

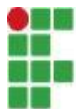
INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

BEATRIZ PEREIRA SELLA
GUSTAVO YUJI ASADA

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO
ALCOÓLICO DE *Tamarindus indica* L.**

LONDRINA

2018



INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

BEATRIZ PEREIRA SELLA

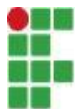
GUSTAVO YUJI ASADA

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO
ALCOÓLICO DE *Tamarindus indica* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade
Relatório de Pesquisa, apresentado ao curso
Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino
Médio do Instituto Federal do Paraná.

LONDRINA

2018



FOLHA DE APROVAÇÃO

BEATRIZ PEREIRA SELLA

GUSTAVO YUJI ASADA

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO

ALCOÓLICO DE *Tamarindus indica* L.

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Relatório de Pesquisa, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

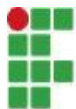
Prof. Dr. Daniel Meneguello Limeira
IFPR

Prof^a. Dr^a. Lyssa Setsuko Sakanaka
UTFPR

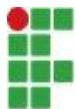
Prof^a. Dr^a. Wilma Aparecida Spinosa
UEL

Prof^a. Ma. Gleice Rocha dos
Santos Almeida
IFPR

Londrina, 22 de novembro de 2018.



Dedicamos esse trabalho aos nossos professores que, pacientemente, nos ensinaram e aconselharam.



AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Deus por ter guiado nossa caminhada e abençoado todas as oportunidades que tivemos até aqui.

À nossa família, pelo apoio, força e amor. Por sempre acreditarem em nossa capacidade.

Aos nossos professores que, apesar de todas as dificuldades, não pouparam esforços para contribuir com nosso crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

À professora doutora Lyssa S. Sakanaka que desde o começo do projeto nos acolheu com carinho e, a cada etapa do trabalho, nos aconselhou e orientou. Por ser um exemplo de dedicação.

À professora doutora Wilma A. Spinosa, por sempre ter nos orientado com disposição e entusiasmo, mostrando novas visões e caminhos a serem seguidos.

Ao professor mestre Jefferson S. de Aguiar Hachiya por nos incentivar na pesquisa desde o início e nos dar todo o suporte necessário.

Ao professor doutor Daniel Limeira pelo esforço e dedicação com o qual nos orientou nas etapas finais do trabalho.

Às técnicas de laboratório Daniele Albuquerque e Talita Kato, por estarem sempre à disposição. Pela ajuda e apoio na condução dos experimentos.

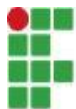
Aos colegas de trabalho, Larissa Piccinin, George Guides, Pedro Borges, Mateus Paiva e Tayara Andrade, por estarem sempre ao nosso lado, nos experimentos, pesquisas, travessuras, aventuras, estresses, sufocos e imprevistos. Por serem exemplos de parceria, amizade e dedicação. Pelos esforços, que não foram poupados para que o trabalho fosse concluído.

Aos nossos colegas de sala que tornaram nossa caminhada mais leve e inesquecível.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Universidade Estadual de Londrina pela estrutura concedida para a realização dos experimentos.

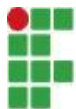
Ao Instituto Federal do Paraná - campus Londrina, não apenas pelo ensino de qualidade, mas também por nos formar como pessoas críticas e autônomas, nos concedendo oportunidades que, sem dúvidas, levaremos para a vida.

Por fim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que o trabalho fosse concluído.



Passemos pela vida fortes e dignos, simples e bondosos, espalhando amor, paz e alegria.

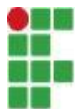
-PJK.



RESUMO

Pertencente à família Fabaceae ou Leguminosae, o tamarindo (*Tamarindus indica* L) é um fruto muito ácido. Mesmo não sendo originário do Brasil, o fruto adaptou-se ao clima semiárido do nordeste brasileiro, onde, mesmo sem melhoramentos genéticos, é amplamente cultivado. O fruto resiste a um grande período de seca durante seu desenvolvimento, entretanto, após a colheita o consumo da variedade deve ser rápido, pois em curto período sofre com a ação de microrganismos e sua comercialização é inviabilizada. A produção de fermentado alcoólico e posteriormente acético é uma alternativa para agregar valor comercial ao tamarindo, assim complementando a renda de pequenos produtores. Nesse trabalho avaliou-se as condições fermentativas favoráveis à produção do fermentado, variando em três níveis a concentração de enzimas e leveduras e a temperatura fermentativa. A fermentação alcoólica, com *Saccharomyces cerevisiae*, foi realizada concomitante ao tratamento enzimático durante 24 e 48 horas. Foram realizados 30 experimentos nos diferentes tratamentos, cujas respostas foram acidez, pH, brix e teor alcoólico. Verificou-se que, se mantido por 48 horas, há maior rendimento fermentativo nas condições de menor concentração de leveduras (1%), concentrações de enzima próximas ao menor nível (aproximadamente 300 μ L/L) e em menores temperaturas (25°C). Diferente da fermentação de 24 horas, que tem maior rendimento com a concentração de 2% de leveduras, menores concentrações de enzima (aproximadamente 300 μ L/L) e menor temperatura (25°C). Houve produção de álcool superior à 4%, viabilizando o posterior processo de produção de vinagre de tamarindo.

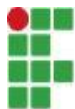
Palavras-chave: Fermentação alcoólica. Tamarindo. Análises físico-químicas. Otimização de fermentado. Fermentação acética



ABSTRACT

*Tamarind (Tamarindus indica L) belongs to the family Fabaceae or Leguminosae, and is a very acidic fruit. Although not originated in Brazil, the fruit adapted well to the semi-arid climate of the Brazilian northeast, where, even without genetic improvements, it is widely cultivated. The fruit can stand great period of drought during its development, however, after harvesting its consumption must be fast, because in a short period of time it can suffer the action of microorganisms turning its commercialization unfeasible. The production of alcoholic or acetic products is an alternative to add commercial value to the tamarind, therefore it could improve the income of small producers. In this research, the fermentation production was evaluated, varying enzymes and yeast concentration, and fermentative temperature. Alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* was performed at the same time with the enzymatic treatment for 24 and 48 hours. Thirty experiments were performed and the responses were acidity, pH, brix and alcohol content. It was verified that, if maintained for 48 hours, there was a higher fermentation yield under the conditions of lower yeast concentration (1%), enzymes concentration near the lower level (approximately 300 μ L / L) and lower temperatures (25 ° C). This result was different from the 24 hour fermentation, which showed a higher yield with the concentration of 2% yeast, lower enzymes concentration (approximately 300 μ L / L) and lower temperature (25 ° C). There was more than 4% alcohol production, turning possible the use of this fermented tamarind pulp to subsequent production of vinegar.*

Key-words: *Alcoholic fermentation. Tamarind. Physicochemical analysis. Fermentation optimization. Acetic fermentation.*



LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas a 1% de levedura.

GRÁFICO 2 – Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas a 2% de levedura.

GRÁFICO 3 – Superfície de resposta para a acidez em função da temperatura e concentração de leveduras com 750 $\mu\text{L/L}$ de enzimas.

GRÁFICO 4 – Superfície de resposta para o etanol em função da temperatura e concentração de leveduras com a concentração de enzimas de 250 $\mu\text{L/L}$.

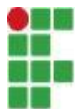
GRÁFICO 5 – Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas.

GRÁFICO 6 – Superfície de resposta para a acidez em função da temperatura e concentração de leveduras.

GRÁFICO 7 – Superfície de resposta para a acidez em função da concentração de leveduras e concentração de enzimas.

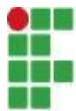
GRÁFICO 8 – Superfície de resposta para teor alcóolico em função da temperatura e concentração de levedura.

GRÁFICO 9 – Superfície de resposta para teor alcóolico em função da concentração de levedura e concentração de enzimas.



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. <i>Tamarindus indica</i> L.	13
4. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	16
5. METODOLOGIA	18
5.2 Material	18
5.3 Método	18
5.3.1 <i>Determinação de acidez total</i>	20
5.3.2 <i>Determinação de pH</i>	21
5.3.3 <i>Sólidos solúveis totais</i>	21
5.3.4 <i>Teor alcoólico</i>	21
5.4 Condução dos experimentos.....	22
6. ANÁLISE DE DADOS E RESULTADOS	24
6.2 Composição proximal.....	24
6.3 Processo fermentativo.....	27
6.3.1 <i>Respostas para tempo fermentativo de 24 horas</i>	27
6.3.2 <i>Respostas para tempo fermentativo de 48 horas</i>	31
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39



1. INTRODUÇÃO

O tamarindo, mesmo não sendo um fruto de origem brasileira, apresenta grande produtividade no Brasil (WATANABE, 2007). Resistente a um longo período de estiagem, é um produto de amplo potencial comercial cujas propriedades nutricionais são muito ricas. De acordo com os resultados obtidos por Santos et al. (2010), os produtos derivados de tamarindo apresentam excelente aceitação, apresentando grande intenção de compra.

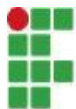
Há, principalmente no norte e nordeste brasileiro, uma alta produtividade de tamarindo. No entanto, grande parte dessa produção é perdida por não ser utilizada em um curto período de tempo após a colheita. Outra parte é destinada à venda em feiras livres locais e produção de alguns gêneros alimentícios (SANTOS et al., 2010).

A partir da polpa do tamarindo, a produção de um fermentado é uma alternativa para renda nos períodos entre colheitas nas regiões cultivadas, já que, resiste a um longo período de seca. A fermentação pode proporcionar um meio de utilizar industrialmente frutas que não poderiam competir no mercado (EVANGELISTA, 1992).

A fermentação alcoólica faz parte do metabolismo de alguns microrganismos e tem como objetivo liberar energia por meio da lise de compostos como a glicose. Ao longo do processo, há a produção de metabólitos característicos. No caso da fermentação alcoólica, os microrganismos produzem álcool e liberam no meio fermentativo, assim como gás carbônico e água, conforme a equação de Gay Lussac (DUARTE, 2014; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Diversas pesquisas envolvendo fermentação de tamarindo já foram realizadas, todavia, nessas, sempre há correção das condições da polpa, mistura com outras frutas e incorporação de aditivos à bebida (CAPELA et. al, 2006; SANTOS et al., 2018). No entanto, as propriedades nutricionais da fruta proporcionam a fermentação sem adição de substâncias aditivas, originando um produto mais saudável e natural.

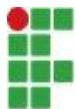
As informações das condições mais adequadas para a produção do fermentado do tamarindo, assim como a caracterização da bebida produzida, é de grande importância para o melhor aproveitamento das produções locais da cultura e



geração de renda para as regiões produtoras, estimulando cada vez mais o cultivo dessa variedade.

Com o intuito de diminuir a perda dos frutos, e agregar valor comercial, a produção de um fermentado alcoólico se mostra promissora no que se diz respeito do desenvolvimento de novos produtos utilizando essa matéria-prima (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

A agricultura familiar nas regiões produtoras que também fabriquem o fermentado de tamarindo surge como alternativa para o aumento da renda familiar, valorizando os produtos locais.



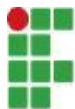
2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as condições fermentativas favoráveis à produção de um fermentado alcoólico de *Tamarindo indica* L.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização físico-química da polpa do tamarindo;
- Avaliar o efeito da adição de enzimas, concentração de leveduras e interferência de diferentes temperaturas sobre a fermentação da polpa de tamarindo;
- Otimizar as condições fermentativas da polpa de *Tamarindus indica* L.;
- Realizar a caracterização físico-química do fermentado alcoólico do tamarindo.



3. *Tamarindus indica* L.

O tamarindo *Tamarindus indica* é um fruto de cultivo milenar pertencente à família Fabaceae ou Leguminosae (SOUZA e LORENZI, 2012).

Composto por 30 a 55% de polpa, de 11 a 30% de casca e fibras e de 33 a 40% pelas sementes, é uma fruta muito ácida e predomina em sua composição o ácido tartárico (MORTON, 1987).

Existem variedades diferentes de Tamarindo que comumente são divididas em ácidas e doces. Nas variedades chamadas de doces as características ácidas, tão marcantes do fruto, não são encontradas, essas são menos cultivadas. As variedades ácidas são as mais encontradas ao redor do mundo, correspondendo a cerca de 95% da produção mundial de tamarindo, e essa maior produtividade se dá, pois se desenvolvem facilmente em climas quentes (EL-SIDDIG et al., 2006).

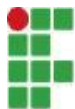
O Brasil juntamente com a Venezuela, são os maiores produtores de tamarindo da América do Sul, sendo que a variedade ácida também é mais abundante. Há fazendas, no entanto, estado da Bahia-BR, onde plantações de tamarindo doce são amplamente cultivadas (REIS et al., 2016).

Originário da região tropical da África, possivelmente da região da Etiópia, Quênia, Sudão e Tanzânia (EL-SIDDIG et al., 2006), a espécie não é natural do Brasil, entretanto, adaptou-se ao clima quente do norte e nordeste brasileiro, de forma que, mesmo sem melhoramentos genéticos, mostra-se como uma cultura atrativa e de grande futuro comercial (MORTON, 1987; PEREIRA et al., 2007; WATANABE, 2007).

O tamarindeiro é muito cultivado como espécie ornamental (DOUGHARI, 2006), no Brasil, é aplicado na arborização de cidades, estradas e rodovias (CRUZ et al., 2013 e QUEIROZ, 2010), porém, pode ser aplicado em consórcios agroflorestais, apresentando grandes benefícios (EL-SIDDIG et al., 2006).

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (USP) aponta que o tamarindo apresenta uma grande quantidade de fibras alimentares, totalizando 6,45 g a cada 100 g. Composto principalmente por carboidratos, o tamarindo também dispõe de minerais como potássio, magnésio, fósforo e cálcio, além de vitamina C e vitamina B6.

O fruto apresenta em sua composição uma substância considerada espessante natural, a pectina. É a presença desse composto que possibilita a



produção de geleias pelo seu potencial geleificante. Associadas à lignina e à celulose, a pectina está majoritariamente presente em tecidos mais jovens das plantas, no tamarindo se concentra na testa, película que envolve as sementes (SANTOS et al., 2010).

Por ser cultivado em muitos lugares do mundo, diversas empregabilidades tanto para o tamarindo quanto para o tamarindeiro já foram exploradas. Essas, diferem-se de acordo com o local onde é cultivado.

O emprego farmacológico do tamarindo se dá por suas propriedades antioxidantes, antibióticas, antifúngicas, anti-inflamatórias, por sua atividade hepatoregenerativa, além do extrato da semente do fruto apresentar atividade antihiperlipidêmica e antidiabética (DE et al., 2013, BHUTKAR et al., 2017). Há, na Nigéria, emprego do tamarindo no tratamento de icterícia, dor no corpo, febre amarela, entre outras (BHUTKAR et al., 2017; DOUGHARI, 2006).

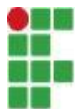
A aplicação da goma da semente do tamarindo em medicamentos como o diclofenaco também vem sendo pesquisada (HUANBUTTA; SANGNIM; SITTIKIJYOTHIN, 2016) assim como o uso do extrato das folhas na biossíntese de nanotriângulos de ouro (ANKAMWAR; CHAUDHARY; SASTRY, 2005).

Os trabalhos acerca das diversas aplicações farmacológicas do fruto estão crescendo e exploram potenciais economicamente importantes e estudam aplicações que, de forma popular, são comuns nos locais de cultivo da variedade.

Bhutkar (2017) e De (2013) estudaram a atividade anti hipoglicêmica do tamarindo, Doughari (2006) avaliou a atividade antimicrobiana do fruto e como resultado revelou a presença de taninos, saponinas, alcaloides, terpenos e flobataminas que causam prejuízo ao crescimento de bactérias gram negativas e positivas, podendo assim ser explorado como um possível antibiótico.

A produção do tamarindo é alta, uma árvore já adulta, segundo Morton (1987), produz de 150 Kg à 225 Kg anualmente, e deste valor, de 30 a 50% corresponde à polpa.

No entanto, devido à alta atividade de água do fruto, que implica na proliferação de microrganismos, há um curto período de utilização do fruto após a colheita. Esse fator ocasiona perda de grande parte da produção brasileira de tamarindo quando este não é processado ou mantido sob refrigeração.



Em locais onde a refrigeração não é acessível, a fermentação vem como alternativa para a conservação de alimentos pela geração de metabólitos como álcool e ácidos.

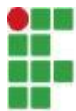
A produção de fermentado alcoólico e acético do tamarindo também se mostra vantajosa, pois quando a matéria prima para produção do vinagre são frutas, esse possui características próprias como aroma e sabor, além de apresentar qualidades sensoriais e nutritivas superiores se comparado a outros vinagres (PEDROSO, 2003). Desta forma, agrega valor comercial ao fruto.

Em regiões onde há maior acesso às tecnologias, a fermentação pode ser realizada buscando melhor aroma para o substrato e melhores aspectos sensoriais (ESKIN; SHAHIDI, 2015).



FIGURA 1 – *Tamarindus indica* L.

Fonte: <https://bit.ly/2EaLSAw> acesso em 03/12/2018



4. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Os primeiros registros da fermentação são atribuídos aos povos primitivos que, apesar de não terem conhecimento sobre os processos fermentativos, já utilizavam a técnica para conservação de alimentos e na produção de pães e queijos (DUARTE, 2014).

No que se diz respeito as bebidas alcoólicas, ao contrário do que se pensa, muitos autores não atribuem a cerveja e ao vinho como a primazia das bebidas fermentadas, mas sim, o hidromel, inicialmente obtido a partir do abandono de soluções de mel silvestre e água que fermentavam naturalmente (DUARTE, 2014).

Louis Pasteur, em 1876, provou que a fermentação era causada por microrganismos, e não era um processo puramente químico, como se pensava na época. Ainda provou que cada tipo de fermentação era realizado por um microrganismo específico e que estes podiam viver e se reproduzir na ausência de ar (VILLEN, 2009).

Atualmente, compreende-se por fermentação,

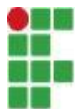
Qualquer processo metabólico que libera energia de um açúcar ou de outra molécula orgânica, que não requer oxigênio ou um sistema de transporte de elétrons e utiliza uma molécula orgânica como acceptor final de elétrons (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

A fermentação alcoólica é realizada por muitos microrganismos, sempre de forma anaeróbia. Uma das principais espécies que apresentam essa rota metabólica é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Saccharomyces cerevisiae pertence ao reino fungi, e é um ser unicelular chamado comumente de levedura. Apresenta parede celular rígida e baixa mobilidade por não ter estruturas destinadas a isso. Sua reprodução, em meio suficientemente nutritivo, é rápida, sendo comparada com a velocidade da reprodução bacteriana, o que favorece sua utilização (ALBERTS et al., 2011).

A levedura é comumente utilizada na fermentação de pães e bolos e na produção de vinho, mesmo que combinada com algumas espécies de bactérias. O objetivo da sua utilização é a obtenção do etanol produzido por fermentação anaeróbica a partir da quebra de carboidratos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

O processo de obtenção do etanol se inicia com a glicólise, obtendo-se, a partir de uma molécula de glicose, duas moléculas de ácido pirúvico e duas moléculas de adenosina trifosfato. Na reação seguinte, as duas moléculas de ácido pirúvico são



transformadas em duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de CO₂. As duas moléculas de acetaldeído são reduzidas por duas moléculas de NADH para formar duas moléculas de etanol (DUARTE, 2014; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Segundo Lehninger (2014), a equação estequiométrica pode ser resumida por:

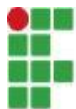


Estequiometricamente, a partir de 100g de glicose, obtém-se 51,11g de álcool. Porém, em condições industriais, o rendimento de etanol decresce para 48,5g, isso porque parte do açúcar é destinado ao crescimento celular e outros produtos da fermentação (SILVA, 2011).

A fermentação alcoólica pode ser acompanhada de tratamento enzimático a fim de garantir a quebra de polímeros que aprisionem açúcares redutores fermentescíveis, esse processo é denominado sacarificação (PARMAR E RUPASINGHE, 2013).

Os processos de fermentação e sacarificação podem ser realizados simultaneamente, no entanto, é necessário que se encontre condições físico-químicas intermediárias para que os dois processos apresentem bom rendimento (WILKINS et. al. 2007).

A produção de etanol é vantajosa no processo de fermentação, não só por se apresentar como resposta do metabolismo microbiano, mas também porque é preciso que seja produzida quantidade de álcool que viabilize sua posterior fermentação acética. De acordo com a legislação brasileira, vinagres precisam de no mínimo 4% de ácido acético. Para tanto, na fermentação alcoólica, é necessária produção de etanol superior a 4%, já que o rendimento da fermentação se aproxima a 100% (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2012).



5. METODOLOGIA

2.2 Material

O tamarindo utilizado para as análises e fermentação foi cultivado no estado do Maranhão, próximo a região de São Luís, sendo este colhido no período entre setembro e outubro do ano de 2015. Apenas a polpa foi utilizada para os testes. A polpa foi pasteurizada e congelada. Foi transportada para o Laboratório de Análise Físico-química de Alimentos da UTFPR - campus Londrina e descongelada apenas no momento do uso.

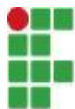
Para a fermentação, foi utilizado o fermento biológico seco comercial da marca Fleischmann®. Este fermento, segundo o fabricante, é composto por leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.

As enzimas utilizadas foram a Viscozyme e Pectinex Ultra Tropical ambas da marca Novozymes. A enzima Pectinex é uma pectina liase, que forma oligossacarídeos. Já a enzima Viscozyme é uma endo-beta-gluconase que hidrolisa as ligações 1,3 ou 1,4 em beta-D-gluconas.

2.3 Método

A coleta e tratamento da polpa do tamarindo, até o preparo do mosto e a fermentação alcoólica foram realizados como mostra o diagrama da Figura 1.

A polpa foi descongelada e diluída para o preparo do mosto a 16° brix. Adicionou-se as enzimas e leveduras em diferentes concentrações conforme planejamento experimental. Desta forma, ocorreu simultaneamente a sacarificação e a fermentação alcoólica.



A polpa foi submetida à caracterização proximal por Dantas (2017), a fim do conhecimento das características do fruto utilizado. Para tanto, foram realizadas análises de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008). O valor de carboidratos obtido foi calculado por diferença de massa como descrito pela AOAC (2012).

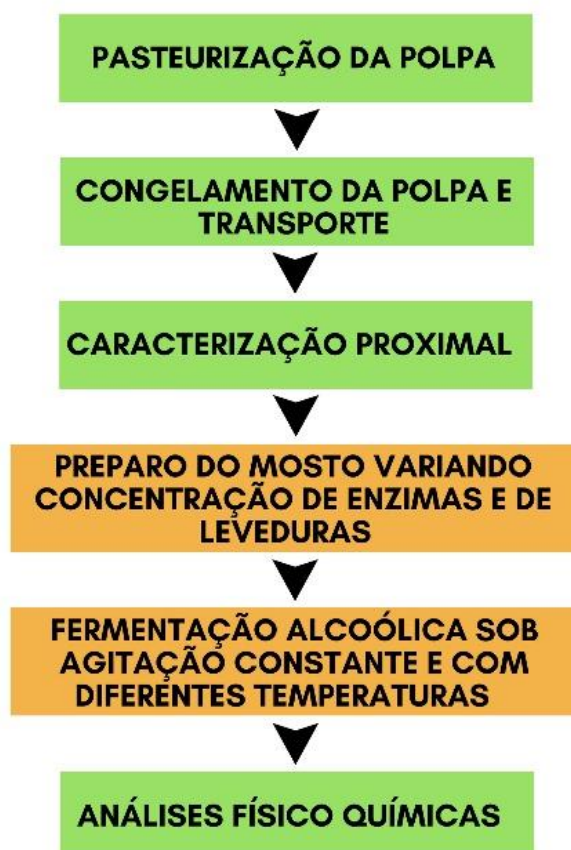
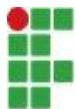


FIGURA 2 – Fluxograma dos métodos utilizados

Para conhecimento da composição da polpa trabalhada, realizou-se uma quantificação de minerais presentes nas cinzas desta por fluorescência de raio x.

Na espectrometria de fluorescência de raios-X, uma fonte de radiação de elevada energia provoca a excitação dos átomos da substância a ser analisada. Quando um átomo no estado fundamental fica sob a ação de uma fonte externa de energia, ele absorve esta energia, promovendo elétrons a níveis mais energéticos. Neste estado o átomo estará numa situação instável (OLIVEIRA, 2011).

Desta forma, o átomo excitado tende naturalmente a retornar ao seu estado fundamental, ocorrendo uma emissão de energia. Esta energia envolvida na absorção é uma característica específica de cada elemento químico, permitindo a sua



identificação e correspondente quantificação (BECKHOFF, 2006). Deste modo, foi estabelecida a concentração de diferentes minerais na porção inorgânica da polpa, realizando-se uma caracterização proximal do tamarindo utilizado.

A fermentação ocorreu em diferentes temperaturas a fim de se conhecer a temperatura ideal para maior rendimento fermentativo e ação enzimática. Sobre agitação constante a 137 RPM, a fermentação foi mantida durante 48 horas, sendo que, ao completar 24 horas, uma alíquota foi retirada em fluxo laminar para posterior análise.

Para acompanhar o processo fermentativo da polpa do tamarindo, foram realizadas análises físico-químicas de parâmetros essenciais para melhor rendimento da fermentação. Estas determinações foram executadas tanto na polpa da fruta, quanto no fermentado alcoólico.

A caracterização da polpa se deu pelas análises de acidez total, pH e sólidos solúveis, além das análises de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos realizadas por Dantas (2017). Já as análises do fermentado foram acidez total, teor alcoólico, pH, sólidos solúveis, essas foram estabelecidas como parâmetros respostas ao rendimento da fermentação.

As análises de acidez total, teor alcoólico, pH, sólidos solúveis foram realizadas no Laboratório de Análise Físico-química de Alimentos da UTFPR - câmpus Londrina. Ao passo que ensaios microbianos para purificação e isolamento de cultura foram realizados no laboratório de Prestação de Serviços - Análise de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina.

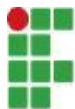
As metodologias utilizadas para a fermentação e análises estão descritas a seguir.

5.2.1 Determinação de acidez total

A determinação de acidez foi realizada conforme descrição da norma técnica 930.35, AOAC (2012).

Diluiu-se 1 mL de amostra em 50 mL de água destilada e adicionou de três a quatro gotas do indicador fenolftaleína. Prosseguiu-se, então, realizando a titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

O resultado é fornecido em grama em 100mL da amostra pela equação:



$$\frac{V \times f \times 0,1 \times E_{qg} \times 100}{m \times 1000}$$

Sendo:

V= volume de NaOH gasto para atingir o ponto de viragem na titulação

f= fator de correção da solução de NaOH

0,1= concentração de NaOH

E_{qg}= valor equivalente por grama do ácido que é predominante na amostra a ser analisada

m= massa (para resultado expresso em grama do ácido por 100 g) ou volume (para resultado expresso em grama de ácido por 100 mL) de amostra utilizado.

5.2.2 *Determinação de pH*

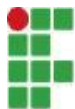
A medida de pH em equipamento (Hanna Instruments®, HI 2221, EUA) como descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) em extrato aquoso e etanoico. O equipamento foi calibrado antes da medida, assim como indicado pelo fabricante, com duas soluções tamponadas (dizer quais pH). O eletrodo foi lavado com água destilada a cada nova medida e após a calibração.

5.2.3 *Sólidos solúveis totais*

A determinação de sólidos solúveis foi realizada em refratômetro digital de bancada da marca Nova Instruments®, seguindo orientações fornecidas pelo fabricante, para a calibração, é utilizada água destilada.

Para a análise, adiciona-se aproximadamente 1ml da solução a ser analisada ao prisma, e seleciona-se “read” para a realização da análise. Os resultados são mostrados no visor em % de sólidos solúveis na solução. Após a medida, deve ser realizada a lavagem do prisma com água destilada para que se insira uma nova amostra.

5.2.4 *Teor alcoólico*



A determinação do teor alcoólico foi realizada pelo método da Ebulliometria descrito por Curvelo Garcia (1988). Este método, em um ebulliômetro, utiliza da diminuição do ponto de ebulição do fermentado causado pela presença de álcool para a determinação do teor alcoólico na escala Gay Lussac (°GL). Para isso, se faz necessário submeter previamente às mesmas condições uma amostra de água.

Para a determinação do ponto de fusão da água, foram adicionados 15 mL de água destilada no compartimento do ebulliômetro (Tech Vision) destinado à amostra, neste compartimento um termômetro é acoplado, assim como um condensador com água gelada. O compartimento destinado às amostras foi aquecido até que sua temperatura se estabilizasse. A temperatura de ebulição da água serviu como parâmetro para a escala que converte a temperatura de ebulição das amostras em teor alcoólico.

A determinação do teor alcoólico das amostras foi feita seguindo os mesmos procedimentos da determinação do ponto de ebulição da água.

2.4 Condução dos experimentos

Submetidos à diferentes tratamentos, os experimentos foram mantidos em incubadora com agitação orbital durante 48 horas. As análises resposta foram realizadas a cada 24 horas.

O planejamento escolhido foi uma metodologia de superfície de resposta com 3 variáveis (temperatura, concentração de levedura e concentração de enzimas), em três níveis. O grupo de ensaios realizados contou com 27 experimentos, sendo que foram realizadas três repetições no ponto central, totalizando 30 experimentos.

As respostas obtidas em cada tratamento foram acidez total, pH, brix e teor alcoólico.

As variáveis testadas foram estabelecidas conforme Tabela 1. Desta forma, as temperaturas testadas variaram de 25 a 38°C, a concentração de enzimas de 250 a 750 mg/L e a concentração de levedura de 1 a 2%.

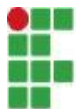
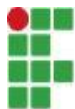


Tabela 1 – Variáveis dos tratamentos experimentais

	Temperatura (°C)	Concentração de enzimas (µL/L)	Concentração de levedura (%)
-1	25	250	1
0	31,5	500	1,5
+1	38	750	2



6. ANÁLISE DE DADOS E RESULTADOS

O tratamento dos dados foi realizado utilizando o software Statistica 8.0. Os dados obtidos pelo planejamento fatorial 3K foram analisados tendo em vista a interação entre os fatores variáveis em cada tratamento, gerando um modelo que fora validado por meio de repetições verdadeiras do ponto central.

A composição proximal foi analisada comparando os dados obtidos com os descritos na literatura, a fim de comparar as propriedades da polpa fermentada.

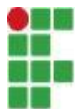
2.5 Composição proximal

A caracterização proximal da polpa de tamarindo utilizada nos experimentos foi realizada por Dantas (2017) e complementada com dados da composição mineral por espectrofotometria de fluorescência raio-x. Os dados obtidos por Dantas (2017) estão descritos na Tabela 2.

Componentes	Valores por 100g**
Umidade	81,60 (\pm 0,13)
Cinzas	0,96 (\pm 0,08)
Proteínas	3,08 (\pm 0,05)
Lipídios	1,14(\pm 0,40)
Carboidratos*	13,22
Valor calórico	79kcal

Tabela 2 - Caracterização proximal de polpa de tamarindo

*calculado por diferença;
** expresso em base seca
Fonte: Dantas, 2017



A polpa analisada apresenta umidade bastante superior aos dados encontrados na literatura (USDA, 2016 e TACO, 2011) como mostram os valores apresentados na Tabela 3. Também se observa valor superior na porcentagem de lipídeos.

A porcentagem de cinzas está próxima do valor descrito pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), com variação de aproximadamente 1%. O teor de proteínas quantificadas na polpa, correspondeu ao encontrado na literatura.

Tabela 3 - Tabela de Composição de Alimentos - TACO (2011) e Food Composition Database for Standard – USDA (2016)

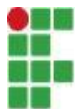
Nutrientes*	USDA (2016)	TACO (2011)
Umidade	31,40	22,00
Cinzas	-	1,9
Proteínas	2,80	3,2
Lipídios	0,6	0,5
Carboidratos	62,50	72,5
Fibra Alimentar	5,1	6,4
Açúcares totais	38,40	
Valor Calórico	239 Kcal	276 Kcal
Minerais**		
Na	28,00	N/D
K	628,00	131
Ca	74,00	37
Mg	92,00	59
Fe	2,80	0,1
Zn	0.10	N/D
P	113	12

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

N/D - Não determinado

A determinação de minerais corresponde à porcentagem desses encontrados em predominância na porção inorgânica da polpa do tamarindo. Os valores obtidos foram expressos em porcentagem em relação à massa total e estão contidos na Tabela 4.

O mineral de maior concentração na polpa analisada foi o potássio, com aproximadamente 0,77% da massa total do fruto, sendo pouco superior ao



apresentado pela USDA (2016). A porcentagem de ferro se aproxima da descrita pela USDA. Já os valores de cálcio e fósforo foram inferiores aos encontrados na literatura.

Os valores obtidos na caracterização proximal dos frutos podem variar de acordo com o grau de maturação do fruto analisado, características do solo do local de cultivo, quantidade de água das amostras, bem de acordo com o armazenamento, método utilizado nas análises, genótipo das árvores de origem e sensibilidade dos equipamentos (GURJÃO, 2016; CECCHI, 2003).

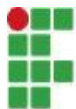
Tabela 4 - Composição mineral em porcentagem das cinzas da polpa de tamarindo.

Minerais	Valores (%)
K	0,772
Ca	0,103
P	0,060
S	0,016
Fe	0,002
Ba	0,001
Zn	0,001
Cu	0,001
Total	0,956

Outros minerais encontrados na polpa analisada foram o enxofre, bário, cobre e zinco. Esses identificados em menores quantidades e não apresentam quantidades descritas nas fontes pesquisadas. A análise de minerais também identificou a presença de rubídio, chumbo, manganês, estrôncio, cério e bromo, no entanto, em quantidades muito pequenas.

Desta forma, a porcentagem total de minerais da polpa encontrada na quantificação (0,956%), juntamente com a dos demais minerais não quantificados, se aproxima da massa de cinzas (0,960%) encontrada na caracterização (Tabela 2).

A análise de minerais também foi realizada no mosto fermentado, a fim de identificar se há permanência dos minerais identificados. Os resultados indicaram a presença de potássio, cálcio e cobre em concentrações próximas às encontradas na polpa.



2.6 Processo fermentativo

Para acompanhar o processo fermentativo da polpa do tamarindo, foram realizadas análises físico-químicas de acidez total, teor alcoólico, pH e sólidos solúveis.

O tempo máximo fermentativo foi estabelecido tendo em vista a estabilização dos sólidos solúveis, que se deu a partir das 48 horas.

Os resultados das análises das respostas, para os dois tempos fermentativos, estão descritas a seguir:

6.2.1 Respostas para tempo fermentativo de 24 horas

Ao analisar a polpa fermentada após 24 horas de fermentação, o pH, com a concentração de levedura a 1%, foi superior nos níveis 0 de enzima (500 $\mu\text{L/L}$) e temperatura (31,5°C), como mostra o Gráfico 1.

Quando a concentração de leveduras é dobrado (Gráfico 2), o comportamento da resposta de pH é oposto, há maiores valores de pH em concentrações de enzima periféricas, ou seja, nos níveis -1 ou 1, repetindo o comportamento com temperaturas mais externas.

Valores maiores de pH são mais vantajosos no processo fermentativo, como aponta Lin et al. (2012), que estabeleceu pH ideal entre 4,0 e 5,0 para maior produção de etanol em processo fermentativo com *S. cerevisiae*. Desta maneira, se comparadas as respostas obtidas nos Gráficos 1 e 2, observa-se que no tratamento com menor concentração de leveduras (1%), atingiu-se maior valor de pH (3,4), ao passo que com maior concentração (2%), o valor máximo de pH obtido, na faixa de temperatura e concentração de enzimas testada, foi de 2,8.

Para a resposta de acidez, diferente do pH, espera-se valores menores. Esses traduzem que, durante a fermentação, houve degradação dos ácidos orgânicos presentes na polpa do tamarindo, formando outros compostos.

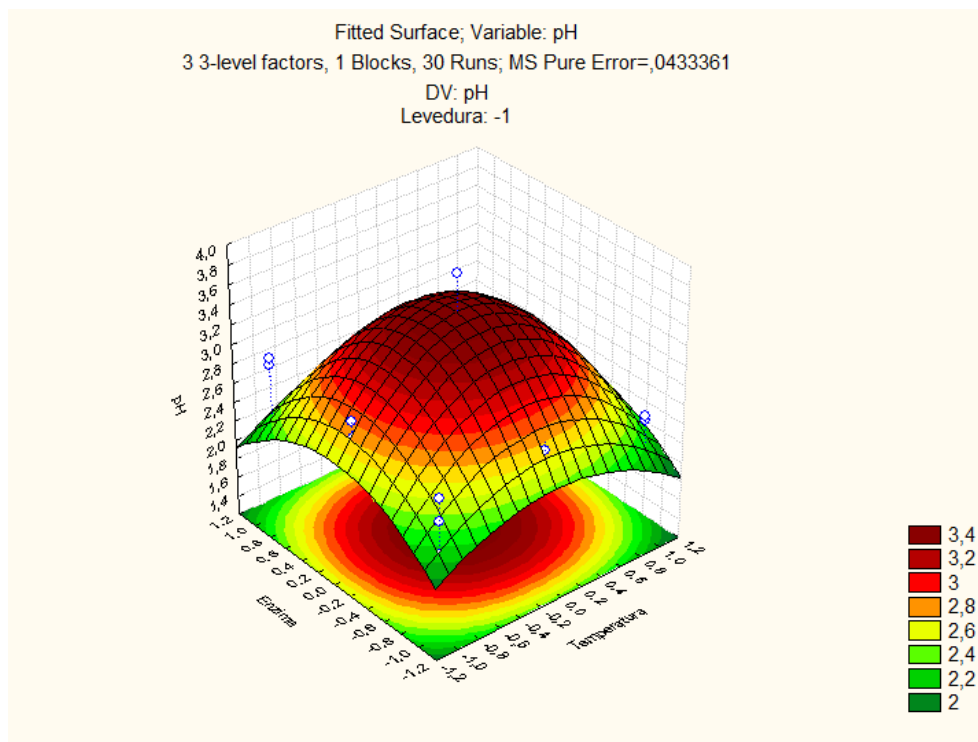
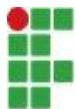


Gráfico 1 - Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas a 1% de levedura.

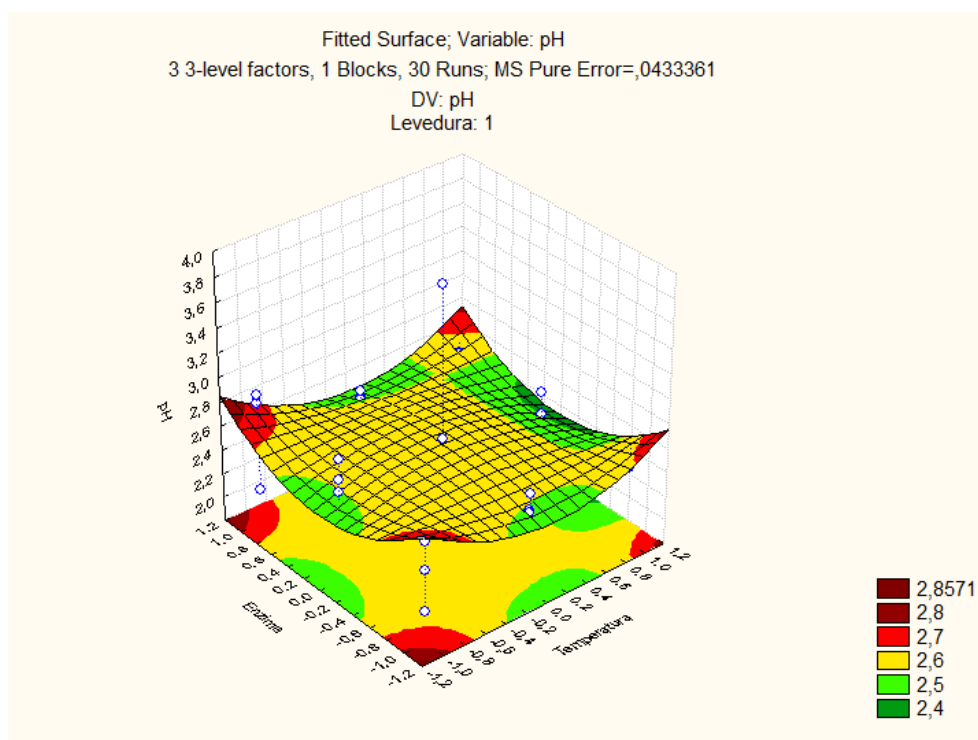
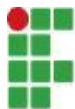


Gráfico 2 - Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas a 2% de levedura.



Avaliando o Gráfico 3, com a concentração de enzimas em seu maior nível (750 $\mu\text{L/L}$), e nos níveis -1 de leveduras (1%) e temperatura (25°C), há maior consumo desses ácidos e, assim, diminuição da acidez total do fermentado.

Lin et al. (2012) aponta que, em temperaturas superiores à 30°C, há queda nas funções metabólicas das leveduras, prejudicando assim o consumo dos ácidos. Este comportamento pode ser observado no Gráfico 3, visto que, em temperaturas menores, há menor concentração de ácidos e, ao passo que quando a temperatura é aumentada, maiores são as concentrações de ácidos no fermentado.

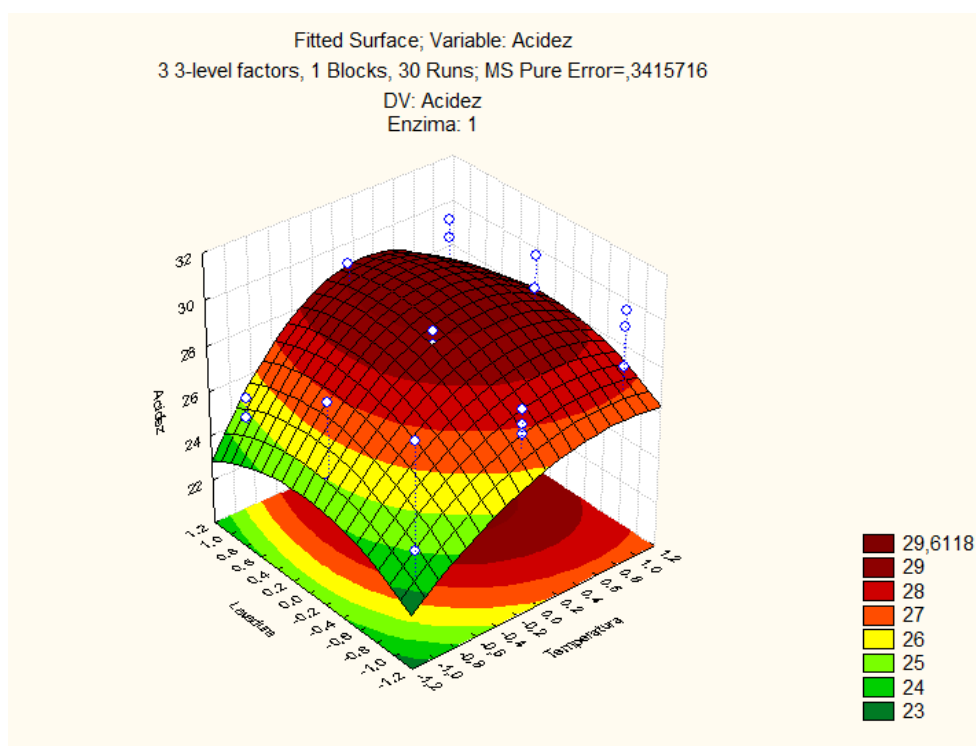


Gráfico 3 - Superfície de resposta para a acidez em função da temperatura e concentração de leveduras com 750 $\mu\text{L/L}$ de enzimas.

A produção de etanol também foi avaliada em diferentes condições de temperatura e concentração de levedura, com concentração de enzimas de 250 $\mu\text{L/L}$ (Gráfico 4). A maior produção de etanol foi em menores temperaturas, tendo um pequeno aumento com concentrações menores de levedura.

Assim como a resposta metabólica da acidez, mostrada no Gráfico 3, o teor alcoólico tem grande influência da temperatura. Quando esta foi ajustada para a temperatura ótima de fermentação das leveduras, houve maior produção de etanol.

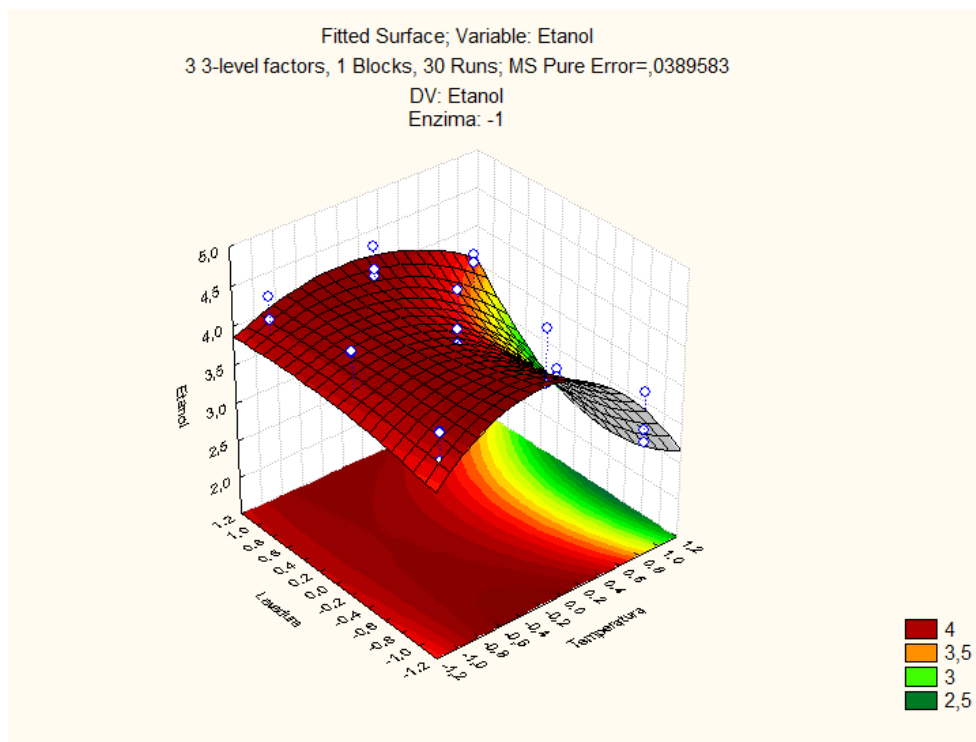
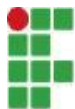


Gráfico 4 - Superfície de resposta para o etanol em função da temperatura e concentração de leveduras com a concentração de enzimas de 250 $\mu\text{L/L}$.

Conforme o comportamento microbiano e as características desejáveis no fermentado alcoólico, os aspectos desejáveis para a fermentação foram traçados. Foram esses diminuição da acidez, aumento do pH, aumento do teor alcoólico e diminuição dos sólidos solúveis.

A partir dos critérios estabelecidos e considerando as interações entre os fatores de temperatura, concentração de levedura e concentração de enzimas, gerou-se a desejabilidade do experimento, Figura 2. Essa, considera as faixas mais propícias de atividade de cada uma das respostas e prediz, através de modelos matemáticos, as condições em que a fermentação será otimizada.

Entretanto, visto que o processo fermentativo é biológico, há inúmeros fatores que influenciam na atividade dos organismos e não são previsíveis matematicamente, desta forma, a previsibilidade do processo mostra-se limitada e parcial.

As condições mais favoráveis para a fermentação de 24 horas foram, como indicam os gráficos inferiores da Figura 2, de temperatura no nível -1 (25°C), concentração de levedura no nível 1 (2%) e concentração de enzimas no nível -0,8 (300 $\mu\text{L/L}$).

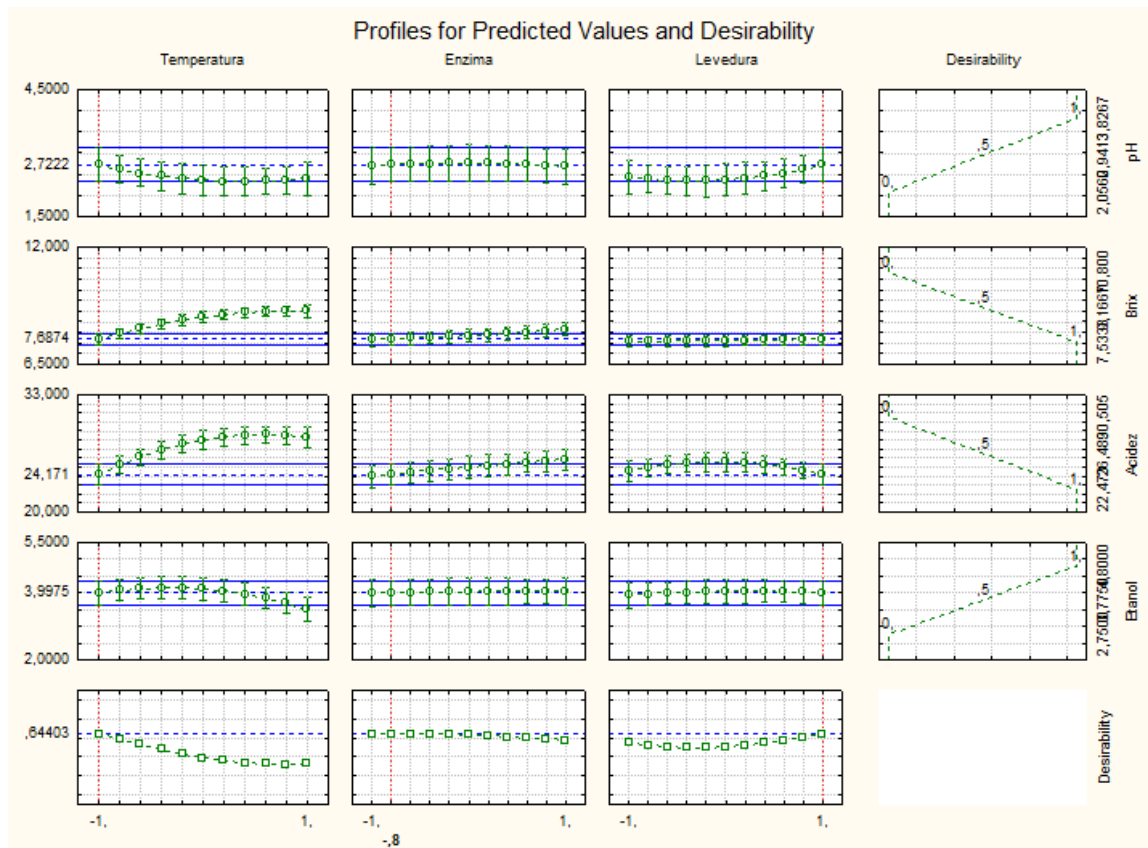
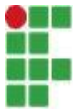


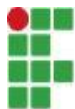
Figura 3 - Desejabilidade da fermentação de 24 horas de duração.

6.2.2 Respostas para tempo fermentativo de 48 horas

Avaliando o Gráfico 6, quando testado no nível -1, referente à levedura em concentração de 1%, pode-se perceber que em temperaturas próximas ao nível 0 (31,5°C) e com maiores concentrações de enzimas, obtém-se faixa de pH elevada em relação a outros níveis do gráfico.

Os valores de pH obtidos ao final da fermentação foram similares aos valores obtidos por Capela et al (2016), no entanto o comportamento dessa variável não coincidiu com os trabalhos realizados por Oliveira et al. (2016) e Santos et al. (2018), já que, a desejabilidade estabelecida pela análise dos dados foi de aumento do pH e diminuição da acidez, e nas fermentações de Santos et al. (2018) e Oliveira et al. (2016) o comportamento foi de diminuição de pH e aumento de acidez nas últimas horas de fermentação.

Assim, percebe-se que, com menores concentrações de levedura, a temperatura que proporciona pH mais elevado, de aproximadamente 2,97, é próxima



de 31,5°C quando combinada com maiores concentrações de enzima, 750 $\mu\text{L/L}$ (Gráfico 5).

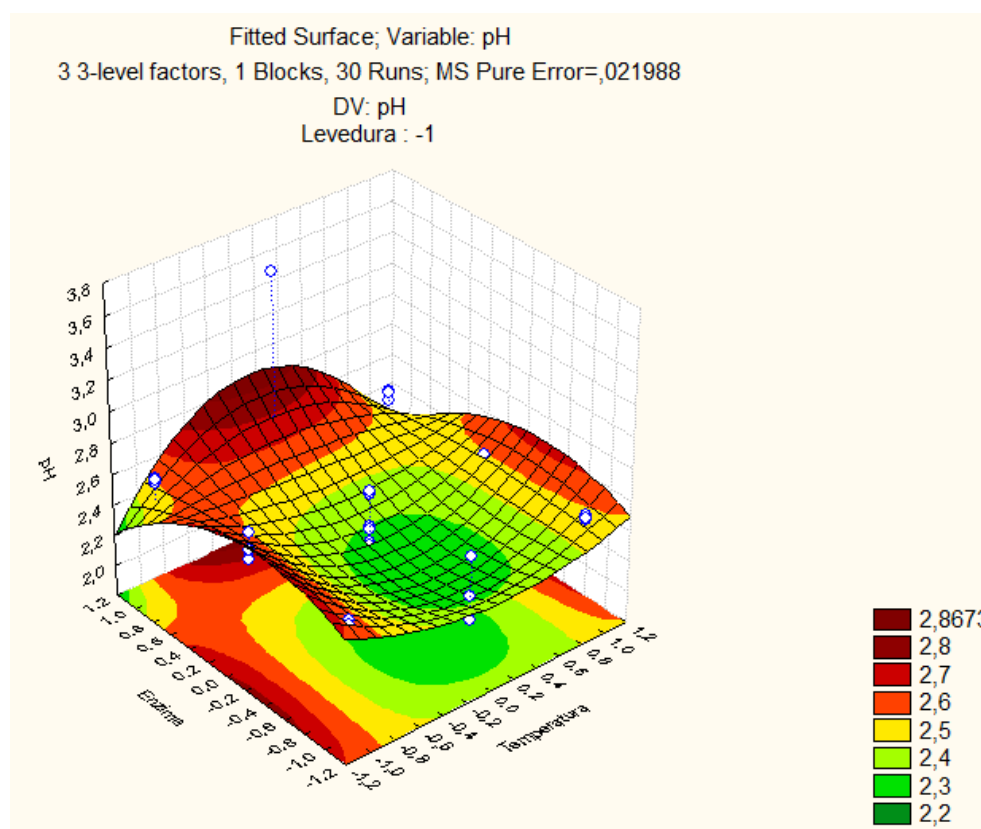


Gráfico 5 - Superfície de resposta para o pH em função da temperatura e concentração de enzimas.

Quando testado o nível 1 de enzimas, referente a concentração de 750 $\mu\text{L/L}$, pode-se observar, no Gráfico 6, que temperaturas e concentrações de leveduras menores acarretam em menores concentrações de ácidos.

Os níveis de acidez correspondem à formação de ácidos orgânicos no meio (AQUARONE, 2001), e desta forma, a diminuição da acidez é desejada, pois indica que houve o consumo desses ácidos da polpa, devido ao metabolismo microbiano, para a formação de metabólitos.

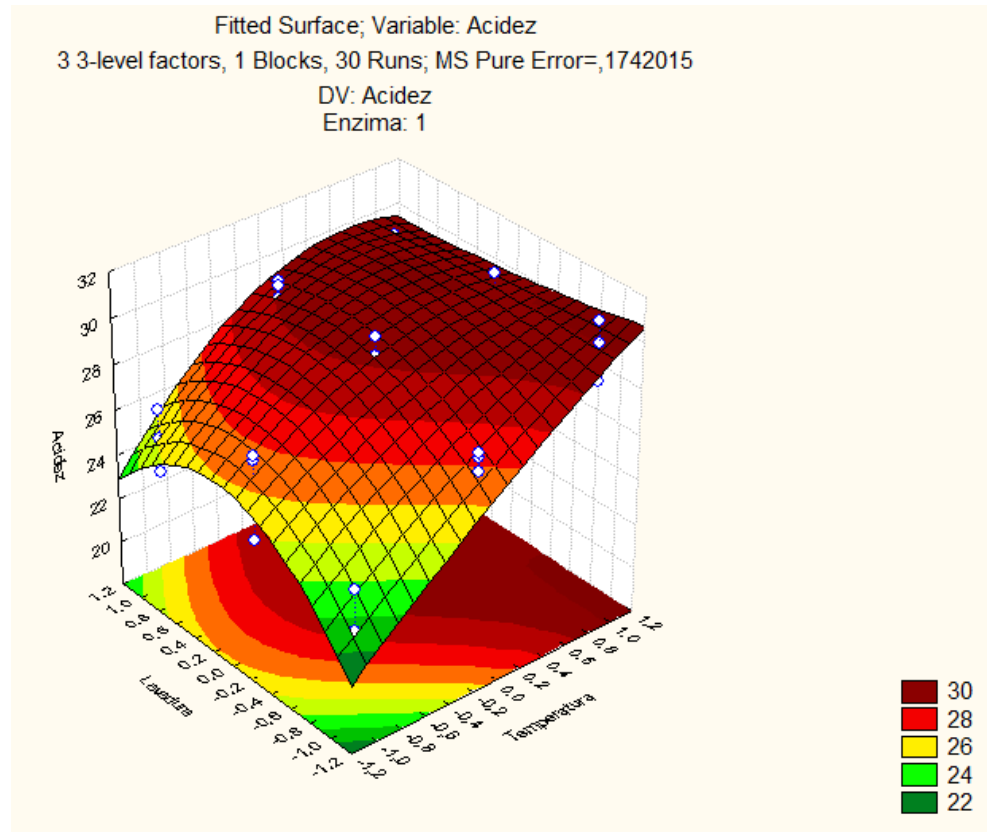
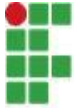


Gráfico 6 - Superfície de resposta para a acidez em função da temperatura e concentração de leveduras.

Ainda tendo em vista o comportamento da acidez do fermentado, analisando o Gráfico 7, quando a temperatura de fermentação ocorre sob 31,5°C e a concentração de leveduras passa a ser uma variável, a concentração de enzimas não tem grande interferência nos níveis de acidez, diferente da resposta obtida no Gráfico 6.

O fator mais influente passa a ser a concentração de leveduras, que, quanto menor, influencia em níveis menores de acidez, o que beneficia o processo fermentativo, já que, conforme Narendranath, Thomas e Ingledew (2001) quando as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* são expostas à grandes concentrações de ácidos, há aumento no pH intracelular das leveduras acarretando na diminuição da ATPase de suas membranas e, assim diminuindo o crescimento microbiano.

Portanto, a fermentação com menores concentrações de levedura à 31,5°C não influencia apenas em menores concentrações de ácidos, mas podem resultar em maior crescimento da *S. cerevisiae*.

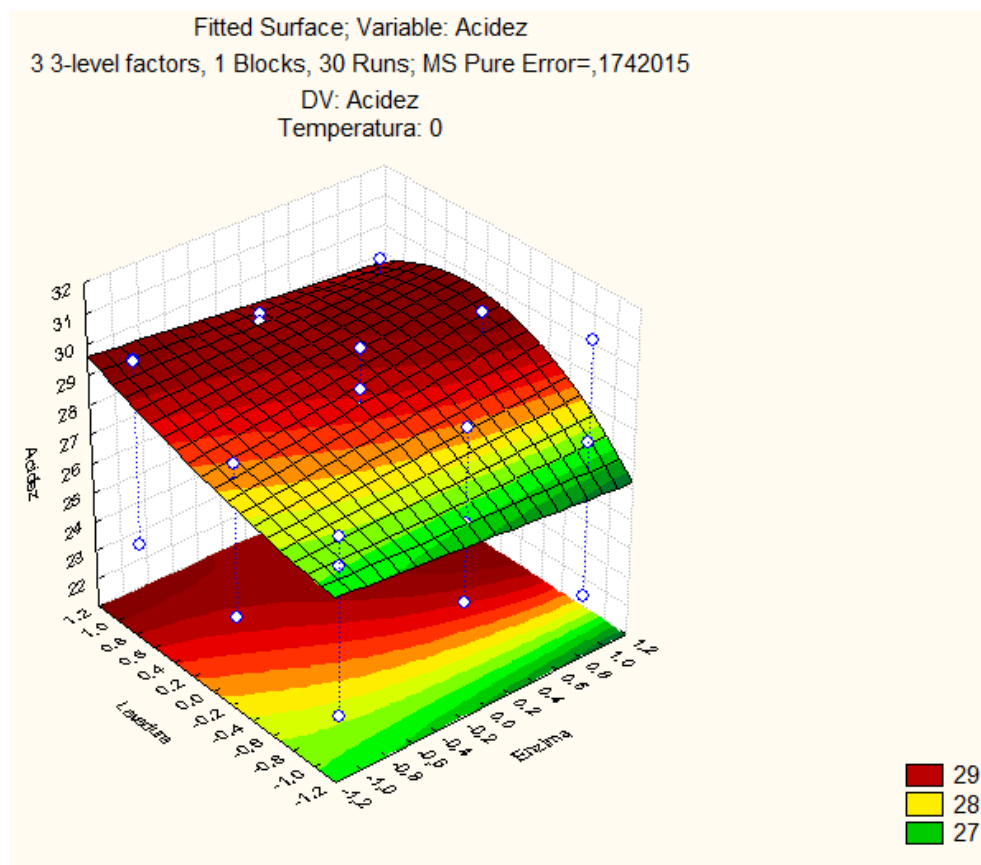
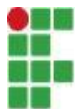


Gráfico 7 - Superfície de resposta para a acidez em função da concentração de leveduras e concentração de enzimas.

A produção de etanol (Gráficos 8) foi similar ao volume produzido no trabalho de Santos et al. (2018) que alcançou 4,3% de álcool, com adição de sacarose ao mosto para correção de sólidos solúveis e de bicarbonato de sódio para correção de pH. No entanto, a graduação obtida foi diferente do volume produzido por Capela et al (2016), que chegou a 10% em fermentação com adição de sacarose na proporção aproximada de 1:1.

Como apresentado no Gráfico 8, quando testado no nível -1 referente a concentração de 250 μ L/L de enzimas, a concentração de leveduras não interfere amplamente nos níveis de etanol, mas em temperaturas menores (entre 25 e 31,5°C) houve maior produção de etanol. Essa resposta também foi obtida por Lin et al. (2012) ao pesquisar os fatores que afetam a produção de etanol por *S. cerevisiae*, e concluir que na temperatura aproximada de 30°C há maior produção de etanol.

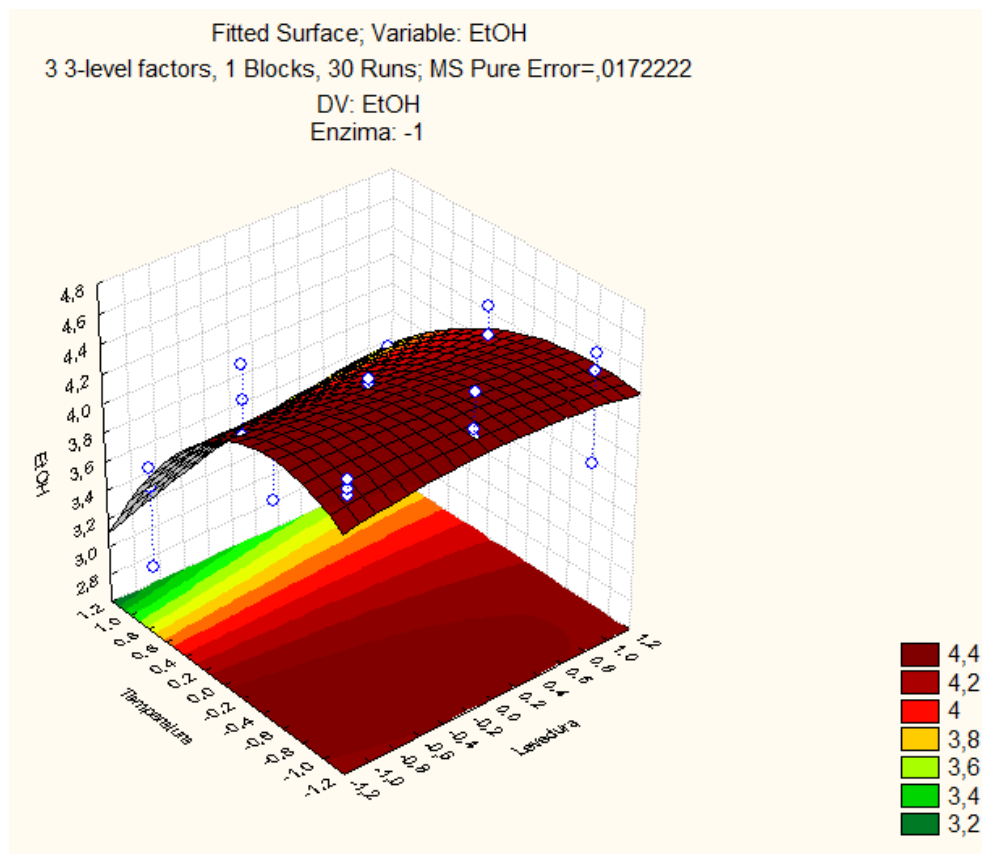
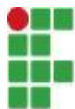


Gráfico 8 - Superfície de resposta para teor alcóolico em função da temperatura e concentração de levedura.

Quando a fermentação ocorreu em temperaturas maiores (38°C), a concentração de leveduras não teve interferência nos níveis de etanol, mas quanto menor a quantidade de enzimas, maiores são os níveis de etanol, comportamento vantajoso no processo fermentativo.

A baixa interferência da concentração de enzimas na produção do fermentado, indica uma pequena atividade dessas. Guan e Yao (2008), em seu trabalho, definiram a otimização da enzima Viscozyme através da metodologia de superfície de resposta, nas condições de temperatura de 44°C e pH de 4,6. Há, desta forma, diferença entre a temperatura de otimização das enzimas e do metabolismo microbiano das leveduras. O delineamento das interações mostradas do Gráfico 9, indicam as melhores condições considerando as duas variáveis.

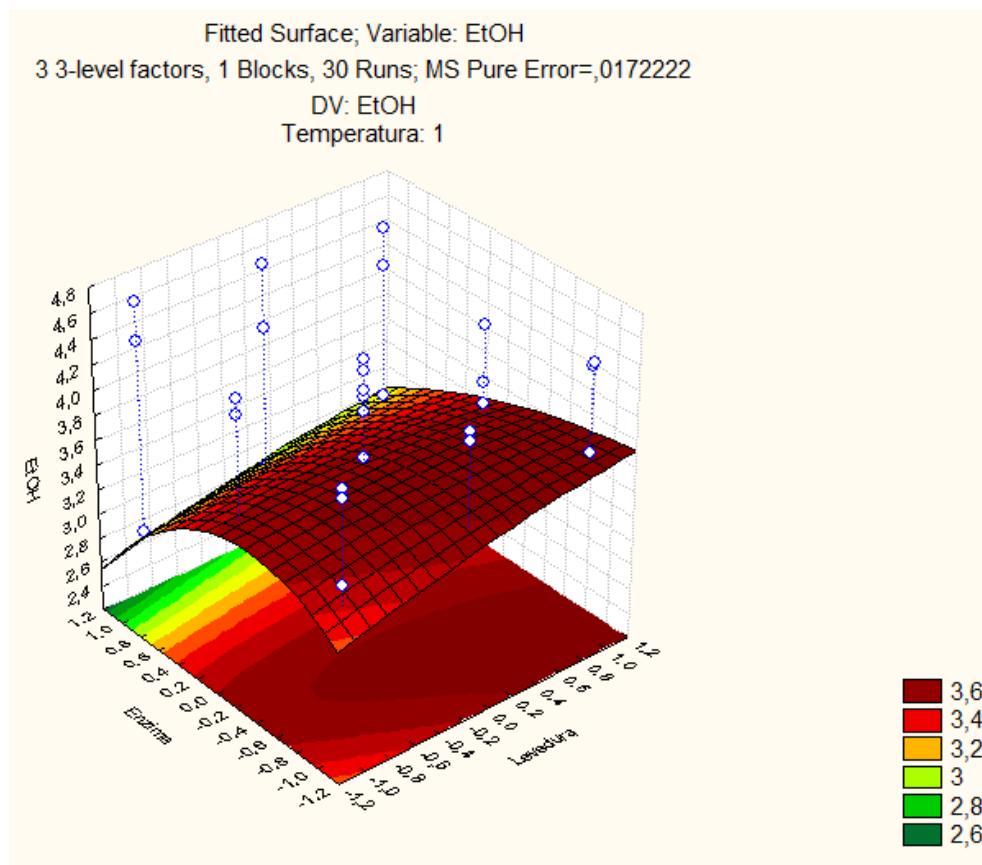
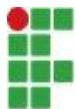


Gráfico 9 - Superfície de resposta para teor alcóolico em função da concentração de levedura e concentração de enzimas.

Considerando as análises realizadas, foram determinadas as condições desejáveis para as respostas e a partir das variáveis estipuladas um modelo matemático foi gerado. Os parâmetros determinados foram de maior pH, diminuição de sólidos solúveis (brix), que indica consumo dos açúcares fermentescíveis, diminuição de acidez total, pelo consumo dos ácidos orgânicos e aumento na graduação alcoólica, decorrente do metabolismo microbiano e da necessidade para posterior acetificação. Os parâmetros desejáveis estão descritos nos gráficos da Figura 3 e correspondem à desejabilidade da fermentação de 24 horas.

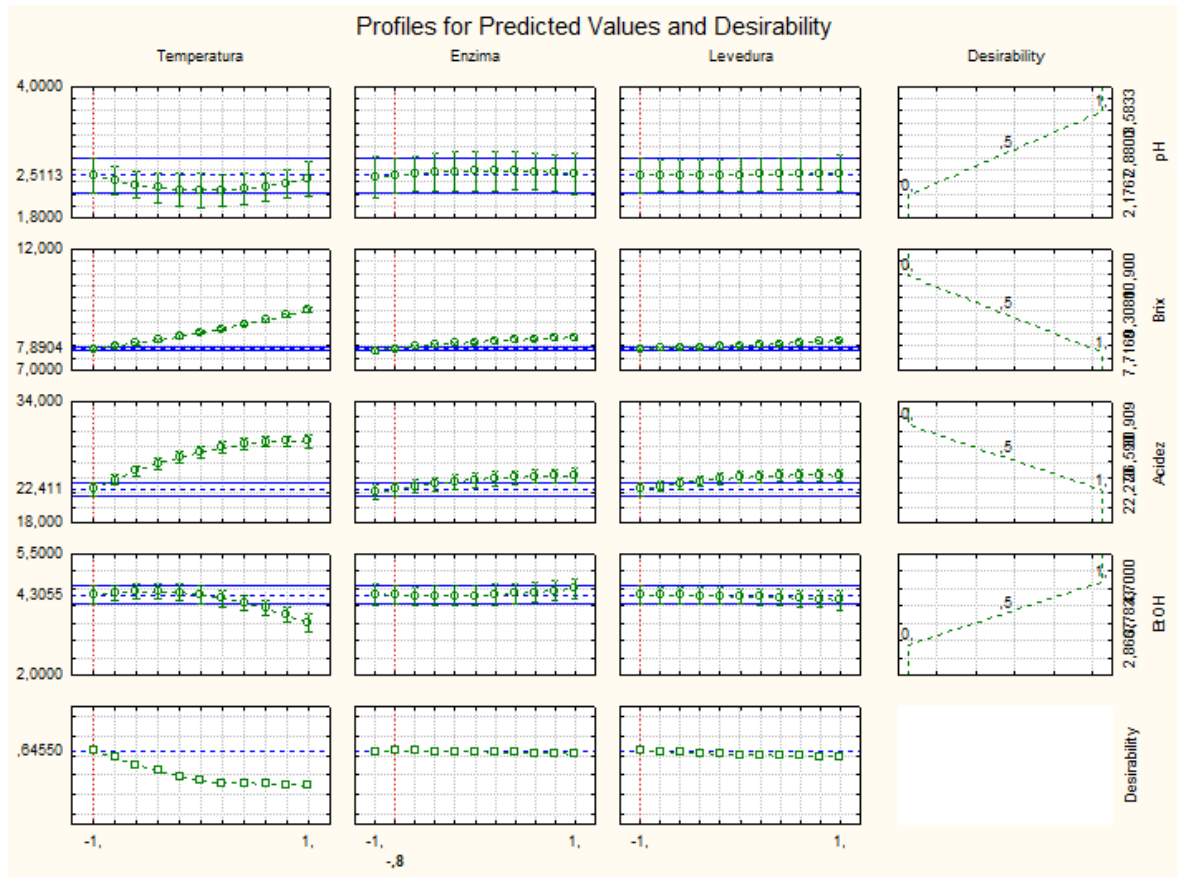
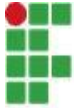
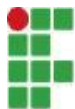


Figura 4 - Desejabilidade da fermentação de 48 horas de duração.

Ao avaliar o comportamento das respostas em relação aos parâmetros desejáveis, temos que os níveis adequados para a fermentação com a duração de 48 horas são de temperatura em -1 (25°C), concentração de enzima em -0,8 (aproximadamente 300 µL/L) e concentração de leveduras em 1 (1%), conforme Figura 3.



7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

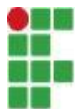
A polpa de tamarindo apresentou, em sua caracterização, alta umidade, porcentagem de proteínas e de lipídeos. Os minerais identificados e quantificados foram sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, zinco e fósforo, sendo que o potássio corresponde a cerca de 0,77% da massa total.

Ao manter o processo fermentativo por 24 horas, as condições mais adequadas foram de temperatura de 25°C, concentração de enzimas de 300 µL/L e concentração de leveduras de 2%, sendo que o rendimento alcoólico do processo foi superior a 4 %.

No tratamento de 48 horas, assim como no de 24 horas, as condições fermentativas mais adequadas foram de temperatura de 25°C e concentração de enzimas de 300 µL/L, no entanto, a concentração de leveduras diferenciou-se, sendo 1% o tratamento adequado.

Ao final dos dois processos a graduação alcoólica foi superior a 4%, o que viabiliza a posterior acetificação do mosto e obtenção de vinagre.

A escolha do processo fermentativo a ser utilizado varia de acordo com diferentes objetivos, uma vez que, se escolhido o processo no tempo de 24 horas, é necessário maior investimento na concentração de leveduras. Em contrapartida, no processo de 48 horas, é possível a obtenção da mesma graduação alcoólica quando utiliza-se menor concentração de leveduras.



REFERÊNCIAS

ALBERTS, Bruce et al. **Fundamentos da biologia celular**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

ANKAMWAR, Balaprasad; CHAUDHARY, Minakshi; SASTRY, Murali. **Gold Nanotriangles Biologically Synthesized using Tamarind Leaf Extract and Potential Application in Vapor Sensing**. Synthesis And Reactivity In Inorganic, Metal-organic, And Nano-metal Chemistry, [s.l.], v. 35, n. 1, p.19-26, 1 jan. 2005. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1081/sim-200047527>.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 19th ed. Gaithersburg, 2012. 3000p.

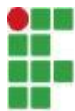
AQUARONE, E.; ZACANARO JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. (Coord.). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação: biotecnologia**. São Paulo: E. Blücher, 1983. v. 5, p. 104- 122.

AQUARONE, Eugênio et al. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2001. 4 v.

BECKHOFF, B.; KANNGIEßER, B.; LANGHOOF, N.; WEDELL, R.; WOLFF, H. **Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis**. 1 ed. Berlin-London: Springer, 2006.

BHUTKAR, Mangesh A. et al. Hypoglycemic effects of Berberis aristata and Tamarindus indica extracts in vitro. **Bulletin Of Faculty Of Pharmacy**, Cairo University, [s.l.], v. 55, n. 1, p.91-94, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bfopcu.2016.09.001>.

CAMPELO, Daniel Dantas. **Fermentação e sacarificação simultânea de tamarindo para obtenção de fermentado alcoólico**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Curso de



Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos- Mestrado Profissional, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

CAPELA, A P et al. **Produção e caracterização de fermentado alcoólico de tamarindo (Tamarindus indica L.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 21., 2016, Fortaleza. Artigo. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2016. p. 2555 - 5546.

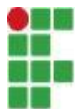
CRUZ, Ebert Santos et al. **Emergência de sementes de Tamarindus indica L. submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos**. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 13., 2013, Recife. XIII Jornada De Ensino, Pesquisa E Extensão – Jepex 2013. Recife: Ufrpe, 2013. p. 1 - 3.

DE, Debasis et al. Searching for antihyperglycemic phytochemicals through bioassay-guided solvent fractionation and subfractionation from hydro-methanolic (2: 3) extract of Tamarindus indica Linn. seeds in streptozotocin-induced diabetic rat. **Biomarkers And Genomic Medicine**, [s.l.], v. 5, n. 4, p.164-174, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bgm.2013.09.001>.

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL (São Paulo). Faculdade de Ciências Farmacêuticas (universidade de São Paulo). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tbca/>>. Acesso em: 31 jul. 2018.

DOUGHARI, Jh. Antimicrobial Activity of Tamarindus indica Linn. **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**. Benin City, Nigeria, p. 597-603 2006.

DUARTE, Flávia Tocci Boeing. **A Fermentação alcoólica como estratégia no ensino de transformação química no nível médio em uma perspectiva interdisciplinar**. 2014. 192 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ensino de Ciências, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.



EL-SIDDIG et al. **Tamarind, Tamarindus indica**. Southampton, Uk: International Centre For Underutilised Crops University Of Southampton, 2006.

ESKIN, N. A. Michael; SHAHIDI, Fereidoon. **Bioquímica de alimentos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2015. Tradução Claudia Coana.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de Alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 652 p.

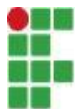
GUAN, Xiao; YAO, Huiyuan. Optimization of Viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 106, n. 1, p.345-351, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.041>

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.

HUANBUTTA, Kampanart; SANGNIM, Tanikarn; SITTIKIJYOTHIN, Wancheng. Physicochemical characterization of gum from tamarind seed: Potential for pharmaceutical application. **Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.176-177, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2015.11.051>.

LIN, Yan et al. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. **Biomass And Bioenergy**, [s.l.], v. 47, p.395-401, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.019>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 6, de 03 de abril de 2012. O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto



na Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, no Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, e o que consta do Processo nº 21000.008906/2009-99.

MONTALVO, Mercedes Cristina Martínez. **La elaboración del vinagre en el s. XIX discordia y enfrentamiento químico-biológico**. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HISTORIA DE LAS CIENCIAS Y DE LAS TÉCNICAS. Madrid: 2002. p. 688 - 701.

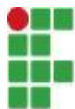
MORTON, J. 1987. Tamarind. p. 115–121. In: **Fruits of warm climates**. Julia F. Morton, Miami, FL.

NARENDRANATH, Neelakantam V.; THOMAS, Kolothumannil C.; INGLEDEW, W. Michael. Acetic Acid and Lactic Acid Inhibition of Growth of *Saccharomyces Cerevisiae* by Different Mechanisms. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [s.l.], v. 59, n. 4, p.187-194, set. 2001. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1094/asbcj-59-0187>.

OLIVEIRA, Edgar Adrian de. **Confiabilidade metrológica na determinação de espécies químicas em materiais siderúrgicos por espectrometria de fluorescência de raios-X**. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Metrologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

OLIVEIRA, Emanuel Neto Alves de et al. **Cinética de fermentação de fermentado alcoólico misto de água de coco e tamarindo**. In: SEMANA OFICIAL DA ENGENHARIA E DA AGRONOMIA, 73., 2016, Foz do Iguaçu.

PARMAR I, Rupasinghe HPV (2013) Bio-conversion of apple pomace into ethanol and acetic acid: Enzymatic hydrolysis and fermentation. **Bioresource Technology** 130: 613-620.



PEDROSO, Paula Regina Ferraz. **Produção de vinagre de maçã em biorreator airlift**. 2003. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PEREIRA, P.C.; MELO, B.; FRAZÃO, A.A.; ALVES, P.R.B. **A cultura do tamarindeiro (Tamarindus indica L.)**. 2007. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br./tamarindo>>. html Acesso em. 06 jul 2017.

QUEIROZ, Joao Mariano de Oliveira. **Propagação do tamarindeiro (Tamarindus indica L.)**. Cruz das Almas, Bahia: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010

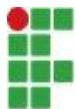
REIS, Páulia Maria Cardoso Lima et al. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 173, p.116-123, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.11.001>.

SANTOS, Sheila M. et al. **Cinética de fermentação de bebida alcoólica de tamarindo**. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 6, 2018, Batalha. Gramado: Faurgs, 2018.

SANTOS, Tatiane dos et al. **Produção e avaliação sensorial de produtos elaborados com o fruto do tamarindo (tamarindus indica I)**. In: CONNEPI, 1., 2010, Petrolina- PE: Ifal, 2010.

SILVA, Francielle Batista da. **Produção de etanol a partir de melaço de soja hidrolisado enzimaticamente**. 2011. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011

SOUZA, Vinicius Castro; LORENZI, Harri. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em AGP III**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.



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

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967 p.

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>. Acesso em 25 de outubro 2018.

WATANABE, Anna Paula. **Microfiltração de suco de tamarindo (Tamarindus indica L.) por membrana polimérica: efeito do tratamento enzimático, da velocidade tangencial e da pressão transmembrana**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas- Sp, 2007.

WILKINS M, WIDMER WW, GROHMANN K (2007) **Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol**. Process Biochemistry 42: 1614–1619.

WILKINS MR, WIDMER WW, GROHMANN K, CAMERON RG (2007) **Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes**. Bioresource Technology 98:1596–1601.