

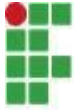
INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

EDVALDO RODRIGUES DE OLIVEIRA JUNIOR

FERMENTAÇÃO ACÉTICA DE VINHO DE TAMARINDO
(TAMARINDUS INDICA L.)

LONDRINA

2019



INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

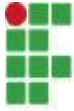
EDVALDO RODRIGUES DE OLIVEIRA JUNIOR

FERMENTAÇÃO ACÉTICA DE VINHO DE TAMARINDO
(*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

2019



FOLHA DE APROVAÇÃO

EDVALDO RODRIGUES DE OLIVEIRA JUNIOR

FERMENTAÇÃO ACÉTICA DE VINHO DE TAMARINDO (*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.

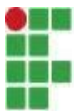
Prof. Dr. Denis Fabrício Marchi

Prof^a. Dr^a. Lyssa Setsuko Sakanaka

Prof^a. Dr^a. Wilma Aparecida Spinosa

Me. Gustavo Rafagnin Martins

Londrina, 21 de novembro de 2019.



AGRADECIMENTOS

Sozinho este trabalho nunca seria feito, e é por isso que tenho muito a agradecer à muitas pessoas.

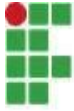
Meu primeiro obrigado não poderia ser para outra pessoa que não minha mãe, Silvia Regina da Silva, aquela que me criou com todo o carinho do mundo e me acompanha em todos os momentos, aconteça o que acontecer. Obrigado por ser a melhor mãe do mundo. Junto à ela, agradeço também às minhas tias Alessandra e Sueangela, meu tio Paulo e minha prima Kauane, que sempre me deram o suporte necessário para focar nos meus estudos e projetos.

Não posso deixar de agradecer meus orientadores, Lyssa Setsuko Sakanaka e Denis Fabrício Marchi, que me guiaram durante este trabalho e me ensinaram como se deve fazer uma pesquisa. Além disso, agradeço à professora Wilma Aparecida Spinosa por me receber tão bem no laboratório e sempre estar aberta para sanar minhas dúvidas. Agradeço também à doutoranda Natália Norika, à mestranda Ana Elisa Barbosa, ao doutor Luiz Diego Marestoni e às graduandas Larissa Piccinin, Laura e Carina pelo apoio durante todos os processos laboratoriais.

Devo também agradecer à Universidade Federal Tecnológica do Paraná - Campus Londrina e à Universidade Estadual de Londrina pelos laboratórios, reagentes e auxílio dos pesquisadores cedido para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço ao Instituto Federal do Paraná - Campus Londrina por estes quatro anos de ensino de qualidade, pelo aprendizado, vivências e amizades inesquecíveis. Agradeço à todos os professores que me acompanharam durante toda minha jornada e deixo um obrigado especial para a professora Kátia Bertolazi por me mostrar que a escola é muito mais do que nós imaginamos e que o aprendizado não foi totalmente aproveitado se não é socializado.

Agradeço minha turma, Biotec 2016, por ser a turma mais unida e mais descontraída que já estive. Muito obrigado por todas as risadas e companheirismo ao longo destes quatro anos. Agradeço algumas pessoas da turma que se fizeram mais presentes durante esta jornada, tais como Brayan, Eduarda, Emmanuel,



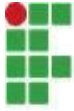
Fernanda, Giovana, Hector, Lais, Maria Beatriz, Maximilian, Renan e Rogério. Mas devo agradecer especialmente ao João Ferreira, que junto ao Guilherme Akira e ao Kau Marques (ambos da informática), foram aqueles que mais me apoiaram e me ouviram reclamar durante este último ano e nunca deixaram meu lado.

Agradeço também aos demais estudantes, assim como aos demais servidores por todos os bons momentos dentro da instituição.

Agradeço aos meus amigos (que se fosse citar um por um os agradecimentos ficariam maiores que o próprio corpo do texto) dos grupos Housen't, Rave Family e A Reeeeeeeeeeeeeenascença, por me ajudarem a relaxar durante os momentos estressantes da vida escolar e por sempre me animarem. Mas preciso abrir uma exceção e citar o nome dos meus melhores amigos (praticamente irmãos) Luiz Gustavo Kryszczun e João Pedro Silva pois sem eles eu não estaria no IF em primeiro lugar e com certeza não seria quem sou hoje. Obrigado por tudo.

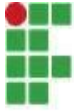
Agradeço à todas as experiências durante toda minha vida, sejam elas boas ou ruins, pois são elas que me tornaram quem sou hoje.

Por fim, agradeço à você, que dispôs de seu tempo para ler este trabalho que sintetiza minha pesquisa neste ano de 2019.



São as perguntas que não sabemos responder que mais nos ensinam. Elas nos ensinam a pensar. Se você dá uma resposta a um homem, tudo o que ele ganha é um fato qualquer. Mas, se você lhe der uma pergunta, ele procurará suas próprias respostas.

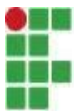
-Patrick Rothfuss



RESUMO

O tamarindo (*Tamarindus indica L*), fruta ácida e com alto teor de água, é muito comum no nordeste do Brasil, mesmo não sendo nativa do país. Sua vida útil é pequena em decorrência do alto percentual de água, que acarreta em uma proliferação de microorganismos após a colheita. O desenvolvimento de técnicas utilizando o fruto como matéria-prima é uma alternativa para melhor aproveitamento e valorização do mesmo, além de acrescentar novas possibilidades de fonte de renda para os produtores. O objetivo deste trabalho foi realizar a acetificação do vinho de tamarindo utilizando três diferentes bactérias acéticas isoladas de um acetificador piloto. A polpa de tamarindo utilizada nesta pesquisa foi adquirida em comércio local e submetida às análises de pH, açúcares redutores, sólidos solúveis e acidez. Posteriormente, as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* foram utilizadas para a fermentação alcoólica do produto, em conjunto com as enzimas Pectinex Ultra Tropical e Viscozyme, pelo período de 120 horas. O fermentado alcoólico elaborado (vinho de tamarindo) foi submetido às mesmas análises realizadas na polpa do fruto e também à análise do teor alcoólico, nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação. Em seguida, três bactérias acéticas isoladas foram utilizadas, separadamente, para a produção do vinagre de tamarindo, em que sua acidez foi monitorada pelo período de 65 dias. A polpa do experimento apresentou pH de 2,49, 16,9 °Brix, 9,89 % de açúcares redutores e acidez de 2,89 %. Em relação às análises realizadas no fermentado alcoólico, nos períodos de 24 e 120 h de fermentação, foram observadas diferenças apenas de pH e teor alcoólico no produto. Quanto ao monitoramento da acidez do vinagre de tamarindo, todas as bactérias utilizadas nesta pesquisa promoveram um produto com aproximadamente 5,7 a 5,8 % de acidez e 0,13 e 0,29 % de álcool nos intervalos de 47 e 51 dias. Entretanto, apenas uma das bactérias demonstrou um comportamento mais linear até o período de 51 dias, indicando ser a bactéria com maior compatibilidade com o vinho de tamarindo, sendo provavelmente a mais indicada para o processo. Diante disso, foi possível o desenvolvimento do vinagre de tamarindo sem aditivos químicos e atendendo aos parâmetros da legislação brasileira. A utilização deste fruto como matéria-prima para a produção de vinagre pode ser uma boa alternativa para o seu aproveitamento.

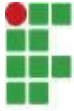
Palavras-chave: Vinagre. Acidez. Bactérias acéticas.



ABSTRACT

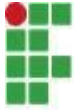
*The tamarind (*Tamarindus indica* L), an acid fruit with high water content, is very common in northwest of Brazil, even not being native to the country. Due the high activity of water, the proliferation of microorganisms in the tamarind pulp after the harvest is facilitated, what result in loss if it is not consumed in a short time. The development of techniques using the fruit as primal-material is one alternative to improve the harnessing and valorization of it, besides improve new possibilities of source of income to the productors. The objective of the present research was realise the acetification of the wine of tamarind using three different acetic bacteria isolated of an pilot acetificator. The pulp of tamarind used in this research was acquired in local comercial and submitted to the analysis of pH, reducing sugars, soluble solids and acidity. Posteriorly, the yeast of the specie *Saccharomyces cerevisiae* were used for the alchoólic fermentation of the product, in set with the enzymes *Pectinex Ultra Tropical* and *Viscozyme*, by the period of 120 hours. The alcoholic fermented elaborated (tamarind wine) was submitted to the same analysis realized in the fruit pulp and the analysis of alcohol content, in the intervals of 24 and 120 hours of fermentation. Then, three different acetic bacteria were used, separately, for the production of tamarind vinegar, in what the acidity was monitored by the period of 65 days. The pulp of the experiment presented pH of 2,49, 16,9 °Brix, 9,89 % of reducing sugars and acidity of 2,89 %. In relation of analysis realized in the alcoholic fermented, in the periods of 24 and 120 hours of fermentation, were observed differences only in the pH and alcoholic content in the product. As for the monitoring of the tamarind vinegar acidity, all the bacteria used in this research provided an product with approximately 5,7 to 5,8 % of acidity and 0,13 % to 0,29 % of alcohol content in the period of 47 to 51 days. However, just one of the bacteria demonstrated an more linear behavior until the period of 51 days, indicating be the bactéria with major compatibility with tamarind wine, probably being the most indicated to the process. Given this, was possible the development of the tamarind vinegar attending the parameters of the brazilian legislation. The utilization of this fruit as primal materia to the production of vinegar can be a good alternative to the tamarind improvement.*

Key-words: *Vinegar. Acidity. Acetic Bacteria.*



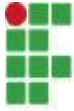
LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Tamarindo	15
FIGURA 2 – Hidratação das leveduras	18
FIGURA 3 – Biorreator iniciando a fermentação alcoólica	19
FIGURA 4 – Amostras de vinho centrifugadas	19
FIGURA 5 – Acidez dos vinagres das diferentes bactérias isoladas durante a fermentação acética	24



LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Análises físico-químicas da polpa de tamarindo por três autores e da polpa utilizada no experimento	22
TABELA 2 – Análises físico-químicas de fermentado alcoólico obtido da polpa de tamarindo nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação	23
TABELA 3 – Análise do teor alcoólico de fermentado obtido da polpa de tamarindo nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação	24
TABELA 4 – Análise do teor alcoólico de vinagre de tamarindo obtido a partir das bactérias 1, 2 e 3	24



LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

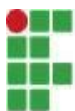
ADH – Álcool Desidrogenase

ALDH – Aldeído Desidrogenase

ANOVA – Análise de Variância

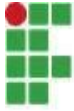
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

YMB – Yeast Mannitol Broth



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 DESENVOLVIMENTO	14
3.1 TAMARINDO	14
3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	15
3.3 FERMENTAÇÃO ACÉTICA	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 MATÉRIA-PRIMA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	17
4.1.1 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ	17
4.1.2 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES	17
4.1.3 DETERMINAÇÃO DE PH	17
4.1.4 DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS	17
4.2 ELABORAÇÃO DE INÓCULO DAS LEVEDURAS E FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DA POLPA DE TAMARINDO	17
4.3 CULTIVO DE BACTÉRIAS E FERMENTAÇÃO ACÉTICA DO VINHO DE TAMARINDO	20
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5 RESULTADOS	22
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	27



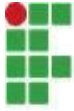
1. INTRODUÇÃO

A maioria dos frutos tropicais que possuem importância econômica é produzida, principalmente, nas áreas tropicais e subtropicais de países subdesenvolvidos. Além de sua importância econômica, estes frutos também são parte da dieta da população, sendo fontes de vitaminas e nutrientes (CAPELA et al., 2016). A polpa de tamarindo, em especial, é comumente utilizada na indústria de sucos, geleias, doces e outros alimentos, em diversos países (WATANABE, 2007).

Embora o Brasil seja um grande produtor de frutas tropicais, algumas culturas, como esta, sofrem grandes perdas, gerando prejuízo aos produtores. Isto gera a necessidade de tecnologias alternativas para aumentar a renda dos produtores. Dentre elas, a fermentação se destaca como uma alternativa para a elaboração de produtos, em especial as bebidas fermentadas (CAPELA et al., 2016).

Segundo o Decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 % do volume, a 20 °C, obtida a partir da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura (BRASIL, 2009).

Em frutos como o tamarindo esta tecnologia é pouco empregada. Pesquisas com estes produtos são escassas e, dentre elas, muitas submetem a polpa a correções como mistura com outras frutas e incorporação de aditivos à polpa. Um trabalho recente, desenvolvido por Sella e Asada (2018), avaliou as melhores condições de fermentação da polpa in natura de tamarindo em períodos de 24 e 48 horas, variando a concentração de enzimas, leveduras e temperatura de fermentação, sem adição de sais ou açúcar de cana. Os autores obtiveram como melhor resultado um fermentado com graduação alcoólica de 4 %, entretanto, ainda baixo segundo a literatura (BRASIL, 2009). Diante disso, este trabalho utilizou alternativas que promovam a melhoria da fermentação alcoólica da polpa de tamarindo para a realização da fermentação acética do vinho deste fruto.



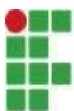
2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar e caracterizar um vinagre a partir do vinho de *Tamarindus indica* L.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as características físico-químicas da polpa do tamarindo;
- Realizar a fermentação alcoólica da polpa de tamarindo;
- Analisar as características físico-químicas do fermentado alcoólico de tamarindo;
- Promover a fermentação acética do vinho de tamarindo utilizando bactérias acéticas isoladas de acetificador piloto;
- Monitorar a acidez e teor alcoólico ao longo da fermentação acética.



3. DESENVOLVIMENTO

3.1 TAMARINDO

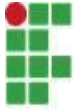
O tamarindo (Figura 1) é a fruta proveniente da árvore perenifólia *Tamarindus indica* L., nativa da África Tropical e Índia, além de muito comum no nordeste do Brasil. Seus frutos possuem uma casca rígida e de cor marrom, que tem um formato alongado (de 5 a 9 cm de comprimento). Em seu interior se encontram 2 a 7 sementes envoltas por uma polpa doce-acidulada, que compreende cerca de 50 % do peso da fruta (KINUPP; LORENZI, 2014).

Mesmo não sendo uma espécie nativa do Brasil, a planta se adaptou bem ao clima do norte e nordeste brasileiro, tornando-se uma cultura atrativa comercialmente (MORTON, 1987). O tamarindo e o tamarindeiro recebem diversas aplicações dependendo do local onde se encontram e das necessidades da população. O tamarindeiro pode ser aplicado na arborização de bairros e rodovias, enquanto a polpa da fruta é comumente utilizada na indústria de sucos, geleias, doces e outros alimentos (CAPELA et al., 2016, EL-SIDDIG et al., 2006).

Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP (2011), o tamarindo apresenta elevada quantidade de fibras alimentares, totalizando 6,45 g a cada 100 g do fruto. Composto principalmente por carboidratos, o tamarindo também dispõe de minerais como potássio, magnésio, fósforo e cálcio, além de vitamina C e vitamina B6. De acordo com Santos et al. (2010), este fruto apresenta em sua composição uma substância que é considerada um espessante natural, a pectina. A presença desse composto associado à lignina e à celulose que possibilita a produção de geleias pelo seu potencial geleificante.

Além do tamarindeiro possuir alto índice de produção da fruta (Morton 1987), a abundante presença de água do produto, contribui com a proliferação acelerada de microorganismos, resultando em um curto período de uso do tamarindo após a colheita. Isto leva a uma grande perda de produto quando ele não passa por processos de conservação.

Diante disso, a fermentação se apresenta como uma alternativa acessível de tecnologia para a aplicação do tamarindo, tendo em vista seu baixo custo de



produção e maior vida útil devido ao álcool e ácidos presentes nos fermentados alcoólicos e acéticos respectivamente.



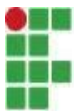
Figura 1 – Tamarindo

Fonte: <shorturl.at/bpNU0> acesso em: 06/11/2019

3.2 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Segundo Tortora, Funke e Case (2012), a fermentação alcoólica refere-se a 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 aceptor final de elétrons.

Uma das principais espécies de micro-organismos que realiza a fermentação alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae*. Esta, pertencente ao reino *fungi*, e é um micro-organismo unicelular amplamente conhecido como levedura. Quando presente em um meio que lhe favorece, sua reprodução é rápida, sendo comparada com a velocidade da reprodução bacteriana, fato este que propicia sua utilização (ALBERTS et al., 2011). Esta levedura geralmente é utilizada na fermentação de pães e bolos e na produção de vinho, em que 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, gerando a partir dela duas moléculas de ácido pirúvico e duas moléculas de adenosina trifosfato. Em seguida, as duas moléculas de ácido pirúvico são transformadas em duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de CO_2 . As duas moléculas de acetaldeído são reduzidas por duas moléculas de NADH para formar duas moléculas de etanol (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; DUARTE, 2014).

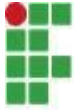
De acordo com a estequiometria, a partir de 100 g de glicose, obtém-se 51,11 g de álcool. Porém, em condições industriais, o rendimento de etanol cai para 48,5 g. Isso ocorre pois parte do açúcar é destinado ao crescimento celular e outros produtos da fermentação (SILVA, 2011). A fermentação alcoólica pode ser realizada paralela ao tratamento enzimático para promover a quebra de polímeros em açúcares redutores fermentescíveis, em um processo denominado hidrólise (PARMAR e RUPASINGHE, 2013).

3.3 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

A partir da fermentação acética de vinho pode-se obter o vinagre. O termo vinagre vem de “vinho azedo” e é o produto da conversão de álcool em ácido acético através da ação de bactérias em meio oxigenado (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

A oxidação do etanol para que se obtenha o ácido acético ocorre por duas reações sequenciais que são, por sua vez, catalisadas por enzimas associadas à membrana, sendo elas: álcool desidrogenase (ADH) e aldeído desidrogenase (ALDH). A primeira enzima é responsável pela conversão do etanol a acetaldeído pela retirada de átomos de hidrogênio. Já a segunda enzima é responsável pela conversão do acetaldeído a ácido acético pela incorporação de átomos de oxigênio (ZILIOLI, 2011).

A partir da estequiometria tem-se que 1 g de etanol, no processo de acetificação, dará origem a 1,036g de ácido acético com liberação de água. Durante esse processo ocorre um aumento do volume total devido à liberação de água no meio (BARBOSA, 2014).



4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA

A polpa de tamarindo, originada do nordeste brasileiro e utilizada nesta pesquisa, foi adquirida em comércio local da cidade de Londrina, no norte do Paraná.

Os equipamentos e reagentes utilizados foram cedidos pelo Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. As análises realizadas consistiram em:

4.1.1 Determinação de acidez. A análise da presença de ácidos foi realizada por titulação conforme descrito por Aroucha et al. (2010).

4.1.2 Determinação de açúcares redutores. A quantificação de açúcares redutores foi realizada seguindo o método de Somogyi-Nelson por espectrofotometria, conforme descrito por Maldonade et al. (2013).

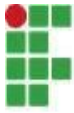
4.1.3 Determinação de pH. A medida de pH foi realizada assim como descrito por Cecchi (2003) e pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) em extrato aquoso e etanólico.

4.1.4 Sólidos solúveis. A determinação de sólidos solúveis foi realizada em refratômetro digital de bancada do modelo Mettler Toledo RM40, seguindo orientações fornecidas pelo fabricante.

4.2 ELABORAÇÃO DE INÓCULO DAS LEVEDURAS E FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DA POLPA DE TAMARINDO

As leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* foram utilizadas para a fermentação alcoólica, em conjunto com as enzimas *Pectinex Ultra Tropical* e *Viscozyme*, ambas da marca *Novozymes*.

Antes de iniciar a fermentação da polpa, as leveduras foram submetidas a um tratamento prévio para que se adaptassem ao meio. Pesou-se as leveduras (1



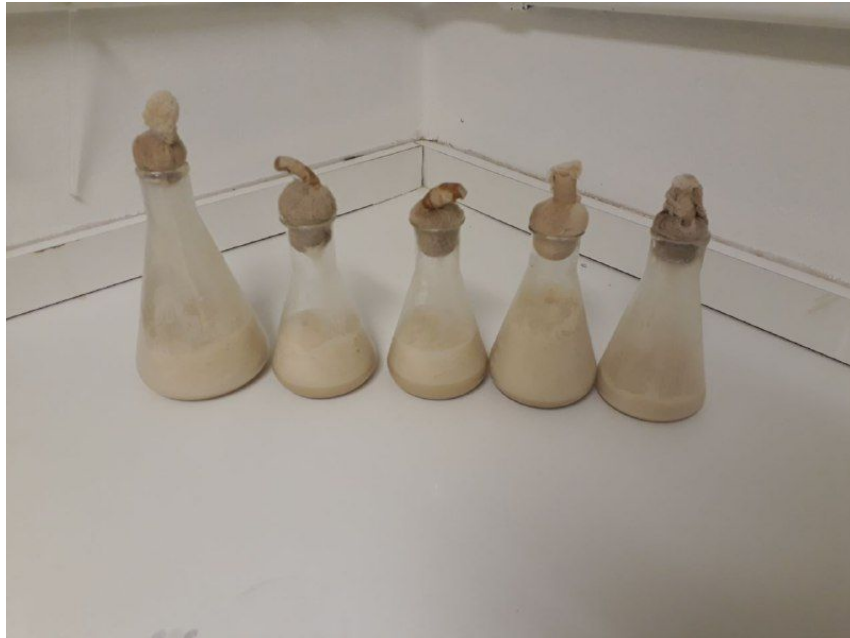
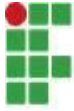
%, correspondentes a 40 g/ 4000 mL). Em seguida estas foram inseridas em um erlenmeyer com água destilada estéril a 35 °C, na proporção de 1:10, por 15 minutos, de modo a promover a re-hidratação (Figura 2). Após este tempo, foram adicionados 150 mL do meio líquido estéril YMB (Yeast Mannitol Broth), composto por extrato de levedura (3 g.L⁻¹), extrato de malte (3 g.L⁻¹), peptona bacteriológica (5 g.L⁻¹) e dextrose (10 g.L⁻¹). O meio foi, então, incubado em agitador orbital de bancada com controle de temperatura a 120 rpm e 30°C, por 12 horas. Posteriormente, foram adicionados 280 mL de polpa de tamarindo ao meio e a mistura retornou ao agitador por mais 12 horas nas mesmas condições.

Ao biorreator de fermentação alcoólica foram introduzidos 4 litros de polpa junto com 0,6 mL de cada enzima e a mistura contendo as leveduras. O reator foi vedado e a fermentação ocorreu durante 120 horas, à temperatura de 25°C (Figura 3).

O produto obtido nos tempos de 24 e 120 horas de fermentação foram submetidos às análises de pH, Sólidos solúveis, Açúcares Redutores e Acidez, conforme apresentado nos itens de 4.1.1 a 4.1.4.

Adicionalmente, foi realizada a quantificação do teor alcoólico do centrifugado do produto fermentado (Figura 4), nos intervalos de 24 e 120 horas. A metodologia utilizada foi realizada a partir da norma técnica de determinação de teor alcoólico da ABNT (1997).

Figura 2 – Hidratação das leveduras



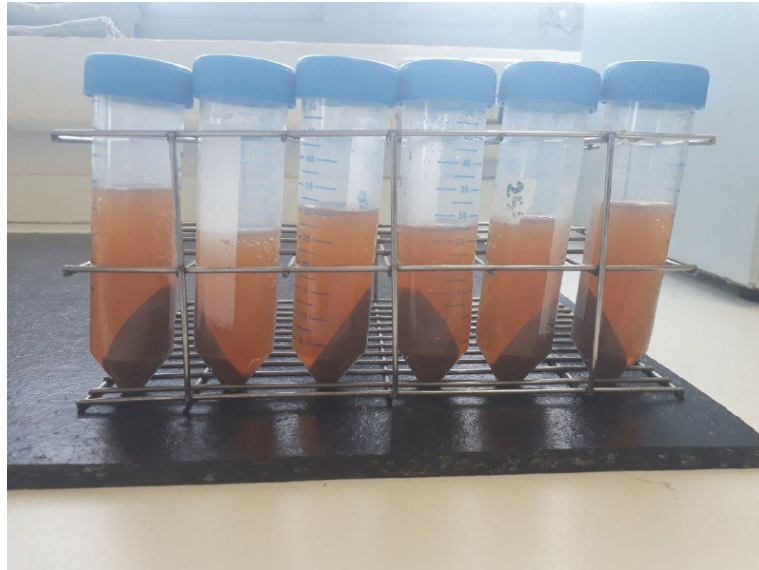
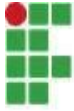
Fonte: autoria própria

Figura 3 – Biorreator iniciando a fermentação alcoólica



Fonte: autoria própria

Figura 4 – Amostras de vinho centrifugadas

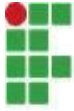


Fonte: autoria própria

4.3 CULTIVO DE BACTÉRIAS E FERMENTAÇÃO ACÉTICA DO VINHO DE TAMARINDO

Em um trabalho realizado por Piccinin et. al (2019), sete microorganismos foram isolados do fermentador acético do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Destes, três foram identificados como bactérias acéticas.

Estas três bactérias acéticas foram utilizadas no presente trabalho. A fim de analisar a produção individual, cada bactéria foi cultivada separadamente. Uma alçada de bactéria foi introduzida em 100 mL de um meio líquido para o cultivo de bactérias composto por glicose (20 g.L^{-1}), extrato de levedura (5 g.L^{-1}), peptona (5 g.L^{-1}), fosfato de sódio dibásico ($2,7 \text{ g.L}^{-1}$) e ácido cítrico ($1,15 \text{ g.L}^{-1}$). O meio foi então incubado em agitador orbital de bancada com controle de temperatura a 120 rpm e 30°C , por 24 horas. Após isso, 50 mL desta cultura foram transferidos para 250 mL de um meio contendo ácido acético e 3 % de etanol para que as bactérias se adaptassem à presença do ácido e começassem a produzir ácido acético. Este meio era composto por glicose (15 g.L^{-1}), extrato de levedura (2 g.L^{-1}), peptona (3 g.L^{-1}), ácido acético (65 mL.L^{-1}) e etanol (30 mL.L^{-1}). Após 5 dias, 50 mL do meio contendo



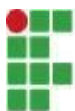
as bactérias foram transferidos para outro meio semelhante, porém com uma concentração de 3,5 % de etanol. Após mais 5 dias, o processo de troca se repetiu, nesse momento para um meio com 4 % de etanol, onde cresceram por mais 5 dias.

Após o crescimento e adaptação das bactérias, foi realizada a alimentação das bactérias com o vinho de tamarindo. Neste processo foram considerados os seguintes parâmetros: o volume final mantido em 300 mL, a concentração do meio igual a 0,2 %, a concentração final de etanol mantida em 1,2 % e o vinho de tamarindo com 5 % de etanol. A alimentação foi realizada durante 65 dias, em intervalos de 4 a 7 dias.

Paralelo a cada processo de alimentação, a acidez e teor alcoólico do produto foram monitorados.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O programa STATISTICA 10.0 foi utilizado para avaliação estatística dos dados. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O teste de *tukey*, a 5,0 % de probabilidade, foi aplicado para avaliação dos resultados de pH, sólidos solúveis, açúcares redutores, acidez e teor alcoólico dos produtos fermentados em diferentes intervalos de tempo de fermentação.



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas da polpa de tamarindo realizada por três autores Cáceres (2003), Shankaracharya (1998) e Watanabe (2007) e comparando-os com os resultados obtidos no presente trabalho.

Tabela 1 - Análises físico-químicas da polpa de tamarindo por três autores e da polpa utilizada no experimento

Análises	Cáceres (2003)	Shankaracharya (1998)	Watanabe (2007)	Polpa do experimento
pH	2,39	3,15	2,37 ± 0,03	2,49±0,01
Sólidos				
Solúveis (°Brix)	19,5	-	10,46 ± 0,06	16,99±0,00
Açúcares redutores (%)	-	21,40 – 30,85	4,87 ± 0,06	9,89±0,13
Acidez (%)	0,91	8,40 – 12,40	2,6 ± 0,5	2,89±0,13

A polpa do experimento apresentou pH em torno de 2,49, próximo aos valores de 2,39 e 2,37 obtidos por Cáceres (2003) e Watanabe (2007), respectivamente. Com relação à presença de sólidos solúveis, foi encontrada a concentração de 16,9 °Brix, similar às observadas nos trabalhos de Cáceres (2003) e Watanabe (2007). O teor de açúcares obtido da polpa do experimento foi em torno de 9,89 %, intermediário aos resultados relatados por Watanabe (2007) e Shankaracharya (1998). Quanto à análise de acidez, foi observada uma concentração de 2,89 %, próxima ao declarado por Watanabe (2007), mas muito discrepante dos resultados de Cáceres (2003) e Shankaracharya (1998).

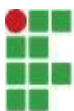


Tabela 2 - Análises físico-químicas de fermentado alcoólico obtido da polpa de tamarindo nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação

Tempo (horas)	pH	Sólidos Solúveis (°Brix)	Açúcares (%)	Ácidos (%)
24	2,67±0,02 ^a	10,11±0,00*	2,36±0,22 ^a	2,59±0,07 ^a
120	2,60±0,00 ^b	10,24±0,00*	2,24±0,09 ^a	2,64±0,00 ^a

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ao nível de 95% de confiança de acordo com o teste *Tukey* ($p \leq 0,05$).

*Não foi possível realizar o teste de médio pois se trata de valores sem erro padrão.

Em relação às análises físico-químicas realizadas no fermentado alcoólico, obtido da polpa de tamarindo nos intervalos de 24 e 120 horas (Tabela 2), observou-se a diminuição do pH no período de fermentação, conforme observado em outros processo fermentativos, onde a fermentação se dá pela produção de ácidos e conseqüente declínio do pH (RIZZON; MANFROI, 2006). Entretanto, o teor de sólidos solúveis e os percentuais de açúcares e ácidos não apresentaram alteração durante o período, demonstrando que este intervalo de tempo de fermentação não influenciou na concentração destes parâmetros.

Porém, comparando-se as características físico-químicas da polpa e do fermentado alcoólico de tamarindo, verificou-se a diminuição de aproximadamente 37,5 % do teor de sólidos solúveis e 74 % de açúcares redutores no fermentado alcoólico, demonstrando seu consumo destes constituintes na elaboração do vinho de tamarindo.

Embora não foram observadas diferenças entre o teor de sólidos solúveis e açúcares redutores nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação (Tabela 2), a análise do teor alcoólico, nestes intervalos, revelou um aumento de 15 %, passando de 4,07 g.100mL⁻¹ de etanol para 4,78 g.100mL⁻¹ (Tabela 3), indicando que o vinho produzido se encontra dentro dos padrões da legislação brasileira (BRASIL, 2009) sobre fermentados de fruta. Tal aumento provavelmente deve-se à fermentação de açúcares não redutores presentes na polpa.

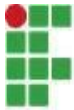


Tabela 3 – Análise do teor alcoólico de fermentado obtido da polpa de tamarindo nos intervalos de 24 e 120 horas de fermentação

Tempo (horas)	Teor alcoólico (%)
24	4,07±0,14 ^b
120	4,78±0,21 ^a

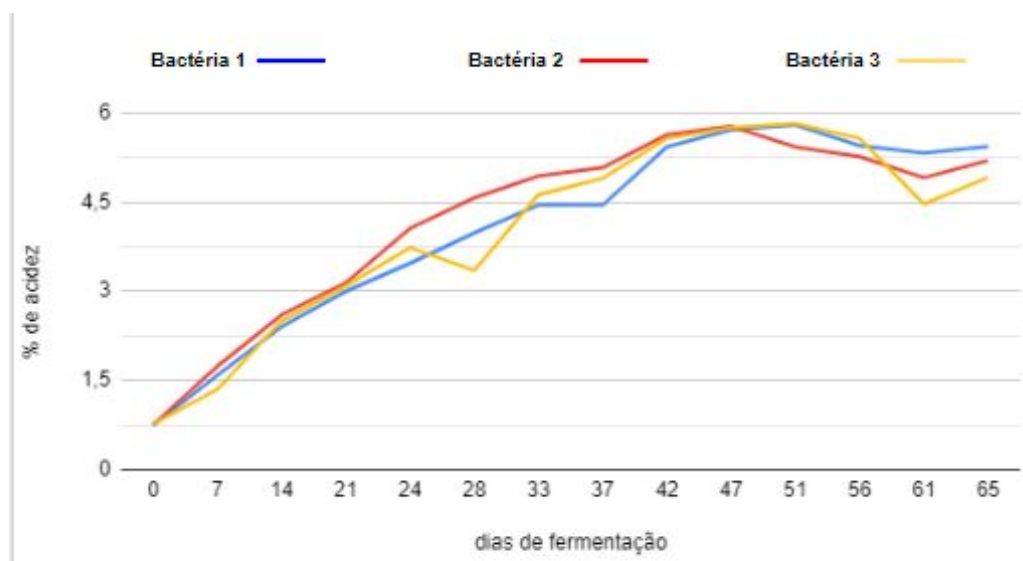
^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ao nível de 95% de confiança de acordo com o teste *Tukey* ($p \leq 0,05$).

Na Figura 5 são apresentados os valores de acidez dos fermentados acéticos produzidos utilizando diferentes bactérias isoladas pelo período de 65 dias, enquanto a Tabela 4 apresenta o teor alcoólico médio durante este processo.

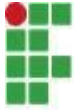
Tabela 4 – Análise do teor alcoólico de vinagre de tamarindo obtido a partir das bactérias 1, 2 e 3

Bactéria	Teor alcoólico (%)
1	±0,25
2	±0,13
3	±0,29

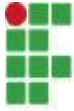
Figura 5 – Acidez dos vinagres das diferentes bactérias isoladas durante a fermentação acética



Fonte: autoria própria



Observou-se que durante o processo fermentativo todas as bactérias utilizadas levaram ao aumento da produção de ácidos, indicando a sua eficiência no processo, visto que todas promoveram a produção de 5,7 a 5,8 % de ácidos entre os períodos de 47 e 51 dias, em acordo com o estabelecido pela legislação (4 a 6 %). Após este período, todos os vinagres tiveram um leve declínio da sua acidez, provavelmente devido ao consumo do ácido acético pelas bactérias. A bactéria 2 demonstrou um comportamento mais linear até o período de 51 dias, enquanto que as bactérias 1 e 3 apresentaram variações na produção de ácidos, principalmente após o período de 24 dias de fermentação. Estes resultados demonstram que o melhor período de fermentação acética do vinho de tamarindo é entre 47 e 51 dias, e que a bactéria 2 pode apresentar maior compatibilidade com este vinho, sendo provavelmente a mais indicada para este processo.

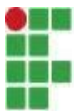


6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível o desenvolvimento do vinagre de tamarindo com presença de 5,7 a 5,8 % de ácidos e 0,13 a 0,29 % de álcool, atendendo aos parâmetros da legislação brasileira. Desta forma, a utilização deste fruto como matéria-prima para a produção de vinagre pode ser uma boa alternativa para o seu aproveitamento, diminuindo perdas, além de proporcionar um produto com menor adição de substâncias, visto que o processo fermentativo foi realizado apenas com os constituintes da própria fruta.

Todas as bactérias utilizadas no processo fermentativo obtiveram resultados satisfatórios na produção de vinagre, sendo que a bactéria 2 apresentou melhor compatibilidade com este processo.

Sugere-se a realização de futuros estudos a fim de verificar o possível comportamento sinérgico entre as bactérias utilizadas nesta pesquisa.



REFERÊNCIAS

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

AROUCHA, Edna Maria Mendes et al. ACIDEZ EM FRUTAS E HORTALIÇAS. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável: GRUPO VERDE DE AGRICULTURA ALTERNATIVA (GVAA)**, Mossoró, v. 5, n. 2, p.1-4, jun. 2010. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/296/296>>. Acesso em: 06 jun. 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13920**: Aguardente de cana - Determinação do teor alcoólico. Rio de Janeiro: Abnt, 1997.

BARBOSA, Cosme Damião. Obtenção e caracterização de vinho e vinagre de manga (*Mangifera indica* L.): parâmetros cinéticos das fermentações alcoólica e acética. 2014. 129 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos., Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

Brasil, Casa Civil. (2009). Disposição sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas; regulamenta a Lei no 8918, de 14 de julho de 1994 (Decreto no 6.871, de 04 de junho de 2009). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

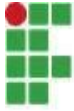
CÁCERES, M. C. Estudo do processamento e avaliação da estabilidade do “blend” misto a base de polpa de Tamarindo (*Tamarindus indica* L.) e suco de beterraba (*Beta vulgaris*). Dissertação de mestrado – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2003.

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.

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: 15 abr. 2019.

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.



Ministério da Educação

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 27.

KINUPP, Valdely Ferreira; LORENZI, Harri. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2014.

MALDONADE, Iriani R. et al. **Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson**. Brasília: Embrapa, 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/81814/1/cot-86.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2019.

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

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

PICCININ, Larissa de Grande et al. **Triagem de bactérias ácido-acéticas para a produção de um vinagre de tamarindo**. Londrina: Utfpr, 2019.

RIZZON, Luiz Antenor; MANFROI, Luciano. **Sistema de Produção de Vinho Tinto**. Brasília: Embrapa, 2006. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoTinto/fermentacao.htm>>. Acesso em: 05 nov. 2019.

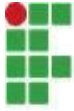
RIZZON, Luiz Antenor; MENEGUZZO, Júlio. Elaboração de vinagre. EMBRAPA, Bento Gonçalves, RS, 2002.

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

SELLA, Beatriz Pereira; ASADA, Gustavo Yuji. **OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO DE *Tamarindus indica* L**. 2018. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Técnico em Biotecnologia, Instituto Federal do Paraná - Campus Londrina, Londrina, 2018.

SHANKARACHARYA, N. B. Tamarind – Chemistry, Technology and Uses – A Critical Appraisal. Journal of Food Science Technology, v.35, n.3, p. 193-208, 1998.

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.



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

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. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

ZILIOLI, Estêvão. Composição química e propriedades funcionais no processamento de vinagres. 2011. 84 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência 129 de Alimentos, Departamento de Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.