição proximal de polpa de tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> L).	36
Tabela 5 – Parâmetros físico-químicos de polpa de tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> L) .....	39
Tabela 6 - Efeito da temperatura ( $X_1$ ), enzima ( $X_2$ ) e levedura ( $X_3$ ) sobre o teor alcoólico observado ( $Y_{obs}$ ) e rendimento $Y_{p/s}$ (%) dos fermentados de tamarindo.....	41
Tabela 7 - Análise de Variância (ANOVA) para o teor alcoólico dos fermentados de tamarindo.....	42
Tabela 8 - Tratamentos e teores de açúcares redutores totais dos fermentados de tamarindo nas diferentes condições de temperatura, concentração de enzima e levedura.....	46
Tabela 9 - Análise de Variância (ANOVA) para o teor de açúcares redutores dos fermentados de tamarindo.....	46
Tabela 10 - Tratamentos e seus respectivos pH e acidez dos fermentados de tamarindo.....	48
Tabela 11 - Teor de composto fenólicos e parâmetros de cor dos fermentados de tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> L.) nas diferentes condições de fermentação.	49

## LISTA DE ABREVIATURAS

B	Beta
Ca	Cálcio
Cm	Centímetro
Cu	Cobre
Fe	Ferro
Mg	Magnésio
M	Metro
mL	Mililitro
Mg	Miligrama
Nm	Nanômetro
%	Percentual
P	Potássio
G	Gramma
Há	Hectare
Kg.	Quilograma
Kcal	Quilocaloria
L	Litro
U.I.	Unidade Internacional
pH	Potencial hidrogeniônico
Na	Sódio
T	Tonelada
Zn	Zinco

## LISTA DE SIGLAS

ADNS	Ácido dinitrosalicílico
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas
NADH	Nicotinamida adenosina difosfato
USDA	U.S. Department of Agriculture
TACO	Tabela de Composição de Alimentos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVO</b> .....	15
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	15
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
3.1 TAMARINDO ( <i>Tamarindus indica</i> L) .....	16
3.1.1 Composição química e nutricional da polpa de tamarindo.....	18
3.1.2 Produção mundial e principais usos e consumo do <i>Tamarindus indica</i> L... ..	19
3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA .....	20
3.2.1 Leveduras e a fermentação alcoólica.....	23
3.3 PRODUÇÃO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE FRUTAS.....	24
3.4 APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL COMO FERRAMENTA PARA O ESTUDO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE FRUTAS.....	25
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1 MATERIAL.....	28
4.1.1 Obtenção da polpa de tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> L) .....	28
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TAMARINDO.....	29
4.2.1 pH, sólidos solúveis totais, acidez e açúcares redutores.....	29
4.2.2 Composição proximal e valor calórico.....	30
4.2.3 Pectina Total.....	30
4.2.4 Determinação de fenólicos totais.....	31
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL FRACIONADO COM PONTO CENTRAL.....	32
4.4 PRODUÇÃO DO FERMENTADO ALCOÓLICO DA POLPA DE TAMARINDO.....	33
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE TAMARINDO.....	34
4.5.1 pH e acidez total .....	34
4.5.2 Açúcares redutores.....	34
4.5.3 Teor e rendimento alcoólico.....	35
4.5.4 Fenólicos totais, cor, intensidade e tonalidade.....	35
4.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
5.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA POLPA DE TAMARINDO.....	37
5.1.1 pH, acidez e açúcares redutores e sólidos solúveis totais e compostos fenólicos.....	39
5.2 FERMENTAÇÃO ALCÓLICA DO TAMARINDO.....	42
5.2.1 Efeito da temperatura, concentração de enzima e levedura no teor alcoólico.....	42
5.2.2 Efeito da temperatura, concentração de enzima e levedura na concentração de açúcares redutores (AR).....	46
5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FERMENTADOS DE TAMARINDO.....	49
5.3.1 pH e acidez.....	49
5.3.2 Fenólicos totais, cor, intensidade e tonalidade.....	50
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	52
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53
<b>APÊNDICE</b> .....	67



## 1 INTRODUÇÃO

O tamarindo é originário da África equatorial e da Índia, cultivado em regiões de clima quente ou temperado. É uma cultura ideal para regiões semiáridas, especialmente nas áreas com eminência de seca prolongada uma vez que pode tolerar de 5 a 6 meses de condições de seca, mas não em longos períodos de chuva. O tamarindeiro é, geralmente, livre de pragas, tem uma extensão de vida de 80 a 200 anos, e pode render de 150 a 500 kg/ano de vagem por árvore saudável a partir dos 20 anos de idade. Também é considerada uma árvore de multiuso, sendo usada como fonte de madeira, fruta, sementes, forragem animal, extratos medicinais e de potenciais componentes industriais (ALVES et al., 2013).

Pelo seu agradável aroma e sabor ácido-doce, o fruto é muito utilizado na fabricação de refrescos, sorvetes, doces, licores e geleias. A polpa representa 30% do fruto, sendo os 70% constituído pela semente, casca e talo. De acordo com Ishola e Agbaji (1990), o fruto contém sais minerais, carboidratos e ácidos; e Lefreve (1971) reportou quantidades consideráveis de potássio (78 mg/100 g), fósforo (119 mg/100g), cálcio (74 mg/100g) e vitamina A (20 a 50 U.I) na polpa de tamarindo. A polpa é usada especialmente como laxante suave no tratamento da prisão de ventre, possuindo a propriedade de evitar a formação de cristais de oxalato de cálcio na urina (CLARCK, 2013).

As indústrias de alimentos possuem grande interesse em produtos com elevado valor nutricional para enriquecer e desenvolver novos produtos, e que tenha um valor acessível à população (KAJISHIMA et al., 2001).

A comercialização mundial de produtos derivados de frutas cresceu mais de cinco vezes nos últimos quinze anos. As pesquisas e estudos de aproveitamento integral de alimentos também vêm crescendo. Entre as frutíferas tropicais exóticas, o *Tamarindus indica* L se destaca, porém não há muitas pesquisas no ramo tecnológico quanto à produção de vinhos e fermentados (FAO, 2013).

O tamarindo geralmente é colhido na estação seca do ano, oferecendo desse modo, um retorno econômico potencial em mercados locais quando outros alimentos são escassos. Para pequenos produtores rurais, a cultura do tamarindeiro pode ser uma fonte de renda nos períodos difíceis, de baixo preço e baixa produtividade de certas culturas tradicionais.

A falta de informações técnico-científicas sobre a possibilidade do aproveitamento da polpa de tamarindo na produção de fermentados, gera uma estagnação de produtos para fins alimentícios diretos ou indiretos e são desperdiçadas toneladas dessa matéria-prima. Neste sentido e com base nas propriedades que o *Tamarindus indica* L. apresenta, pretende-se encontrar as melhores condições de fermentação afim de se obter um fermentado alcoólico.

## 2 OBJETIVO

Obter um fermentado alcoólico de tamarindo aplicando um processo simultâneo de sacarificação e fermentação alcoólica.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição proximal e físico-química da polpa de tamarindo;
- Avaliar o efeito da temperatura, concentração de leveduras e enzimas sobre a fermentação da polpa de tamarindo, aplicando planejamento fatorial fracionado com ponto central
- Analisar o fermentado quanto ao teor alcoólico, pH, acidez e açúcares redutores, parâmetros de cor e compostos fenólicos totais;
- Definir por meio de metodologia de superfície de resposta a melhor condição de fermentação.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 TAMARINDO (*Tamarindus indica* L.)

O tamarindeiro é considerado uma árvore de multiuso, podendo ser fonte de madeira, frutas, sementes, forragem animal, extratos medicinais e potenciais componentes industriais, como ácido tartárico, pectina e gelose (PEREIRA et al., 2011).

A espécie *Tamarindus indica* L., conhecida popularmente como tamarindo, pertence ao reino *Plantae*, sub-reino *Tracheobionta* da divisão *Spermatophytae* sub divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida* e sub classe *Risidae* integrante da ordem *Fabales*, família *Fabaceae* do gênero *Tamarindus* L. e espécie *Tamarindus indica* L. (SOEMARDJI, 2007).

De acordo com Donadio (1988) é uma árvore frutífera (leguminosa) que pode alcançar alturas de até 25 m. Seu tronco se divide em numerosos ramos curvados formando copa densa e ornamental, com folhas compostas e sensitivas (fecham por ação do frio), flores hermafroditas amarelas ou levemente avermelhadas (com estrias rosadas ou roxas) que se reúnem em pequenos cachos axilares (Figura 1).

**Figura 1- Árvore, flores, frutos e sementes do tamarindo**



**Fonte: Compilação do autor (2017)<sup>1</sup>**

1

<sup>1</sup> Montagem a partir de imagens coletadas nos sites pixabay e coisadecasa além de imagens obtidas pelo autor.

Segundo Queiroz (2010), o *Tamarindus indica* L. possui variedades, sendo divididas em ácidas e doces. As mais cultivadas são as ácidas, pois estas têm uma maior facilidade de desenvolvimento em locais quentes e ensolarados.

Donadio (1988) define o fruto do tamarindeiro como sendo uma vagem indeiscente com dimensões entre 2,5 a 17 cm de comprimento por 2 a 3 cm de largura, podendo ser reta ou curva, de extremidades arredondadas. É constituído de 11-30 % de casca, 30-55 % de polpa e 34-70 % de semente e pesa em torno de 10 a 15g (PEREIRA et al., 2007; YAHIA e SALIH, 2011). A vagem geralmente possui de 1 a 12 sementes, no entanto, os frutos oriundos da Índia são mais longos que as sementes oriundas dos frutos da África e América. As sementes são duras, brilhantes e lisas de cor avermelhada ou castanha. Sua casca lenhosa e quebradiça possui cor parda, sendo achatada nas extremidades entre sementes. A polpa de tamarindo é considerada macia e espessa, podendo ser ácida (ampla distribuição) ou doce, originária da Tailândia (PURSEGLOVE, 1987; CORONEL et al., 1986).

O tamarindo é considerado maduro quando sofre o desprendimento da casca de sua polpa, esse fenômeno ocorre aos 250 dias após a antítese (abertura das flores para fecundação) por conseguinte, o pico de maturação do fruto ocorre aproximadamente em torno de 280 dias, culminando com o desprendimento da planta (GURJÃO, 2006). Durante esse período a casca do fruto torna-se marrom assim como sua polpa, que também pode ter um tom marrom-avermelhado. A polpa fica pegajosa e as sementes ficam marrom perolado e rígidas. Quando maduro a polpa de tamarindo sofre um incremento na acidez total (ácido, açúcares redutores totais e pectinas, ao mesmo tempo o total de cinzas e compostos fenólicos sofrem um decréscimo (HERNADEZ-UNZON e LAKSMINARAYANA, 1982).

A colheita dos frutos do tamarindeiro deve ser realizada quando este possuir teor de umidade abaixo de 20 %, pois facilita a remoção da casca da polpa (YAHIA e SALIH, 2011).

### 3.1.1 Composição química e nutricional da polpa de tamarindo.

A composição da polpa de tamarindo assim como dos frutos de uma forma geral é alterada de acordo com as variações climáticas, manejo do solo e da planta durante o seu desenvolvimento. Segundo El-Siddig et al. (2006) a polpa de tamarindo *in natura* é caracterizada por possuir baixo teor de umidade e alto teor de proteínas, carboidratos e minerais. A Tabela 1 apresenta a composição nutricional da polpa de tamarindo segundo diferentes autores

**Tabela 1- Composição nutricional e mineral da polpa de tamarindo e seus valores de referência.**

Nutrientes*	USDA (2016)	TACO (2011)
Umidade	31,4	22,0
Cinzas	N/D	1,9
Proteínas	2,8	3,2
Lipídios	0,6	0,5
Carboidratos	62,5	72,5
Fibra	5,1	6,4
Alimentar		
Açúcares totais	38,4	N/D
Valor Calórico	239 Kcal	276 Kcal
Minerais**		
Na	28,0	N/D
K	628,0	131,0
Ca	74,0	37,0
Mg	92,0	59,0
Fe	2,8	0,1
Zn	0,1	N/D
P	113,0	12,0

\* valores expressos em g/100g em base seca; \*\* valores expressos em mg/100g;

N/D - Não determinado

Fonte: Autoria própria.

Observa-se na Tabela 1 que a polpa de tamarindo é rica em carboidratos com 62,50 a 72,5 g/100g, valor calórico 239 a 276 kcal e proteínas com 2,8 a 3,2.

Quanto ao teor de minerais destaca-se o potássio com 131 a 628 mg/100g. Rao e Methew (2012) encontraram teores de potássio entre 62 e 570 mg/100g; como também de outros minerais como o cálcio, estimado entre 86 e 466 mg/100g; o ferro entre 1,3 e 10,9 mg/100g e o fósforo entre 86 e 190 g/100g.

Em relação ao teor de fibras na polpa de tamarindo, Hamacek et al. (2013) encontraram 4,13 % (m/m) para polpa de tamarindo de frutos do cerrado de Minas Gerais. De acordo com Tabela de Composição de Alimentos - TACO (2011) o teor de fibras é de 6,4% (m/m) o que corresponde para ambos os autores um quantitativo 8,27 % em relação ao total de carboidratos presentes na polpa de tamarindo.

Quanto ao teor de pectinas na polpa estes são considerados baixos quando comparados aos teores existentes na semente, e são variáveis quanto ao método de extração e quantificação (RAO 1946; SHARMA et al., 2015).

A polpa de tamarindo é considerada rica em ácidos orgânicos, que contribuem em parte nas suas características sensoriais como ácido succínico, tartárico, málico, acético, cítrico e fórmico, sendo o ácido tartárico o majoritário com valores entre 12,2 e 23,8 % (EL-SIDDIG et al., 1999).

Os principais compostos voláteis encontrados na polpa são os derivados do furano com 44,4 %, ácidos carboxílicos com 33 %, furfural com 32,2 %, ácido palmítico com 14, 8 % e oleico 8,1 %. WONG et al. (1998 apud EL-SIDDIG et al., 1999). Além dos compostos majoritários acima mencionados 81 outros compostos voláteis foram identificados por Pino et al. (2014).

Com relação à composição dos pigmentos encontrados na polpa, estão presentes as antocianinas, que conferem a tonalidade vermelha e rosada, e as leuco-cianidinas, que é o tipo comumente encontrado na polpa dentre as variedades azeda e doce do tamarindeiro, além destes compostos também são encontrados os taninos e flavonoides que conferem a cor amarela a polpa (EL-SIDDIG et al., 1999).

### 3.1.2. Produção mundial e principais usos e consumo do *Tamarindus indica* L.

A maior produção em área de tamarindo encontra-se na Ásia, sendo a Índia o maior produtor e exportador mundial do fruto. Segundo o Spice Board Índia, vinculado ao Ministério do Comércio e Indústria da Índia, a área total de plantio do tamarindeiro entre 2012 e 2014 foi de 58.720 ha com produção de 189.980 t em 2014. A Tailândia, segunda produtora mundial de tamarindo, tem sua produção e

exportação concentrada na variedade doce do fruto. Outros países da Ásia produzem e exportam tamarindo em menor quantidade como o Sri Lanka. Nos países da América, a Costa Rica e México são considerados grandes produtores. No Brasil, não há registros de dados de produção e exportação do fruto (YAHIA e SALIH, 2011).

Segundo Soemardji (2007), todas as partes do *Tamarindus indicam* L. são usadas na medicina tradicional para tratamento de doenças. A polpa é indicada para o tratamento de constipação, disenteria, perda de apetite, náusea e asma; as sementes são utilizadas para o tratamento de ferimentos, úlcera, e queda de cabelo (DOUGHARI, 2006).

Na indústria alimentícia, o tamarindo é utilizado para a produção de polpa, caramelos, suco concentrado, polpa em pó, geleias e balas. Na Ásia, é utilizado como salmoura (mistura de tamarindo e outros ingredientes) como acompanhamento de molhos ou outras refeições principais (SINGH et al., 2007).

### 3.2. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A fermentação é um processo de reações químicas controladas enzimaticamente, onde acontece a degradação de moléculas orgânicas em compostos mais simples, de modo a liberar certa quantidade de energia (MANFROI et al., 2006; MENEGUZZO et al., 2015).

A obtenção de fermentados alcoólicos em escala laboratorial geralmente é feita utilizando sistemas descontínuos ou semicontínuos, onde todo o substrato e nutrientes são oferecidos no início do processo, diferenciando-se dessa forma dos processos contínuos e descontínuo alimentado.

Apesar dos processos descontínuos não precisarem de grandes investimentos e por serem práticos em sua execução, possuem a desvantagem de submeter o inóculo, a condições de inibição que dificultam o início da fermentação, bem como a duração desta, seja por excesso de glicose no meio (Efeito Crabtree), aumento de compostos ácidos ( $\text{pH} < 3$ ), baixa disponibilidade de nutrientes ou aumento da concentração de etanol. Além destes, têm-se problemas com contaminação, geralmente associada ao inóculo ou à condução do processo fermentativo como um todo (YOON e KANG, 1994).

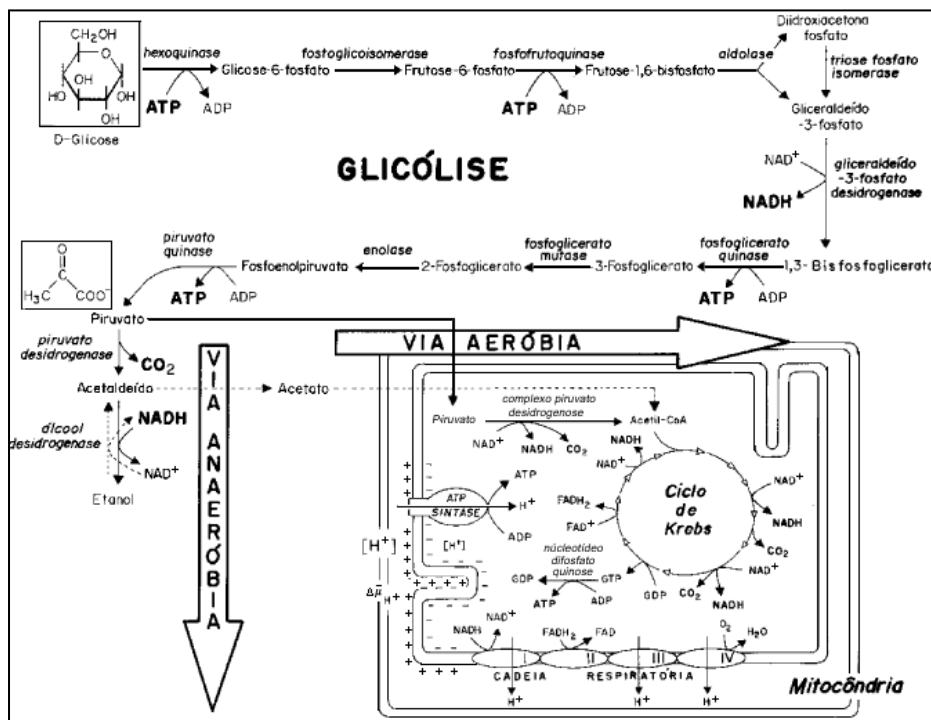
No Brasil, o processo fermentativo mais utilizado para fermentação alcoólica é o descontínuo alimentado associado ao reciclo de células, que propicia a possibilidade de controlar a velocidade de alimentação do reator diminuindo assim a inibição causada pelo substrato ou produto durante o período de duração do processo.

A fermentação alcoólica é obtida quase que exclusivamente pelas leveduras do gênero *Saccharomyces* sp. por meio de processo gerador de Adenosina Trifostato (ATP) através da degradação de moléculas de glicose em meio anaeróbio. Nesse processo, uma única molécula de glicose rende duas ATPs na ausência de oxigênio e sem a presença de transportadores de elétrons, sendo parte da energia produzida, conservada nas ligações dos produtos formados (FILHO, 2010; RETTORI e VOLPE 2000).

O metabolismo da glicose em etanol pelas leveduras é intermediado por 11 reações oxirredutoras, ordenadas em sequência e realizadas por enzimas específicas. Esse conjunto de reações é conhecido como via glicolítica ou EMP - Embden-Meyerhof-Parnas (Figura 2).

A fermentação alcoólica se inicia quando duas moléculas de piruvato são inicialmente convertidas em duas moléculas de acetaldeído e duas de dióxido de carbono, pela ação da piruvato descarboxilase. Em seguida, o acetaldeído formado é reduzido a etanol por ação da enzima álcool desidrogenase, tendo o NADH como fornecedor de elétrons (FILHO, 2010; NELSON et al.; 2014).

Figura 2: Diagrama do catabolismo das leveduras do gênero *S. cerevisiae*

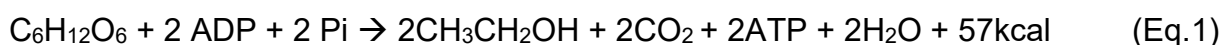


Fonte: *Rettori e Volpe (2000)*.

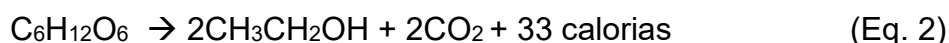
Pelo fato das reações da via glicolítica ocorrerem no citoplasma das leveduras, as enzimas envolvidas têm sua síntese, atuação e regulação mediadas por fatores externos e internos. Como fatores externos, pode-se citar a temperatura, o pH, oxigênio dissolvido, ausência ou presença em excesso de íons metálicos, nutrientes e aminoácidos. Como fator interno, têm-se os metabólitos primários e secundários em excesso, alteração do pH citoplasmático, supressão gênica entre outros (FILHO, 2010).

Para a produção de etanol pelas leveduras, estas catabolizam a fonte de carbono principal até a obtenção do piruvato e a partir desta, não só obtêm o etanol durante a fermentação alcoólica, como também os compostos intermediários, como os ácidos orgânicos, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cetonas, que vão conferir sabor, aroma ao fermentado (AQUARONE et al., 2013; FILHO, 2010).

A reação global da fermentação alcoólica é representada pela Equação 1.



De forma simplificada, Gay-Lussac representou a reação que envolve a fermentação alcoólica, como sendo a transformação de glicose em proporções equimolares de etanol e gás carbônico (AQUARONE et al., 2013).



Teoricamente, o rendimento da fermentação alcoólica ( $Y_{p/s}$ ) tendo como base o fator estequiométrico (0,51), fica em torno de 90%, estimando-se que parte dos açúcares metabolizados pela levedura será desviado para outros produtos (LIMA, 2002).

No entanto, se levar em consideração a proporção equimolar apresentada na equação de Gay-Lussac, pode-se dizer que a produção de álcool é da ordem de 53,3% em peso de glicose transformada. Sendo que na prática, o rendimento obtido em condições controladas não ultrapassa 48% em escala laboratorial, tendo esse valor a decrescer ainda mais em escala industrial (AQUARONE et al., 2013).

### 3.2.1. Leveduras e a fermentação alcoólica

As leveduras são microorganismos mesófilos, unicelulares, eucariotos heterótrofos e aeróbios facultativos com reprodução assexuada, pertencentes ao reino *fungi* do grupo dos ascomicetos. Tendem a ser maiores que as bactérias, possuindo um formato oval, arredondado ou elíptico, com dimensões entre 1 a 5µm de largura e de 5 a 12µm de comprimento (PELCZAR et al., 1996).

As leveduras do gênero *Saccharomyces sp.* se desenvolvem em uma ampla faixa de temperatura, entre 25 a 35°C, e restrita faixa de pH de 4,5 a 5,5. Apesar de não se ter unanimidade quanto à temperatura ótima de crescimento, sabe-se que as *Saccharomyces* sofrem forte influência do meio em que estão inseridas, para se desenvolverem. A sua reprodução é do tipo assexuada, ocorrendo por gemulação ou brotamento. Nesse tipo de reprodução, as células das leveduras dividem-se formando brotos que podem permanecer ligadas à célula mãe, formando uma cadeia de células, ou se separarem, configurando uma nova célula individualizada (NAKANO, 2000; SIMPSON, 1996).

O crescimento celular das leveduras, em condições ótimas, depende da capacidade destas de utilizar os nutrientes e a fonte de carbono do meio, para sintetizar macromoléculas que farão parte da estrutura celular, como também para a obtenção de ATP necessária para a atividade metabólica. A glicose, principal fonte de carbono, também exerce função reguladora importante no metabolismo das *Saccharomyces*, principalmente no que tange à produção de enzimas, o que afeta diretamente seu crescimento e metabolismo (CARRASCO et al., 2001; TRONCHONI et al., 2009).

Durante o metabolismo fermentativo das *Saccharomyces*, a capacidade para catabolizar fontes de carbono em biomoléculas celulares, é menos eficiente, impactando de forma negativa na manutenção e desenvolvimento da levedura no mosto/meio a ser fermentado (PELCZAR et al., 1996).

A presença de nutrientes no meio fermentativo é outra exigência requerida pelas *Saccharomyces*. Algumas vitaminas como o ácido pantotênico e tiamina, sais minerais (K, Mg, Ca, Zn, Cu) entre outros devem estar presentes só que em quantidades adequadas, uma vez que em excesso ou em falta, tendem a reduzir a adaptação e o crescimento celular. No entanto, ao se utilizar polpas de frutas para



fermentação, têm-se uma tendência menor em suplementar o meio com nutrientes, uma vez que estes estão presentes naturalmente e em concentração adequadas, enquanto que a suplementação com vitaminas deve ser avaliada (AQUARONE et al., 2013; FILHO, 2010).

Na obtenção de bebidas alcoólicas derivadas de polpas de frutas de caráter ácido, o principal fator de inibição da fermentação pelas leveduras está relacionado ao tipo de ácido e sua concentração no meio, o que leva a práticas de correção do mosto com carbonato de cálcio ou aumento da concentração da fonte de carbono (sacarose ou caramelo) pelo processo conhecido como chaptalização, que deve seguir legislação específica (AQUARONE, 2013).

Mesmo sabendo das exigências mínimas para o desenvolvimento e crescimento da biomassa celular, a escolha de leveduras do gênero *Saccharomyces* com as melhores adaptações ao meio/mosto a ser fermentado, faz-se necessário, principalmente a escolha de leveduras que tenham alta tolerância ao etanol e baixa produção de glicerol e álcoois superiores. Tais características contribuem fortemente não só para a melhor adaptação e crescimento das leveduras em condições ótimas, como também influencia na qualidade da bebida (FILHO, 2010; AQUARONE et al., 2013).

### 3.3 PRODUÇÃO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE FRUTAS

Ao se produzir fermentados alcoólicos de frutas, é conveniente a adição de sacarose no mosto a fim de se obter teores alcoólicos conforme legislação específica para a bebida. Na conversão da molécula de sacarose a etanol pelas leveduras, a via metabólica utilizada é denominada de Embden-Meyerhof-Parnas (Figura 2).

O uso de frutas e seus derivados como matéria-prima para a produção de bebidas fermentadas, apresenta-se como uma das soluções para minimizar as perdas de frutos na lavoura, ou de frutos não domesticados, mas de amplo consumo numa dada região. Segundo Prudêncio (1969), qualquer fruto ou vegetal com umidade significativa, açúcares e outros nutrientes que possam ser metabolizados por leveduras durante a fermentação, pode servir de matéria-prima para a produção de bebidas fermentadas.

Sendo assim, fermentado de frutas é a bebida alcoólica com graduação de 4 a 14% (v/v), a 20°C, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura” (BRASIL, 1997). O processo de obtenção de fermentados a partir de frutas é muito semelhante ao processo de produção de vinho, divergindo deste mediante as características de cada tipo de fruta a ser utilizada.

As etapas do processo de fermentação são comuns a todos os tipos de fermentados alcoólicos independentemente do tipo de fruta que será utilizado como matéria-prima, sendo estas: mostura, sulfitação, chaptalização (opcional), fermentação, trasfega (opcional), filtração, pasteurização e engarrafamento.

Entretanto, a produção de bebidas alcoólicas à base de frutas (exceto uva), não é padronizada e única, no que tange aos parâmetros de controle do processo fermentativo, tais como o tipo de levedura, a temperatura ideal da fermentação, o tratamento que é dado ao mosto da fruta, ou à própria fruta, antes de sofrer a fermentação (DIAS et al., 2003).

#### 3.4 APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL COMO FERRAMENTA PARA O ESTUDO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE FRUTAS.

O emprego de métodos de planejamento fatorial para o estudo da fermentação alcoólica vem possibilitando a investigação de diferentes variáveis de interesse de forma simultânea, de modo a permitir se obter as melhores condições de processo para uma variável resposta, sendo o teor alcoólico a resposta de maior interesse. Ao mesmo tempo este tipo de planejamento tem por característica a realização de fermentações de maneira organizada e em escala de produção menores, o que acaba reduzindo o tempo de execução do experimento além de reduzir os custos financeiros (SILVA et al., 2008)

Estudos sobre o emprego de planejamentos experimentais associados a metodologia de superfície de resposta, para avaliar a fermentação alcoólica de frutas, apresentaram similaridades e Goes e Zangirolani (2005) ao utilizarem o método de superfície de resposta para avaliar o efeito das variáveis independentes temperatura (18 a 30 °C) e pH (2,8 e 3) na fermentação de mosto chaptalizado de uva a 13,5 °Brix, variedade “Itália”, com e sem casca, obtiveram teor alcoólico máximo de 90 g/L em pH 3,3 e temperatura de 18 °C em mosto sem casca e teor alcoólico de 92 g/L no mosto com casca. Estes resultados segund os autores,

foram satisfatórios, uma vez que foram utilizadas leveduras selvagens na concentração de  $10^7$  células/mL e uvas de baixa qualidade. Entretanto, devido ao modelo polinomial de segunda ordem apresentar um coeficiente de determinação ( $R^2 < 0,70$ ), não representou de forma significativa os resultados experimentais.

Miljic e Puskas (2014), encontraram teor alcoólico de 62,3 mL/L na fermentação de mosto de ameixa (*Prunus domestica* L.) com 125 g/L de açúcares totais em pH 3,6, a temperatura de 25 °C e 0,25 g/kg de levedura, obtendo um rendimento de 84 %. O modelo polinomial de segunda ordem obtido, por meio do delineamento de composto central para variável teor alcoólico, foi significativo ( $R^2 = 0,98$ ).

Du et al. (2016) avaliaram os fatores temperatura, entre 20 a 28 °C, sólidos solúveis totais de 22 a 26 °Brix, concentração de leveduras entre 1 e 9 % (v/v) e pH entre 2,5 e 3,5, na fermentação alcoólica de bayberry (*Myrica rubra*). A condição ótima encontrada pela metodologia de superfície de resposta foi de 26,5 °C de temperatura, 22 °Brix inicial, 4% (v/v) de inóculo e pH de 2,5. O modelo polinomial de segunda ordem gerado para a variável resposta teor alcoólico foi significativo ( $p < 0,0001$ ). A levedura do gênero *Saccharomyces cerevisiae* estirpe YF152 utilizada foi selecionada por ser resistente ao valor de pH considerado baixo e à concentração de etanol elevada.

Ao fermentarem mosto de amora (*Morus alba* L.), Wang et al. (2013) obtiveram valor máximo de 11,95 % em álcool (110 mL/L) no ponto central do delineamento Plackett-Burman, com temperatura de 31,4 °C, pH de 3,2 e leveduras a 53 g/L em 6 dias de fermentação. Valores similares de teor alcoólico foram encontrados em todos os ensaios na faixa de pH estudado, entre 3,0 e 3,6. A concentração de leveduras utilizada em mostos de caráter ácido deve ser superior àqueles empregados em condições ótimas de pH, para que se obtenha rendimentos em álcool satisfatório.

Chakraborty et al. (2015) ao utilizar a superfície de resposta para estudar os fatores temperatura, tempo de fermentação e pH na produção de vinhos de marmeleiro da Índia (*Aegle marmelus* L.) a 22,31 °Brix, produziram fermentados com teor alcoólico máximo de 81,3 mL/L em condições de pH, temperatura e tempo de fermentação de 4,5, 34 °C e 48 h, respectivamente. Segundo os autores, o modelo polinomial quadrático foi significativo para o processo fermentativo do marmelo. No

entanto, os mesmos autores não citam o volume do inóculo adicionado em relação ao volume do mosto, para obtenção do referido rendimento.

Outros trabalhos sobre a produção, caracterização e cinética de fermentados de frutas foram realizados como o de banana (ARRUDA et al., 2003); cajá (DIAS et al., 2003); jaboticaba (SILVA et al., 2008); abacaxi (DINIZ e PINHEIRO, 2013; PARENTE et al., 2014); acerola (SANTOS et al., 2005); ata, ciriguela e mangaba (MUNIZ et al., 2002); tamarindo (MENDES et al., 2011); laranja (CORAZZA et al., 2001); fruto da palma forrageira ou figo-da-índia (LOPES et al., 2006); caqui (NUNES et al., 2009); açaí (SANTOS et al., 2013); fermentado misto açaí com cupuaçu (PEREIRA et al., 2014); butiá (ZINGLER et al., 2009); cagaita (OLIVEIRA, et al., 2010); caju (TORRES NETO et al., 2006); fruto do mandacaru (ALMEIDA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2011); e, jaca (ASQUIERI et al., 2008; ASSIS NETO et al., 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Os frutos de tamarindos foram adquiridos em feiras e mercados do município de São Luís - MA nos meses de setembro e outubro de 2015/2016 e transportados para o Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Vegetal do IFMA – Campus Maracanã, onde foram estocadas em temperatura ambiente nas respectivas embalagens até o dia do processamento para a produção de polpa que ocorreu em 48h da data da compra

As enzimas utilizadas neste projeto foram a Viscozyme L® e Pectinex Ultra Tropical® (Novozyme®, Dinamarca) cedidas pela LNF – Latinoamericana.

A enzima Viscozyme L® segundo o fabricante, possui atividade de 100 fungal beta-glucanase por grama (FGB/g) sendo considerada uma mistura de  $\beta$ -glucanase, xilanase e celulase. A Pectinex Ultra Tropical possui atividade 5000 pectinase por grama (PECTU/g) sendo uma mistura de pectina liase e poligalacturonase. Ambas as enzimas possuem atividade ótima entre as temperaturas de 35 e 55 °C e pH entre 4 e 5,5.

Para a fermentação alcoólica foram adquiridas no comercio local leveduras gênero *Saccharomyces cerevisiae* da marca comercial Fleischmann (lote 331).

Os demais reagentes utilizados foram adquiridos em comércio local da cidade de Londrina – PR.

#### 4.1.1 Obtenção da polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L.)

As vagens foram selecionadas pelo critério de integridade da casca e sanidade da polpa. Em seguida, foram lavadas com água corrente e descascadas. A obtenção da polpa foi realizada pelo método tradicional de maceração em que as vagens selecionadas foram imersas em água na relação 1:1 (m/v) em baldes de polipropileno para hidratação da polpa por 15 min. Após este procedimento, a polpa foi pasteurizada a 70 °C, por 30 min em panelas de 10 L sob agitação constante, posteriormente esfriada e embalada em sacos plásticos estéreis, congelada e

transportada em caixas térmicas até o laboratório de Vegetais da UTFPR –Londrina; por fim, armazenada em freezer a  $-4^{\circ}\text{C}$  até a elaboração dos fermentados.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TAMARINDO

### 4.2.1 pH, sólidos solúveis totais e acidez e açúcares redutores.

A determinação do pH foi realizada pela leitura direta de uma solução 10g/L de polpa de tamarindo em 50 mL de água destilada, em potenciômetro de bancada marca Tecnopon<sup>®</sup> (IAL, 2008; OLIVEIRA, L. A., 2010).

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando-se a polpa de tamarindo diluída em água destilada na proporção de 1:2 (m/v), sendo centrifugada a 5000 rpm por 10 min, uma alíquota do sobrenadante foi retirada e a leitura efetuada em refratômetro digital de bancada (Mettler Toledo<sup>®</sup>), sendo o resultado expresso em °Brix.

A acidez foi determinada pesando-se 5 g de polpa de tamarindo diluída em 100mL de água e titulada com solução de NaOH 0,1 M até o ponto de viragem, tendo como indicador o azul de bromotimol. Os resultados foram expressos em g/100g de ácido tartárico (IAL, 2008).

Os açúcares redutores foram determinados pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico – (ADNS) de cor amarela que é reduzido em meio alcalino, formando o 3-amino-5-nitrosalicilato que é estável, e apresenta coloração em tom de laranja-avermelhado. O produto formado entre a reação do ADNS e os monossacarídeos tem máxima absorvância no espectro visível em 535 nm.

Uma curva de calibração foi estabelecida por meio de soluções de glicose anidra com concentrações entre 0,1 a 1 g/L. A amostra foi preparada diluindo-se 5 g de polpa em 500 mL de água destilada. Duas alíquotas de 50 mL foram transferidas para tubos tipo Falcon posteriormente centrifugadas a 11.500 rpm por 10 min. Alíquotas de 1 mL foram retiradas do sobrenadante, e adicionadas em tubos de ensaios. Em cada um dos tubos, foram colocados 2,5 mL de DNS reagente e aquecidos por 5min a 100 °C. Após o aquecimento, os tubos foram resfriados em banho de gelo e diluídos com 15 mL de água destilada. O preparo do branco foi realizado substituindo 0,5 mL da amostra por água destilada. (MALDONADE et al., 2013; MILLER, 1959)

#### 4.2.2 Composição proximal e valor calórico

As metodologias para a determinação de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram baseadas na AOAC (2015).

Os carboidratos foram determinados por diferença segundo a Equação 3 e valor calórico pela Equação 4. (AOAC, 2015):

$$\%C = 100 - (U + P + L + Cz) \quad (\text{Eq.3})$$

$$\text{Valor calórico (kcal/100g)} = [(Px4) + (Lx9) + (Cx4)] \quad (\text{Eq.4})$$

Onde:

%C – Percentual de Carboidratos

C - Carboidratos

U – Umidade

P - Proteínas

L – Lipídeos

Cz - Cinzas

4 – Fator de conversão em kcal de proteínas e carboidratos.

9 – Fator de conversão em kcal de lipídios.

#### 4.2.3 Pectina total

A extração das pectinas foi realizada segundo a técnica descrita por McCready e McComb (1952). A análise colorimétrica foi realizada segundo a reação entre ácido galacturônico e o carbazol, segundo Bitter e Muir (1962). Uma alíquota de 1 mL da solução de pectina da polpa de tamarindo foi adicionada a tubos de ensaio e resfriados a 4 °C, transferiu-se lentamente aos tubos 5 mL da solução de tetraborato de sódio 0,025 M resfriado previamente em banho em banho de gelo. Agitou-se os tubos em vortex por 1 min. Em seguida levou-se os tubos ao aquecimento por 10 min a 100 °C sendo estes posteriormente esfriados em banho de gelo. Adicionou-se em cada um dos tubos 200 µL de carbazol 0,125 %

novamente foram aquecidos a 100 °C por 15 min e resfriados em banho de gelo. Agitou-se os tubos e efetuou-se a leitura dos tubos a 530 nm no espectrofotômetro FEMTO 800XI. Uma curva de calibração de ácido galacturônico foi obtida entre as concentrações 9,99 a 179,84 µg/mL. O branco foi obtido com todos os reagentes menos a amostra. A concentração de pectina foi determinada pela Equação 5 e expressa em gramas de ácido galacturônico por 100 g da amostra (OLIVEIRA, 2010).

$$PCT = Y \times V_1 \times V_2 \times F \times 100/106 \times v \times m \quad (\text{Eq 5})$$

Em que:

Y = µg de ácido galacturônico

F = Fator de diluição da amostra

V<sub>1</sub> = Volume do balão de 500 mL

V<sub>2</sub> = Volume do balão de 50 mL

106 = Fator de conversão de µg para g

v = volume da alíquota da amostra (5 mL)

m = massa da amostra em gramas

#### 4.2.4 Determinação dos fenólicos totais,

O extrato de tamarindo foi obtido pesando-se 50 g da polpa e misturando-se com 100 mL de solução alcoólica a 20 %. Do extrato hidroalcoólico obtido tomou-se 0,5 mL da amostra em tubos de ensaio adicionou-se 8 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin – Ciocalteau diluído em água destilada na proporção 1:10 (v/v). A solução foi homogeneizada e acrescentou-se aos tubos 1 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 % (m/v). Após 2 h de repouso foram realizadas as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro a 720nm. Como padrão utilizou-se o ácido gálico nas concentrações de 10 a 50 mg/L O branco foi estabelecido como sendo todos os reagentes menos a amostra. (LIMA, 2008)



### 4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL FRACIONADO COM PONTO CENTRAL

Com um objetivo de verificar a influência das variáveis independentes, temperatura ( $X_1$ ), concentração de enzimas ( $X_2$ ) e de leveduras ( $X_3$ ), no teor alcoólico de fermentados de tamarindo, realizou-se um delineamento experimental fracionado com ponto central  $2^{K-p} + C$ , com dois níveis para cada fator (+1 e -1) e com 4 repetições no ponto central (Tabela 2 e 3).

Os valores de temperatura foram definidos entre 30, 35 e 40 °C, para o crescimento de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae* e atividade das enzimas Pectinex Ultra Tropical® e Viscozyme L.® (CARRASCO et al., 2001; RENSBURG e PRETORIUS, 2000; TRONCHONI et al., 2009).

A concentração das enzimas Pectinex Ultra Tropical® e Viscozyme L.® selecionadas foram de 250, 500 e 750 mg/L foram estabelecidas de acordo com o trabalho realizado por Aquino (2008) e especificações do fabricante, que recomenda o uso de 0,05 a 0,4 % (v/v) (Novozyme® Dinamarca) e empregadas em igual concentração em relação ao volume do mosto.

Quanto ao inóculo de partida de *Saccharomyces cerevisiae* foram definidas as concentrações de 5, 10 e 15 g/L determinadas a partir de experimentos exploratórios.

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi a técnica empregada como modelo empírico matemático, para estimar a relação e interação entre os fatores independentes e a variável resposta estudada. Os valores experimentais foram avaliados de acordo com a Equação 6 como uma equação polinomial de segunda ordem incluindo os efeitos lineares e quadráticos.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{j=1}^n \beta_{jj} X_j^2 \quad (\text{Eq. 6})$$

**Tabela 2- Fatores e suas variáveis empregados no planejamento fatorial fracionado  $2^{3-1}$ .**

Fatores	Nomes	Níveis		
		-1	0	+1
X <sub>1</sub>	Temperatura (°C)	30	35	40
X <sub>2</sub>	Enzima (mg/L)	250	500	750
X <sub>3</sub>	Leveduras (g/L)	5	10	15

Fonte: Autora Própria

**Tabela 3- Matriz do delineamento experimental fracionado com ponto central, com seus valores codificados e reais para as variáveis temperatura (X<sub>1</sub>), concentração de enzimas (X<sub>2</sub>) e de levedura (X<sub>3</sub>).**

N	Temperatura	Enzima	Levedura	Temperatura	Enzima	Levedura
	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (g/L)	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (g/L)
1	-1	-1	+1	30	250	15
2	+1	-1	-1	40	250	5
3	+1	+1	+1	40	750	15
4	-1	+1	-1	30	750	5
11	0	0	0	35	500	10
12	0	0	0	35	500	10
13	0	0	0	35	500	10
14	0	0	0	35	500	10

Fonte: Autora Própria

#### 4.4 PRODUÇÃO DO FERMENTADO ALCOÓLICO DA POLPA DE TAMARINDO

Para a produção dos fermentados alcoólicos partiu-se da polpa de tamarindo diluída na proporção de 1:1 (m/v), sendo esta diluição utilizada no decorrer de todo o trabalho. Para condução da fermentação alcoólica, a levedura foi hidratada em 100 mL de água destilada e reativada em banho-maria por 15 min a 30 °C.

Os ensaios foram realizados em microescala, utilizando-se *erlenmeyer* de 250 mL e volume do mosto de 100mL sendo todo experimento conduzido de forma aleatória e em triplicata. A fermentação ocorreu por 24 h sob agitação a 137 rpm em câmara de agitação de acordo com o delineamento experimental fracionado com ponto central (Tabela 3)

## 4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE TAMARINDO

### 4.5.1 pH e acidez total

O pH foi determinado por meio de potenciômetro digital de bancada marca Tecnopon®, sendo a aferição realizada em 25 mL da amostra de fermentado de tamarindo na temperatura ambiente.

A acidez total foi determinada diluindo-se 5 mL do fermentado em 100 mL de água destilada em Erlenmeyer de 250 mL. A solução foi titulada com NaOH - 0,1 M tendo como indicador o azul de bromotimol. A acidez foi expressa em meq/L de ácido tartárico (IAL, 2008).

### 4.5.2 Açúcares redutores

Os açúcares redutores foram determinados pelo método do Ácido 3,5-dinitrosalicílico – (ADNS) de cor amarela que é reduzido em meio alcalino, formando o 3-amino-5-nitrosalicilato que é estável, e apresenta coloração em tom de laranja-avermelhado. O produto formado entre a reação do ADNS e os monossacarídeos têm máxima absorbância no espectro visível em 535 nm.

Uma curva de calibração foi estabelecida por meio de soluções de glicose anidra com concentrações entre 0,1 a 1 g/L. A amostra foi preparada transferindo-se 0,5 mL de fermentado para tubos de ensaio contendo 1mL de água destilada. Em cada um dos tubos, foram colocados 2,5 mL de DNS reagente e aquecidos por 5 min a 100 °C. Após o aquecimento, os tubos foram resfriados em banho de gelo e diluídos em 10 mL de água destilada. O preparo do branco foi obtido substituindo 0,5 mL da amostra por água destilada. (MALDONADE et al., 2013; MILLER, 1959).

#### 4.5.3 Teor e Rendimento Alcoólico

O teor alcoólico foi determinado pelo método ebulliométrico e seus valores expressos em mL/L. O método se baseia no princípio das soluções hidroalcoólicas possuírem ponto de ebulição intermediário entre o álcool puro e o da água a pressão constante. Sendo assim, o teor alcoólico pode ser medido com base no ponto de ebulição da mistura, por meio de régua graduada e calibrada nesses pontos de ebulição intermediários (CURVELO-GARCIA, 1988).

O rendimento das fermentações foi calculado utilizando-se os valores de etanol produzido (g/100g) e dos ART no mosto (g/100g), pela Equação 7.

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{\text{Etanol}_{\text{g}/100\text{g}}}{\text{ART}_{\text{mosto}} \times 0.5111_{\text{g/g}}} \times 100 \quad (\text{Eq.7})$$

Onde:

Etanol g/100g =  $d_{\text{etanol}}$  x Teor alcoólico

considerando:  $d_{\text{etanol}} = 0.97834 \text{ g/cm}^3$  (20 °C)

ART mosto = açúcares redutores presente no mosto

#### 4.5.4 Fenólicos totais e cor, intensidade e tonalidade

Os compostos fenólicos totais foram quantificados por meio do reagente de Folin-Ciocalteu pela metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965), modificada por Meinhart e colaboradores (2010), com adaptações. Uma alíquota de 100 µL de cada amostra foi adicionada em tubos de ensaio, sendo adicionada 1,900 µL de água destilada, 1000 µL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v). Após 3 min, 2000 µL de solução de carbonato sódico a 7,5% foi adicionado. Os tubos foram mantidos em repouso por 2 h protegidos da luz. A medida da absorbância foi realizada a 765 nm. A curva padrão foi realizada utilizando-se solução hidroalcoólica 10 % (v/v) de ácido gálico, entre as concentrações 50 e 500 mg/L, os resultados foram expressos em equivalentes gramas de ácido gálico por 100 mL da amostra.

A absorvância foi medida em espectrofotômetro – UVis, por meio de cubetas de quartzo de 1cm de percurso ótico, sendo as leituras da absorvância efetuadas a 420 nm, tendo a água destilada como branco. A intensidade da cor foi determinada pela soma das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm e a tonalidade pelo resultado do quociente entre a absorvância a 420 e 520 nm. (GLORIE, 1984; RIZZON, 2010).

#### 4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os delineamentos experimentais, gráficos e testes estatísticos foram realizados pelos *softwares* ACTION-STAT versão 3.1.1 e BIOESTAT 5.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA POLPA DE TAMARINDO

A composição proximal do tamarindo é apresentada na Tabela 4. É importante definir a composição dos substratos a ser utilizada durante um processo de fermentação alcoólica, pois esta possibilita conhecer a necessidade de correções do substrato para obter o maior rendimento em volume de álcool, sem prejudicar as características sensoriais do produto.

**Tabela 4- Composição proximal de polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L)**

Componentes	Valores por 100g**
Umidade	81,6 (± 0,13)
Cinzas	0,96 (± 0,08)
Proteínas	3,08 (± 0,05)
Lipídios	1,14(± 0,4)
Carboidratos*	13,22%
Valor calórico	79 kcal
Pectina	0,65 (± 0,06)

\*calculado por diferença; \*\* expresso em base seca  
Fonte: Autoria Própria

A umidade de 81,6 % (m/m) encontrada para a polpa de tamarindo, dos frutos oriundos de São Luís – MA, foi superior ao valor encontrado por Hamacke et al. (2013) ao trabalharem com polpas de tamarindo do cerrado de Minas Gerais, que foi de 35% (m/m).

Valores menores (22 %, m/m) foram reportados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2016), 31,4 % (m/m). Suliemann et al. (2015), encontraram

valores entre 5,80 e 15,20 % (m/m), para polpas de tamarindo obtidos de genótipos (Tamarindeiros) de diferentes regiões do Sudão, na África.

A umidade das polpas de frutas pode divergir de acordo com a sua origem, se diretamente do fruto ou de polpa processada. As polpas estudadas, nesse trabalho, enquadram-se no segundo grupo, o que eleva consideravelmente o teor de umidade quando comparado ao fruto *in natura*. Associado a isso, os valores sofrem influência do grau de maturidade e período de estocagem do fruto antes das determinações analíticas, uma vez que o fruto ao longo do seu estágio de maturação tende a perder água por dessecação (GURJÃO, 2006).

Quanto ao teor de cinzas, o valor de 0,96 % (m/m) é menor que aos encontrados na literatura. Valores entre 3,90 e 5 % (m/m) foram determinados em polpa de tamarindo no Sudão (SULIEMANN et al., 2015). No Brasil, Hamacke et al. (2013), obtiveram valor de 2,95 % (m/m) e na TACO (2011), encontra-se 1,9 % (m/m) de cinzas para o tamarindo cru (*in natura*). As cinzas de um alimento representam de forma indireta o quantitativo de minerais existentes na matéria-prima, sendo este resultado influenciado pela quantidade de água na amostra. De acordo com Cecchi, (2003), o conteúdo de cinzas totais em frutas e hortaliças frescas variam de 0,3 a 2,1% (m/m)

Segundo dados de referência da USDA (2016) e da TACO (2011), o conteúdo de proteína na polpa de tamarindo foram, respectivamente, de 2,8 e 3,2% (m/m). Suliemann et al. (2015) encontraram valores entre 1,9 e 3,2 % (m/m) de proteínas em polpa de tamarindo de três regiões do Sudão. Khairunnuur et al. (2009) obtiveram 2,4 % (m/m) de proteínas em polpa de tamarindo de frutos originários da Malásia. Valores de proteínas entre 5,44 % e 5,3 % (m/m), foram respectivamente encontrados na África e Ásia, sendo considerados elevados Suliemann et al. (2015) Para Hamacek et al. (2013) obtiveram 6,9 % (m/m) de proteínas na polpa de tamarindos do cerrado de Minas Gerais, valor superior ao encontrado na literatura e nesta pesquisa.

A maior fonte de proteínas no tamarindeiro, encontra-se nas sementes e folhas. A polpa não é considerada fonte de proteínas. As variações dos resultados apresentados podem ser atribuídas aos genótipos das árvores de origem dos frutos.

Sobre o teor de lipídios, Suliemann et al. (2015) apresentaram valores entre 5,10 a 5,60 % (m/m) para as amostras de tamarindo, estudadas do Sudão. Teor similar de 5,04 % (m/m) de lipídios, foi obtido por Hamacek et al. (2013). Estes

valores encontram-se acima daqueles reportados na TACO (2011) que é de 0,5 % (m/m) e USDA (2016) de 0,6 % (m/m), como também das amostras de polpas de frutas de tamarindo utilizadas nestes trabalho, oriundas de São Luís – MA, com 1,14 % (m/m) de lipídios. Alterações no teor de lipídeos na fruta está diretamente associada às características genéticas da planta de origem como também de seu processamento.

Sobre o conteúdo de carboidratos, o valor obtido foi de 13,22 % (m/m), sendo inferior ao de Hamacek et al. (2013), que foi de 50,07 % (m/m) e Khairunnuur et al. (2009), 51,50 % (m/m). Suliemann et al. (2015) relataram valores ente 70,9 e 78,08 % (m/m).

O valor calórico encontrado foi de 79 kcal em 100 g de amostra neste trabalho. Hamacke et al. (2013) e TACO (2011) obtiveram 270 kcal e 276 kcal, respectivamente. O valor calórico de frutas depende diretamente da relação existente entre os componentes como os lipídios, proteínas, carboidratos da amostra. No entanto, elevado teor de umidade tende a resultar em menor valor calórico.

O teor de pectinas na polpa de tamarindo ficou em 0,65 g/100g. Segundo Canteri et al.; (2014) o teor de pectinas em base úmida é de 1,71 %, não indicando o valor referente à matéria seca. Sha (2014) considera a polpa de tamarindo uma boa fonte de pectinas, com 2,8 %. Os teores de pectinas encontrados neste trabalho não podem ser considerados inferiores aos encontrados na literatura devido às diferenças nos métodos de extração e quantificação utilizados por cada autor, e foi similar ao encontrado em outros frutos tropicais como o umbu (OLIVEIRA, 2010)

#### 5.1.1 pH, acidez, açúcares redutores, sólidos solúveis totais e compostos fenólicos

A composição química da polpa de tamarindo é apresentada na Tabela 5. As medidas de pH, acidez e açúcares redutores estão associados diretamente ao estágio de maturação do fruto no ato da colheita, como também das condições climáticas e edáficas que a planta de origem está submetida (GURJÃO, 2006).

Uma vez que a polpa foi obtida e armazenada, os parâmetros acima mencionados, indicam a estabilidade ao longo do tempo e são considerados importantes na determinação da vida útil da polpa (NAGALAKSHMI et al., 2002).



**Tabela 5- Parâmetros físico-químicos de polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**

pH	Acidez*	Açúcares Redutores	SST**	Fenólicos Totais
	g/100g	(m/m)	°Brix	mg EAG/L
2,49(±0,13)	20,6(±0,2)	6,9 a 9,1(±1.55)	16,56(±0,00)	679,58 (±6,42)

\* Valor expresso em ácido tartárico; \*\* valor expresso em percentual em massa da amostra (m/m).

Fonte: Autoria Própria.

Gurjão (2006) observou uma variação no pH entre 1,5 a 1,8 na polpa de tamarindo *in natura*, num intervalo de 30 dias correspondente ao início e término da maturação do fruto. Hamacek et al. (2013) obteve valores de pH 2,96, enquanto Suliemann et al. (2015) encontraram pH entre 2,95 e 3,40, valores superiores ao encontrado neste trabalho.

A quantidade de umidade presente na polpa é fator de maior influência na flutuação do pH na amostra, uma vez que o fruto *in natura* se apresenta desidratado quando maduro. O baixo pH apresentado pela polpa de tamarindo é considerado positivo na manutenção das características físico-químicas durante estocagem, por inibir atividades enzimáticas, mecanismos de oxidação que envolvam metais, além de promover controle microbiológico de agentes deteriorantes (EL-SIDDIG et al., 1999; SULIEMANN et al., 2015).

A acidez da polpa foi de 20,6 % em ácido tartárico, valores em torno de 28,80 a 38,80 % foram encontrados por Suliemann et al. (2015) no Sudão e de 18,58 % por Hamacek et al. (2013) em Minas Gerais.

A acidez da polpa de tamarindo tende a evoluir ao longo do processo de maturação do fruto e a se estabilizar quando maduro, pelo aumento da concentração de ácidos orgânicos, dentre eles o ácido tartárico, pelo processo de desidratação (LOMBARDI et al., 2000).

A variação ou não da acidez e pH em polpas de frutas, é atribuída ao efeito tampão que ocorre nos frutos, resultante da interação entre os sais de sódio e potássio com os ácidos orgânicos (OLIVEIRA, L. A., 2010).

O tamarindo possui outros ácidos orgânicos como o oxálico, succínico, cítrico, quínico e ácido ascórbico, este último é encontrado em baixa concentração e varia de acordo com o genótipo da planta, valores entre 2 a 20 mg (RAO e MATHEW, 2012).

A relação entre o teor de sólidos totais (°Brix) e os ácidos orgânicos na polpa de tamarindo foi de 0,80, no entanto, devido à pungência do ácido tartárico presente, a doçura do fruto é mascarada. Essa mesma relação é utilizada para classificar o fruto em azedo (*sour*) ou doce (*sweet*), sendo um dos principais critérios para seleção de genótipos de tamarindeiro para fins de domesticação (RAO E MATHEW, 2012; SULIEMANN et al., 2015).

O conteúdo de açúcares redutores (AR) na polpa de tamarindo utilizadas neste trabalho variou de 69 a 91 g/L. El-Siddig et al. (1999), mencionam que de 30 a 40 % na polpa de tamarindo é composta por AR, sendo 70% total por glicose e 30 % por frutose (ISHOLA et al., 1990).

Van den Bilcke et al. (2014) encontraram valores de (AR) entre 27,94 e 32,25 % em tamarindos de diferentes províncias do Mali, deste total, 15,09 a 18,64% era composto por glicose, 11,21 a 13,38 % por frutose e entre 0,91 e 1,41 % por manose para a variedade azeda do tamarindo. A variedade azeda do *Tamarindus indica* L. possui um percentual maior de glicose em relação ao de frutose, quando comparado à variedade doce de tamarindo encontrado na Tailândia, cujo teor de frutose passar a ser maior.

Nagalakshmi et al. (2002) observou que a polpa de tamarindo manteve seus teores de açúcares totais e redutores constantes durante 360 dias quando armazenado sob frio. Este resultado permite inferir que a polpa é estável quanto ao teor de açúcares redutores e totais mesmo quando submetido a longos períodos de armazenamento. Sendo assim, pode-se afirmar que teor de AR não só depende das condições edafoclimáticas como também da variedade a ser utilizada, se azeda ou doce.

Sobre o teor de compostos fenólicos, a polpa de tamarindo apresentou um teor de 679,95 mg EAG/L. Vieira et al., (2007) encontraram um teor de 23,35 mg EAG/100g de compostos fenólicos em extrato hidroalcolico de polpa de tamarindo, enquanto Sartori et al., (2014) encontraram teor de 47,01 mg EAG/100g. O teor de compostos fenólicos em polpa de fruta está associado diretamente ao grau de maturidade do fruto como também à diversidade desses compostos, que na de polpa de tamarindo é limitado às leucocianidinas, flavonoides e taninos.

## 5.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO TAMARINDO.

### 5.2.1 Efeito da temperatura, concentração de enzima e levedura no teor alcoólico

As respostas obtidas dos dados experimentais para o teor alcoólico, rendimento em álcool na fermentação da polpa de tamarindo estão apresentados na Tabela 6.

O maior teor em álcool encontrado foi de 38,1 mL/L, ao trabalhar com temperaturas menores (30 °C) (Tabela 6). Nas fermentações em que a temperatura empregada foi de 40 °C observou-se uma variação no teor alcoólico entre 20 e 35 mL/L. As fermentações que ocorrem a temperaturas igual ou superior 40 °C associadas a pH menores que 3,0 são consideradas condições de estresse para as leveduras, tanto para síntese proteica como para metabolismo respiratório e fermentativo. (CARRASCO et al., 2001; WANG et al., 2013; UMEH et al., 2015). Altas temperaturas (40 °C) parece comprometer a viabilidade das leveduras, mesmo em altas concentrações no meio fermentativo, como demonstrado no ensaio 3 da Tabela 6.

**Tabela 6- Efeito da temperatura ( $X_1$ ), enzima ( $X_2$ ) e levedura ( $X_3$ ) sobre o teor alcoólico observado ( $Y_{obs}$ ) e rendimento  $Y_{p/s}$  (%) dos fermentados de tamarindo.**

	Temperatura	Enzima	Levedura	Teor Alcoólico	Rendimento
N	$X_1$ (°C)	$X_2$ (mg/L)	$X_3$ (g/L)	$Y_{Obs}$ (mL/L)	$Y_{p/s}$ (%)
1	30	250	15	38,1	81,91
2	40	250	5	35,0	75,25
3	40	750	15	20,6	44,29
4	30	750	5	35,6	76,54
11	35	500	10	36,0	77,40
12	35	500	10	36,8	79,12
13	35	500	10	35,5	76,32
14	35	500	10	34,6	74,39

Fonte: Autoria Própria

A análise de regressão múltipla dos dados contidos na Tabela 6 gerou um modelo polinomial de primeira ordem descrevendo a variação do teor alcoólico ( $Y_{obs}$ ) em função das variáveis temperatura ( $X_1$ ), concentração de enzimas ( $X_2$ ) e levedura ( $X_3$ ). Os coeficientes de regressão lineares e seus respectivos fatores codificados e

desvios-padrão são apresentados na Equação 8, e em negrito os termos significativos.

$$Y = - \mathbf{240 (\pm 22,29)} + \mathbf{6,64X_1 (\pm 0,47)} + \mathbf{0,12X_2 (\pm 0,00)} + \mathbf{6,65X_3 (\pm 0,44)} + \mathbf{0,03 X_2 X_3 (\pm 0,00)} - \mathbf{0,001 X_1 X_2 X_3 (\pm 0,00)} \quad (\text{Eq. 8})$$

Os coeficientes de regressão lineares para as variáveis temperatura ( $X_1$ ), concentração de enzimas ( $X_2$ ) e concentração de levedura ( $X_3$ ) tiveram seus coeficientes lineares positivos em relação a variável resposta teo alcóolico ( $Y_{\text{obs}}$ ) assim como a interação entre a concentração de enzimas ( $X_2$ ) e concentração de levedura ( $X_3$ ).

Os resultados obtidos da ANOVA (Tabela 7) demonstram que o modelo foi significativo ( $p < 0,05$ ), com coeficiente de determinação experimental e ajustados, respectivamente, de 0,99 e 0,98. Este resultado demonstra boa correlação entre as variáveis estudadas e a variável resposta.

**Tabela 7- Análise de variância (ANOVA) para o teor alcóolico dos fermentados de tamarindo.**

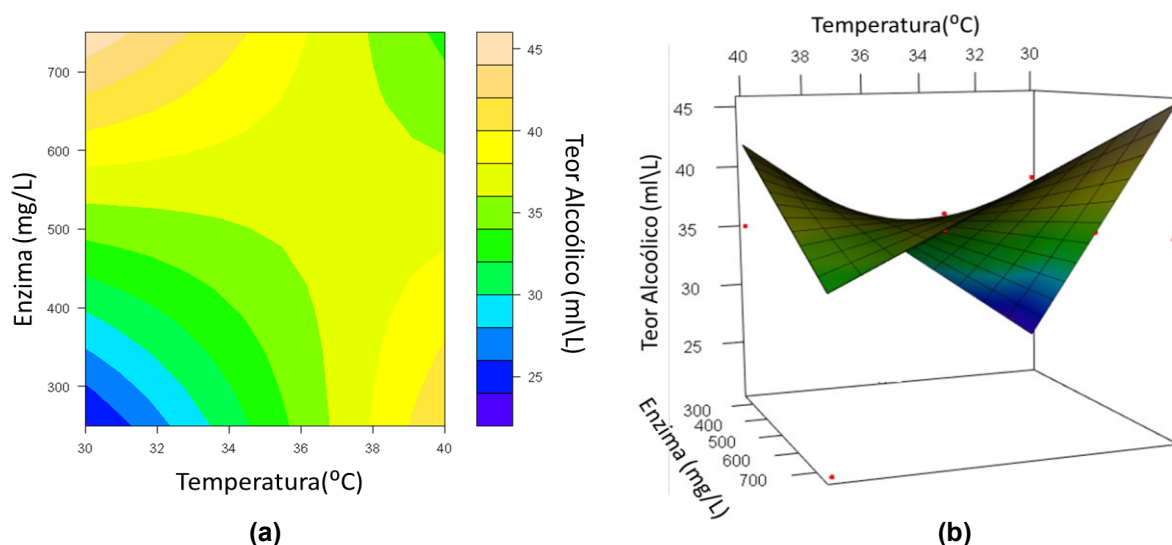
<i>Fatores</i>	<i>Grau de Liberdade</i>	<i>Soma Quadrática</i>	<i>Média Quadrática</i>	<i>Teste F</i>	<i>p-valor</i>
$X_1$	1	71,539	71,539	166,371	0,005
$X_2$	1	71,402	71,402	166,052	0,005
$X_3$	1	35,402	35,402	82,331	0,01
$X_2X_3$	1	10,74	10,74	24,978	0,03
$X_1X_2X_3$	1	24,429	24,429	56,813	0,01
Resíduos	2	0,86	0,43		
Total	17	214,372	213,942		
$R^2$	$R^2_{\text{Ajustado}}$				
0,99	0,98				

**Fonte: Autoria Própria**

Como observado (Tabela 7), os parâmetros temperatura ( $X_1$ ), concentração enzimas ( $X_2$ ) e levedura ( $X_3$ ) individualmente e suas interações foram significativos ( $p < 0,05$ ), demonstrado que as variáveis estudadas possuem influência na obtenção de álcool durante a fermentação.

Os coeficientes de regressão ( $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_9$ ) foram utilizados para gerar as superfícies de resposta para a variável investigada teor alcoólico (Y) em função das variáveis temperatura ( $X_1$ ), concentração enzimas ( $X_2$ ) e levedura ( $X_3$ ) e estão apresentadas na Figuras 3, 4 e 5..

**Figura 3- Curva de Contorno (a) e superfície de resposta (b) da interação entre a temperatura e concentração enzimática, com levedura fixado no ponto central 10 g/L**



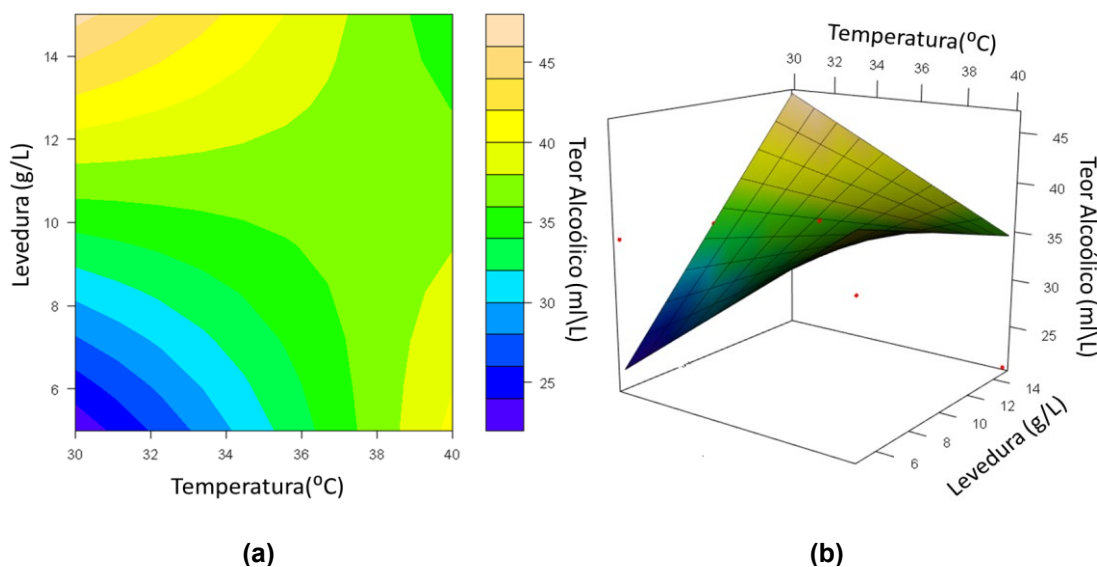
Fonte: Autoria Própria

Observa-se pela Figura 3 que concentrações acima de 650 mg/L de enzimas favorecem a produção de álcool entre 40 a 45 mL/L com concentração superior a 700 mg/L de enzima na faixa de temperatura compreendida entre 30 e 34 °C.

Enquanto na Figura 4, o teor alcoólico acima de 45 mL/L é obtido quando se utiliza entre 12 a 15 g/L de levedura na mesma faixa de temperatura.

Ao analisar os gráficos de contorno das Figuras 3a e 4a observa-se que são semelhantes em forma e tendência ao mesmo tempo em que as indicações das condições ótimas, isto é, maior rendimento em álcool para a variável temperatura estão abaixo de 34 °C. Temperaturas inferiores a 34° C são consideradas favoráveis para o desenvolvimento das leveduras. Moraes (2001) define como a faixa de temperatura entre 26 a 32 °C ideal para fermentação, enquanto Cabral et al. (2006) afirmam que para se obter uma boa fermentação, isto é, com baixo teor de açúcares redutores e teor alcoólico máximo, a temperatura de fermentação do mosto deve ser de 30 °C.

**Figura 4- Curva de Contorno (a) e superfícies de resposta (b) da interação entre a temperatura e concentração de levedura com enzimas fixadas no ponto central 500 mg/L.**



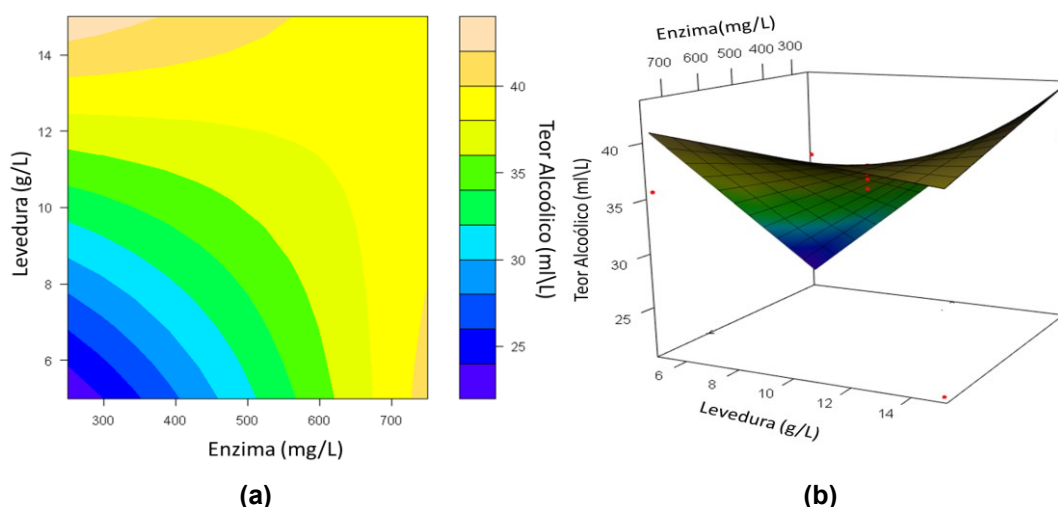
Fonte: Autoria Própria

Por esta razão, a forma de manipulação e dosagem adequadas das leveduras em fermentadores e um controle eficiente da temperatura, garantem um processo de produção de vinhos e fermentados de frutas sem grandes problemas e de considerável eficiência (CARRASCO et al., 2001)

Nas fermentações realizadas a 40 °C (Tabela 5) observa-se uma diferença no rendimento em álcool nos tratamentos. Essa diferença está relacionada diretamente à concentração de leveduras no mosto, uma vez que em concentrações elevadas no meio fermentativo, mais forte é o efeito inibidor da temperatura, quando esta estiver acima de 40 °C. Esse efeito da temperatura sobre a concentração da levedura também é observado no gráfico de contorno da Figura 3a, onde se observa um decréscimo na concentração de álcool.

Com relação a interação concentração de enzimas e das leveduras durante a fermentação, observa-se que a adição de levedura com concentração superior a 13 g/L e de enzimas em concentrações inferiores a 400 mg/L, obtém-se um ganho no teor alcoólico dos fermentados de tamarindo, quando o mosto é submetido a temperatura de 35° C, como apresentado na Figura 5.

**Figura 5- Curva de contorno (a) e superfícies de resposta (b) da interação entre a concentração de levedura e concentração de enzimas com temperatura fixadas no ponto central 35 °C.**



**Fonte: Autoria Própria**

Quanto à adição de enzimas durante a fermentação observa-se uma dependência de sua ação em relação à concentração de leveduras no meio. Esta relação foi considerada positiva segundo a equação polinomial de primeira ordem obtida. Vale ressaltar que a interação entre esses dois parâmetros em relação ao teor alcoólico foi significativa ( $p < 0,05$ ) assim como individualmente a concentração de enzimas teve significância equivalente ao da temperatura.

Com base nos resultados das superfícies de resposta obtidas para o teor alcoólico, a otimização da fermentação é encontrada nas condições de fermentação entre 30 e 32 °C de temperatura, com 300 mg/L de enzimas e concentração de levedura de 14 g/L.

### 5.2.2. Efeito da temperatura, concentração de enzima e levedura na concentração de açúcares redutores (AR)

O teor de açúcares redutores dos fermentados de tamarindo estão contidos na Tabela 8. A variação dos açúcares redutores nos fermentados de tamarindo foi de 0,25 a 2,83 g/L, estando boa parte dos fermentados com teores de açúcares redutores abaixo de 1g/L.

**Tabela 8- Tratamentos e teores de açúcares redutores totais (AR) dos fermentados de tamarindo nas diferentes condições de temperatura, concentração de enzima e levedura.**

N	Temperatura	Enzima	Levedura	AR
	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (g/L)	g/L
1	30	250	15	0,49
2	40	250	5	0,58
3	40	750	15	2,85
4	30	750	5	0,42
5	35	500	10	0,87
6	35	500	10	0,92
7	35	500	10	0,95
8	35	500	10	0,89

**Fonte: Autoria Própria**

Os valores de açúcares redutores acima 1 g/L foram encontrados no ensaio 3 nas condições de temperatura igual a 40 °C, concentração de levedura de 15 g/L e concentração de enzimas de 750 mg/L.

Segundo observado na Tabela 9 da ANOVA, todos os fatores estudados foram considerados significativos para a variação dos açúcares redutores nos fermentados de tamarindo, com a temperatura, concentração de enzimas e leveduras ( $p < 0,05$ ) e suas interações ( $p < 0,01$ ).

**Tabela 9- Análise de Variância (ANOVA) para o teor de açúcares redutores dos fermentados de tamarindo.**

<i>Fatores</i>	<i>Grau de Liberdade</i>	<i>Soma Quadrática</i>	<i>Média Quadrática</i>	<i>Teste F</i>	<i>p-valor</i>
X <sub>1</sub>	1	1,387	1,387	104,574	1 10 <sup>-4</sup>
X <sub>2</sub>	1	1,21	1,21	91,194	2 10 <sup>-4</sup>
X <sub>3</sub>	1	1,425	1,425	107,469	1 10 <sup>-4</sup>
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	1	0,114	0,114	8,597	0,03
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	1	0,175	0,175	13,204	0,01
Resíduos	5	0,066	0,013		
Total	10	2,812	2,812		
R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustado				
0,98	0,96				

**Fonte: Autoria Própria**



A indicação de baixos teores de açúcares redutores nos fermentados está relacionado ao desempenho das leveduras sob as condições de temperatura e pH do meio fermentativo. Temperaturas entre 30 e 35 °C sob pH 3 e 4 são condições em que as fermentações ocorrem em menor tempo e mais rapidamente, caracterizando pelo elevado desempenho das leveduras. (AQUARONE, 2010; ARROYO-LOPEZ et al., 2009). Apesar do pH durante a fermentação ter sido abaixo de 3 (Tabela 5), esta condição não parece ter afetado a adaptação das leveduras no mosto de tamarindo, confirmado pela regularidade dos teores de açúcares redutores e álcool ao final da fermentação no ponto central do planejamento experimental.

Sobre a concentração de enzima e a participação destas durante a fermentação, observa-se uma atuação modulada pela temperatura, uma vez que para a variável resposta açúcares redutores a interação temperatura e enzima foi significativa. Diferente do encontrado na Equação 8, onde não foi detectado a interação entre esses dois fatores, a interação temperatura e concentração de enzima foi positiva para a variável resposta açúcar redutor, contribuindo para o aumento de açúcares redutores na bebida (Equação 9).

$$W = -0,90(\pm 1,51) - 0,002 X_1 (\pm 0,03) - 0,002 X_2 (\pm 0,00) - 7 \times 10^{-4} X_3 (\pm 0,00) + 8,13 \times 10^{-5} X_1 X_2 (\pm 0,42) + 5,8 \times 10^{-5} X_2 X_3 (\pm 0,00) \quad (\text{Eq.9})$$

A ação positiva das enzimas durante a fermentação para variável resposta açúcares redutores residuais já era esperada, pois a adição destas no mosto durante a fermentação poderia aumentar a disponibilidade de açúcares redutores associadas às pectinas melhorando o acesso destes pelas leveduras ao mesmo tempo que reduz a viscosidade do meio, o que facilitaria as etapas posteriores da fermentação, como filtração e clarificação (AQUARONE, 2013)

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FERMENTADOS DE TAMARINDO

#### 5.3.1 pH e acidez

A Tabela 10 apresenta os valores de pH e acidez em ácido tartárico dos fermentados de tamarindo para as condições estudadas de temperatura, concentração de enzimas e leveduras.

**Tabela 10- Tratamentos e seus respectivos pH e acidez dos fermentados de tamarindo.**

N	Temperatura	Enzima	Levedura	pH	Acidez (meq/L)
	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (g/L)		
1	30	250	15	2,77	353,27
2	40	250	5	2,77	354,97
3	40	750	15	2,70	379,91
4	30	750	5	2,82	391,02
5	35	500	10	2,74	360,24
6	35	500	10	2,72	391,67
7	35	500	10	2,66	379,26
8	35	500	10	2,76	378,11

**Fonte: Autoria Própria**

Os pH dos mostos variou entre 2,66 a 2,82, e essa mesma faixa de pH foi mantida nos fermentados, demonstrando estabilidade do pH durante a fermentação. Quando o pH é mantido entre 2,75 e 4,25 durante a fermentação, possibilitam as leveduras crescimento e sobrevivência o que explica o bom desempenho destas no meio fermentativo (ARROYO-LOPEZ, et al., 2009; CARRASCO et al., 2001; FLEET e HEARD, 1993;)

Por sua vez a acidez apresentou variação entre 353,27 a 391,67 meq/ L em ácido tartárico, tendo a sua variação associada a produção de ácidos orgânicos durante a fermentação, além dos já presentes na polpa. Segundo a Portaria N° 64 que fixa o padrão de identidade e qualidade de fermentados de frutas, o teor de acidez total deve ser superior a 50 meq/L e inferior a 130 meq/L o que tornaria os fermentados de tamarindo fora do padrão mesmo alcançando o teor alcoólico mínimo de 4 °GL (40 g/L) (BRASIL, 2008)

### 5.3.2 Fenólicos totais, cor, intensidade e tonalidade

Os compostos fenólicos totais dos fermentados de tamarindo são mostrados na Tabela 11. A coloração dos fermentados de tamarindo é no tom de amarelo-pardo ou marrom, e dependendo do grau de maturidade e variedade pode ser no tom marrom ou vermelho. Com relação aos fenólicos totais no fermentado alcoólico de tamarindo, o teor encontrado variou entre 205,39 a 283,28 mg/EAG L.

**Tabela 11- Teor de composto fenólicos dos fermentados de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) nas diferentes condições de fermentação e parâmetros de cor.**

N	Temperatura	Enzima	Levedura	Fenólicos	*Cor	**Intensidade da Cor	Tonalidade
	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (g/L)	mg EAG/L	-	-	-
1	30	250	15	246,00	0,610	1,0	2,27
2	40	250	5	234,56	0,670	1,2	1,97
3	40	750	15	280,22	0,623	1,1	2,28
4	30	750	5	233,33	0,553	0,9	2,54
5	35	500	10	256,89	0,777	1,0	1,88
6	35	500	10	205,39	0,638	1,1	2,46
7	35	500	10	234,89	0,630	1,5	2,06
8	35	500	10	283,28	0,622	1,6	1,07

\*Referência 0,3 a 0,7; \*\*valor >1 tonalidade amarela (Glories, 1984).

**Fonte: Autoria Própria.**

Quanto as diferenças encontradas em termos de compostos fenólicos nos fermentados de tamarindo, atribui-se, em parte, à composição presente na polpa de tamarindo, que é basicamente constituído de taninos (catequinas) e flavonoides, o que acarreta uma menor redução do reagente Folin-Ciocalteu utilizado na análise. Nesse sentido, a polpa difere de outras partes do fruto como a semente e epicarpo que, quantitativamente, apresentam maior diversidade e quantidade de compostos do grupo fenólico (ANU e BANERJEE, 2014; BHUSARI e KUMAR, 2014; SUDJAROEN et al. 2005).

A variação na cor dos fermentados foi de 0,553 a 0,777, enquanto a intensidade da cor ficou entre 0,9 e 1,6. As tonalidades variaram entre 1,07 a 2,54. Somente o ensaio 4 apresentou coloração indicativa da cor vermelha, por estar abaixo dos valores de referência para amarelo, entretanto sua tonalidade foi de 2,54 característico de bebidas de cor amarelo.

Sobre o parâmetro intensidade da cor o seu aumento em fermentados de frutas é ocasionado pelo aumento dos teores de antocianinas e de taninos (RIZZON e MIÉLE, 2004). Para os fermentados de tamarindo esse valor é considerado baixo quando comparados a vinhos de uvas, devido a razão entre absorbância a 420/520 ser  $\geq 1$ , característicos de bebidas alcoólicas ricas em pigmentos de cor amarelo cuja absorbância é maior a 420 nm. Entre fatores que influenciam na estabilidade dos pigmentos de bebidas fermentadas, alterando sua cor e tonalidade, tem-se a temperatura, pH, acidez e íons metálicos como ferro, cobre (OLIVEIRA et al., 2011; MELÉNDEZ, 2001; RIZZON, 2010).

## 6 CONCLUSÃO

A polpa de tamarindo se apresentou como matéria-prima de caráter ácido com possibilidade de ser empregada para obtenção de fermentados alcoólicos. Os parâmetros estudados temperatura, concentração de enzima e levedura só apresentaram efeito de primeira ordem, com interação entre os fatores enzima e levedura. O emprego de leveduras superior a 10 g/L foi considerado satisfatório para obtenção de bons rendimentos em álcool, não sendo assim necessário a correção de parâmetros físico-químicos do mosto. A adição de enzimas durante o processo fermentativo contribui de forma significativa para alterar o teor alcoólico nos fermentados, assim como para disponibilidade de açúcares no meio durante a fermentação tendo papel importante no processo.

O emprego de temperatura de 30 °C e concentração de inóculos acima de 10 g/L, associado com concentração de enzimas menor que 500 mg/L no meio fermentativo, são suficientes para obtenção de fermentados alcoólicos de tamarindo com rendimento acima de 80 % ou 45 mL/L de álcool.

## REFERÊNCIAS

- AKHARAIYI, F. C. & OMOYA, F. O. Studies on Qualitative and Quantitative Characterization of Alcoholic Beverages from Tropical Fruits. **Research Journal of Microbiology**, 3(6): 429-435, 2008.
- 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 do mandacaru. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 35-42, 2006
- ALVARENGA, L. M. **Fermentados alcoólico e acético de polpa e casca de abacaxi (*Ananas comosus* (L) Merrill): cinética das fermentações e caracterização dos produtos**. 2014, 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- ALVES, P.R.B. et al, **A Cultura do Tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.)**, Disponível em: <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/tamarindo>. Acesso em: 07/04/2013.
- AMADOR, J. P.; LOPES, S.J.; PEREIRA, J.E.; SOUZA, A. M.; TOEBE, M. Análise das pressuposições e adequação dos resíduos em modelo de regressão linear para valores individuais, ponderados e não ponderados, utilizando procedimentos do SAS®. **Ciência e Natura**, 33(2). 7-22, 2011.
- ANGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 66(1):1-9, 2007.
- ANU, M. P. D.; BANERJEE, A. Extraction of tamarind pulp and its antibacterial activity. **Asian Journal of Plant Science and Research**. 4(2) 47-49, 2014.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists, AOAC International, Gaithersberg, Meryland, 2005).
- AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia na produção de alimentos** . Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2013.

AQUINO, A. C. **Eficiência da maceração enzimática da polpa de bacuri (*Platonia insignis Mart*)**. 2008, 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008

ARAÚJO, L. T.; SILVA, C. E. F.; ABUD, A. K. S. **Produção de vinagre de laranja 'Lima' em vinagreira artesanal**. *Scientia Plena*, Brasil, v.8, n. 12, p.1 – 7, 2012.

ARAUJO, K. G. L.; SABAA, A.U.O.; RODRIGUES, S. F.; MANHÃES, L. R. T.; ASSIS NETO, E. F.; CRUZ, J. M. P. Elaboração de Bebida alcoólica Fermentada de Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n.02, p. 186 – 197, 2010.

ARROYO-LOPEZ, F, N.; ORLIC, S.; QUEROL, A.; BARRIO, E. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Sacharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. **International Journal of Food Microbiology**, 131, 120-127, 2009.

ARRUDA, A. R. CASIMIRO, A. R. S., GARUTI, D. S., ABREU, F. A. P. Fermented banana beverage processing. **Revista Ciência Agronômica**, Vol. 34, No.2 : 161 – 167. 2003.

ASQUIERI, E. R., RABÊLO, A. S.; Moura, A. G. e SILVA. Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(4): 881- 887, out.-dez. 2008.

ASSIS NETO, E. F.; CRUZ, J. M.P.; BRAGA, A. C. C.; SOUZA, J. H. P. Elaboração de bebida fermentada de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 04, n. 02: p. 186-197, 2000.

BHUSARI, S.N.; KUMAR, P. Antioxidant activities of spray dried tamarind pulp powder as affected by carrier type and their addition rate. **International Conference on Food, Biological Medical Sciences**, 28-29; 2014.

BIZ, A.; FARIAS, F. C.; MOTTER, F. A. PAULA, D. H.; RICHARD, P.; KRIEGER, N.; MITCHELL, D. A. Pectinase activity determination: an early deceleration in the release of reducing sugars throws a spanner in the works!. **PLOS ONE**, v. 9, 1-9, 2014.

BITTER, T; MUIR, M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, Rock Hill, v. 4, n. 4, p; 330-334, 1962.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Decreto Nº 2314, de 4 de setembro de 1997. **Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 10 fev 2015.

CANTERI, Maria H. G; WOSIACKI, Gilvan; MORENO, Lirian; SCHEER, Agnes de P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Revista Polímeros**, vol. 22, n. 2, 2012, p. 151.

CANTO, M.W. Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos - estudo da composição química e aceitabilidade. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, Campinas, 29(1): 56-61, 2009.

CARDONA, F., CARRASCO, P., PÉREZ-ORTÍN, J. E., DEL OLMO, M., ARANDA, A. A novel approach for the improvement of stress resistance in wine yeasts. **International Journal of Food Microbiology**.114, 83–91. 2007

CARDOSO, Maria das Graças; CAMPOS, Gustavo Azevedo et al. **Cachaça: Qualidade e Produção. 2007**. Disponível em [http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol\\_07.pdf](http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_07.pdf) Acessado em: 10 julho. 2017.

CARVALHO, H. H. **Alimentos: métodos físicos e químicos de análise**. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 180p

CARRASCO, P.; QUEROL, A.; OLMO, M. Analyses of the stress resistance of commercial wine yeast strains. **Arch. Microbiol.** 175, 450-457. 2001

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. rev. Campinas. Editora Unesp. 2003. 203p.

CHAKRABORTY, K.; SAHA, J.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Optmization of bioprocessing parameters using response surface methodology for



bael (*Aegle marmelos L.*) wine with analysis of antioxidant potential, colour and heavy metal concentration. **Nutrafoods**, vol. 14, n. 1, 39-49, 2015.

CHOWDHURY, P.; RAY, R.C. Fermentation of Jamun (*Syzygium cumini L.*) fruits to form red wine. **ASEAN Food J.** 14:15–23, 2007

CONNER, H. A.; ALGEIER, R. J. VINEGAR. It's history and development. **Adv. Appl. Microbiol.**, Nova York, 20:81 – 133, 1976.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUEZ, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e Caracterização do Vinho de Laranja. **Química Nova**, vol. 24, n. 4, 449-452, 2001.

CORONEL, R.E. **Processing Fruits of the Philippines**. 2<sup>a</sup> Ed., University of the Philippines, Los Baños. 1986

CLARCK, Jason. **A CULTURA DO TAMARINDEIRO (*Tamarindus indica L.*)**, Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABS1AAL/cultura-tamarindeiro>. Acesso em: 10/04/2013.

CROWELL, E. A.; J. F. GUYMON, J. F.; INGRAHAM, J. L. Techniques for studying the mechanism of higher alcohol formation by yeast. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 12, p. 111-116, 1961.

CRUEGUER, W.; CRUEGUER, A. **Bioetchnology: The Textbook of Industrial Microbiology**. Ed. Scince Tech. Inc. Madison. 1984

CURVELO-GARCIA, A. S. **Controle de Qualidade dos Vinhos – Química Enológica – Métodos Analíticos**. Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa, 1988. 420p.

DE OLIVEIRA, L.C.; DE SOUZA, S. O.; MAMEDE, M.E.O. Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2011;70(2): 158-67.

DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin L.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 342-350, 2003.

DINIZ, M. P. F.; PINHEIRO, A. S. **Produção e caracterização físico-química de fermentado de abacaxi**. In: In: 6º Encontro Nacional de Tecnologia Química. Resumo. Maceió, 2013.

DOUGHARI, J. H. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. **Trop. Journal of Pharmaceutical Research**; 5 (2): 597-603. Dezembro, 2006.

DONADIO, L.C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. K. do. **Frutas exóticas. Jaboticabal**: FUNEP, 1988, 279p.

DU, J.; HAN, F.; YU, P.; LI, J.; FAN, L.; Optimization of fermentation conditions for Chinese bayberry wine by response surface methodology and its qualities. **J. Inst. Brew.** v. 5, n. 4, p: 763-771, 2016.

EL-SIDDIG, K.; EBERT, G.; LUEDDERS, P. Tamarind (*Tamarindus indica* L.): a review on a multipurpose tree with promising future in the Sudan. **Journal Appl. Bot. Angew Bot.** 73:5-6, 1999

EL-SIDDIG, K. GUNASENA, H. P. M.; PRASAD, B. A.; PUSHPAKUMARA, D. K. N. G.; RAMANA, K. V. R.; VIJAYANAND, P.; WILLIAMS, J. T. **Tamarind: *Tamarindus indica* L.** Southampton Centre for Underutilised Crops., Southampton, 2006. 198p.

FAO. **Food and nutrition division**. <http://www.fao.org/es/dept/es960003.htm>>. Acesso em: 30 de março de 2013.

FILHO, V. E. M.; SANTOS, A. A.; FILHO, J. E. M.; NASCIMENTO, A. R.; MARINHO, S. C.; MENDES, J. C.; LOPES, N. A.; JÚNIOR, A. V. G.; MARTINS, A. G. L. A. Produção, processamento e análise bromatológica do vinho obtido de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Cad. Pesq.** V. 13, n. 1, p. 46 -59. 2002.

FILHO, W.G.V. **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia**. Vol. 1. Editora Blücher, São Paulo, 461p., 2010.

FLEET, G. H., HEARD, G. M. Yeasts-growth during fermentation. In: Fleet, G.H. (Ed.), **Wine Microbiology and Biotechnology**. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, 1993, pp. 42–43.

GLORIES, Y. **La couleur des vins rouges. 2ª partie: mesure, origine et interpretation**. Connaiss. Vigne Vin, France

GOES, F. J.; ZANGIROLANI, T.C.; Otimização das condições de fermentação para produção de vinho proveniente de uva variedade "Itáia". **Braz. J. Food Technol.** 5º SIPAL, 14-23, 2005.

GURJÃO, K. C.O. Desenvolvimento, **Armazenamento e Secagem de Tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. 2006, 165 f. Tese (Mestrado em Agronomia – Tecnologia de Sementes) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia 2006.

HAMACEK, F. R.; SANTOS, P. R. G.; CARDOSO, L. de M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Nutritional composition of tamarindo (*Tamarindus indica* L.) from the cerrado of Minas Gerais, Brasil. **Fruits**, vol.68, p.381-395 2013.

HAIR, Jr. J. H.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. trad. Adonai Schlup Sant'Ana e Anselmo Chaves Neto. **Análise Multivariada de Dados**. 5ed. Porto Alegre: Bookman. 2005.

HERNADEZ-UNZON, H. Y.; LAKSMINARAYANA, S. Biochemical changes during development and ripening of tamarind fruit (*Tamarindus indica* L.). **Hor.t Science**, 17 940 – 942, 1982

IAL. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 533 p. IAL: São Paulo, 2008

ISHOLA, M.M.; AGBAJI, E.B.A Chemistry study of *Tamarindus indica* L (tsamioya) fruits grown in Nigéria. **Journal of Science of Food and Agriculture, London**, v.51, n.1, p.141-143, 1990

KHAIRUNNUUR, F. A.; ZULKHAIRI, A., AZRINA, A.; MOKLAS, M. A. M.; KHAIRULLIZAM, S.; ZAMREE, M.S.; SHAHIDAN, M. A. Nutritional composition in vitro antioxidant activity and *Artemia salina* L. lethality of pulp and seed of *Tamarindus indica* L. extracts, **Mal J Nutr.** 15 (1), 65 – 75; 2009

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMAN, R. **Elaboração de pão francês com farinha enriquecida de sulfato de cálcio**. Boletim do CEPPA, 19 (2), p. 157-168, 2001.

LEFREVE, J.J. **Revier de la littérature surle tamarinier**. **Fruits**, v.26, n.10, p.687-695, 1971.

LIMA, A. de. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2008. 186 f. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, Vol. 3. 2002.

LINS, A. R.; SARTORI, G. V. Qualidade fenólica e atividade antioxidante de vinhos tintos produzidos no estado do Paraná. **Ver. Bras. Prod. Agro.** v.16, n.1, p.69-76, 2014.

LOMBARDI, S.R.B.; MORAES, D.M.; CAMELATTO, D. Avaliação do crescimento e da maturação pós-colheita de pêras da cultivar shinsseiki. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília,-DF, v.35, n.12, p.2399-2405, 2000.

LOPES, R. V. V.; SILVA, F. L. H. Elaboração de fermentados a partir de figo-da-Índia. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**. v. 6, n. 2, p. 305-315, 2006.

LOWER, S.; YABANI, D.; WINIFRED, K.; AGYENTE-BADU, C.K. Production of wine and vinegar from cashew (*Anacardium occidentale*) "Apple". **British Biotechnology Journal**. v.12, n. 3, p 1-11, 2016

McCREADY, R, M.; McCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic material in fruits. **Analytical Chemistry**, Rock Hill, v. 24, n. 12, p. 1986-1988,1952.

MALDONADE, R. I; CARVALHO, P. G. B; FERREIRA, N. A.; **Protocolo para Determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método do DNS**. Brasília: Comunicado Técnico, 2013. 4p.

MAIN, G. L.; MORRIS, J. R.; Effect of macerating enzymes and postfermentation grape grape-seed tannin on the color of Cynthiana Wines. **Am. J. Enol. Vitic.** 58:3. 2007.

MANFROI, L.; MIELE, A.; RIZZON, L. A.; BARRADAS, C.I.N. Composição físico-química do vinho carbenet franc proveniente de videiras conduzidas no sistema lira aberta. **Cênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 26(2), 290-296, 2006

MEINHART, A. D., BIZZOTTO, C. S., BALLUS, C. A., RYBKA, A. C. P., SOBRINHO, M. R., CERRO-QUINTANA, R. S., et al. Methylxanthines and phenolics content extracted during the consumption of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 58, 2188–2193, 2010.

MELÉNDEZ, M. E.; SÁNCHEZ, M. S. IÑIGUEZ, M. SARABIA, L. A. ORTIZ, M.C. Psychophysical parameters of colour and the chemometric characterization of wines of certified denomination of origin 'Rioja'. **Analytica Chimica Acta**. n. 446, 159-169, 2001.

MENDES, B. S.; TOMÉ, P. H. F.; FRAGIORGE, E. J. Elaboração e análises sensorial e quimiométrica do vinho de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) In: **Seminário de Iniciação Científica e Inovação Tecnológica**, Uberaba, 2011. Resumos. Uberaba: IFTM, SIN, 2011.

MENEGUZZO, J.; MANFROI, L.; RIZZON, L.A. Vinho: sistema de produção. Pelotas: EMBRAPA, 2006. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/index.html>. Acesso em 10 out. 2015.

MILLER, G. L. Use of dinitrossalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. v. 31, n. 3, 1959.

MILJIC, U. D.; PUSKAS, V.S. Influence of fermentation conditions on production of plum (*Prunus domestica* L.) wine: A response surface methodology approach. **Hem. ind.** 68 (2) 199–206 (2014)

MOJSOV, K. Use enzymes in wine making: a review. **International Journal of Marketing and Technology**. v. 3, n.9, 2013.

MORAES, F.V, **Como controlar a qualidade da cachaça**. Engarrafador moderno, São Paulo, Vol.10, LK editora, Maio, 2001.

MULLER, J. L.; PROTTI, K. L.; MACHADO, M. S.; LACERDA, L. V.; BRESOLIN, T. M. B; PODLECH, P. S. Comparação do crescimento de *Sacharomyces boulardii* em fermentador batelada tipo air lift e shaker. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**. v. 27, n.4, 2007.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. de F.; ABREU, F. A. P. de.; TIEKO, R. Bebidas Fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, n. 2, 2002.

NAGALAKSHMI, S.; CHEZHIAN, N.; NANDAKUMAR, N.; RAMESH, T. Quality variation in tamarind (*Tamarindus indica* L.) pulp during storage. **Madras Agric. J.** v.89, n.10/12, p.601-607, 2002

NAKANO, V.M. **Teoria da Fermentação e maturação**. In. WORKSHOP ADEGAS 200, Brasília. Anais. Brasília: AMBEV, 2000, 96p.

NELSON, D.L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6 ed. 2014. Artmed, Porto Alegre: 2014.

NUNES, A. F. J. **Caracterização química do licor de tamarindus indica I**. 2011. 47 f. Tese (Licenciatura em Química) – Universidade Eduardo Mondlane, Maputo,.

NUNES, G. D. G.; TOMÉ, P. H. F.; FRAGIORGE, E. J. Elaboração e análise sensorial do vinho de caqui (*Diospyrus kaki* L.) cv. Fuyu. **FAZU**, v.6, n.1, p.44-49, 2009.

OLIVEIRA, L. A.; **Manual de Laboratório: análise físico-química de frutas e mandioca**. Cruz das Almas. Embrapa Mandioca e Fruticultura. 248p. 2010a.

OLIVEIRA, M. E. S. **Elaboração de Bebida Alcoólica Fermentada de Cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC) empregando Leveduras Livres e Imobilizadas**. 2010. 75f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010b.

OLIVEIRA, A. S.; SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; SILVA, F. L. H.; FLORENTINO, E. R. Produção de Fermentado Alcoólico do Fruto de Mandacaru sem Espinhos (*Cereus jamacaru*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 3, p. 271-277, 2011

PARENTE, G. D. L.; ALMEIDA, M. M.; SILVA, J. L.; SILVA, C. G.; ALVES, M. F. Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi “perola” e caracterização da bebida. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 2, p. 230 – 247, abril-jun, 2014.

PAULI, E. D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S. L. Método para determinação de Carboidratos empregado na triagem de adulterações do café. **Quim. Nova**, v. 34, n. 4, 2011.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia - Conceitos e Aplicações**, vol. 1, 2ª ed. Makron Books, 1996.

PEREIRA, P. C.; MELO, B.; FRANZÃO, A. A.; ALVES, P. R. B. **A cultura do tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.)**. 2007. Disponível em: Acesso em: 20 out. 2016.

PEREIRA, P. C.; MELO, B.; FRANZÃO, A. A.; ALVES, P. R. B.; A cultura do tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.). **I Semana do Curso de Engenharia Ambiental**. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia - Câmpus Umuarama – MG, 2011.

PEREIRA, A. S.; COSTA, R. A. S.; LANDIM, L. B.; CHAVES DA SILVA, N. M.; REIS, M. F. T. Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químico e sensoriais. **Rev. Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 8, n. 01: p. 1216-1226, 2014.

PINO, J.A.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. Volatile components of tamarind (*Tamarindus indica* L.) grown in Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, 16(4): 318-320. 2004

PRASANNA, V.; YASHODA, H.; T. PRABHA, THARANATHAN, R.; Pectic polysaccharides during ripening of mango, **J. Sci. Food Agric**. v. 83 1182–1186. 2003)

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

PURSEGLOVE, J.W. Tropical Crops. Dicotyledons, **Longman Science and Technology**: 204-206. 1987

QUEIROZ, J. M. O. **Propagação do Tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.)**. 2010. 69f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Agrárias/Fitotecnia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010

RAO, P. S. Tamarind seed (jellose pectin) and its jelling properties, **J Sci Ind Res**, 68. 1948

RAO, Y. S.; MATHEW, K. M. **Handbook: tamarind**. Woodhead Publishing Limited. 512-533p. 2012

REMIZE, F.; SABLAYROLLES, J.M.; DEQUIN, S.; Re-assessment of the influence of yeast strain and environmental factors on glycerol production in wine, **J. Appl. Microbiol.** 88 371–378. 2000

RETTORI, D.; VOLPE, P. L. O. Microcalorimetria: uma técnica aplicável ao estudo do diauxismo da *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, 23(2), 2000.

RENSBURG, P. VAN.; PRETORIUS, I.S. Enzyme in winemaking: harnessing natural catalysts for efficient biotrasformations – A Review. **S. Afr. J. Enol. Vitic.** Vol. 21. 53-73. 2000

REUTER, W. M. Analysis of Organic Acids in Fruit Juices by HPLC and UV Detection. Application note. Disponível em: <[https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-175518APP\\_Analysis-of-Organic-Acids-in-Fruit-Juices-by-HPLC-and-UV-Detection-012299\\_01.pdf](https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-175518APP_Analysis-of-Organic-Acids-in-Fruit-Juices-by-HPLC-and-UV-Detection-012299_01.pdf)>. Acesso em: 12 mai. 2017.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Efeito da safra vitícola na composição da uva, do mosto e do vinho Isabel da Serra Gaúcha, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3. 2006

RIZZON, L.A. **Metodologia para análise de vinho**. 1. ed. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 120p

RIZZON L.A. & MIELE, A. Avaliação da cv. Tannat para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2004, 24:223-229.

SANTOS, S. C.; ALMEIDA, S. S.; TOLEDO, A. L.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. Elaboração e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 47-50, 2005.

SANTOS, D. R.; SANTOS, A.P.; SOUZA, E. A.D.; PINHEIRO, A. S. **Fermentado de açaí: produção e caracterização físico-química**. In: 6º Encontro Nacional de Tecnologia Química. Resumo. Maceió, 2013.



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

SARTORI, G. V.; COSTA, C. N.; RIBEIRO, A. B. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de polpa de frutas congeladas. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v.5, n. 3, p. 23-29, 2014.

SHARMA, R.; KAMBOJ, S.; KHURANA, R.; SINGH, G.; RANA, V.; Physicochemical and functional performance of pectin extracted by QbD approach from *Tamarindus indica* L. pulp. **Carbohydrate Polymers**, Volume 134, 10 December 2015, Pages 364-374

SILVA, J. A.; DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, F. L. H.; MADRUGA, M. S.; SANTANA, D. P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008

SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C.; TONON, B.; MOTA, S. J. D.; PINTO, V. T. Avaliação da Composição Química de Fermentados Alcoólicos de Jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 3, 595-600, 2008.

SINGH, D.; WANGCHU, L.; MOOND, S. K. Processed products of Tamarind. **Natural Product Radiance**, vol. 6(4), 2007, p.315-321

SOEMARDJI, A.A. ***Tamarindus indica* L. or “asam jawa”**: the sour but sweet and useful. Institute of natural medicine University of Toyama – Japan. 2007

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SINGH, Dheeraj. Processed products of tamarind. **Natural product radiance**, vol.6, pag 315-321. 2007

SIMPSON, B. **The importance of yeast and fermentation**. 2 ed. London: Cara technology, 1996, 34p.

SPICEBORDINDIA. Spice wise area and production of Tamarind. Disponível em: <http://indianspices.com/sites/default/files/Major%20spice%20wise%20area%20and%20production%202016.pdf>. Acessado em: 10 março 2017,

SULIEMAN, A. M. E.; ALAWAD, S. M.; OSMAN, M. A.; ABDELMAGEED, E. A. Physicochemical characteristics of local varieties of tamarind (*Tamarindus indica* L.), Sudan. **International Journal of Plant Research**. 5(1):13-18. 2015

SUDJAROEN, Y.; HAUBNER, R.; WUETELE, G.; HULL, W.E.; ERBEN, G.; SPIEGETHALDER, B.; CHANGBUMRUNG, S.; BARTSCH.; OWEN, R.W. isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. **Food and Chemical Toxicology**. 43, 1673-1682. 2005

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. NEPA- UNICAMP, 4<sup>a</sup> ed. Revisada e Ampliada, 16p. Campinas – SP, 2011.

TORRES NETO, A. B.; SILVA. M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. Cinética e Caracterização Físico-Química do Fermentado do Pseudofruto do Caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, v. 29, n. 3, 489 – 492, 2006.

TRONCHONI, J.; GAMERO, A.; ARROYO-LOPEZ, F. N; BARRIO, E.; QUEROL, A. Differences in the glucose and fructose consumption profiles in diverse *Saccharomyces* wine species and their hybrids during grape juice fermentation. **International Journal of Food Microbiology**. v.134, 237-243, 2009.

UMEH, J. L.; EJKEME, P.C.N.; EJKEME.; E. M.; Factorial design as an effective tool for optimization of alcoholic wine production from paw paw fruits. **International Journal of Mechanical & Mechatronics Engineering**. v. 15, n.3, 44-52, 2015.

USDA. Food Composition Database for Standard Reference: Tamarind, raw. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2391?manu=&fgcd=&ds=Standard%20Reference>. Acessado em 22 novembro 2016.

VAN DEN BILCKE, N.; ALAERTS, K.; GHAFARIPOUR, S.; SIMBO, D.J.; SAMSON, R. Physico-chemical properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) fruits from Mali: Selection of elite trees for domestication. **Genetic Resources and Crop Evolution**. Springer 2014

VIEIRA, L.M.; SOUSA, S. B. MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.** v.33, n. 3, 888-897,2007.

WANG, C. Y.; LIU, Y. W.; JIA, J. Q.; SIVAKUMAR, T. R.; FAN. T.; GUI, Z.Z.; Optimazation of fermentation process for preparation of mulberry fruit wine by response surface methodology. **African Journal of Microbiology Research**, vol. 7(3), 277-236, 2013.

WONG, K.C., TAN, C.P., CHOW, C.H. CHEE, S.G. Volatile constituents of the fruits of tamarind. **Journal of Essential Oil Research**, 10(2): 219-221, 1998.

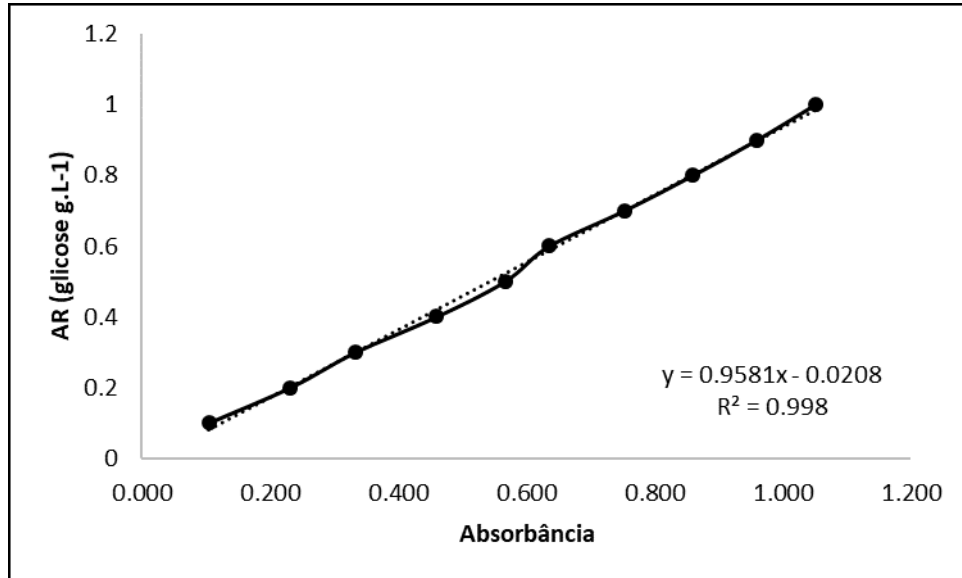
YAHIA, E. M.; Salih, N. K. E. **Tamarind indica** L. Woodhead Publishing Limited. 2011 p. 443-457.

YOON, S.K.; KANG, W.K. Fed-batch operation of recombinant Escherichia coli containing trt promoter with controlled specific growth rate. **Biotechnology and Bioengineering**. V43, p.995-9,1994.

ZINGLER, F. M.; CARLESSO, F. RIBEIRO, G. R.; TERRA, L. M. **Processo de fermentação alcoólica e caracterização do fermentado de butiá (*Butia eriospatha* Mart. Ex. Drude)**. In: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Uberlândia, Minas Gerais, 2009.

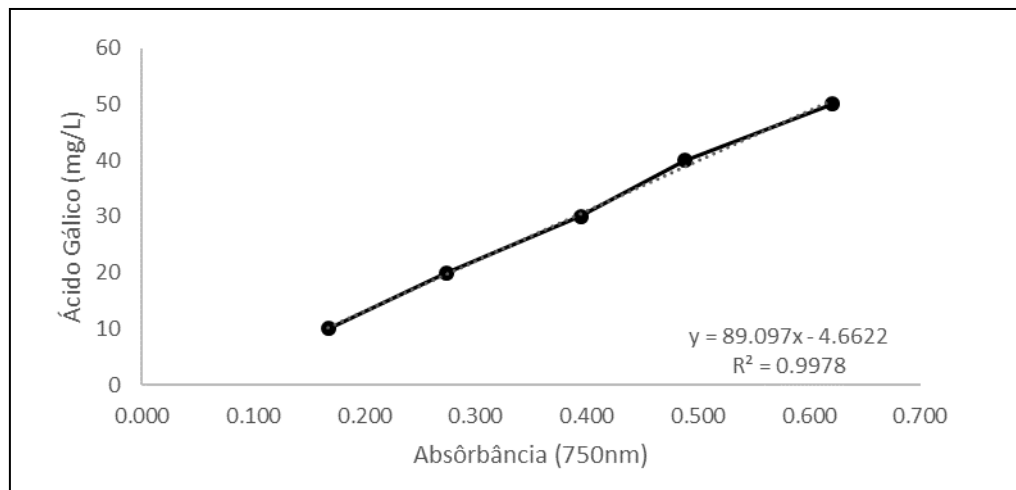
## APÊNDICE – Curvas de Calibração

Figura 1- Curva de calibração para a determinação açúcares redutores em glicose pelo método do ADNS.



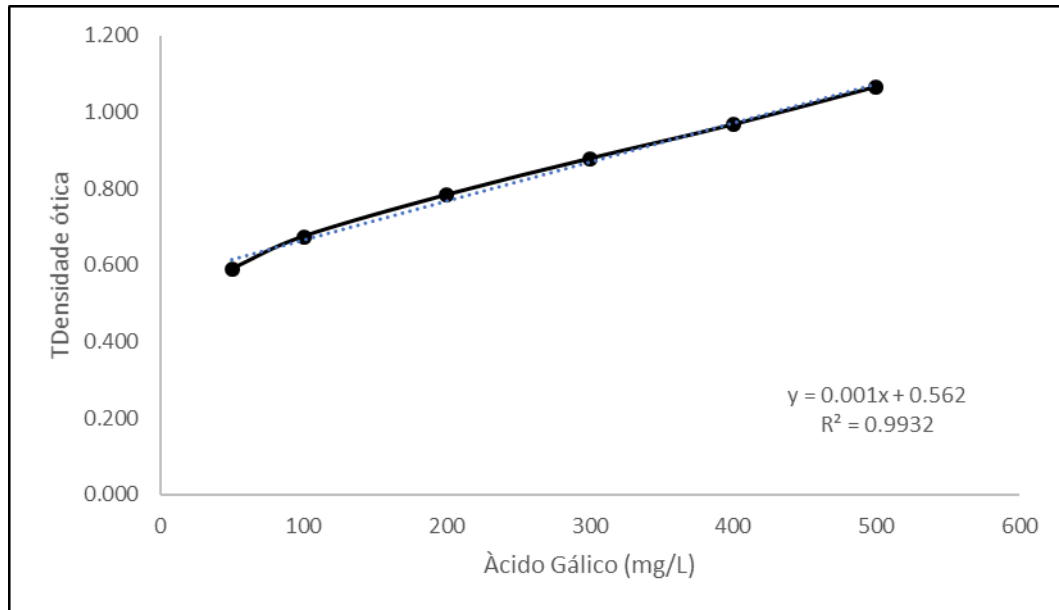
Fonte: Autoria Própria

Figura 2- Curva de calibração para a determinação fenólicos totais (mg/EAG L) da polpa de tamarindo.



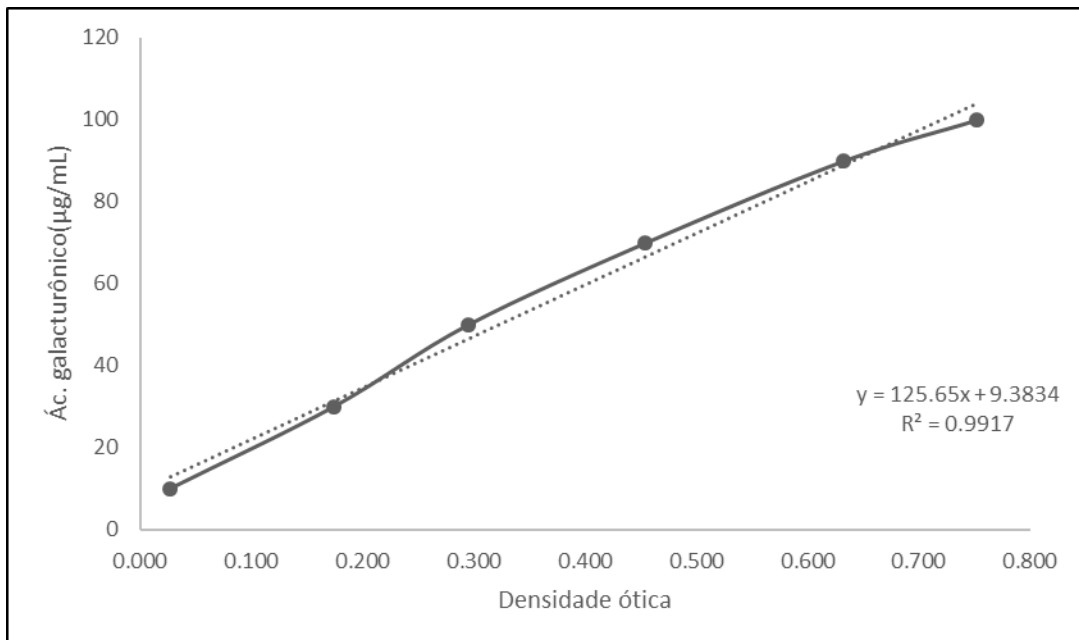
Fonte: Autoria Própria

**Figura 3 - Curva de calibração para a determinação fenólicos totais (mg/EAG L) dos fermentados de tamarindo;**



Fonte: Autoria Própria

**Figura 4 - Curva de calibração para a determinação pectinas totais ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) da polpa de tamarindo;**



Fonte: Autoria Própria