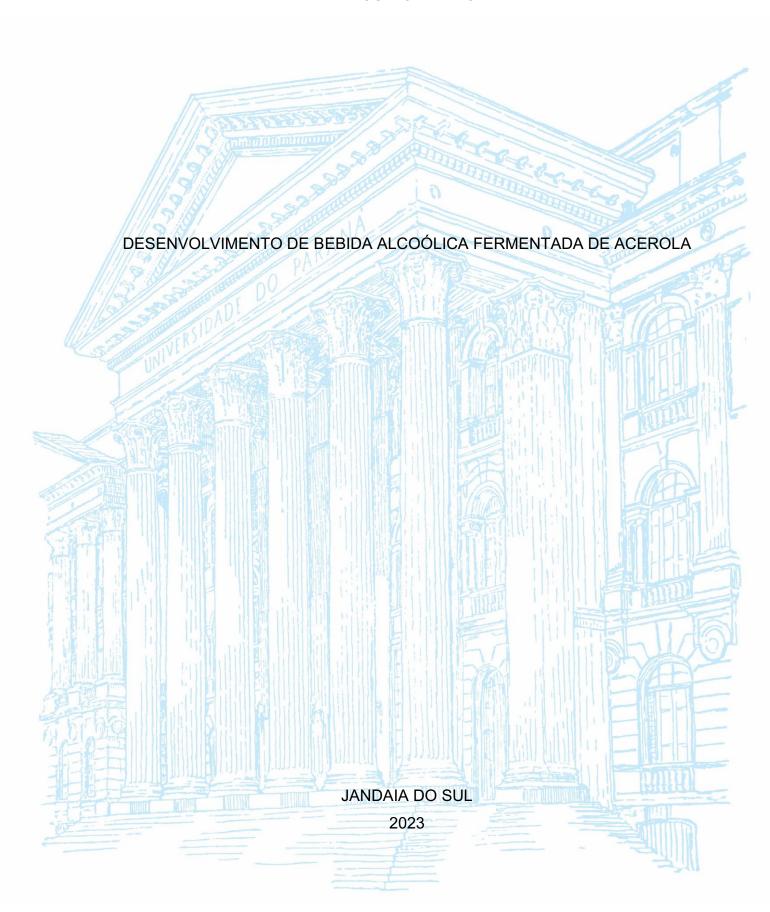
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MATHEUS MORELI DUTRA



MATHEUS MORELI DUTRA
DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE ACEROLA
Trabalho do Canalução do Curao aprocentado co
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao

JANDAIA DO SUL

2023

curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do

Orientadora: Profa. Dra. Dirlei Diedrich Kieling

título de Engenheiro de Alimentos.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP) UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA JANDAIA DO SUL

Dutra, Matheus Moreli

Desenvolvimento de bebida alcóolica fermentada de acerola. / Matheus Moreli Dutra. – Jandaia do Sul, 2023. 1 recurso on-line : PDF.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Paraná, Campus Jandaia do Sul, Graduação em Engenharia de Alimentos. Orientadora: Profa. Dra. Dirlei Diedrich Kieling.

 Frutas tropicais. 2. Vitamina C. 3. Fermentação. 4. Leveduras.
 Probiótico. I. Kieling, Dirlei Diedrich. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD: 664

Bibliotecário: César A. Galvão F. Conde - CRB-9/1747



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER № 38/2023/UFPR/R/JA

PROCESSO № 23075.071163/2021-31

INTERESSADO: COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

MATHEUS MORELI DUTRA

"DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE ACEROLA"

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos no curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, (aprovado) pela seguinte banca examinadora:

Orientador:	Profa. Dra. Dirlei Diedrich Kieling
	Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR
Avaliador 1:	Profa. Dra. Érika de Castro Vasques Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR
Avaliador 2:	Profa. Dra. Leomara Floriano Ribeiro Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR
	Curso de Engemaria de Amnentos, OFI N

1 of 2 07/02/2023 07:57

Jandaia do Sul, 02 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por ERIKA DE CASTRO VASQUES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR, em 02/02/2023, às 10:34, conforme art. 1°, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **LEOMARA FLORIANO RIBEIRO**, **PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/02/2023, às 10:34, conforme art. 1°, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **DIRLEI DIEDRICH KIELING**, **PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/02/2023, às 10:34, conforme art. 1°, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida <u>aqui</u> informando o código verificador **5259780** e o código CRC **BD89F15D**.

Referência: Processo nº 23075.071163/2021-31 SEI nº 5259780

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado mais uma conquista e finalizado o curso.

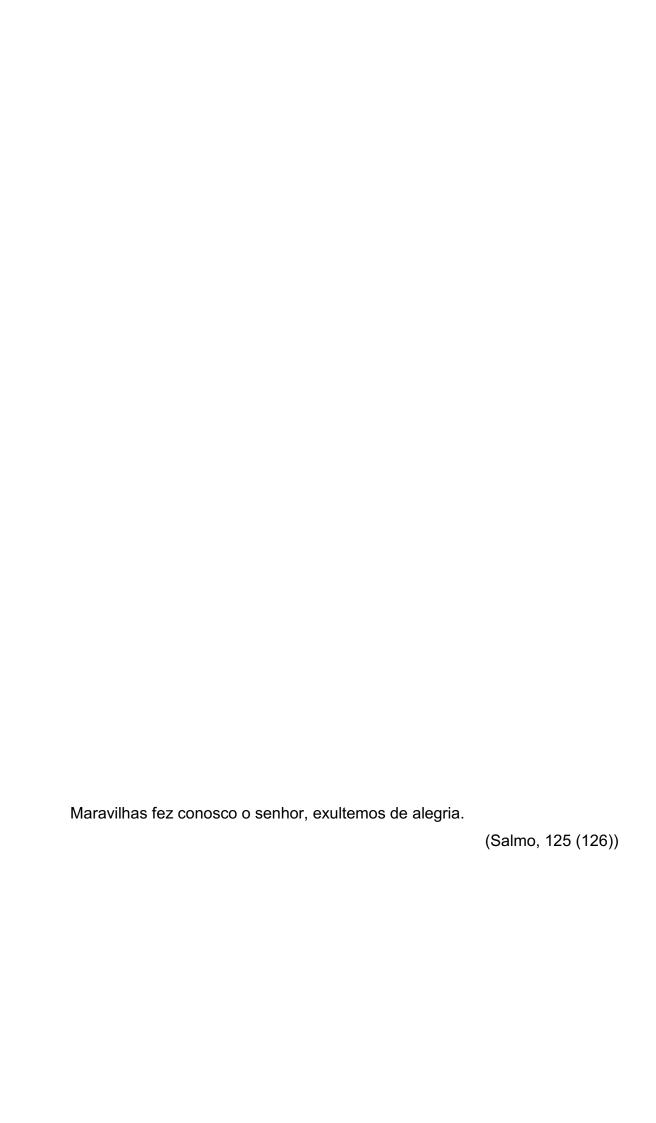
Agradeço minha mãe Marcia que sempre me apoiou e me ajudou, em especial na colheita das acerolas utilizadas nesse trabalho.

A minha orientadora professora Dirlei Diedrich Kieling, por toda a confiança, aconselhamentos e carinho ao longo do desenvolvimento do trabalho.

A técnica de laboratório Cássia, pela ajuda, contribuição e paciência no desenvolvimento das análises.

A todos os amigos que conheci ao longo da minha graduação, entre eles a Bruna, a Fernanda, a Márcia, o Gabriel, a Úrsula e ao Victor.

E aos professores, Drª Érika, Drª Leomara, Drª Leda, Drª Gisele, Drª Letícia Drª Ana, Dr Bruno, Dr Padilha e Drª Renata.



DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE ACEROLA

Matheus Moreli Dutra e Dirlei Diedrich Kieling

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas no mundo, devido ao seu clima e solo diversificados sendo grande parte dessas frutas, consumidas in natura e é o considerado a nível mundial o maior produtor de acerolas, sendo a região Nordeste responsável por mais de 70% dessa produção. Além disso, consumo dessa fruta, é crescente devido sua alta concentração de vitamina C. Devido à alta perecibilidade e grandes perdas, é necessário aproveitar essas frutas na forma de outros produtos, como por exemplo as bebidas alcoólicas, que são bem aceitas pelos consumidores e possuem maior vida útil. A levedura Saccharomyces cerevisiae é o principal microrganismo utilizado para a produção de bebidas alcoólicas e a Saccharomyces boulardii é outra levedura fermentativa, a qual possui atividade probiótica. Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver dois fermentados de acerola, um produzido com a S. cerevisiae e o outro com a S. boulardii. As acerolas foram lavadas, sanitizadas e congeladas até o momento da extração da polpa, a qual foi submetida às análises físico-químicas de °Brix, pH, Acidez titulável, Umidade e Sólidos Totais, Cinzas, Vitamina C e Açúcares Redutores. Em seguida, diluiu-se o volume total de polpa até o °Brix atingir 5,50 e depois corrigiu-se o mesmo até 12,25 com açúcar. Colocou-se metade do volume total em um balde fermentador, que foi inoculado com S. cerevisiae e o mesmo foi feito com a S. boulardii. Aguardou-se a fermentação e realizou-se novamente análises físico-químicas das bebidas prontas, análises microbiológicas como contagem de leveduras por plaqueamento e pela câmara de Neubauer, estimativa do teor alcoólico e análise de cor, utilizando um Espectrofotômetro CM-5. Os resultados da análise de vitamina C das bebidas feitas com a S. cerevisiae e a S. boulardii foram de 972,38 mg/100mL e 1025,71 mg/100mL, respectivamente. Já para as análises do teor alcoólico, ambas obtiveram valores inferiores a 7,0 °GL e tiveram, também, valores maiores que 106 UFC/mL nas análises microbiológicas. Após a realização das análises, verificou-se que a polpa de acerola é extremamente rica em vitamina C e pode ser aproveitada na elaboração de bebida alcoólica fermentada. As bebidas produzidas podem ser classificadas como ricas nessa vitamina, além de que, a bebida produzida com a levedura S. boulardii, pode ser considerada probiótica pelo fato de sua concentração de células ser superior a 106 UFC/mL.

Palavras-chave: Frutas tropicais. Vitamina C. Fermentação. Leveduras. Probiótico.

DEVELOPMENT OF ACEROLA FERMENTED ALCOHOLIC BEVERAGE

Matheus Moreli Dutra and Dirlei Diedrich Kieling

ABSTRACT

Brazil is one of the largest fruit producers in the world, due to its diverse climate and soil, with a large part of these fruits consumed in natura and is considered the world's largest producer of acerolas, with the Northeast region responsible for more than 70% of this production. In addition, consumption of this fruit is increasing due to its high concentration of vitamin C. Due to the high perishability and high losses, it is necessary to use these fruits in the form of other products, such as alcoholic beverages, which are well accepted by consumers and have a longer shelf life. The yeast Saccharomyces cerevisiae is the main microorganism used for the production of alcoholic beverages and Saccharomyces boulardii is another fermentative yeast, which has probiotic activity. Therefore, the objective of this work was to develop two fermented acerola products, one produced with S. cerevisiae and the other with S. boulardii. The acerolas were washed, sanitized and frozen until pulp extraction, which was submitted to physicochemical analyzes of °Brix, pH, Titratable Acidity, Moisture and Total Solids, Ash, Vitamin C and Reducing Sugars. Then, the total volume of pulp was diluted until the °Brix reached 5.50 and then corrected to 12.25 with sugar. Half of the total volume was placed in a fermenter bucket, which was inoculated with S. cerevisiae and the same was done with S. boulardii. Fermentation was awaited and physical-chemical analyzes of the ready-to-drink beverages were carried out again, microbiological analyzes such as yeast counts by plating and by Neubauer chamber, estimation of alcohol content and color analysis, using a CM-5 Spectrophotometer. The results of the vitamin C analysis of drinks made with S. cerevisiae and S. boulardii were 972.38 mg/100mL and 1025.71 mg/100mL, respectively. As for the analyzes of alcohol content, both obtained values lower than 7.0 °GL and also had values greater than 10⁶ CFU/mL in the microbiological analyzes. After the analysis, it was concluded that the acerola pulp is extremely rich in vitamin C and can be used in the preparation of fermented alcoholic beverages. The drinks produced can be classified as rich in this vitamin, in addition to the fact that the drink, produced with the yeast S. boulardii, can be considered probiotic because its concentration of cells is greater than 10⁶ CFU/mL.

Keywords: Tropical fruits. Vitamin C. Fermentation. Yeasts. Probiotics.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	1	-	EVOLUÇÃO	DA	FERMENTAÇÃO	DO	MOSTO	COM	S.
BOULARI	DII								.32
FIGURA	2	_	EVOLUÇÃO	DA	FERMENTAÇÃO	DO	MOSTO	COM	S.
CEREVIS	IAE								.32
FIGURA :	3 –	ILU	STRAÇÃO DA	S BE	BIDAS PRONTAS,	FEIT	AS COM	AMBAS	AS
LEVEDUF	RAS								.35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ACEROLA.	26
TABELA 2 - RESULTADOS DE ANÁLISES FISICO-QUÍMICAS DA POLPA	DE
ACEROLA DE AUTORES ENCONTRADOS NA LITERATURA	.28
TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DIVERSAS FRUTAS	.31
TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA PRONTA	.33
TABELA 5 – PARÂMETROS DE COR DAS BEBIDAS	.34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 MATERIAL	16
2.2 OBTENÇÃO DA POLPA DE ACEROLA	16
2.3 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ACEROLA	16
2.3.1 Teor de sólidos solúveis (°Brix)	17
2.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	17
2.3.3 Acidez titulável	17
2.3.4 Umidade e Sólidos Totais	18
2.3.5 Cinzas	18
2.3.6 Vitamina C	19
2.3.7 Açúcares redutores	19
2.4 PREPARO DAS BEBIDAS FERMENTADAS	20
2.4.1 Preparo do mosto	20
2.4.2 Preparo do inóculo	20
2.4.3 Fermentação	21
2.4.4 Decantação	21
2.4.5 Trasfega e Clarificação	21
2.4.6 Engarrafamento	
2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS	22
2.5.1 Estimativa do teor alcoólico das bebidas prontas	22
$2.5.2$ Determinação do teor alcoólico das bebidas prontas por destilação \ldots	22
2.5.3 Análise de cor	23
2.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	23
2.6.1 Contagem de leveduras utilizando a câmara de Neubauer	24
2.6.2 Contagem de leveduras por plaqueamento	24
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ACEROLA	26
3.2 ANÁLISE DA FERMENTAÇÃO	32
3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS PRONTAS	33
3.4 TEOR ALCOÓLICO DAS BEBIDAS PRONTAS	35

3.5 CONTAGEM DE LEVEDURAS NAS BEBIDAS PRONTAS	3
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS37	7
REFERÊNCIAS38	3

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutas tropicais, graças às suas condições de clima e solo diversificadas assim, esses produtos são bem apreciados pelo mercado externo (PARENTE et al., 2014). A produção de frutas brasileiras é também uma das mais variadas do mundo com uma área de cultivo, superior a 2 milhões de hectares e com o calendário de safra, bem distribuído ao longo de todo o ano em várias regiões do país, sendo grande parte dessas frutas consumidas *in natura* (WENDHAUSEN, 2022). Em 2017 Pernambuco foi o estado que mais produziu acerola naquele ano com 21.351 toneladas, seguido pelo Ceará com 7.578 toneladas e Sergipe com 5.427. Alguns dos principais produtores de acerola desses três estados juntos, concentraram mais de 70,61% da produção nacional de acerola, comprovando assim, que a região Nordeste se destaca na produção desta fruta (NUNES, 2020). Parte da produção de acerola não é aproveitada devido à alta perecibilidade dos frutos, estimando-se em 40% as perdas pós-colheita (SILVA, 2020).

Fatores como temperatura, altitude, adubação, irrigação, pragas e doenças, precipitações pluviais e desuniformidade genética dos pomares, podem afetar características das acerolas como: teor de vitamina C, tamanho das frutas, pH, teor de sólidos solúveis, coloração e peso (SHINOHARA et al., 2015). A acerola é um fruto climatérico ou seja, passa por várias reações bioquímicas (como a degradação da clorofila, a síntese dos carotenoides e das antocianinas e a redução de acidez e vitamina C) durante o amadurecimento, que podem acontecer enquanto a fruta está na planta ou após ser colhida (SANTOS, 2014).

Na indústria alimentícia a acerola pode ser utilizada para a produção de diferentes produtos, sendo alguns deles: compotas e geleias, sucos e alimentos dietéticos, chás, bebidas para esportistas, iogurte, barras nutritivas, licor, bombons, goma de mascar, néctares, purê, sorvetes, cobertura de biscoitos, refrigerantes, entre outros (CAETANO; DAIUTO; VIEITES, 2012). O consumo de acerola no Brasil é crescente, devido ao fato dessa fruta ter uma alta concentração de vitamina C podendo chegar até 5.000 miligramas por 100 gramas de polpa (ACEROLA, 2022). Com isso, é apreciada por consumidores que preferem obter a vitamina C de origens naturais, devido sua melhor absorção quando comparada àquela de fonte sintética (MACEDO, 2019).

A vitamina C ou ácido ascórbico é uma das vitaminas, mais encontradas em frutas, verduras, legumes e outros alimentos sendo facilmente absorvida no intestino mas, se consumido em excesso, é excretado na urina (COUTINHO, 2020). A dose diária recomendada desse nutriente, é de 75 mg por dia para mulheres e 90 mg para homens (ASBRAN, 2020). A deficiência de vitamina C pode causar escorbuto, anemia, distúrbios neuróticos como hipocondria, histeria e depressão (COUTINHO, 2020).

Manejos inadequados antes e após a colheita, a alta perecibilidade e a exigência de um padrão visual de boa parte do mercado consumidor, contribuem para muitas perdas/descartes desses produtos. Assim, o processamento das frutas para que as mesmas possam ser consumidas na forma de outros produtos que têm maior tempo de vida fazem com que se possa aproveitar aquelas frutas que não seriam bem aceitas *in natura*, diminuindo assim as perdas (CÂMARA, 2022; WENDHAUSEN, 2022).

Uma das alternativas para se reduzir as perdas, é a produção de bebidas alcoólicas (ASSIS NETO, 2010). Essas bebidas possuem maior tempo de vida útil e maior valor agregado e graças a sua boa aceitação pelos consumidores, possuem um futuro promissor para ser explorado (RODRIGUES et al., 2020).

A produção de bebidas alcoólicas é um dos processos mais antigos do mundo, sendo as frutas a matéria prima usada a milhares de anos para se fazer esses produtos. Ao longo do tempo novas tecnologias de produção foram usadas para a fabricação das mesmas, pois elas começaram a gerar trabalho e capital para pequenos produtores. Provavelmente a primeira bebida alcoólica fermentada produzida foi o vinho, cuja matéria prima é a uva (SOARES, 2013; FARIAS, 2019).

Qualquer fruto ou vegetal que possua umidade, açúcar e nutrientes necessários para as leveduras, pode ser usado para a fabricação de mosto para a produção de bebidas alcoólicas fermentadas (OLIVEIRA et al., 2012). Muitas frutas já são utilizadas para a produção desses produtos como a uva, maçã, laranja, camucamu, acerola, caju e jaca. Vários países, principalmente europeus, também utilizam pêra, groselha, framboesa e cereja para produzir bebidas fermentadas (OLIVEIRA et al., 2012; ASSIS NETO, 2010).

Segundo o decreto nº 6.871, fermentados de fruta são bebidas com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a 20 °C, obtidas pela fermentação alcoólica do mosto de frutas sãs, frescas e maduras de uma única

espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água. Durante o processo de fermentação, poderá se adicionar uma certa quantidade de açúcar no fermentado que varia para cada tipo de fruta. Deverá ser denominado como "fermentado de...", acrescido do nome da fruta utilizada e quando adicionado de dióxido de carbono, o fermentado de fruta deverá ser denominado "fermentado de...", acrescido do nome da fruta "gaseificado" (BRASIL, 2009).

A levedura Saccharomyces cerevisiae é o principal microrganismo utilizado nos processos de fermentação alcoólica de bebidas. O início de seu convívio com a humanidade se deu por meio de fermentações espontâneas cujos registros mais antigos de relatos sobre o processo fermentativo, acontecem desde 7000 a. C. na região da Ásia menor, Cáucaso e Mesopotâmia (TEIXEIRA, 2015). A S. cerevisiae é um microrganismo aeróbio facultativo ou seja, pode se ajustar metabolicamente em ambiente com ou sem oxigênio (aeróbico e anaeróbico respectivamente). Se essa levedura se encontra em um ambiente aeróbico, os açúcares metabolizados serão transformados em CO₂ e água além, do aumento da biomassa microbiana do meio. Já se o ambiente for anaeróbico boa parte dos açúcares, serão convertidos em etanol e CO₂ sendo esse processo, chamado de fermentação alcoólica (RIBEIRO et al., 2018).

A levedura *Saccharomyces boulardii* é um microrganismo não patogênico que possui propriedades probióticas. Essa levedura é amplamente prescrita em vários países na forma liofilizada, como agente preventivo e terapêutico para diarreia e outros problemas gastrointestinais (VARGAS, 2011; KITAMURA, 2013). O termo probiótico significa "pró-vida", sendo o oposto de antibiótico que significa "contra a vida". Os produtos que têm microrganismos probióticos na quantidade certa, produzem efeitos benéficos a saúde do hospedeiro como: manutenção da microbiota intestinal saudável, melhora da imunidade, previne o câncer, promovem o alívio em casos de constipação, fortalecem as atividades gastrointestinais e na prevenção e tratamento de doenças (MULLER, 2006; LOPES; PINTO, 2010).

Portanto este trabalho teve por objetivo desenvolver duas bebidas alcoólicas obtidas pela fermentação do mosto de acerola, pelas leveduras *S. cerevisiae* e *S. boulardii*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal e Laboratório de Microbiologia, da Universidade Federal do Paraná – campus Jandaia do Sul.

2.1 MATERIAL

As acerolas foram colhidas de aceroleiras silvestres, no município de São Pedro do Ivaí – PR, durante os meses de dezembro de 2021 e janeiro de 2022. Após a colheita as frutas foram deixadas em temperatura ambiente, por 24 h, para completar a sua maturação.

Foram adquiridas duas espécies de leveduras, sendo *Saccharomyces* cerevisiae proveniente do fermento Mangrove Jacks - M02 – Cider e *Saccharomyces* boulardii liofilizada em cápsulas, marca Repoflor.

Foram utilizados como padrões, glicose anidra da marca Alphatec e ácido ascórbico da marca Dinamica e pureza de 99%.

2.2 OBTENÇÃO DA POLPA DE ACEROLA

As acerolas foram lavadas em água corrente e sanitizadas deixando-as de molho em uma solução de hipoclorito de sódio 200 mg/L durante 15 minutos. Em seguida, elas foram enxaguadas com água potável, drenou-se o excesso de água e armazenadas em um freezer doméstico até o momento da extração da polpa.

A extração da polpa foi realizada no campus da Universidade Federal do Paraná, em Jandaia do Sul, com o auxílio de uma despolpadeira de frutas. Essa polpa obtida foi utilizada nas análises de caracterização da mesma e para preparo do mosto das bebidas.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ACEROLA

Para caracterizar a polpa de acerola, foram realizadas as análises do °Brix, pH, acidez titulável, Umidade e Sólidos Totais, Cinzas, Vitamina C, Açúcares Redutores e *Ratio* (°Brix/%Acidez titulável), em triplicata.

As análises foram realizadas conforme as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), com exceção da análise de açúcares redutores para qual foi utilizada a metodologia descrita por Maldonade; Carvalho; Ferreira, 2013).

2.3.1 Teor de sólidos solúveis (°Brix)

O °Brix foi determinado utilizando-se um refratômetro (Centauro) calibrado com água destilada, onde duas gotas de amostra foram colocadas no equipamento e se fez a leitura.

2.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

Determinou-se o pH da amostra, utilizando-se um pHmetro digital (marca MS TCNOPON e modelo LUCA-210) calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0.

2.3.3 Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada por potenciometria, onde diluiu-se 10 g de amostra em 50 mL de água destilada. Agitou-se levemente a amostra e ajustou-se o eletrodo do pHmetro (marca Instrutherm e modelo pH-5000) já calibrado com soluções tampão 7,0 e 4,0. Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 M sob agitação constante, até uma faixa de pH entre 8,2 à 8,4.

A acidez titulável foi determinada em porcentagem de ácido cítrico, conforme a equação 1.

$$Acidez\ em\ \%\ de\ \'acido\ org\^anico = \frac{V\times F\times M\times Pm}{10\times P\times n} \quad (Equa\~{cao}\ 1)$$

V = volume de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL

F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

Pm = massa molecular do ácido cítrico em g (192)

P = massa ou volume pipetado (g ou mL) da amostra

n = número de hidrogênios ionizáveis do ácido cítrico (3)

2.3.4 Umidade e Sólidos Totais

O percentual de umidade e de sólidos totais foram determinados pesando 5 g da amostra, em um cadinho de porcelana previamente tarado, evaporou-se o excesso de água em uma chapa elétrica e, a seguir, secou-se a amostra em estufa de secagem (SolidSteel, SSD - 100 L) a 105 °C até massa constante. Os cálculos do %Umidade e do %Sólidos totais foram realizados conforme as equações 2 e 3 respectivamente.

$$\%Umidade = \frac{100 \times N}{M} \quad (Equação 2)$$

$$\%S\'olidos totais = \frac{100 \times S}{M}$$
 (Equação 3)

N = massa de água perdida em g

S = massa da amostra seca g

M = Massa inicial da amostra em g

2.3.5 Cinzas

Foram pesadas 5 g da amostra em cadinhos de porcelana previamente tarados. Em seguida, essas amostras foram secadas em uma chapa elétrica e incineradas em uma mufla (marca Lucadema) a 550 °C, até a coloração das cinzas se tornar branco acinzentado, o que levou aproximadamente 3 horas. A porcentagem de cinzas na amostra foi calculada, segundo a equação 4.

$$%Cinzas = \frac{100 \times N}{M}$$
 (Equação 4)

N = Massa de cinzas em g

M = Massa inicial da amostra em g

2.3.6 Vitamina C

Pesou-se uma massa de 0,088 g de ácido ascórbico padrão em um erlenmeyer, onde se adicionou-se 20 mL de água destilada. Adicionou-se 10 mL de Ácido Sulfúrico (H₂SO₄) 20%, 1 mL de lodeto de Potássio (KI) 10% e 1 mL de amido 1% e homogeneizou-se a mistura. Titulou-se com a solução de lodato de Potássio 0,02 M até que a coloração se tornasse azul estável.

Pesou-se 5 g de amostra, conforme recomendado por Rochel (2015), que foi homogeneizada em 50 mL de água, dentro de um Erlenmeyer de 300 mL. Em seguida se adicionou 10 mL de Ácido Sulfúrico 20%, 1 mL de lodeto de Potássio 10% e 1 mL de amido 1%. Realizou-se a titulação utilizando lodeto de Potássio 0,02 M até que a solução, adquirisse coloração azul estável, anotando o volume gasto. A quantidade de vitamina C na amostra, foi determinada relacionando-se o volume gasto na titulação da amostra com o do padrão (regra de três).

2.3.7 Açúcares redutores

Primeiramente construiu-se uma curva padrão, utilizando-se soluções de glicose com concentrações de 0,1 g/L até 0,5 g/L. Após adicionar 1,0 mL de cada solução de glicose em tubos de ensaio e 1,0 mL do reagente DNS, agitou-se as amostras em um agitador para tubos e as mesmas, foram aquecidas em banho maria a 100 °C por 5 minutos e logo em seguida, foram resfriadas em banho de gelo por 5 minutos. Adicionou-se 8 mL de água destilada, homogeneizou-se novamente as amostras e realizou-se a leitura da absorbância, em um espectrofotômetro UV-VIS a 540 nm, após zerar o aparelho com o branco. Obteve-se a correlação linear entre a concentração (x) e a absorbância (y) e a equação da reta, através do software Excel (y = 1,5365x – 0,0922; R² = 0,9995).

Pesou-se 5 g amostra homogeneizada, que foi diluída em 50 mL de água destilada. Centrifugou-se a 5000 rpm por 15 minutos e retirou-se 1,0 mL do sobrenadante diluindo-o em um balão de 25 mL com água destilada. Tomou-se 1,0 mL desta diluição e seguiu-se o mesmo procedimento de análise descrito para a curva padrão.

2.4 PREPARO DAS BEBIDAS FERMENTADAS

O desenvolvimento das bebidas alcoólicas fermentadas de acerola, foi baseado no trabalho desenvolvido por Wendhausen (2022) com adaptações.

2.4.1 Preparo do mosto

A partir da polpa obtida conforme descrita no item 2.2, preparou-se um suco de acerola para servir de base para o preparo dos mostos para as bebidas fermentadas. Segundo a Instrução normativa n° 37, de 01 de outubro de 2018 (BRASIL, 2018), o teor de sólidos solúveis do suco de acerola é igual a 5,50. Portanto, usou-se água mineral para diminuir o °Brix da polpa, para se atingir esse teor de sólidos solúveis. No total foram preparados 11 litros de suco de acerola, que foram divididos em dois fermentadores, ou seja, 5,5 L para cada.

Realizou-se a chaptalização do suco de acerola para aproximadamente 12 °Brix, com adição de açúcar refinado, com base no trabalho desenvolvido por Gonçalves (2017), obtendo-se assim o mosto para as fermentações.

2.4.2 Preparo do inóculo

Ferveu-se 100 mL de água destilada em um micro-ondas e resfriou-se a mesma para 28 °C. Em seguida, dissolveu-se a massa de fermento estimada e aguardou-se 20 minutos para a hidratação das células.

Para a *S. cerevisiae*, com base na quantidade recomendada na embalagem do fermento, ajustou-se a quantidade de fermento a ser utilizada para 3 g em 5,5 L.

Para a *S. boulardii*, adicionou-se uma quantidade de fermento, a fim de obterse uma concentração mínima de 10⁵ células/mL, conforme recomendado por Terhaag (2019). Assim, utilizou-se 6 cápsulas contendo 4 x 10⁹ células (conforme informado pelo fabricante), obtendo-se uma concentração estimada de 4,36 x 10⁶ células/mL no mosto.

2.4.3 Fermentação

Adicionou-se os inóculos aos mostos, fechou-se os fermentadores, que foram agitados para aerar a mistura, acoplou-se o airlock para que o gás formado durante a fermentação escapasse, sem deixar entrar oxigênio nos mesmos, e transferiu-se os fermentadores para uma estufa B.O.D a 28 °C, sendo retirada uma pequena alíquota (aproximadamente 3 mL) diariamente, para se medir o °Brix dos mostos durante a fermentação. A partir destes valores de °Brix, estimou-se o teor alcoólico dos mostos durante a fermentação como descrito no tópico 2.5.1.

2.4.4 Decantação

Quando o °Brix de ambos os vinhos se aproximou de 6,5, a fermentação foi encerrada colocando os baldes sob refrigeração a 5 °C durante 48 h, para que as leveduras decantassem. Esse valor final de °Brix, foi estimado para que o teor alcoólico das bebidas fosse próximo de 5 °GL.

2.4.5 Trasfega e Clarificação

Passado o tempo da decantação, o vinho fermentado foi extraído pelas torneiras dos baldes fermentadores, para dentro de galões brancos opacos. Foi adicionado 1 g/L de gelatina sem sabor e incolor comercial, previamente dissolvida em água destilada quente, e aguardou-se 20 dias sob refrigeração, para que a clarificação acontecesse.

2.4.6 Engarrafamento

As bebidas alcoólicas fermentadas obtidas foram envasadas em garrafas de vidro de 600 mL e mantidas em refrigeração, até o momento das análises (1 dia após esse procedimento).

2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS

Para as bebidas prontas, realizou-se um processo de descarbonatação por sonicação, durante 30 minutos a 30 °C (BUSTOS et al., 2019) para remover o CO₂ restante, o qual poderia interferir nas análises. Foram determinados °Brix, pH, acidez titulável, vitamina C e açúcares redutores em triplicata. Realizou-se ainda a estimativa do °GL, medida de cor e concentração de leveduras.

É importante ressaltar que, para a análise de vitamina C mediu-se 5 mL da bebida, e realizou-se a análise como já descrito anteriormente.

Para a análise dos açúcares redutores, não foi feita uma diluição de 5 g de amostra em um balão de 50 mL de água destilada, como no caso da polpa. Simplesmente centrifugou-se uma massa da bebida pronta, diluiu-se 1 mL do sobrenadante em 25 mL de água destilada e realizou-se o método de análise.

2.5.1 Estimativa do teor alcoólico das bebidas prontas

Para estimar o teor alcoólico das bebidas, utilizou-se o conversor disponível online (https://brucrafter.com/convert-brix-to-sg/) para converter o °Brix (inicial, intermediário e final) para densidade (g/mL) (BRUCRAFTER, 2022) e com os valores de densidades, determinou-se o teor alcoólico (°GL), através da equação 5 (BUSTOS et al., 2019).

$$^{\circ}GL = (OG - OF) \times 131,25$$
 (Equação 5)

°GL = Teor alcoólico v/v

OG = Densidade inicial do mosto (g/mL)

OF = Densidade durante ou após a fermentação (g/mL)

2.5.2 Determinação do teor alcoólico das bebidas prontas por destilação

A determinação do teor alcoólico por destilação, foi baseada nas metodologias do Instituto Adolfo Lutz (2008). Ajustou-se a temperatura da amostra em 20 °C e mediu-se 100 mL em balão volumétrico. Em seguida o recipiente foi transferido para

o destilador de clevenger com coluna de vigreux, onde se iniciou a destilação. O destilado foi coletado em outro balão de 10 mL, cujo volume foi completado com água destilada.

Lavou-se o picnômetro, que após isso, foi enxaguado com álcool e secado naturalmente. Pesou-se o picnômetro vazio, com a amostra e com água destilada, ambas a 20 °C. Anotou-se as massas e determinou-se a densidade relativa do destilado, conforme a equação 6.

Densidade relativa °C / °C =
$$\frac{m_{am} - m_p}{m_{\acute{A}gua} - m_p}$$
 (Equação 6)

m_{am} = massa do picnômetro com a amostra (g)

m_p = massa do picnômetro vazio (g)

mágua = massa do picnômetro com água (g)

A partir desse valor, utilizou-se uma tabela do Instituto Adolfo Lutz (2008), que relacionava a densidade relativa do álcool, com a porcentagem do álcool na amostra, para se determinar a o teor alcoólico em v/v.

2.5.3 Análise de cor

As análises de cor das bebidas prontas, foram realizadas no Laboratório Central de Nanotecnologia da UFPR de Curitiba, utilizando um Espectrofotômetro CM-5 - Konica Minolta Sensing Americas em triplicata. Obteve-se os valores dos parâmetros L*(luminosidade), a* (vermelho-verde) e b* (amarelo-azul).

2.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foi realizado contagem de leveduras utilizando a câmara de Neubauer (triplicata) e a contagem de colônias em placas (duplicata) nas bebidas prontas.

2.6.1 Contagem de leveduras utilizando a câmara de Neubauer

A contagem de leveduras utilizando a câmara de Neubauer, seguiu as metodologias de Dias (2001) com modificações. Primeiramente diluiu-se 1,0 mL da amostra em 9,0 mL de água peptonada 0,1% estéril e homogeneizou-se a solução. Em seguida, 1,0 mL desta diluição foi misturada com 1,0 mL de solução azul de metileno 0,1% e novamente homogeneizou-se a mistura que após esse procedimento, foi deixada em repouso por 5 minutos. Passado esse tempo, a suspensão foi novamente homogeneizada e a câmara de Neubauer preenchida com ela. Em seguida foi feita a contagem das células vivas em microscópio óptico com o aumento de 40 vezes, contando os 4 quadrantes centrais de cada quadrado grande da câmara.

O número de células vivas por mL, foi estimado segundo a metodologia apresentada por Vargas (2011), conforme a equação 7.

Número de Células Vivas/m
$$L = \frac{N_t}{Q} \times D \times 10.000$$
 (Equação 7)

N_t = número total de células contadas

Q = número de quadrantes contados

D = fator de diluição

2.6.2 Contagem de leveduras por plaqueamento

O procedimento foi baseado em Silva et al., (2018). Verteu-se cerca de 25 mL de meio de ágar batata dextrose em placas de petri de forma asséptica, e as mesmas foram deixadas entreabertas para o meio solidificar. Realizou-se a diluição seriada, diluindo 1 mL de amostra em 9 mL de água peptonada 0,1% estéril, até a diluição 10⁻⁵. Inoculou-se 0,1 mL de cada diluição escolhida sobre a superfície do meio, abrindo a placa apenas o suficiente para inserir a pipeta próximo a uma lamparina. Espalhouse a amostra por toda a superfície do meio sólido com a alça de Drigalski, para que todo o líquido fosse absorvido. As placas de petri foram incubadas sem serem invertidas em uma estufa B.O.D a 25 °C por 5 a 7 dias. Passado esse tempo, contou-

se as colônias e estimou-se a quantidade de leveduras na amostra, conforme a equação 8.

$$UFC/mL = \frac{N}{V} \times D$$
 (Equação 8)

N = Número de colônias

V = Volume de inóculo (mL)

D = Fator de Diluição

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises físico-químicas das bebidas prontas, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de tukey ($p \le 0.05$) utilizando-se o programa *Statistica* 7.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ACEROLA

Os resultados obtidos das análises físico-químicas da polpa, estão expressos na TABELA 1 a seguir em valores de média ± desvio padrão e coeficiente de variação (%CV).

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ACEROLA.

Características	Média ± dp	%CV
рН	3,50 ± 0,01	0,29
°Brix	$8,50 \pm 0,01$	0,07
%Umidade	$90,85 \pm 0,05$	0,06
%Sólidos totais	9,15 ± 0,07	0,72
%Cinzas	0.51 ± 0.02	3,32
Acidez Titulável (% ác. Cítrico)	1,03 ± 0,01	0,94
°Brix/Acidez Titulável	$8,25 \pm 0,08$	0,99
Vitamina C (mg/100g)	1131,44 ± 10,21	0,90
AR (%glicose)	$4,86 \pm 0,16$	3,21

FONTE: O autor (2023).

Segundo Forsythe (2013) um alimento cujo pH for abaixo de 4,5 é considerado um alimento de alta acidez mas, se for acima de 4,5 é considerado de baixa acidez. Como o pH encontrado para a polpa de acerola foi de 3,50, se conclui que esse alimento é de alta acidez.

O teor de sólidos solúveis (°Brix) determinado foi de 8,50. É um valor acima de todos os referenciados na TABELA 2 porém os autores Segtowick et al. (2013) e Pinto (2015) encontraram valores de 9,45 e 8,20 de °Brix para a polpa de acerola, respectivamente. Segundo Caetano; Daiuto; Vieites (2012) o teor de açúcares constitui de 65% a 85% do °Brix e que esses açúcares, influenciam na aceitação da fruta *in natura* ou processada, apresentando também importância nutricional.

As porcentagens de umidade mínima e máxima encontradas na TABELA 2 são de 90,59% e 94,64%, e esse intervalo engloba o valor de 90,85 encontrados na

polpa de acerola analisada neste trabalho. A alta perecibilidade da acerola, provavelmente está relacionada a esse alto teor de umidade.

Apesar do valor encontrado de cinzas estar um pouco acima dos referenciados na TABELA 2, pode-se considerar que o valor encontrado está de acordo com os demais trabalhos pesquisados.

A acidez titulável determinada (1,03 % ácido cítrico) também está dentro do intervalo apresentado na TABELA 2 (0,74 à 1,44 %ácido cítrico). Alguns autores também expressam a acidez titulável em porcentagem de ácido málico porém, a maioria dos autores consultados ao longo das pesquisas apresentam a acidez titulável em porcentagem de ácido cítrico.

O resultado médio de Ratio (°Brix/Acidez Titulável) obtido, está relacionado com grau de maturação das frutas, indicando que as acerolas encontravam-se em estágio de maturação completo, ou seja, com coloração vermelha e sabor doce.

Para a vitamina C o valor mínimo encontrado na TABELA 2 é de 416,14 mg/100g e o valor máximo de 4441,44 mg/100g. Esse intervalo engloba o valor de 1131,44 mg/100g encontrado na polpa analisada. Comparando esse valor com o teor de vitamina C de outras frutas (TABELA 3), pode-se considerar que a acerola é altamente rica neste nutriente.

Para os açúcares redutores, encontrou-se o valor de 4,86% de glicose que está dentro dos valores mínimos e máximos encontrados na tabela 2 (3,19 e 7,17% de glicose, respectivamente). Ademais, Soares et al. (2001) determinaram um valor de 5,49% de glicose em polpa de acerola, o qual está próximo ao do valor encontrado. A polpa não possui sacarose (açúcar não redutor) sendo os principais açúcares presentes a glicose e a frutose (açúcares redutores) (CAETANO; DAIUTO; VIEITES, 2012).

A TABELA 2 a seguir, sumariza os resultados de caracterização físico-química da polpa de acerola obtidos por outros autores, pesquisados na literatura.

TABELA 2 – RESULTADOS DE ANÁLISES FISICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ACEROLA DE AUTORES ENCONTRADOS NA LITERATURA.

Autores	рН	°Brix	%Umidade	%Sólidos Totais¹	%Cinzas	Acidez titulável (%ác. cítrico)	°Brix/Acidez Titulável	Vitamina C (mg/100g)	AR (%glicose)
AQUINO; CARNELOSSI; CASTRO (2011)	3,27	7,42	91,64	8,36	-	-	7,202	1946,46	-
ARAÚJO et al. (2013)	3,38	6,00	-	-	-	0,74	8,11 ²	4441,44	-
ARAÚJO, (2000)	3,16	5,75	93,10	6,90	0,38	-	-	1313,40	3,19
BERY et al. (2014)	3,24	7,60	-	-	0,23	1,44	5,282	416,14	-
CAETANO; DAIUTO; VIEITES (2012)	3,44	7,93	91,17	8,83	0,42	0,94	8,442	-	-
ESTEVAM et al. (2018)	3,34	7,06	-	-	-	-	7,12	835,60	-
FARIAS (2016)	3,14	6,60	92,72	7,28	0,29	-	-	-	-
FERNANDES (2017)	3,08	7,00	90,59	9,41	-	-	-	-	3,82
LEMOS et al. (2019)	3,03	5,06	94,64	5,36	0,22	1,14	4,442	3704,50	7,17
TBCA (2022)	-	-	91,70	8,30	0,34	-	-	1505,00	-

¹ os valores %Sólidos Totais foram calculados pela equação %Sólidos Totais = 100 - %Umidade.
 ² valores calculados pela relação °Brix/Acidez.
 FONTE: O autor (2023).

Comparando-se as características físico-químicas da acerola com os da amora, é possível observar que o teor de umidade, sólidos totais e cinzas, foram os que mais se aproximaram (TABELA 3). O pH e o °Brix não se diferenciaram muito, como nos casos da vitamina C, grau de maturação e dos açúcares redutores em porcentagem de glicose. Olhando mais cuidadosamente, pode-se ver que o teor de umidade da amora, foi a característica que mais se aproximou, em comparação com a acerola, enquanto o teor de açúcares redutores foi o que mais se distanciou. Não foi possível encontrar valores de acidez titulável em porcentagem de ácido cítrico, para a amora.

Em relação ao caju, o teor de umidade foi o que mais se aproximou, das características da acerola, já das outras frutas nenhuma das características apresentadas na TABELA 3 são próximas as da acerola, sendo novamente os açúcares redutores a característica que mais se distanciou. Segundo Tbca (2022) a quantidade de vitamina C na polpa in natura de caju é de 257 mg/100g. Não foi encontrado valores de acidez titulável em porcentagem de ácido cítrico, para o caju.

Para a jabuticaba os valores de pH, cinzas vitamina C e açúcares redutores, se distanciaram dos valores da acerola (sendo os açúcares redutores, a característica que mais se afastou), os demais apesar de ter uma certa diferença, a mesma não é muito grande sendo a exceção o teor de umidade, que possui um valor muito próximo ao da acerola.

As características físico-químicas do kiwi, são bem diferentes da acerola em, Brix, sólidos totais, acidez titulável, grau de maturação, e vitamina C no mais, são bem próximas. O valor de vitamina C foi o que mais se distanciou, enquanto que a porcentagem de umidade, foi a característica que mais se aproximou. Não encontrouse valores de açúcares redutores para kiwi.

As características da lichia são bem parecidas com as do kiwi, sendo as exceções porcentagem de cinzas e teor de vitamina C. Já em comparação com a acerola, a porcentagem de umidade é o valor que mais se aproxima ao da acerola, enquanto que o teor de vitamina C é o que mais se distancia. Assim como no caso do kiwi, não foi possível encontrar valores de açúcares redutores para a lichia.

Em relação ao limão, todos os valores ilustrados se diferenciam dos da acerola, porém outros autores já referenciados na TABELA 2, encontram °Brix próximo a esse. Segundo Tbca (2022), para cada 100 g de suco de limão galego puro, sem açúcar se encontra 91,8 g de umidade e 0,25 g de cinzas e 34,5 mg/100g de

vitamina C. Através do dado da %Umidade se pode calcular que em 100 g desse mesmo suco, se encontra 8,2 g de sólidos totais. O teor de umidade é próximo ao da acerola, porém o teor de cinzas e vitamina C não. Também não encontrou-se valores de açúcares redutores para o limão.

Para o morango os valores de pH, °Brix, umidade e sólidos totais, se aproximaram aos da acerola (sendo a porcentagem de umidade o que mais se aproximou) porém os demais, se distanciaram bastante (sendo o teor de vitamina C o que mais se distanciou) e não foi possível, encontrar valores de açúcares redutores para o morango.

O pêssego foi a fruta que apresentou o maior valor de vitamina C mas, ainda assim, está muito distante ao da acerola assim como as demais características, sendo as exceções o teor de umidade (o que mais se aproximou) e de sólidos totais. Segundo a Tbca (2022) em 100 g de pêssego in natura, se encontra 0,50 g de cinzas sendo esse valor, muito próximo ao determinado para a acerola.

Além de todas essas frutas já citadas, segundo a Tbca (2022) a laranja *in natura* possui 47,3 mg/100g. Assim, comparando esse valor com o do limão e da acerola, se desconstrói o pensamento do senso comum de que a laranja e o limão, são as frutas com maior teor de vitamina C e informando, que a acerola é a fruta mais rica nesse nutriente.

Na TABELA 3 logo a seguir, encontram-se os valores das características físicoquímicas, para diferentes tipos de frutas.

TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DIVERSAS FRUTAS.

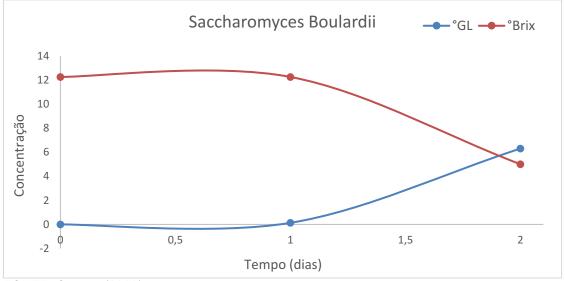
Autores	Frutas	рН	°Brix	%Umidade	%Sólidos Totais¹	%Cinzas	Acidez Titulável (%ác. cítrico)	°Brix/Ac. Titul.	Vitamina C (mg/100g)	AR (%glicose)
HAÍDA, et al. (2014)	Amora	3,97	10,16	91,31	8,69	0,55	-	23,30	18,77	13,26
SOUZA (2012)	Caju	4,46	7,30	85,94	14,06	0,14	-	1,14	-	0,83
LEMOS, et al. (2019)	Jabuticaba	2,88	9,63	90,29	9,71	0,25	1,32	7,30 ²	10,80	11,07
SILVA, et al. (2016)	Kiwi	4,01	12,10	87,30	12,70	0,57	0,41	29,51 ²	99,81	-
DUARTE (2018)	Lichia	4,10	11,83	84,34	15,66	0,39	0,39	29,94	9,42	-
CHAVES NETO; SILVA; SANTOS; (2018)	Limão	2,74	5,93	-	-	-	-	1,52	-	-
MATOS et al (2021)	Morango	3,41	9,51	90,25	9,75	0,86	0,19	50,05	18,60	-
SOUZA et al (2018)	Pêssego	6,70	12,30	87,30	12,70	-	0,30	38,40	110,00	1,80

¹ os valores %Sólidos Totais foram calculados pela equação %Sólidos Totais = 100 - %Umidade.
 ² valores calculados pela relação °Brix/Acidez.
 FONTE: O autor (2023).

3.2 ANÁLISE DA FERMENTAÇÃO

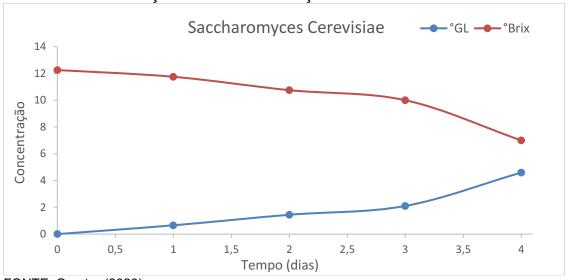
Nas FIGURAS 1 e 2 a seguir, são apresentados os gráficos da evolução da fermentação para a *S. boulardii* e *S. cerevisiae* respectivamente.

FIGURA 1 – EVOLUÇÃO DA FERMENTAÇÃO DO MOSTO COM S. BOULARDII.



FONTE: O autor (2023).

FIGURA 2 – EVOLUÇÃO DA FERMENTAÇÃO DO MOSTO COM S. CEREVISIAE.



FONTE: O autor (2023).

Observando-se as FIGURAS 1 e 2, nota-se que a evolução da fermentação do mosto com *S. boulardii* (10⁶ cel/ml) foi mais rápida do que a da *S. cerevisie* (10⁵ cel/ml) isso se explica pelo fato de que no primeiro mosto, há uma quantidade maior de células ativas.

A redução percentual do "Brix do início da fermentação até o fim da mesma foi de 59,18% para a fermentação com a *S. boulardii* e 42,86% para a fermentação com a *S. cerevisiae*. Observa-se um valor residual de "Brix, o que ocorre devido da interrupção da fermentação, para que o teor alcoólico final estimado fosse próximo de 5 "GL, o que é típico em fermentados alcoólicos de frutas, de modo que as características sensoriais naturais da fruta, ainda fossem perceptíveis na bebida final.

3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS PRONTAS

Nas TABELAS 4 e 5 a seguir, serão apresentadas as características físicoquímicas das bebidas prontas fermentadas com *S. boulardii* e *S. cerevisiae* e de cor respectivamente. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão de três repetições.

TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA PRONTA.

Características	S. boulardii	S. cerevisiae
рН	3,53 ± 0,01 ^b	$3,58 \pm 0,02^a$
°Brix	$4,08 \pm 0,14^{b}$	$4,58 \pm 0,14^a$
Acidez Titulável (%ác. Cítrico)	$0,68 \pm 0,01^{b}$	0.85 ± 0.01^{a}
Vitamina C (mg/100mL)	1025,71 ± 32,04 ^a	$972,38 \pm 26,97^a$
AR (g glicose/100mL)	0.38 ± 0.02^{a}	0.37 ± 0.03^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a p \leq 0,05. FONTE: O autor (2023).

Embora a fermentação do mosto tenha sido interrompida, colocando-se em refrigeração (5 °C), a atividade fermentativa continuou ainda que de forma mais lenta, o que é evidenciado pelos valores médios finais de °Brix na bebida pronta, inferiores ao do mosto fermentado. Consequentemente, o teor alcoólico final das bebidas foi superior ao que havia sido previamente estimado.

Observando-se os valores de pH e acidez titulável de ambas as bebidas, se nota que a maior acidez é da bebida produzida com *S cerevisiae* porém, o pH da mesma é maior do que a da bebida produzida com *S. boulardii*. Como o pH e a acidez titulável são inversamente proporcionais, esses resultados inesperados são explicados devido a erros experimentais e imprecisões do pHmetro.

Segundo a portaria n° 27 de 13 de janeiro de 1998 para que um produto seja considerado rico ou com alto teor de uma certa vitamina ou mineral este mesmo produto, precisa ter uma quantidade mínima de 30% da ingestão diária recomendada (IDR) por 100 g para sólidos e no mínimo, 15% da IDR por 100 mL para líquidos. Como a IDR para homens (90 mg) e mulheres (75 mg) são muito menores, que o valor de vitamina C estimado em 100 mL das bebidas, pode-se considerar que elas são ricas ou que possuem alto teor neste nutriente (BRASIL, 1998).

Segtowick et al., (2013), que também desenvolveram fermentados alcoólicos de acerola, encontraram um valor de pH semelhante nos fermentados feitos com a polpa de acerola o qual foi de 3,58, porém, o teor de açúcares redutores foi superior, sendo igual a 1,80 g glicose/mL. Carvalho; Ferreira (2011), desenvolveram um fermentado alcoólico de maracujá, cujo pH, Acidez titulável (em % de ácido cítrico) e o °Brix para 10 dias após o preparo foram de 3,03, 2,23 e 11,3 respectivamente.

TABELA 5 – PARÂMETROS DE COR DAS BEBIDAS.

Parâmetros	S. boulardii	S. cerevisiae
L*	51,91 ± 0,03 ^a	51,93 ± 0,03 ^a
a*	$1,36 \pm 0,03^a$	$1,35 \pm 0,03^a$
b*	$1,56 \pm 0,03^a$	$1,60 \pm 0,02^a$

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a p \leq 0,05. FONTE: O autor (2023).

As bebidas apresentaram coloração semelhante, uma vez que não foi observado diferença significativa entre os parâmetros avaliados (TABELA 5). Foram determinados valores de luminosidades intermediários (L*) e coordenadas de cor correspondentes ao vermelho (a*) e amarelo (b*), percebendo-se visualmente uma coloração alaranjada (FIGURA 3).

Percebeu-se, também, que o processo de clarificação ocorreu de forma mais eficiente, para a bebida fermentada pela *S. boulardii*, no período de 20 dias, resultando em uma bebida com melhor aparência.

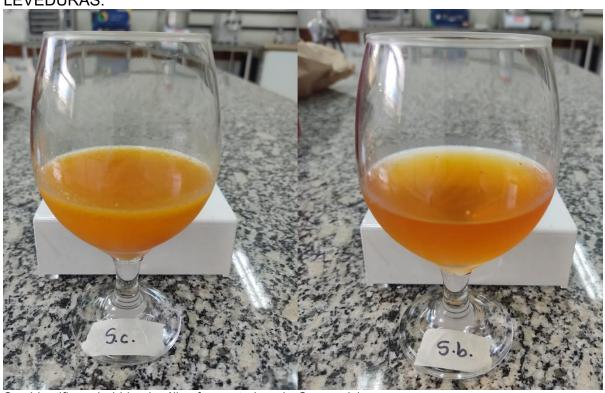


FIGURA 3 – ILUSTRAÇÃO DAS BEBIDAS PRONTAS, FEITAS COM AMBAS AS LEVEDURAS.

S.c. identifica a bebida alcoólica fermentada pela *S. cerevisiae*. S.b. identifica a bebida alcoólica fermentada pela *S. boulardii*. Fonte: O autor (2023).

3.4 TEOR ALCOÓLICO DAS BEBIDAS PRONTAS

Ao se estimar o teor alcoólico utilizando-se o conversor (tópico 2,5,1) encontrou-se um valor de °GL igual à 6,96 para a fermentação com a *S. boulardii* e 6,56 para a fermentação com a *S. cerevisiae*, levando em consideração nos cálculos a média do °Brix final de cada bebida. Todavia, ao se estimar o teor alcoólico pelo método de destilação (tópico 2.5.2) encontrou-se um valor de °GL igual a 8,06 para a bebida fermentada com *S. boulardii* e 9,97 para a fermentada com *S. cerevisiae*. Como os valores são muito distantes uns dos outros, recomenda-se considerar os valores obtidos na primeira estimativa uma vez que são baseados na redução do °Brix ou seja, nos açúcares fermentescíveis consumidos durante a fermentação. Por outro lado no método de destilação, pode-se ter valores superestimados devido à dificuldade de controle da temperatura de destilação.

Em outras bebidas alcoólicas fermentadas, Andrade et al., (2014) encontram um teor alcoólico de 9,62 °GL para fermentado de morango, Dangui et al., (2019) que

desenvolveram um fermentado de melancia, um teor alcoólico de 10 °GL e Segtowick et al., (2013) ao utilizarem polpa de acerola para produzir um fermentado alcoólico, encontram 10,71 °GL, sendo todos esses valores superiores ao encontrado na presente pesquisa. Por outro lado, Parente et al. (2014) produziram um fermentado de abacaxi com 5,90 °GL, que é próximo ao teor alcoólico encontrado na bebida desenvolvida.

3.5 CONTAGEM DE LEVEDURAS NAS BEBIDAS PRONTAS

Através da contagem de leveduras por plaqueamento, encontraram-se valores médios de $(5,60 \pm 2,55)$ x 10^6 UFC/mL para a *S. boulardii* e $(9,20 \pm 1,41)$ x 10^6 UFC/mL, para a *S. cerevisiae*. Segundo Matias (2011), para que um produto alimentício possa ser considerado probiótico, a concentração desses microrganismos deve alcançar contagens que sejam acima de 10^6 UFC/g ou mL do produto em que se encontram. Dentre os microrganismos analisados, apenas a *S. boulardii*, possui atividade probiótica (VARGAS, 2011) e sua concentração é superior a 10^6 , então pode-se assumir que a bebida produzida com esse microrganismo, é probiótica.

Pela contagem de leveduras pela câmara de Neubauer, encontrou-se uma concentração de (5,72 ± 3,06) x 10⁶ cel/mL para a *S. boulardii* e (2,50 ± 0,00) x 10⁶ cel/mL para a *S. cerevisiae*. Como todos os valores são acima de 10⁶, pode-se afirmar que o fermentado com a *S. boulardii* é realmente probiótico, se considerarmos que cada colônia é formada por uma levedura.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a polpa de acerola é extremamente rica em vitamina C, e suas características permitem a sua utilização na produção de bebidas fermentadas, nas quais há uma retenção e um bom aproveitamento de seu potencial nutritivo. Foi possível desenvolver bebida alcoólicas fermentadas de acerola, as quais mantiveram as características originais da fruta, podendo ser consideradas ricas em vitamina C, demonstrando potencial para produção industrial. Somando-se a isso, a bebida alcoólica desenvolvida com a *S. boulardii* é um produto probiótico, pelo fato de sua concentração de células ser maior que 10⁶ UFC/mL, o que agrega benefícios adicionais à saúde dos consumidores.

REFERÊNCIAS

ACEROLA. **Embrapa.** Disponível em: https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/acerola. Acesso em: 19 de set. de 2022.

ANDRADE, M. B. de. et al. **Physical and Chemical Characterization of Strawberry Unfermented.** v.3, n.1, p. 18-25, Jan./Jul., 2014.

AQUINO, A; CARNELOSSI, M. A. G; CASTRO, A. A. Estabilidade do ácido ascórbico e dos pigmentos da polpa de acerola congelada por métodos convencional e criogênico. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 1, p. 147-156, jan./jun. 2011.

ARAÚJO, H. G. G. S. da. et al. Desenvolvimento e caracterização físico-química e sensorial de catchup de acerola. **Revista GEINTEC- ISSN: 2237-0722.** São Cristóvão/SE – 2013. Vol. 3/n. 2/ p.026-037.

ARAÚJO, M. S. O de. Avaliação das características físico-químicas e sensoriais de polpa de acerola (*Malphighi emarginata* D.C.) submetidas a diferentes técnicas de congelamento. 98 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2000.

ASBRAN. Vitamina C e imunidade: alimentos garantem doses recomendadas. Publicado em 21 de mar. de 2020. Disponível em:

https://www.asbran.org.br/noticias/vitamina-c-e-imunidade-alimentos-garantem-doses-

recomendadas#:~:text=A%20orienta%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A9%20ingerir% 20diariamente,C%20a%20pedras%20nos%20rins.>. Acesso em 13 de out. de 2022.

ASSIS NETO, E. F. de. et al. Elaboração de bebida alcoólica fermentada de jaca (*Artocarpus heterophyllus Lam.*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial,** Ponta Grossa, v. 04, n. 02: p. 186-197, 2010.

BERY, C. C. de,. et al. **Caracterização físico-química de polpa de acerola in natura e liofilizada para preparação de sorvetes.** p.5. Trabalho Acadêmico (Área Temática) – Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, 2014/19 a 22 de outubro.

BRASIL. Decreto n° 6.871, de 4 de junho de 2009. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil,** Brasília, 04 de jun., de 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em 15 de set. de 2022.

BRASIL. Instrução normativa n° 37, 01 de outubro de 2018. **Diário oficial da união**, out. 2018, p. 23. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304943/do1-2018-10-08-instrucao-normativa-n-37-de-1-de-outubro-de-2018-44304612. Acesso em 20 de nov. de 2022.

- BRASIL. Portaria n° 27, de 13 de janeiro de 1998. **Diário Oficial da União,** Brasília, 04 de jun., de 1998. Disponível em:
- https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1998/prt0027_13_01_1998.html. Acesso em: 20 de jan. de 2023.
- BRUCRAFTER. **Converter Brix para SG e muito mais.** Disponível em < https://brucrafter.com/convert-brix-to-sg/ >. Acesso em 28 de nov. de 2022.
- BUSTOS, L. et al. Brewing of a Porter Craft Beer Enriched with the Plant Parastrephia lucida: A Promising Source of Antioxidant Compounds. **Journal of the American Society of Brewing Chemists.** 2019, vol. 77, no. 4, 261–266.
- CAETANO, P. K.; DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L. Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola, **Braz. J. Food Technol**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 191-197, jul./set. 2012.
- CÂMARA, G. B. **Desenvolvimento de bebidas fermentadas com coprodutos de frutas com potencial antioxidante.** 73 f. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.
- CARVALHO, S.; FERREIRA, K. F. **Desenvolvimento de fermentado suave a partir de suco de maracujá clarificado.** 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2011.
- CHAVES NETO, J. R.; SILVA, S. de M.; SANTOS, L. F. dos. Caracterização e qualidade de frutos de limão 'galego'. **Colloquium Agrariae**, v. 14, n.4, p. 10-19, Out-Dez. 2018.
- COUTINHO, A. M. Caracterização físico-química e avaliação da atividade antioxidante de polpas de pitaias (Hylocereus undatus e Hylocereus costaricensis) in natura e congeladas. 2020. 60 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.
- DANGUI, A, Z, et al. Elaboração de fermentado alcoólico de melancia (*Citrullus lanatus*) com própolis e verificação dos compostos fenólicos e antioxidantes. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias.** Paranaguá, PR, v.4, n.2, jul./dez. 2019.
- DIAS, D. R. **Elaboração de bebida fermentada a partir de frutas tropicais.** 130 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) Área de concentração em Microbiologia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- DUARTE, M. T. L. **Qualidade da polpa da lichia em pó, obtida pelo processo de liofilização.** 120 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.
- ESTEVAM, M. I. F. et al. Físico-química de variedades de acerola em dois estágios de maturação. **Revista Verde** ISSN 1981-8203 (Pombal PB) v. 13, n.4, p.459-465, out./dez., 2018.

- FARIAS, A. V. **Estudo cinético da fermentação alcoólica de** *Inga edulis***.** 59 p. Monografia (Conclusão de Curso de Engenharia Química) Escola Superior de Tecnologia, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.
- FARIAS, M. G. Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por casting, extrusão termoplástica e termoprensagem. 2016. 170p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.
- FERNANDES, L. M. **Viabilidade de produção e caracterização de cerveja artesanal com acerola (***Malpighia emarginata DC***). 75 f. Dissertação (Metrado em Engenharia Química) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.**
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos.** 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- GONÇALVES, R. H. **Desenvolvimento de aguardente de acerola** (*Malpighia emarginata DC*). 31 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Tecnologia de Alimentos) Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.
- HAIDA, K. S. et al. Caracterização físico-química e atividade antioxidante de amoreira-preta (*Morus nigra L.*). **Revista Brasileira de Ciências da Saúde,** Cascavel, ano 12, nº 40, abr/jun 2014.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ Normas Analíticas; métodos químicos e físicos para a análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- KITAMURA, D. H. Produção de biomassa probiótica e enriquecida com selênio de *Saccharomyces boulardii* utilizando melaço de cana-de-açúcar. 128 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- LEMOS, D. M. et al. Elaboração e caracterização de geleia prebiótica mista de jabuticaba e acerola. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 22, e2018098, 2019.
- LOPES, T. dos R.; PINTO, M. A. de O. Aplicação terapêutica de *Saccharomyces boulardii* em diarreias: uma revisão. **HU Revista,** Juiz de Fora, v. 36, n. 2, p. 107-122, abr./jun. 2010.
- MACEDO, J. J. N. de. Influência da luz pulsada sobre a fisiologia e a qualidade **Pós-Colheita de acerola** (*Malpighia emarginata DC*). 70 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

- MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. **Comunicado Técnico.** Embrapa, 2013.
- MATIAS, N. S. **Desenvolvimento de alimento probiótico à base de soja com polpa de fruta.** 2011, 78p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- MATOS, R. L. Q. et al. Transformação do morango "festival" a doce e determinação de parâmetros físicos e físico-químicos. **Revista Cubana de Química**, vol. 33, núm. 3, pp. 383-400, 2021. Disponível em:
- https://www.redalyc.org/journal/4435/443569388008/html/#:~:text=A%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20qu%C3%ADmica%20da%20variedade,0%2C86%20%25%20de%20cinzas.. Acesso em: 26 de dez. de 2022.
- MULLER, J. L. Cultivo de *Saccharomyces boulardii* em biorreator air-lift e em frascos agitados mecanicamente. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Área de Concentração Produtos Naturais e Substâncias Bioativas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.
- NUNES, M. H. R. S. **Estudo de caso do cultivo de acerola em Maranguape, Ceará.** 2020. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2020.
- OLIVEIRA, L. A et al. Elaboração de bebida fermentada utilizando calda residual da desidratação osmótica de abacaxi (*Ananas comosus L.*) **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial,** Ponta Grossa, v. 06, n. 01: p. 702-712, 2012.
- PARENTE, G. D. L. et al. Cinética da produção do fermentado alcoólico de abacaxi 'pérola' e caracterização da bebida. **Revista Verde (Mossoró RN Brasil)**, v 9., n. 2, p. 230 247, abrl-jun, 2014.
- PINTO, L. I. F. Acerola (malpighia emarginata DC) e abacaxi (ananás comosus L. Merril) como adjuntos no processamento de cerveja: caracterização e aceitabilidade. 87 f. Dissertação (Mestrado) Centro de Ciências Agrárias, Departamento de tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- RIBEIRO, B. D. et al. **Microbiologia industrial.** vol 2: alimentos. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.
- ROCHEL, T. C. **Determinação e avaliação da atividade antioxidante em polpas de frutas de açaí, acerola e cupuaçu.** 2015. 38 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2015.

- RODRIGUES, et al. Elaboração e aspectos microbiológicos de fermentado alcoólico misto de umbu (*spondias tuberosa*) e açaí (*euterpe oleracea*). 7° Simpósio de segurança alimentar, 2020.
- SANTOS, L. M. de L. Produção de pó de acerola verde via atomização spray drying para elaboração de sorvete enriquecido com vitamina C. 80 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Instituto Federal de educação ciência e tecnologia do Ceará, Limoeiro do Norte, 2014. SEGTOWICK, E. C. S. et al. Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola. Braz. J. Food Technol, Campinas, v. 16, n. 2, p. 147-154, abr./jun. 2013.
- SHINOHARA, N. K. S, et al. Maria Celene de Almeda: a mãe da Acerola (*Malpighia Glabra L.*) no Brasil. **Diálogos Acadêmicos**, v. 09, nº 2, p. 49-63, jul./dez. 2015.
- SILVA, A. C. S. Obtenção de doce tipo brigadeiro a partir da farinha do resíduo da acerola. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Tecnologia de Alimentos) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão, Salgueiro, 2020.
- SILVA, M. I. da. et al. Avaliação da qualidade físico-química de kiwi (Actinidia deliciosa A. Chevalier cultivar 'Hayward') minimamente processado. I Congresso Internacional das Ciências Agrárias, COITER PDVAgro, 2016.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2018.
- SOARES, E. C. et al. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata D.C.*) pelo processo "foam-mat". **Ciênc. Tecnol. Aliment.,** Campinas, 21(2): 164-170, maio-ago. 2001.
- SOARES, L. S. de O. **Fermentado alcoólico de água de coco: elaboração, avaliação físico-química e sensorial.** 65 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia de Imperatriz Maranhão (CCSST), Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2013.
- SOUZA, L. G. de. **Análise físico-química da polpa do caju (***Anacardium occidentale L.*) nas formas in natura e industrializada do município de alto paraíso/RO. 33 p. Monografia (Graduação em Licenciatura em Química) Faculdade de Ensino e Meio Ambiente, Ariquimedes, 2012.
- SOUZA, S. de F. et al. Determinação das propriedades físicas e físico-químicas de pêssegos cultivar Rubimel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial,** Ponta Grossa, v. 12, n.02: p. 2627-2644, jul./dez. 2018.
- TBCA. Composição de Alimentos (em medidas caseiras). Disponível em: http://www.tbca.net.br/base-dados/composicao_alimentos.php. Acesso em: 27 de dez. de 2022.

TEIXEIRA, J. de F. **A levedura** *Saccharomyces cerevisiae*: caracterização do **gênero, domesticação e importância na composição de vinhos.** 41 p. Monografia (Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

TERHAAG, M. M. **Desenvolvimento de bebidas funcionais de lichia e erva-mate.** 220p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

VARGAS, K. C. Estudo dos efeitos da radiação ultravioleta C e TFD em células de *Saccharomyces boulardii* e *Candida albicans*. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

WENDHAUSEN, L. de F. Fermentados alcoólicos de frutas: uma revisão sobre as etapas e parâmetros de produção, características físico-químicas e potencial bioativo das bebidas. 46 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos) — Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.